



ÚZPI

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

4

VOLUME 41 (LXIX)
PRAHA
APRIL 1996
CS ISSN 0375-8427

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření České akademie zemědělských věd a s podporou Ministerstva zemědělství České republiky

An international journal published by the Czech Academy of Agricultural Sciences and with the promotion of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic

Editorial Board – Redakční rada

Chairman – Předseda

Prof. MVDr. Karel Hruška, CSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Members – Členové

Prof. MVDr. Jan Bouda, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. ing. Jiří Brož, CSc., Reinfelden, Switzerland

RNDr. Milan Fránek, CSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Ivan Herzig, CSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumír Hoffrek, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. RNDr. Petr Hořín, CSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

M. V. Nermut, MD., PhD., Prof. emeritus, National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom

Prof. MUDr. MVDr. h. c. Leopold Pospíšil, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Prof. RNDr. Václav Suchý, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc., BIOPHARM – Research Institute of Biopharmacy and Veterinary Drugs, a. s., Jilové u Prahy, Czech Republic

Prof. MVDr. Zdeněk Vězník, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Editor-in-Chief – Vedoucí redaktorka

Ing. Zdeňka Radošová

Cíl a odborná náplň: Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní vědecké práce a studie typu review ze všech oblastí veterinární medicíny v češtině, slovenštině a angličtině.

Časopis je citován v bibliografickém časopise Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, a abstrakty z časopisu jsou zahrnuty v těchto databázích: Agriis, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicita: Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 41 vychází v roce 1996.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Zdeňka Radošová, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 75 41–9, fax: 02/25 70 90, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz. Den doručení rukopisu do redakce je uváděn jako datum přijetí k publikaci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a měly by být zaslány na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1996 je 492 Kč.

Aims and scope: The journal Veterinární medicína original publishes papers and reviews from all fields of veterinary medicine written in Czech, Slovak or English.

The journal is cited in the bibliographical journal Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, abstracts from the journal are comprised in the databases: Agriis, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicity: The journal is published monthly (12 issues per year), Volume 41 appearing in 1996.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: Ing. Zdeňka Radošová, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 75 41–9, fax: 02/25 70 90, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz. The day the manuscript reaches the editor for the first time is given upon publication as the date of reception.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 1996 is 115 USD (Europe), 120 USD (overseas).

URINARY IODINE LEVEL AS AN INTAKE INDICATOR IN DAIRY COWS*

HLADINA JODU V MOČI DOJNIC – UKAZATEL JEHO PŘÍJMU

I. Herzig, J. Říha, B. Písaříková

Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Urinary iodine concentrations were determined in 672 dairy cows of 22 herds. Less than 20 µg per L, 20 to 50 µg per L, 50 to 100 µg per L and more than 100 µg per L were found in 27.5, 24.6, 16.8, and 31.3% of the cows, respectively. In terms of the ICCIDD grading, moderate iodine deficiency was recorded in 68.9% and normal iodine intake in 31.3% of the cows. The mean urinary iodine concentrations were 94.8 µg per L at the peak of the lactation period ($n = 300$), 82.3 µg per L immediately before drying off ($n = 122$), 92.5 µg per L in the cows fed summer rations ($n = 267$), and 79.2 µg per L in those fed winter rations ($n = 405$). The differences in mean values were nonsignificant. Urinary iodine concentrations were examined in the herd LOS in cows fed iodine-supplemented (LOS E) or nonsupplemented (LOS C) rations. Mean concentrations were 316.2 µg per L for LOS E ($n = 46$) and 52.3 µg per L for LOS C ($n = 41$). The difference was highly significant ($P < 0.01$). The status of the group LOS C was classified as a medium iodine deficiency. The mean iodine concentrations at the peak of the lactation period and immediately before drying off were also significantly higher ($P < 0.01$) in this group. The supplementation of iodine resulted in an increase of urinary iodine concentration and, in terms of ICCIDD, the increase of iodine intake to the normal range. The ICCIDD classification scheme was also used in ten selected herds. At least 25 cows were examined in each of them. Normal intake and moderate, medium and serious deficits were found in three, two, one, and four herds, respectively. Special attention should be paid to herds showing higher grades of iodine deficiency.

iodine supplementation; summer rations; winter rations; lactation performance; drying off; ICCIDD classification

ABSTRAKT: Byla stanovena koncentrace jodu v moči 672 krav z 22 lokalit v České republice. Do 20 µg/l jodu bylo zjištěno u 27,5 % krav, v rozmezí 20–50 µg/l u 24,6 %, mezi 50–100 µg/l u 16,8 % a nad 100 µg/l u 31,1 % krav. Posouzeno metodou ICCIDD byl u sledovaného souboru prokázán mírný deficit jodu u 68,9 %, příjem normální u 31,1 % případů. V období maximální dojivosti, tzn. do 60 dní po porodu, byla průměrná hodnota jodu v moči 94,8 µg/l ($n = 300$), před zasušením 82,3 µg/l ($n = 122$). Při zkrmování letní krmné dávky byla průměrná hodnota 92,5 µg/l ($n = 267$), při zimní krmné dávce 79,2 µg/l ($n = 405$). Rozdíly průměrů nejsou statisticky významné. V lokalitě LOS byly sledovány hladiny jodu v moči dojnic krmných krmnou dávkou bez suplementace jodem a při jeho doplňku. Kontrolní skupina LOS K ($n = 41$) měla průměrnou hodnotu jodu v moči 52,3 µg/l, pokusná LOS P ($n = 46$) 316,2 µg/l. Rozdíly mezi průměry jsou vysoce statisticky významné ($P < 0,01$). U skupiny LOS K lze zjištěný stav klasifikovat jako střední deficit. Rovněž hodnoty do 60 dní po porodu a před zasušením byly statisticky významně vyšší ($P < 0,01$) u skupiny LOS P. Suplementace jodu krmnou dávkou se odrazila v hladině vylučovaného jodu v moči a posunula, hodnoceno systémem ICCIDD, skupinu zvířat LOS P do oblasti s normálním příjmem. V deseti lokalitách ČR, kde počet sledovaných dojnic přesáhl 25 kusů, jsme koncentrace jodu v moči klasifikovali rovněž metodou ICCIDD. Normální příjem byl nalezen ve třech lokalitách, mírný deficit ve dvou, střední v jedné a těžký ve čtyřech lokalitách. V případech nálezů vyššího stupně deficitu jodu by takto vytypovaným lokalitám měla být věnována zvýšená pozornost.

suplementace jodem; letní krmná dávka; zimní krmná dávka; dojivost; stání na sucho; metoda ICCIDD

INTRODUCTION

Recent surveys of WHO have shown that the whole Central Europe should be regarded as an area affected by endemic struma (L u c k a s , 1986). This view is also supported by results of extensive investigations of human struma in Germany, demonstrating that the incidence rose from 4% at the sea coast to 32% in the

inland (K ü h n e et al., 1993). Endemic 1st grade struma, affecting particularly young women, was also reported from Austria (E b e r et al., 1990). The conclusions of the Czech Endocrinological Society (A n o n y m , 1992) indicate that the intake of food-borne iodine is insufficient in the Czech Republic. Enlargement of the thyroid gland was found in 10 to 20% of pubertal school children and thyroid dysfunctions

* The project was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Grant No. 505/93/013).

were diagnosed in 0.75% of the population living in the environs of Prague (Kimlová and Procházková, 1993).

Surprisingly enough, moderate, medium and occasionally serious iodine deficiencies are still reported from many parts of Europe, including developed countries, such as Germany, Italy or Belgium (DeLange and Bürgi, 1989; DeLange et al., 1993).

According to the Food and Drug Administration of the United States, more than 40% of the iodine intake come from milk (Frank et al., 1983) and it has been generally accepted that milk and milk products are the most important foodborne sources of iodine, particularly in children. Although the milk iodine level depends on a number of factors, a close relationship between oral intake and secretion in milk can be postulated (Hemken, 1980; Pennington, 1990). All data on milk iodine levels reported from developed countries are higher than those recorded in the Czech Republic. The difference is obviously due to iodine (organic iodine in the U.S.A.) supplementation of rations for dairy cows.

A steady rise in the incidence of struma in animals, reaching currently 8 to 10%, has been observed in the Czech Republic since 1988 (Huml, 1992; Kurša et al., 1994). Relative iodine insufficiency can develop also outside the regions with low natural contents of iodine in soil, water and plants if animals consume excessive amounts of strumigenic feeds, such as cabbage, field mustard, rapeseed meal, or glycosinolate-containing leguminoses. Similar effects can be induced in humans by further natural or „anthropogenic“ strumigens, including nitrates, iodates, aniline derivatives, p-aminobenzoic acid, phenothiazine, sulfonamides, antibiotics, some pesticides and insecticides, polychlorinated biphenyls, phthalic acid esters or combinations thereof.

One of the causes may have been the limitation of the use of iodine-containing mineral supplements and the replacement of iodine-containing disinfectants used in milking parlours by iodine-free products should also be considered. Insufficient iodine supply can affect not only the health of cattle, but also participate in the worsening of iodine deficiency in man.

Farm animals are ideal indicators of iodine status in a given area because they consume mostly feeds produced in that area.

The aims of our investigations were to assess, by the determination of urinary iodine, the iodine status in cattle in various regions of the Czech Republic, and to test the method of assessment of iodine intake recommended for the human population.

MATERIALS AND METHODS

A total of 672 samples of urine were collected from dairy cows in 22 herds. The proportions of five groups characterized by stages of the reproductive cycle (Days

56–60 after calving; bred; open; repeat breeders; immediately before drying off; dry period) were approximately equal in all the herds. The samples were collected with a catheter between 9 and 12 a.m. and the sampling period extended from September 1993 to January 1995.

Iodine was determined by the alkaline combustion method as described by Bednář et al. (1964).

The method recommended by the International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders [ICCIDD] (DeLange et al., 1993; Bourdoux, 1993) was used for the assessment of iodine intake and distribution in the cattle under study.

Information on the iodine status of a given population can be obtained by the analysis of 50 to 100 randomly collected samples (Bourdoux, 1988) and their results are classified as follows (Bourdoux, 1993):

Urinary iodine (µg per L)	Normal iodine status	Deficiency		
		moderate	medium	serious
≤20		20–30%	30–50%	>50%
≤50		≤70%	>70%	>80%
≤100	<50%	>50%	>80%	>90%

The classification, which is unaffected by statistical processing, is very simple and allows to determine the percentage of subjects passing from one category to another as a result of iodine supplementation.

The condition is classified as a moderate, medium and serious deficiency when the urinary iodine concentration ≤20 µg per L in 20 to 30, 30 to 50 and more than 50% of the samples, respectively.

The condition is classified as a moderate, medium and serious deficiency if the urinary iodine concentration ≤50 µg per L in less than 70, 70 to 80 and more than 80% of the samples, respectively.

The iodine intake is classified as normal when the urinary iodine concentration ≤100 µg per L in 50% of the samples and the condition is classified as a moderate, medium and serious deficiency if such concentrations are found in more than 50, more than 80 and more than 90% of the samples, respectively.

The Bourdoux's method of classification of iodine intake was used in our experiment in the herd LOS in which the iodine status was investigated in dairy cows fed unsupplemented or iodine-supplemented rations. The cows fed the supplemented ration received 52 ng of potassium iodide, or 40 mg iodine, per 1 kg concentrate. This method was further used for the assessment of the iodine status in dairy cows in ten selected herds, as well as in the basic experiments carried out in the facilities of this institute.

RESULTS

Urinary iodine concentrations in the investigated set of 672 dairy cows and their classification in terms of the obtained values were as follows:

Urinary iodine (µg per L)	n	%
≤20	185	27.5
20-50	165	24.6
50-100	113	16.8
>100	209	31.1
Total	672	100.0

The distribution of urinary iodine findings in terms of Bourdoux's classification were as follows:

Urinary iodine (µ per L)	n	%
≤20	185	27.5
≤50	350	52.1
≤100	463	68.9
>100	209	31.1

In this set ($n = 672$), moderate iodine deficiency and normal iodine intake were found in 68.9 and 31.1% of the dairy cows, respectively.

Urinary iodine concentrations at the time of the maximum milk yield (up to post-calving Day 60) and immediately before drying off were compared in a subset of 422 cows. No significant effects of the milk yield on the urinary iodine concentrations were demonstrable.

Group	n	Iodine (µg per L)	
		\bar{x}	s
Up to post-calving Day 60	300	94.8 ± 96.5	
Before drying off	122	82.3 ± 89.3	

Urinary iodine concentration in dairy cows ($n = 672$) was lower during the summer period (1st May to 31st October) than during the winter period (1st November to 30th April), but the difference was nonsignificant.

Ration	n	Iodine (µg per L)	
		\bar{x}	s
Summer	267	92.5 ± 109.0	
Winter	405	79.2 ± 74.9	

Urinary iodine concentrations (µg per L) in control dairy cows (C) and dairy cows ($n = 87$) fed a ration supplemented with potassium iodide (E) are given in the following table:

	LOS C	LOS E
n	41	46
\bar{x}	52.3 ^a	316.2 ^b
s	83.3	139.5
min.	0.01	64.0
max.	292.0	581.5

The difference between the values with the same superscripts was highly significant ($P < 0.01$).

In terms of Bourdoux's (1993) classification of iodine intake, based on the concentration of urinary iodine, the intake was normal in all cows of the group fed the

supplemented ration (LOS E), while a medium deficit was found in the control group (LOS C).

Urinary iodine (µg per L)	Control group LOS C		Experimental group LOS E	
≤20	23	56.0	0	0.0
≤50	9	78.0	0	0.0
≤100	2	82.9	2	4.3
>100	7	17.1	44	95.7
Total	41	100.0	46	100.0

No significant differences in urinary iodine concentrations were found between the postparturient and the drying off periods in the control (LOS C) and the experimental (LOS E) groups. On the other hand, the between-group differences were highly significant in both periods.

Group/Period	n	Urinary iodine (µg per L)	
		\bar{x}	s
LOS C			
Up to post-calving Day 60	21	45.8 ^a ± 75.5	
Before drying off	7	40.8 ^b ± 80.3	
LOS E			
Up to post-calving Day 60	21	299.5 ^a ± 125.2	
Before drying off	9	283.5 ^b ± 171.0	

Differences between the values with the same superscripts were highly significant ($P < 0.01$).

More than 25 dairy cows were examined in each of 10 selected herds to assess the iodine supply. The results are shown in Tab. I.

In terms of the ISSIDD classification (1993), the supply was normal in three herds (D.DUB, DYJ, POD) and moderate, medium and serious iodine deficiencies were diagnosed in two (SVĚ), one (NÍŽ) and four (D.ŘED, HRA, ROŽ, UHŘ) herds, respectively (Tab. II).

DISCUSSION

Determination of the urinary iodine concentration is currently the most reliable method of assessing the intake of this element (Bourdoux, 1993). The method recommended by the International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders (DeLange et al., 1993) and applied in human populations was chosen to assess the iodine status in dairy cows in the Czech Republic. Our results have confirmed the fact that unsupplemented rations consisting of only natural components do not ensure the desirable concentration of urinary iodine.

Within our set of 672 dairy cows, moderate iodine deficiency was found in 68.9% and normal iodine intake in 31.1% of animals. As shown in Tab. I, individual herds could be classified with different categories, however. Thus, serious iodine deficiency was diagnosed

I. Percentages of animals in terms of urinary iodine concentrations in selected herds ($n \geq 25$ in each herd)

Herd	n	Urinary iodine ($\mu\text{g per L}$)			
		<20	20-50	50-100	>100
D. ŘED	27	37.0	44.5	18.5	0.0
D. DUB	42	0.0	2.4	11.9	85.7
DYJ	57	8.8	10.5	1.8	78.9
HRA	37	27.0	37.9	27.0	8.1
NÍŽ	51	17.6	41.2	27.5	13.7
OLB	44	36.4	15.9	22.7	25.0
POD	52	11.5	11.5	21.2	55.8
ROŽ	40	90.0	10.0	0.0	0.0
SVĚ	48	18.8	43.7	16.7	20.8
UHR	25	56.0	16.0	28.0	0.0

II. Evaluation of iodine status in selected herds in terms of Bourdoux's (1993) classification

Herd	n	Urinary iodine ($\mu\text{g per L}$)				Iodine status*
		≤ 20	≤ 50	≤ 100	> 100	
D. ŘED	27	37.0	81.5	100.0	0.0	S
D. DUB	42	0.0	2.4	14.3	85.7	N
DYJ	57	8.8	19.3	21.1	78.9	N
HRA	37	27.0	64.9	91.9	8.1	S
NÍŽ	51	17.6	58.8	86.3	13.7	Me
OLB	44	36.4	52.3	75.0	25.0	Mo
POD	52	11.5	23.0	44.2	55.8	Mo
ROŽ	40	90.0	100.0	0.0	0.0	S
SVĚ	48	56.0	72.0	100.0	0.0	S

* S = serious deficiency; Me = medium deficiency; Mo = moderate deficiency; N = normal intake

in four herds. Special attention should be paid to herds showing a higher degree of iodine deficiency.

The information of iodine supply in a given human population can be obtained by examining 50 to

Man

A set of 50-100 individuals is recommended

The set includes both sexes

Wide diversity of the origin and composition of food sources

Amount of strumigenic food components and intake periods are rather limited in the major part of the population

Intake of further strumigenic factors

Iodine excretion with milk is limited to a short breast feeding period

100 randomly collected urine samples (Bourdoux, 1993). The following specific differences should be considered when investigating dairy cow populations:

Dairy cow

The optimal number of individuals is sought-regarding the nutrition and water sources and the limitation to females, 25 will probably be enough

The set includes only adult females

Uniform rations fed over prolonged periods – most of feeds are produced in the environs of the herd site

Seasonal variations in the intake of strumigenic feeds; the intake may be prolonged and strumigenic feeds may constitute a considerable part of the ration.

Intake of further strumigenic factors

Iodine excretion with milk is prolonged and dependent on the stage of the reproductive cycle repeating at approx. annual cycles

The iodine status can be significantly influenced by strumigenic substances present in the ration. Attention should be paid both to natural and to anthropogenic factors and possible synergism in their combinations. Thus, for instance, rapeseed contains not only glycosinolates known for their noxious effects, but also cumulate strumigenic nitrates, the contents of which depend on the phase of vegetation, the use of nitrogen fertilizers and weather. The effects of performance enhancement and stress associated with large scale animal husbandry should also be considered.

Acknowledgement

The authors wish to thank Mrs. E. Slezáková for her skilled technical assistance.

REFERENCES

ANONYM: Materiál České endokrinologické společnosti k potřebě zajistit přívod jodu naší populaci. 1992.
BEDNÁŘ, J. – RÖHLING, S. – VOHNOUT, S.: Příspěvek ke stanovení proteinového jodu v krevním séru. Českoslov. Farm., 13, 1964: 203–209.
BOURDOUX, P. P.: Measurement of iodine in the assessment of iodine deficiency. IDD Newsletter, 4, 1988: 8.
BOURDOUX P. P.: Biochemical evaluation of iodine status. In: DELANGE, F. et al.: Iodine deficiency in Europe. 1993: 119–124.
BULIŇSKI, R. – MARZEC, Z. – KOKTYSZ, N.: Badania zawartości jodu w mleku i produktach mlecznych. Roczn. PZH, 39, 1988: 198–202.

EBER, O. – WAWSCHINEK, O. – LANGSTEGER, W. – LIND, P. – KLIMA, G. – PETEK, W. – SCHUBERT, B.: Zur Jodversorgung in der Steiermark. Wien. Med. Wschr., 140, 1990: 241–244.
DELANGE, F. – BÜRGI, H.: Iodine deficiency disorders in Europe. Bull. W. H. O., 67, 1989: 317–325.
DELANGE, F. – DUNN, J. T. – GLINOER, D.: General comments, conclusions, and final recommendations. In: DELANGE, F. et al.: Iodine deficiency in Europe. 1993: 473–478.
FRANKE, A. A. – BRUHN, J. C. – OSLAND, R. B.: Factors affecting iodine concentration of milk of individual cows. J. Dairy Sci., 66, 1983: 997–1002.
HEMKEN, R. W.: Milk and meat iodine content: relation to human health. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 176, 1980: 1119–1121.
HUML, O.: Význam jodu u zvířat. Zemědělec, 15, 1. 1992: 5.
KIMLOVÁ, I. – PROCHÁZKOVÁ, Z.: Screening některých biochemických parametrů v příměstské populaci. Immun-assay, 3, 1993: 14.
KURSA, J. – KROUPOVÁ, V. – KRATOCHVÍL, P.: Společně proti výskytu strumy. Zemědělec 9. 2. 1994: 8.
KÜHNE, D. – WIRTH, F. – WAGNER, H.: Jodbestimmung in jodierten Fleischerzeugnissen. Fleischwirtsch., 73, 1993: 175–178.
LUCKAS, B.: Nachweis und Bestimmung von Jod in Speisesalzen durch Ionenpaar-Chromatografie. Dtsch. Lebensm. Rdsch., 82, 1986: 357–361.
PENNINGTON, J. A. T.: Iodine concentrations in US milk: variation due to time, season, and region. J. Dairy Sci., 73, 1990: 3421–3427.

Arrived 15th September 1995

Contact Address:

Doc. MVDr. Ivan Herzog, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudecova 70, 621 32 Brno, Česká republika
Tel. 05/41 32 12 41, fax 05/414 21 12 29

**Nejčerstvější informace o časopiseckých člancích
poskytuje automatizovaný systém**

Current Contents

na disketách

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna odebírá časopis „**Current Contents**“ řadu „**Agriculture, Biology and Environmental Sciences**“ a řadu „**Life Sciences**“ na disketách. Řada „**Agriculture, Biology and Environmental Sciences**“ je od roku 1994 k dispozici i s abstrakty. Obě tyto řady vycházejí 52krát ročně a zahrnují všechny významné časopisy a pokračovací sborníky z uvedených oborů.

Uložení informací z **Current Contents** na disketách umožňuje nejrozmanitější referenční služby z prakticky nejčerstvějších literárních pramenů, neboť báze dat je **doplňována každý týden** a neprodleně expedována odběratelům. V systému si lze nejen prohlížet jednotlivá čísla **Current Contents**, ale po přesném nadefinování sledovaného profilu je možné adresně vyhledávat informace, tisknout je nebo kopírovat na disketu s možností dalšího zpracování na vlastním počítači. Systém umožňuje i tisk žádank o separát apod. Kumulované vyhledávání v šesti číslech **Current Contents** najednou velice urychluje rešeršní práci.

Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojím způsobem:

- 1) Zakázkový přístup** – po vyplnění příslušného zakázkového listu (objednávky) je vhodný především pro mimopražské zájemce.

Finanční podmínky: – použití PC – 15 Kč za každou započatou půlhodinu
– odborná obsluha – 10 Kč za 10 minut práce
– vytištění rešerše – 1 Kč za 1 stranu A4
– žádanky o separát – 1 Kč za 1 kus
– poštovné + režijní poplatek 15 %

- 2) „Self-service“** – samoobslužná práce na osobním počítači v ÚZLK.

Finanční podmínky jsou obdobné. Vzhledem k tomu, že si uživatel zpracovává rešerši sám, je to maximálně úsporné. (Do kalkulace cen nezapočítáváme cenu programu a databáze **Current Contents**.)

V případě Vašeho zájmu o tyto služby se obraťte na adresu:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna

Dr. Bartošová

Slezská 7

120 56 Praha 2

Tel.: 02/25 75 41, l. 520, fax: 02/25 70 90

Na této adrese obdržíte bližší informace a získáte formuláře pro objednávku zakázkové služby. V případě „self-servisu“ je vhodné se předem telefonicky objednat. V případě zájmu je možné si objednat i průběžné sledování profilu (cena se podle složitosti zadání pohybuje čtvrtletně kolem 100 až 150 Kč).

EFFECT OF EMISSIONS FROM A MERCURY TREATING METALLURGICAL WORKS ON THE INTENSITY OF EXPERIMENTAL *FASCIOLA HEPATICA* INFECTION IN SHEEP

VPLYV IMISIÍ Z KOVOHÚT NA VÝROBU ORTUTI NA INTENZITU EXPERIMENTÁLNEJ INFEKČIE *FASCIOLA HEPATICA* U OVIEC

I. Krupicer¹, S. Velebný¹, J. Legáth²

¹Parasitological Institute, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic

²University of veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: A group of 14 improved Valashka lambs, aged 4 months, body weight 14–16 kg, were used in the experiment studying the effect of subchronic heavy metal intoxication on the course of experimental fasciolosis (*Fasciola hepatica*). The animals were divided into two groups, each of 7 lambs, 3 lambs – ewes and 4 lambs – rams. Each animal in group I was given orally for 27 days gelatinous capsules containing heavy metal emissions of the following composition: 4.5 mg Hg, 2.9 mg Pb, 147.8 mg Cu, 9.8 mg Zn, 0.9 mg Cr and 0.04 mg Cd per animal and day. Group II served as control. On Day 27, when the administration of heavy metals ceased, each animal in both groups received 250 *F. hepatica* metacercariae. The animals were sacrificed on Day 110 post infection, their liver necropsied and parenchymatous organs and muscles taken to examine the content of heavy metals. The heavy metal concentrations are presented in Tab. I. In the emission-intoxicated group, the maximum permissible reference level of mercury in the kidneys, liver and muscles was exceeded on the average by 1.94, 0.87 and 0.020 mg Hg/kg, respectively. Cu exceeded the reference level only in the liver, with 261.3 mg Cu/kg. In the kidneys and muscles, Cu was below the reference levels. An analogous situation was with Zn, Cr and Cd. The *F. hepatica* infection mean intensity in this animal group was 38.3 ± 3.01 specimens (min. 34 – max. 46 specimens). In control group, the heavy metal levels were several times lower than the reference values and the infection mean intensity was 27 ± 5.4 (min. 19 – max. 35 specimens). In subchronically intoxicated animals, the reference values for mercury were exceeded and so were partially those of copper in the parenchymatous organs and muscles. The *F. hepatica* infection mean intensity also increased, compared with control. The results have proved the negative effect of the metal emissions on the animal immune system, which was manifested by the increased infection intensity.

sheep; heavy metals; infection intensity

ABSTRAKT: Na súbore 14 jahniat vo veku štyri mesiace, plemena zošlachtená valaška, živej hmotnosti 14–16 kg, bol zisťovaný vplyv subchronickej intoxikácie imisiami ťažkých kovov na priebeh experimentálnej fasciolózy (*Fasciola hepatica*). Zvieratá boli rozdelené do dvoch skupín po sedem jahniat, v každej skupine boli tri jahničky a štyri barančeky. Prvej skupine bola individuálne, po dobu 27 dní aplikovaná perorálne v želatínových tobolkách zmes imisií ťažkých kovov v tomto zložení: 4,5 mg Hg, 2,9 mg Pb, 147,8 mg Cu, 9,8 mg Zn, 0,9 mg Cr a 0,04 mg Cd na zviera a deň. Druhá skupina slúžila ako kontrola. Na 27 deň, v deň skončenia aplikácie ťažkých kovov, bolo oboj skupinám zvierat individuálne podané po 250 metacerkárií *F. hepatica*. Zvieratá boli na 110. deň po infekcii usmrtené, bola vykonaná helmintologická pitva pečene, zo súčasným odberom parenchymatóznych orgánov a svaloviny na vyšetrenie obsahu ťažkých kovov. Koncentrácie kovov v parenchymatóznych orgánoch a svalovine uvádzame v tab. I, kde sme v skupine ktorej boli podávané imisie, zaznamenali prekročenie maximálne prípustných (referenčných) hodnôt ortuti v obličkách priemerne 1,94 mg Hg/kg, v pečeni 0,87 mg Hg/kg a v svalovine 0,020 mg Hg/kg. U Cu sme zaznamenali prekročenie referenčných hodnôt len v pečeni 261,3 mg-Cu/kg, v obličkách a svalovine bolo množstvo Cu pod referenčnými hodnotami. Obdobne tomu bolo i u Zn, Cr, Cd. Priemerná intenzita infekcie *F. hepatica* bola u tejto skupiny zvierat $38,3 \pm 3,01$ (min. 34, max. 46 exemplárov). V kontrolnej skupine zvierat, boli hodnoty ťažkých kovov niekoľkonásobne nižšie ako referenčné hodnoty a priemerná intenzita infekcie bola $27 \pm 5,4$ (min. 19, max. 35 exemplárov). Pri subchronickej intoxikácii bolo zaznamenané prekročenie referenčných hodnôt ortuti a čiastočne medi v parenchymatóznych orgánoch a svalovine oviec, zo súčasným zvýšením priemernej intenzity infekcie *F. hepatica* v porovnaní s kontrolou. Výsledky potvrdzujú negatívny vplyv imisií kovov na imunitný systém zvierat, čo sa prejavilo zvýšenou intenzitou infekcie.

ovce; ťažké kovy; intenzita infekcie

Negatívne antropogénne vplyvy na vonkajšie prostredie, chemický priemysel, metalurgia, priemyselne hnojivá pesticídy a iné spôsobujú kumuláciu ťažkých kovov v organizmoch, hlavne voľne žijúcich zvierat a domácich prežúvavcov. Tieto hospodárske zvieratá sú dôležitou súčasťou potravinového reťazca, preto je potrebné sledovať obsah ťažkých kovov v tkanivách a orgánoch zvierat a to nielen vzhľadom k možným imunopatologickým zmenám a intoxikáciám, ale i z hľadiska potencionálneho ohrozenia zdravia človeka. Toxicita kovov závisí od ich chemickej zlúčeniny, druhu zvierat, dávky a od dĺžky pôsobenia na organizmus zvierat (Underwood, 1977; Páv a Márová, 1988; Krupicer a Peško, 1992; Borošková a i., 1993; Krupicer, 1995). Z imisíí sú najčastejšie intoxikácie, ortuťou, olovom a kadmiumom.

Zlúčeniny ortuti patria medzi toxikologicky najvýznamnejšie kontaminanty životného prostredia. Vysoké koncentrácie ortuti vo vonkajšom prostredí zvyšujú riziko poškodenia fyziologických funkcií organizmov (Trump a i., 1966; Ramel, 1969; Bencko a i., 1984; Bukovjan a i., 1991, 1992 a iní). Na možnú interakciu intoxikácie a iných negatívnych vplyvov imisíí kovov poukazujú Krupicer a Peško (1992), Krupicer (1995), ktorí zistili zvýšenú prevalenciu a priemernú intenzitu infekcie pasienkových helmintov oviec v imisnej oblasti ťažkých kovov s dominanciou ortuti.

Na overenie tejto skutočnosti sme zisťovali vplyv subchronickej intoxikácie imisiami kovov z oblasti závodu na výrobu ortuti na priebeh experimentálnej fasciolózy (*F. hepatica*) u oviec.

MATERIÁL A METÓDY

Do experimentu bolo zaradených 14 jahniat vo veku štyroch mesiacov, plemena zošlachtená valaška o živej hmotnosti 14 až 16 kg a krmené podľa ČSN 46 70 70. Voda bola podávaná *ad libitum*. Zvieratá boli rozdelené do dvoch skupín po sedem jahniat, z toho tri jahničky a štyri barančeky. Prvej skupine bola individuálne, po dobu 27 dní, aplikovaná perorálne v želatínových toboľkách zmes imisíí ťažkých kovov v tomto zložení: 4,5 mg Hg, 2,92 mg Pb, 147,8 mg Cu, 9,8 mg Zn, 0,90 mg Cr a 0,04 mg Cd na zviera. (Množstvo imisíí bolo stanovené z 1 000 mg trávnaťého porastu, nachádzajúceho sa 1 000 m od metalurgického závodu. Zistené množstvo bolo podávané individuálne denne pokusným zvieratám.) Druhá skupina slúžila ako kontrola, bez podávania imisíí.

Na 27. deň, v deň skončenia aplikácií imisíí kovov, bolo obom skupinám individuálne podané po 250 metacerkárií *F. hepatica* na zviera.

Zvieratá boli na 110. deň po infekcii usmrtené, bola vykonaná helmintologická pitva pečene. Súčasne boli odobraté vzorky parenchymatóznych orgánov a svaloviny

na vyšetrenie obsahu ťažkých kovov. Množstvo ortuti v odobratých vzorkách biologického materiálu bolo stanovené metódou atómovej absorpčnej spektrofotometrie na jednoúčelovom analyzátore TMA 24 (fy Tesla Praha-Holešovice) a ostatných uvedených kovov na Varian Spekt. AA 30 P. Koncentrácie Hg a ostatných sledovaných kovov boli vyjadrené na 1 kg čerstvo analyzovaného tkaniva.

Referenčné hodnoty (maximálne prípustné hodnoty) boli určované podľa Hygienických predpisov č. 69, sv. 61/1986 (Smernice o cudzorodých látkach v požívatinách). Pre nami sledované platia v parenchymatóznych orgánoch respektíve svalovine tieto hodnoty (v mg na kg hmotnosti): Hg 0,1 resp. 0,01; Pb 1,0 resp. 0,5; Cd 0,5 resp. 0,05; Cu 60 resp. 5,0; Zn 80 resp. 50; Cr 0,5 resp. 0,2.

VÝSLEDKY

Koncentráciu kovov v parenchymatóznych orgánoch a svalovine jahniat po odporazení, na 110. deň po infekcii metacerkáriami *F. hepatica* uvádzame v tab. I. Najvyššie koncentrácie Hg a Cu sme zistili v parenchymatóznych orgánoch, menej v svalovine. Obsah Hg klesal v poradí obličky – pečeň – svalovina. Priemerné hodnoty Hg boli v obličkách $1,943 \pm 0,090$ mg/kg, v pečeni $0,873 \pm 0,071$ mg/kg a svalovine $0,020 \pm 0,008$ mg/kg. Zistené hodnoty v obličkách, pečeni a čiastočne svalovine viacnásobne prekročovali referenčné hodnoty. Koncentračný spád u Cu postupoval v poradí pečeň, obličky a svalovina. Referenčné hodnoty obsahu medi boli prekročené len v pečeni ($261,271 \pm 63,28$ mg/kg). V obličkách a svalovine boli množstvá Cu nižšie ako referenčné hodnoty. U Pb, Zn, Cr a Cd boli namerané množstvá nižšie ako referenčné hodnoty, len u Cr v svalovine bolo zaznamenané mierne prekročenie referenčných hodnôt. Priemerné hodnoty intenzity infekcie trematódom *F. hepatica* boli po uplynutí prepatentnej periódy na 110. deň po infekcii $38,3 \pm 3,01$ (min. 34, max. 46 exemplárov).

V kontrolnej skupine zvierat, ktorej neboli podávané emisie, boli hodnoty ťažkých kovov niekoľkonásobne nižšie ako referenčné hodnoty, len u Zn sa približovali hodnotám zisteným v pokusnej skupine: pečeň 23,6 resp. 22,8 mg/kg, obličky 18,8 resp. 20,1 mg/kg, svalovina 30,1 resp. 23,2 mg/kg.

Obsah kovov v krmivách bol niekoľkonásobne nižší ako referenčné hodnoty, resp. bol pod hranicou záchytnosti prístrojov.

Priemerné hodnoty infekcie trematódom *F. hepatica* boli v kontrolnej skupine $27 \pm 5,4$ exemplárov (min. 19, max. 35 exemplárov).

DISKUSIA

Bol sledovaný vplyv imisíí kovov na priebeh experimentálnej infekcie trematódom *F. hepatica* u jahniat.

Kov ¹	Orgán ²	\bar{x}	\pm SD	Min.	Max.
Hg	pečeň ³	0,873	0,071	0,73	0,97
	obličky ⁴	1,943	0,090	1,80	2,10
	svalovina ⁵	0,020	0,008	0,01	0,03
Pb	pečeň	0,387	0,217	0,26	0,38
	obličky	0,526	0,167	0,36	0,51
	svalovina	0,343	0,129	0,10	0,41
Cu	pečeň	261,271	63,283	180,41	384,12
	obličky	5,000	1,557	3,0	6,21
	svalovina	1,257	0,661	0,4	2,51
Zn	pečeň	28,643	4,193	21,6	36,14
	obličky	18,757	1,640	16,1	21,61
	svalovina	30,114	7,883	20,4	37,81
Cr	pečeň	0,144	0,028	0,10	0,18
	obličky	0,247	0,049	0,18	0,34
	svalovina	0,238	0,054	0,19	0,31
Cd	pečeň	0,347	0,053	0,28	0,41
	obličky	0,393	0,139	0,26	0,51
	svalovina	0,004	0,002	0,003	0,008

¹metal, ²organ, ³liver, ⁴kidneys, ⁵muscles

Podávanie imisii kovov s prekročením maximálnych prípustných hodnôt ortuti a čiastočne medi, spôsobilo zvýšenie priemernej intenzity infekcie *F. hepatica* u jahniat. Bolo to pravdepodobne spôsobené porušením obranyschopnosti organizmu jahniat. Na imunosupresívne pôsobenie imisii ťažkých kovov poukazuje Harvan (1990), ktorý uvádza, že imisie ťažkých kovov atakujú jednotlivé obranné zložky, ktoré sú zodpovedné za udržiavanie homeostázy v organizme.

Borošková a i. (1993), Krupicer a Borošková (1994) podávali imisie ťažkých kovov s prekročením referenčných hodnôt ortuti morčatám a zisťovali po experimentálnej nákuze intenzitu infekcie *Ascaris suum* v pľúcach nešpecifického hostiteľa. Uvádzajú až 8-násobné zvýšenie priemernej intenzity infekcie *A. suum* u morčiat v porovnaní s kontrolnou skupinou. Krupicer a Peťko (1992) na základe ovoskopického vyšetrenia oviec v oblasti s imisným spádom ortuti zistili zvýšenú prevalenciu väčšiny pasienkových helmintov oviec v porovnaní so skupinami oviec pochádzajúcich s oblasti mimo emisného spádu ortuti.

Tieto údaje potvrdil Krupicer (1995), ktorý na základe pitevných analýz oviec v imisnej oblasti ťažkých kovov s prekročením referenčných hodnôt ortuti zistil zvýšenú prevalenciu a intenzitu infekcie väčšiny pasienkových helmintov.

V našom experimente sme zistili zvýšenú intenzitu infekcie u jahniat pri subchronickej intoxikácii imisiami ťažkých kovov s prekročením referenčných hodnôt ortuti a čiastočne medi. Zvýšenie intenzity infekcie v porovnaní s kontrolou (38,3–27 exemplárov) nebolo

tak signifikantné, ako pri väčšine gastrointestinálnych nematódov oviec v imisnej oblasti (Krupicer, 1995), alebo pri experimentálnej infekcii morčiat *Ascaris suum* (Borošková a i., 1993; Krupicer a Borošková, 1994). Môžeme však predpokladať, že voči toxickému prejavu, v našom prípade Hg, pôsobia i účinky esenciálnych mikroelementov Cu a Zn, ktoré pri vyššom obsahu ortuti túto potláčajú a čiastočne vytesňujú z organizmu (Aoi a i., 1985). Ďalej je potrebné vziať do úvahy i zložitý mechanizmus migrácie juvenilných štádií tohto trematóda.

Prezentované výsledky poukazujú na skutočnosť, že imisie ťažkých kovov s prekročením referenčných hodnôt ortuti a čiastočne medi negatívne vplyvajú na imunitný mechanizmus oviec, čo sa v našom prípade prejavilo zvýšenou intenzitou infekcie trematódom *F. hepatica* u imisne zatažených zvierat.

Poďakovanie

Autori ďakujú MVDr. K. Babičkovi, CSc. z Jílového u Prahy za poskytnutie metacerkárií *Fasciola hepatica*.

LITERATÚRA

AOI, T. – HIGUGHI, I. – KIDOKORO, R. – FUKUMURA, R. – YAGI, A. – OHGUCHI, S. – SASA, A. – HAYHASI, H. – SAKOMOTO, N. – HANAICHI, T.: An association of

- mercury with selenium in anorganic mercury intoxication. *Human. Toxicol.*, 1985: 637–642.
- BENCKO, V. – CIKRT, M. – LENER, J.: Toxické kovy v pracovnom a životnom prostredí človeka. Praha, Avicenum 1984: 1–264.
- BOROŠKOVÁ, Z. – BENKOVÁ, M. – ŠOLTÝS, J. – KRUPICER, I. – ŠIMO, K.: Effects of heavy metals imission on the cellular immunity of Guinea pigs with experimental ascariosis. *Vet. Parasit.*, 47, 1993: 245–251.
- BUKOVJAN, K. – PÁV, J. – KARPENKO, A.: Zjišťování reziduí chemických prvků v orgánech a svalovině srnčí zvěře. *Folia Venat.*, 21, 1991: 67–74.
- BUKOVJAN, K. – BUKOVJANOVÁ, E. – ŠEBESTA, J. – BRYČKOVÁ, E.: Obsahy vybraných těžkých kovů v orgánech a svalovině volně žijících zajíců polních (*Lepus europaeus* Pall.) z oblasti východních Čech. *Folia Venat.*, 22, 1992: 101–112.
- HARVAN, M.: Imunomodulácia ťažkými kovmi a PCB. In: Zbor. Ref. Zdravie zvierat, biotechnické a biotechnologické metódy intenzifikácie produkcie. 18.–20. september, Košice, 1990: 23–24.
- KRUPICER, I.: Vplyv imisii ťažkých kovov s dominanciou ortuti na priebeh pasienkových helmintóz oviec. *Vet. Med. – Czech*, 40, 1995: 11–15.
- KRUPICER, I. – PETKO, B.: Pasienkové helmintózy oviec v imisnej oblasti závodu na výrobu ortuti. In: Zbor. Abstr. Aktuálna problematika v diagnostike, prevencii a terapii vnútorných chorôb prežúvavcov. 3.–4. jún, Košice, 1992: 67.
- KRUPICER, I. – BOROŠKOVÁ, Z.: Vplyv imisii ťažkých kovov s dominanciou ortuti na priebeh experimentálnej infekcie *Ascaris suum* u morčiat. In: Zbor. Ref. Ekológia a veterinárna medicína. 24.–25. máj, Košice, 1994: 145–148.
- PÁV, J. – MÁROVÁ, M.: Výskyt olova, kadmia a rtuti v orgánech a svalovině zajíců. *Folia Venat.*, 18, 1988: 151–167.
- RAMEL, C.: Genetic effects of organic mercury compounds I. Cytological investigation on *Allium* roots. *Hereditas*, 61, 1969: 208–230.
- TRUMP, B. F. – GOLDBLATT, P. J. – STOWEL, R. C.: Studies on necrosis of mouse liver *in vitro*: Ultrastructural alternations in the mitochondria hepatic parenchymal cells. *Lab. Invest.*, 14, 1966: 343–371.
- UNDERWOOD, E. J.: Trace Elements in Human and Animal Nutrition. New York, San Francisco, London, Academic Press 1977: 95–99.

Došlo 9. 10. 1995

Kontaktná adresa:

MVDr. Ivan Krupicer, CSc., Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/633 14 11–13, fax 095/314 14

TESTS OF ANNUAL IMMUNITY IN FOXES AFTER ORAL IMMUNIZATION AGAINST RABIES

OVĚŘENÍ ROČNÍ IMUNITY U LIŠEK PO ORÁLNÍ IMUNIZACI PROTI VZTEKLINĚ

V. Vrzal¹, O. Matouch²

¹*Bioveta, s.r.o., Ivanovice in Haná, Czech Republic*

²*State Veterinary Institute, Liberec, Czech Republic*

ABSTRACT: Ten young foxes were orally immunized with a „Rabies vaccine for oral immunization of foxes – LYSVULPEN por. a.u.v.“, batch 69 10 93, commercially manufactured by the company Bioveta, s.r.o. at Ivanovice in Haná. The vaccine contained $1.8 \times 10^{7.5}$ TKID₅₀ of rabies vaccination virus, strain SAD-Bern, in a vaccination dose. Three foxes were used as control animals without vaccination. Blood samples were taken before the beginning of the experiment in all test foxes, and then in three-month intervals. The last blood samples were taken just before the beginning of a challenge experiment and two months after challenge in the foxes that survived. A challenge test was done in all foxes (vaccinated and nonvaccinated ones) a year after single oral immunization against rabies. Challenge virus was prepared from the salivary gland of a naturally infected fox living in the territory of the Czech Republic. Street virus was applied to each fox *i.m.* to a great depth to both masticatory muscles (*musculus masseter*) at a total dose of 10,000 MICLD₅₀. The experimental animals were 60 days under observation. Tab. I shows the titers of virus-neutralizing rabies antibodies after oral immunization against rabies in all experimental foxes. Except fox no. 8, the formation of specific virus-neutralizing rabies antibodies was recorded in all animals after they had eaten vaccination baits. The antibodies were detected throughout the whole year of observation. Tab. II shows the results of challenge test. Out of the nine vaccinated foxes (fox no. 9 died before infection) only fox no. 8 died from rabies, the other treated foxes were protected from rabies (89% rate of protection). Tab. III presents the results of laboratory examination. Tetracycline was demonstrated in all treated foxes (a vaccination proof). Death due to rabies was demonstrated in control animals without vaccination and in fox no. 8. The results achieved in the Czech Republic for oral immunization of foxes against rabies with the vaccination strain SAD-Bern document very good efficacy of the vaccine manufactured by the company Bioveta, s.r.o., in Ivanovice in Haná since 1992. Oral immunization largely improved the infection situation in the Czech Republic. A total of 1,501 cases of rabies infection were recorded at the start of vaccination in 1989 while it was only 221 cases in 1994 (a decrease in the number of foci by 85%).

fox; rabies; oral immunization; challenge

ABSTRAKT: V pokusu na liškách obecných byla ověřena účinnost Vakcíny proti vzteklině k orální imunizaci lišek – Lysvulpen por. a.u.v., komerčně vyráběná v Biovetě, s. r. o. Ivanovice na Hané (Česká republika), při použití švýcarského kmene SAD-Bern. Bylo zjištěno, že za jeden rok po jednorázovém příjmu návnad bylo protektivně chráněno osm z devíti (89 %) vakcinovaných lišek. V čelenžním testu bylo použito $10^{4.0}$ MICLD₅₀ uličního viru vztekliny, aplikovaného každé lišce intramuskulárně. Všechny tři nevakcinované kontrolní lišky uhynuly v pozorovací době na vzteklinu. Vakcinovaná liška, která uhynula při čelenži, si nevytvořila specifické protilátky. Ostatní vakcinované lišky měly detekovatelné protilátky po celou dobu pokusu.

liška obecná; vzteklina; orální imunizace; čelenž

ÚVOD

Orální imunizace lišek proti vzteklině je velmi efektivní metodou boje proti této nebezpečné nemoci. V České republice orální vakcinace lišek započala v roce 1989 v západních Čechách a postupně se rozšířila na celé území státu. Od roku 1992 se používá výhradně Vakcína proti vzteklině k orální imunizaci lišek – Lysvulpen por. a.u.v., komerčně vyráběná v Biovetě,

s. r. o. Ivanovice na Hané, při použití švýcarského vakcinačního kmene SAD-Bern. Vhodnost vakcinačního kmene SAD-Bern pro účely orální imunizace lišek byla dokonale ověřena v laboratorních i terénních podmínkách (S t e c k a j., 1982). Rozsáhlé ověřování proběhlo i před registrací imunobiologického přípravku s tímto kmenem v České republice (D e d e k a j., 1992). Součástí tohoto ověřování bylo i laboratorní stanovení imunogenních a protektivních schopností na cílovém

druhu zvířat – lišce obecné (V r z a l a j., 1993). V dalších pokusech bylo provedeno ověření jednoleté imunity po jednorázové aplikaci vakcíny Lysvulpen por. a.u.v. liškám. Tento pokus měl za cíl prakticky stanovit procento protekčně chráněných lišek za jeden rok po jednorázovém příjmu vakcinačních návnad. Dosažené výsledky nebyly dosud publikovány a jsou obsahem tohoto sdělení.

MATERIÁL A METODA

Pokusná zvířata

V pokuse bylo použito 13 lišek obecných (*Vulpes vulpes*) z několika jarních vrhů ve věku asi šest měsíců. Lišky nebyly před zahájením pokusu vakcinovány proti vzteklině. Pro stanovení titru antirabických protilátek a titrace viru vztekliny bylo použito laboratorních myší z vlastního chovu Biovety, s. r. o. Ivanovice na Hané, o hmotnosti 10–12 g, obojího pohlaví.

Použitá vakcína

V pokuse byla použita Vakcína proti vzteklině k orální imunizaci lišek – Lysvulpen por. a.u.v., šarže 69 10 93, komerčně vyrobená v Biovetě, s. r. o. Ivanovice na Hané. Vakcína obsahovala v 1 ml $10^{7,5}$ TKID₅₀ viru vztekliny kmene SAD-Bern. Při titraci na myších byla dosažena hodnota $10^{5,37}$ MICLD₅₀/0,03 ml.

Imunizace

Vakcína proti vzteklině k orální imunizaci lišek byla podána 10 liškám (č. 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11), tři lišky (č. 12, 13, 14) sloužily jako nevakcinovaná kontrolní zvířata. Návnady byly předloženy liškám samostatně chovaným ve voliérách o rozměrech 2,5 x 2,5 m položením na betonovou podlahu. Návnady byly položeny do voliér v odpoledních hodinách, příjem návnad byl kontrolován druhý den ráno. Příznakem požití návnad liškou byly nalezené deformované plastikoaluminové tobolky v jednotlivých voliérách.

Odběry krve

Krev byla ode všech lišek zařazených do ověřování odebrána před zahájením pokusu (0 – iniciální odběr) a pak u vakcinovaných lišek jednou za tři měsíce. Poslední odběr byl uskutečněn opět ode všech lišek těsně před zahájením čelenžního pokusu. Poslední odběr u přeživších lišek byl uskutečněn dva měsíce po čelenži.

Krev byla odebrána z *vena saphena* a získané sérum bylo skladováno v mrazicím pultu při teplotě -20°C až do doby vyšetření.

Sérologické vyšetření

Titr protilátek v sérech byl stanoven virusneutralizačním testem na myších shodným s metodou, kterou

popsal A t a n a s i u (1973). Séra byla ředěna 5x, 25x, 125x a 625x. Do reakce bylo použito 20–50 MICLD₅₀ viru vztekliny kmene CVS. Titr protilátek byl vypočten metodou podle R e e d a a M u e n c h a (1938).

Čelenžní test

Zátěžová infekce byla provedena u všech vakcinovaných lišek (mimo č. 9 – úhyň před infekcí) a v všech kontrolních nevakcinovaných lišek za jeden rok po orální imunizaci proti vzteklině. Čelenžní virus vztekliny byl připraven jako 20% suspenze slinné žlázy přirozeně infikované lišky obecné z území České republiky (příprava v SVÚ Liberec). Virus byl aplikován každému zvířeti hluboko *i. m.* do obou zvykacích svalů (*musculus masseter*) v dávce 1 ml. Celková čelenžní dávka pro lišku byla 10 000 MICLD₅₀ uličního viru vztekliny. Čelenžované lišky byly sledovány po dobu 60 dní.

Průkaz viru

Mozky a slinné žlázy všech lišek, vakcinovaných i nevakcinovaných, zařazených do čelenžního testu, byly po jejich úhynu či utracení po uplynutí sledovací doby vyšetřeny na přítomnost vzteklinového antigenu imunofluorescencí vyšetřením (D e a n a A b e l s e t h, 1973).

Průkaz tetracyklinu

Tetracyklin (průkaz příjmu vakcinační návnady liškou) byl prokazován ve výbrusech kostí dolní čelisti fluorescenční metodou (C a p t, 1981) u všech lišek zařazených do ověřování.

VÝSLEDKY

Titry antirabických protilátek po orální imunizaci proti vzteklině jsou u všech lišek uvedeny v tab. I. Z tabulky je patrné, že mimo lišku č. 8 došlo u všech lišek po požití vakcinačních návnad k tvorbě specifických virusneutralizačních antirabických protilátek. Tyto protilátky byly zjišťovány po celou dobu jednoletého ověřování po příjmu návnad. Po provedení čelenžní uličním virem vztekliny došlo u všech pokusných lišek k vzestupu titru antirabických protilátek.

Výsledky čelenžních testů u všech lišek zařazených do ověřování jsou uvedeny v tab. II. V čelenžním pokusu došlo k úhynu všech tří nevakcinovaných kontrolních lišek na vzteklinu. Z devíti vakcinovaných lišek uhynula na vzteklinu pouze liška č. 8, ostatní vakcinované lišky byly chráněny před tímto onemocněním (89% chráněnost).

Výsledky laboratorního vyšetření jsou uvedeny v tab. III. U všech vakcinovaných lišek byl prokázán tetracyklin, lišky kontrolní nevakcinované byly na tetracyklin negativní. U všech kontrolních nevakcinovaných lišek a vakcinované lišky č. 8 bylo prokázáno

Orální imunizace ¹	Liška, číslo ²	Odběry krve/titry protilátek ³					
		0 – iniciální (říjen 1993) ⁴	za 3 měsíce (leden 1994) ⁵	za 6 měsíců (duben 1994) ⁶	za 9 měsíců (červenec 1994) ⁷	za 12 měsíců (říjen 1994) ⁸	za 2 měsíce po čelenží (prosinec 1994) ⁹
Říjen 1993 ¹⁰	1	0	25	25	8	8	35
	2	0	87	74	21	20	40
	4	0	125	125	85	60	125
	5	0	12	9	5	5	9
	6	0	25	15	15	10	18
	7	0	85	81	61	50	120
	8	0	0	0	0	0	úhyn**
	9	0	90	130	115	úhyn*	–
	10	0	30	30	25	12	22
	11	0	40	155	110	85	90
	Nevakcinované kontroly ¹¹	12	0	–	–	–	0
13		0	–	–	–	0	úhyn**
14		0	–	–	–	0	úhyn**

* = úhyn před čelenží, vzteklina neprokázána – death before challenge, no rabies proof

** = úhyn po čelenží, vzteklina prokázána – death after challenge, rabies proof

¹oral immunization, ²fox no., ³blood samples/antibody titers, ⁴0 - initial (October 1993), ⁵in 3 months (January 1994), ⁶in 6 months (April 1994), ⁷in 9 months (July 1994), ⁸in 12 months (October 1994), ⁹in 2 months after challenge (December 1994), ¹⁰October 1993, ¹¹untreated controls.

onemocnění vzteklinou imunofluorescenčním vyšetřením mozku a slinných žláz.

Vyšetření monoklonálními protilátkami prokázalo ve všech případech vztekliny u lišek uliční virus vztekliny.

DISKUSE

Účinnost orální imunizace lišek proti vzteklině je založena na proniknutí vakcinačního viru vztekliny do orální dutiny, jeho penetraci přes sliznici dutiny ústní do přilehlých tkání s následnou protilátkovou odpovědí a vznikem protekční imunity zvířete. Efektivnost této metody popsala řada autorů (Baer aj., 1971; Schneider a Cox, 1983; Wandeler, 1991).

Výsledky našeho pokusu ukázaly dobrou protekční účinnost vakcíny s kmenem SAD-Bern, kdy za jeden rok po jednorázovém příjmu návnad bylo osm z devíti vakcinovaných lišek chráněno proti čelenží uličním virem vztekliny. Procento chráněnosti lišek v námi prováděném experimentu je vyšší, než udávají autoři obdobných ověřování s jinými vakcinačními kmeny viru vztekliny (Artois aj., 1993; Švrček aj., 1995).

Dosažené výsledky potvrzují přímou závislost mezi tvorbou specifických virusneutralizačních protilátek a protekcí proti vzteklině. Jsou však známy i případy, kdy vakcinovaná zvířata bez detekovatelných antirabických protilátek přestála čelenžní test při současném úhynu nevakcinovaných kontrol (Bunn, 1987). Liška č. 8 prokazatelně přijala vakcinační návnadu (deformovaný vakcinační blistr, stanovení tetracyklinu v kos-

tech), přesto však u tohoto jedince nedošlo k tvorbě specifických virusneutralizačních antirabických protilátek a liška uhynula při kontrolní čelenžní zkoušce. V tomto případě se může jednat o nedostatečný příjem (rozkousání) vlastního vakcinačního blistru a tím snížení efektu orální vakcinace, nebo o zvíře se sníženou imunitní schopností. Takové případy v souvislosti s onemocněním vakcinovaných zvířat na vzteklinu popsali Blancou aj. (1983).

Na účinnost orálních vakcín proti vzteklině z hlediska mechanismu vzniku imunity má největší vliv stupeň atenuace a titr (množství) vakcinačního kmene vztekliny ve vakcinační dávce. Vzhledem k použití živých orálních antirabických vakcín pro extrémně vnímavý cílový druh zvířat – lišky obecné, musí být atenuace kmene dokonale ověřena a dále kontrolována. V průběhu vakcinačních kampaní (jaro 1992 až jaro 1995) bylo v České republice celkem použito 4 700 000 vakcinačních návnad s kmenem SAD-Bern. Všechny terénní izoláty případů vztekliny za toto období byly identifikovány pomocí monoklonálních protilátek nepřímým imunofluorescenčním testem. Výsledky vyšetření prokázaly, že u všech izolátů se jednalo o uliční virus evropského typu. V žádném případě se nevyskytl případ infekce vakcinačním virem.

Výslednou účinnost vakcíny v terénních podmínkách ovlivňuje i řada dalších faktorů. Jde zejména o atraktivnost návnad pro lišky obecné a teplotní stabilitu vakcinačního viru.

V důsledku orální imunizace došlo v České republice k výraznému zlepšení nákazové situace. Při zahájení

II. Výsledek čelenžního testu u lišek za 12 měsíců po imunizaci – The result of challenge test in foxes in 12 months after immunization

Čelenž ¹	Liška číslo ²	Pozorovací doba (dny) ³																																								Výsledek pokusu ⁴													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40		41–60												
17. 10. 1994 MICLD ₅₀ = 10 000	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	přežití ⁵									
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	přežití						
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	přežití					
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	přežití					
	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	přežití					
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	přežití					
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	přežití					
	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	úhyn ⁶				
	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	přežití				
	Kontroly ⁷																																																						
	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	úhyn		
	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	úhyn	
	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	úhyn

¹challenge, ²fox no., ³time of observation (days), ⁴result of test, ⁵survival, ⁶death, ⁷controls

III. Výsledky průkazu vzteklinového viru a tetracyklinu u pokusných lišek – The results of rabies virus and tetracycline proof in experimental foxes

Liška, číslo ¹		Imunofluorescenční vyšetření na rabies ⁴		Stanovení tetracyklinu ⁷
		mozek ⁵	slinná žláza ⁶	
Vakcinované ²	1	–	–	+
	2	–	–	+
	4	–	–	+
	5	–	–	+
	6	–	–	+
	7	–	–	+
	8	+	+	+
	10	–	–	+
	11	–	–	+
	Kontroly ³	12	+	+
13		+	+	–
14		+	+	–

¹ fox no., ² vaccinated, ³ control, ⁴ immunofluorescence examination for rabies, ⁵ brain, ⁶ salivary gland, ⁷ tetracycline determination

vakcinace v roce 1989 bylo registrováno 1 501 případů vztekliny, v roce 1994 to bylo jen 221 případů (snížení ohnisek o 85 %) – Matouch (1995).

Výsledky dosažené v České republice s orální imunizací lišek proti vzteklině s vakcinačním kmenem SAD-Bern svědčí o splnění základních parametrů kladených na tento druh veterinárního imunobiologického přípravku.

LITERATURA

ARTOIS, M. – MASSON, E. – BARRAT, J. – AUBERT, M. F. A.: Efficacy of three oral rabies vaccine-baits in the red fox: a comparison. *Vet. Microbiol.*, 38, 1993: 167–172.
 ATANASIU, P.: Quantitative assay and potency test of anti-rabies serum and immunoglobulin. In: *Lab. Techn. Rabies*, Geneva, WHO 1973: 314–318.

Kontaktní adresa:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc., Bioveta, s. r. o., Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Česká republika
 Tel. 0507/933 21–4, fax 0507/932 94

BAER, G. M. – ABELSETH, M. K. – DEBBIE, J. G.: Oral vaccination of foxes against rabies. *Amer. J. Epidemiol.*, 93, 1971: 487.

BLANCOU, J. – FIRON, J. P. – ROLLIN, P. E.: Défaute de réaction immunitaire du chien après vaccination contra la rage. *Rec. Méd. Vét.*, 159, 1983: 789–793.

BUNN, T. O.: Rabies virus. In: MAX, J. Appel: *Virus infections of carnivores*. 1987: 287–295.

CAPT, S.: Köderversuche beim Rotfuchs (*Vulpes vulpes* L.). *Lizentiatsarbeit phil. nat.*, Bern University 1981. 90 s.

DEAN, D. J. – ABELSETH, M. K.: The fluorescent antibody test. In: *Lab. Tech. Rabies*, Geneva, WHO 1973: 73–84.

DEDEK, L. – MATOUCH, O. – VRZAL, V. – KAPPELER, A.: Vakcína proti vzteklině k orální imunizaci lišek. [Závěrečná zpráva.] Ivanovice na Hané, Bioveta s. r. o., 1992. 23 s.
 MATOUCH, O.: Tlumení vztekliny lišek orální vakcinací. *Inf. Zprav.*, 1995 (1): 18–19.

REED, L. J. – MUENCH, H.: A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Amer. J. Hyg.*, 27, 1938: 493–497.
 SCHNEIDER, L. G. – COX, J. H.: Ein Feldversuch zur oralen Immunisierung von Füchsen gegen Tollwut in der Bundesrepublik Deutschland. *Tierärztl. Umsch.*, 5, 1983: 315–324.

STECK, F. – WANDELER, A. – BICHSEL, P. – CAPT, S. – HÄFLIGER, U. – SCHNEIDER, L.: Oral immunization of foxes against rabies. *Laboratory and field studies*. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 5, 1982: 165–171.

ŠVRČEK, Š. – ĎUROVE, A. – ONDREJKA, R. – ZÁVAĐOVÁ, J. – ŠŮLIOVÁ, J. – BENÍŠEK, Z. – VRTIAK, O. J. – FEKETOVOVÁ, J. – MAĐAR, M.: Immunogenic and antigenic activity of an experimental oral rabies vaccine prepared from the strain Vnukovo-32/107. *Vet. Med. – Czech*, 40, 1995: 87–96.

VRZAL, V. – DEDEK, L. – MATOUCH, O. – KAPPELER, A.: Imunogenní a protekční schopnosti vakcíny proti vzteklině k orální imunizaci lišek. *Veterinářství*, 43, 1993: 374–376.

WANDELER, A.: Oral immunization of wildlife. In: BAER, G. M. (ed.): *The Natural History of Rabies*. 2nd ed. Boca Raton, CRC Press 1991: 485–503.

Došlo 30. 8. 1995

INZERCE

Redakce časopisu nabízí tuzemským i zahraničním firmám možnost inzerce na stránkách časopisu VETERINÁRNÍ MEDICÍNA. Prostřednictvím inzerátů uveřejňovaných v našem časopise budou o Vašich výrobcích informováni pracovníci z výzkumu a provozu u nás i v zahraničí.

Bližší informace získáte na adrese:

Redakce časopisu VETERINÁRNÍ MEDICÍNA
k rukám ing. Z. Radošové
Ústav zemědělských a potravinářských informací
Slezská 7
120 56 P r a h a 2

ADVERTISEMENT

The Editors of the journal offer to the Czech as well as foreign firms the possibility of advertising on pages of the VETERINÁRNÍ MEDICÍNA (Animal Production) journal. Through your adverts published in our journal, the specialists both from the field of research and production will be informed about your products.

For more detailed information, please contact:

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA
attn. ing. Zdeňka Radošová
Ústav zemědělských a potravinářských informací
Slezská 7
120 56 P r a h a 2

THE EFFECT OF SILYMARIN ON CONCENTRATION AND TOTAL CONTENT OF NUCLEIC ACIDS IN TISSUES OF CONTINUOUSLY IRRADIATED RATS

VPLYV SILYMARINU NA KONCENTRÁCIU A CELKOVÝ OBSAH NUKLEOVÝCH KYSELÍN V TKANIVÁCH KONTINUÁLNE OŽAROVANÝCH POTKANOV

H. Haková, E. Mišúrová, K. Kropáčová

P. J. Šafárik University, Faculty of Sciences, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: The effect of the hepatoprotective drug silymarin (Flavobion) on the radiation injury of rats continuously irradiated with gamma rays (^{60}Co) was studied. The rats were irradiated during 14 days by the dose rates of 0.2 and 0.6 Gy/day. In the course of irradiation the animals were treated with silymarin twice daily (70 mg/kg *p. o.* by tube). Silymarin effect was evaluated on the basis of quantitative changes of nucleic acids in the regenerating liver (after 70% hepatectomy), spleen, bone marrow and blood. Silymarin administration in the course of continuous gamma irradiation influenced beneficially the radiation-induced changes of DNA and RNA especially in the bone marrow.

silymarin; continuous irradiation; nucleic acids; rat

ABSTRAKT: Sledovali sme účinok hepatoprotektívnej látky silymarinu (Flavobion) na radiačné poškodenie potkanov kontinuálne ožarovaných gama lúčmi (^{60}Co). Zvieratá boli ožarované počas 14 dní dávkovými príkonmi – 0,2 Gy/deň a 0,6 Gy/deň. V priebehu ožarovania sme zvieratám podávali silymarin 2x denne v dávke 70 mg/kg *p. o.* sondou. Účinok silymarinu sme hodnotili na základe zmien koncentrácie a celkového obsahu RNA a DNA v regenerujúcej pečeni (po 70% hepatektómii), slezine, kostnej dreni a krvi. Zistili sme, že podávanie silymarinu počas kontinuálneho ožarovania pozitívne ovplyvnilo radiačiou vyvolané zmeny nukleových kyselín najmä v kostnej dreni.

silymarin; kontinuálne ožarovanie; nukleové kyseliny; potkan

INTRODUCTION

For the therapy of the liver diseases, silymarin is regarded to be the most frequently used agent. Silymarin represents the complex of flavonoides – silybin, silydianin and silychristin isolated from *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (Wagner et al., 1968). It renders the direct protection to hepatocytes due to its influence on the cell membranes. Silymarin stabilizes the endoplasmic reticulum and other membrane structures of the cell by moderating the lipid changes in membranes (Seeger, 1971) and decreasing efficiently the membrane permeability. In this way, it prevents the leakage of enzymes from the membrane structures (Fassati and Fassati, 1973).

It was found that prophylactic as well as therapeutic application of silymarin reduced the injury of mitochondria, endoplasmic reticulum and other cell structures being induced in the rat liver by tetrachloromethane and flyagaric toxins (Vogel and Temme, 1969). In addition to the cell membranes, silymarin

influenced the intracellular metabolism, including RNA synthesis (Haková and Mišúrová, 1993; Sonnenbichler et al., 1975). Besides the alleviation of changes caused by the chemical noxa, silymarin administration also reduced the injury caused by ionizing radiation. Peroral administration of silymarin to irradiated mice moderated the body weight reduction, increased the survival percentage and stimulated the recovery of the surviving animals (Flemming, 1971). Administration of silymarin before irradiation of rats influenced the liver regeneration after 70% hepatectomy demonstrating the proliferative activity increase and DNA and histone change reduction in the regenerating liver rest (Haková and Mišúrová, 1992; Kožurková et al., 1992; Kropáčová and Mišúrová, 1992). Silymarin administration 1 h before single wholebody irradiation also reduced the radiation changes of nucleic acids in the spleen and bone marrow (Haková and Mišúrová, 1993).

During the protracted continuous irradiation the similar changes arose as after the single one, but the

course of changes revealed some specific signs. For the haemopoietic and other proliferating tissues the initial gradual development of the injury and following steady state of the values of various parameters were characteristic. The length and the level of the steady state were dependent on the dose rate and demonstrated a kind of equilibrium between the arising injury and its recovery occurring during the continuous irradiation (Lamerton, 1966; Praslička and Chlebovský, 1976; Mišúrová et al., 1989). In the slowly proliferating liver tissue no steady state occurred as the injury accumulated in the course of the continuous or fractionated irradiation. The most of the liver injury occurred in the latent form and was detectable only after the stimulation of cells to division by the partial hepatectomy (Mišúrová et al., 1974; Kropáčová and Mišúrová, 1994).

In this experiment, we tried to find out whether the changes induced by continuous gamma irradiation can be alleviated by the treatment with silymarin.

MATERIAL AND METHODS

The white rat males of Wistar strain (SPF) from Velaz Prague (Czech Republic), weighing 350–380 g were used. The animals were kept within the standard conditions, fed the standard laboratory food and tap water *ad libitum*.

The animals were divided into 6 groups with 6–8 animals in each of them.

The rats of the first (non-irradiated) group were given silymarin during 14 days. The rats of the second and third groups were continuously irradiated by gamma rays from ^{60}Co source on the open experimental gamma field during 14 days by the daily dose rates of 0.2 Gy and 0.6 Gy (total dose 2.8 Gy and 8.4 Gy respectively). The rats of the fourth and fifth groups were given silymarin in the course of continuous irradiation by the same daily dose rates. Together with the experimental animals, the control animals kept within the similar conditions were investigated.

Silymarin (Flavobion, Czech Republic) was applied twice daily in the suspension form (70 mg/kg *p. o.* by tube).

The rats were continuously irradiated by gamma rays from ^{60}Co source on the experimental field.

Immediately after irradiation, all rats underwent 70% hepatectomy according to Higgins and Anderson (1931). The rats were investigated at the postoperation hour 30, i. e. after the first wave of synchronized DNA synthesis (Carter et al., 1956; Barbason et al., 1983) induced by the partial hepatectomy in the regenerating rest of the liver. Simultaneously with the liver the spleen, bone marrow and blood were also examined in the same animals.

The concentration and the total content of RNA and DNA were determined in the purified alkaline and acid hydrolyzates of tissue samples respectively, by spectro-

photometric measurement (Hitachi, Japan) at two wavelengths (Tsanev and Markov, 1960).

Synthesis of DNA in the blood nuclear cells was investigated after 4 h incubation (37 °C) in the EPL culture medium containing 9 kBq ^3H – methylthymidine (the specific activity 729 GBq/mmol) (Institute of Nuclear Research, Praha, Czech Republic). The erythrocytes were haemolyzed by the saponine solution in the distilled water (1 : 8 000) at the end of incubation. The activity of incorporated ^3H was determined in the samples of extracted DNA by liquid scintillation counter (Rack-Beta 1219, LKB Broma, Sweden).

The results were statistically evaluated by Peritz: *F*-test (Harper, 1984).

RESULTS

Liver

Silymarin administration induced an increase in concentration and total content of RNA and to a less extent of DNA in the regenerating rest of the liver (Fig. 1).

The continuous irradiation (0.2 Gy/day, 0.6 Gy/day) induced no changes in RNA concentration. However, RNA total content was slightly increased due to the more intensive enlargement of the mass of the regenerating liver rest comparing to non-treated rats (Tab. I). DNA concentration in the irradiated animals decreased but the total DNA content in the regenerating liver rest remained in the control value range.

The beneficial effect of silymarin manifested itself after irradiation with both dose rates in the mild, statistically non-significant increase in concentration and content of RNA and DNA as compared with the unprotected irradiated animals.

Spleen

In the spleen of non-irradiated rats, silymarin administration induced a mild increase in concentration as well as total content of both nucleic acids, however, only the increase in DNA content was statistically significant (Fig. 2).

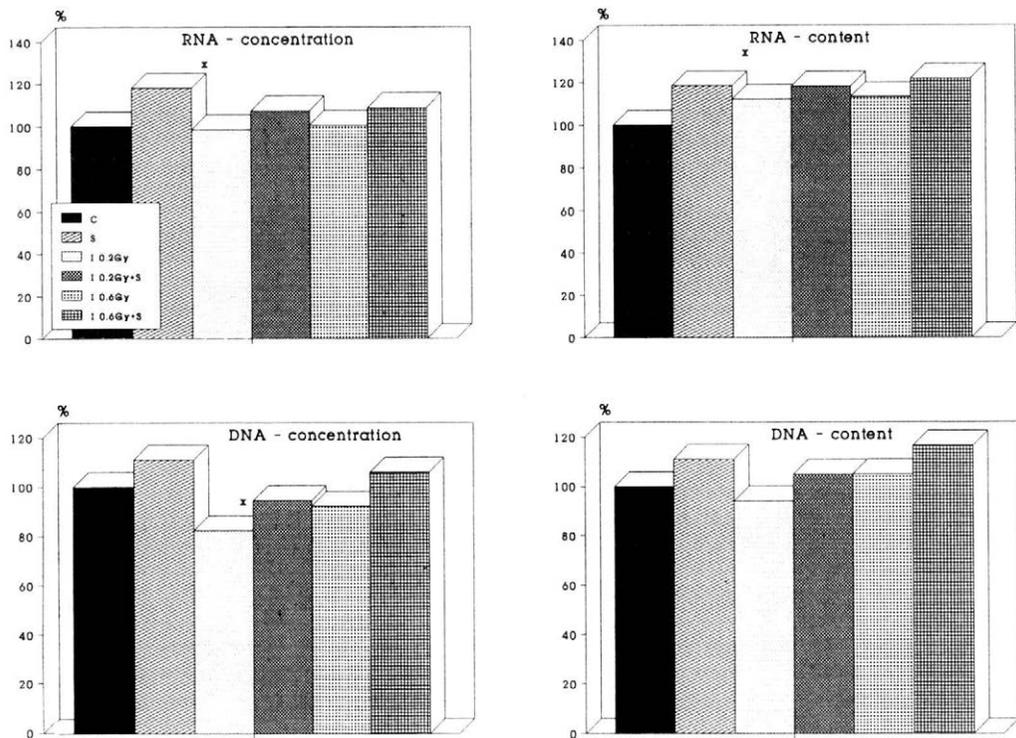
RNA concentration and content in continuously irradiated animals decreased very deeply, especially in the group of rats irradiated with the higher daily dose rate (0.6 Gy), where the RNA total content decreased to 36% of control values. Quantitative changes of DNA were less profound as compared with those of RNA.

Silymarin administration to the rats irradiated with both dose rates resulted in the moderation of nucleic acid post-irradiation loss in the spleen.

Bone marrow

In the bone marrow of unirradiated rats, silymarin administration caused an increase of RNA and DNA concentration and total content by more than 40% (Fig. 3).

L I V E R



1. The concentration and total content of RNA and DNA in the regenerating liver of rats after application of silymarin and continuous gamma irradiation (in percentage of control values):

C = 6.611 ± 0.674 mg RNA/g
 C = 0.653 ± 0.073 mg DNA/g

C = 33.452 ± 4.401 mg RNA/org
 C = 3.304 ± 0.413 mg DNA/org

Explanatory notes for Figs. 1 to 4:

C = control

I 0.2 = continuous irradiation 0.2 Gy/d

I 0.6 = continuous irradiation 0.6 Gy/d

x = $P \leq 0.05$

xx = $P \leq 0.01$ as compared with control

S = silymarin 70 mg/kg b.w. (daily twice)

I 0.2 + S = continuous irradiation 0.2 Gy/d + silymarin 70 mg/kg b.w. (daily twice)

I 0.6 + S = continuous irradiation 0.6 Gy/d + silymarin 70 mg/kg b.w. (daily twice)

o = $P \leq 0.05$

oo = $P \leq 0.01$ as compared with unprotected irradiated animals

1. Weight of the regenerating liver and femoral bone marrow of rats after application of silymarin and continuous irradiation (mean \pm SEM)

Groups	Regenerating liver (mg)	Bone marrow (mg)
C	5 060 \pm 450	42.4 \pm 3.5
S	4 920 \pm 190	43.6 \pm 2.8
I 0.2 Gy	5 920 \pm 290	34.8 \pm 2.5 ^x
I 0.2 Gy + S	5 280 \pm 240	40.7 \pm 3.2
I 0.6 Gy	5 960 \pm 180 ^x	34.7 \pm 4.5 ^x
I 0.6 Gy + S	5 540 \pm 180	39.7 \pm 3.2

Explanatory notes:

C = control

S = silymarin 70 mg/kg b.w. (daily twice)

I 0.2 = continuous irradiation 0.2 Gy/d

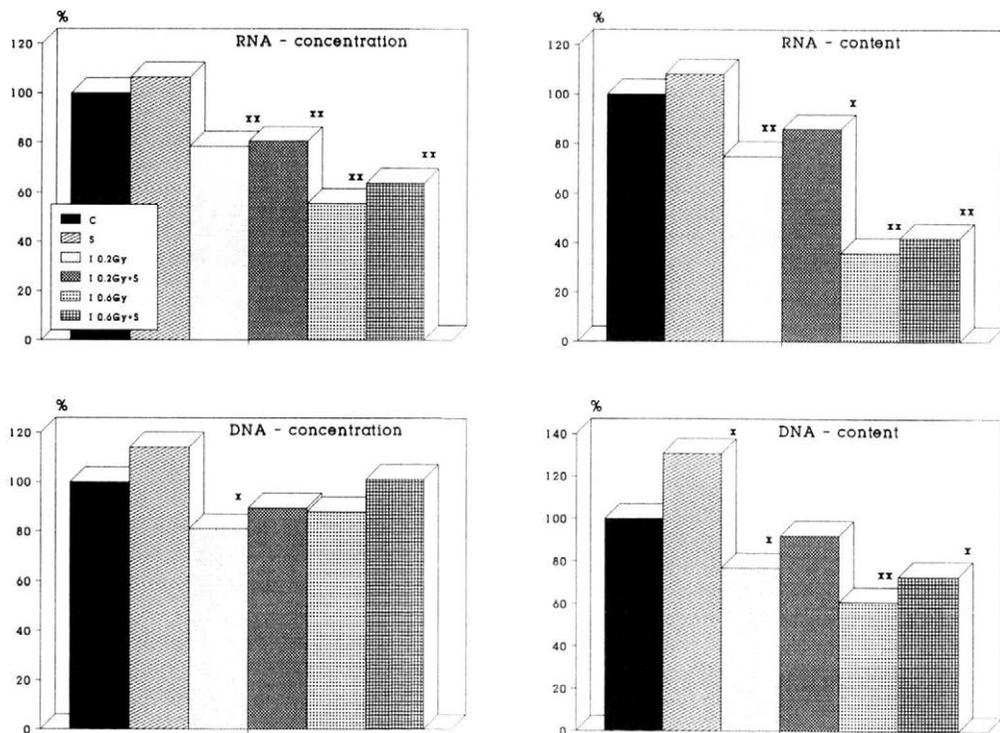
I 0.2 + S = continuous irradiation 0.2 Gy/d + silymarin 70 mg/kg b.w. (daily twice)

I 0.6 = continuous irradiation 0.6 Gy/d

I 0.6 + S = continuous irradiation 0.6 Gy/d + silymarin 70 mg/kg b.w. (daily twice)

x = $P \leq 0.05$ as compared with control

S P L E E N



2. The concentration and total content of RNA and DNA in the spleen of rats after application of silymarin and continuous gamma irradiation (in percentage of control values):

C = 12.079 ± 0.283 mg RNA/g

C = 7.363 ± 0.521 mg RNA/org

C = 4.373 ± 0.356 mg DNA/g

C = 2.666 ± 0.116 mgDNA/org

For details see Fig. 1

The effect of continuous irradiation with the both dose rates was demonstrated by the decrease in the femur bone marrow mass (expressed as a difference between the weight of femur diaphysis before and after expiration of the bone marrow) – Tab. I. The decrease in the bone marrow mass resulted in the consequent moderate decrease in the total content of the both nucleic acids.

Administration of silymarin in the course of continuous irradiation caused the increase in RNA and especially DNA concentration and total content which was statistically significant in comparison to the non-protected rats even after irradiation with the higher dose rate.

Blood

Silymarin administration did not influence the nucleic acids in the blood of non-irradiated rats (Fig. 4).

The continuous irradiation induced a decrease in DNA concentration and an increase in DNA specific

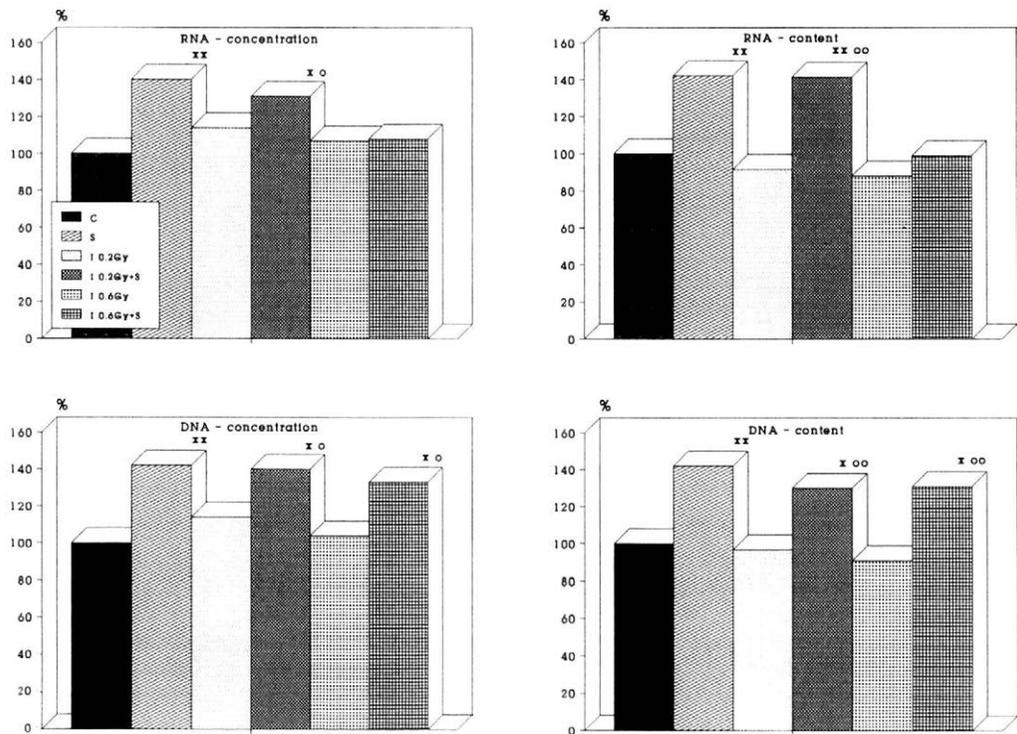
activity. After treatment with silymarin, the concentration of nucleic acids and specific activity of DNA in the rats irradiated with the dose rate of 0.6 Gy/day were higher than in non-protected ones.

DISCUSSION

Our results demonstrated the stimulating effect of silymarin on the bone marrow; the effect on other tissues including liver was less expressed. The beneficial effect of this hepatoprotective drug on the non-target haemopoietic tissues was also found in previous experiments on animals (Haková and Mišurová, 1992, 1993) and in patients treated with silymarin (Holzgartner, 1970).

Silymarin effect was demonstrated by the increase in concentration and total content of nucleic acids in the organs of the irradiated and non-irradiated animals. We believe that the silymarin effect in the irradiated animals was mainly through its antioxidative capability.

BONE MARROW



3. The concentration and total content of RNA and DNA in the bone marrow of rats after application of silymarin and continuous gamma irradiation (in percentage of control values):

C = 9.691 ± 1.238 mg RNA/g
 C = 2.950 ± 0.363 mg DNA/g

C = 0.411 ± 0.061 mg RNA/org
 C = 0.125 ± 0.016 mg DNA/org

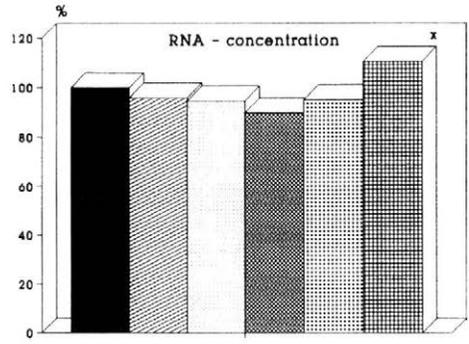
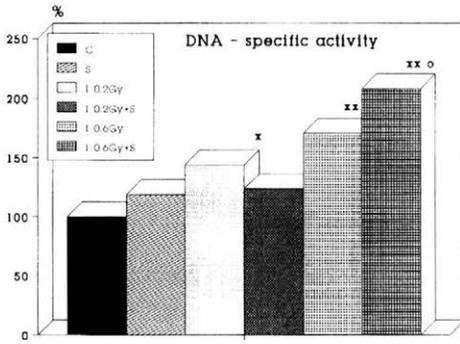
For details see Fig. 1

Free radicals, especially peroxiradicals arising in the course of irradiation, can affect the cells by interaction with the fundamental biological targets such as membrane proteins, lipids and nucleic acids. Flavonoids including silymarin can influence oxidative processes by means of metal ion chelation or by oxygen radical scavenge (Bors et al., 1992). In this way they can prevent the changes in the membrane structures and functions being the prerequisite to secure the normal metabolism and special organ activities. The antioxidant effect of silymarin is confirmed indirectly also by the fact that the radiation injury alleviation occurred in the tissues with different proliferative activity.

We suppose, however, that the effect would be less expressed if silymarin acts only as a scavenger of radicals. The increase in the content of nucleic acids after silymarin administration to unirradiated animals as well as to continuously irradiated animals suggests that the silymarin intervenes also in the cell metabolism in its central part.

The RNA changes in the spleen and partially also in the bone marrow of the irradiated animals (both silymarin protected and unprotected) were more profound as compared with the DNA changes. We believe this finding is due to the RNA loss resulting from the release of the immature forms of erythrocytes into the blood stream. Hematological, histological and biochemical examinations of the blood and blood forming tissue of the single irradiated animals (Praslička and Chlebovský, 1976; Macková and Mišurová, 1987; Kaczmarek, 1988) revealed that the premature release of the reticulocytes in the earlier stage and with the higher RNA content into the blood signaled the initiation of the regeneration of haemopoiesis. The release of the less mature blood elements with the higher RNA content into the circulation in our experiments is confirmed indirectly by the relatively higher RNA concentration as compared with DNA concentration in the blood of the irradiated and by silymarin protected or unprotected animals.

B L O O D



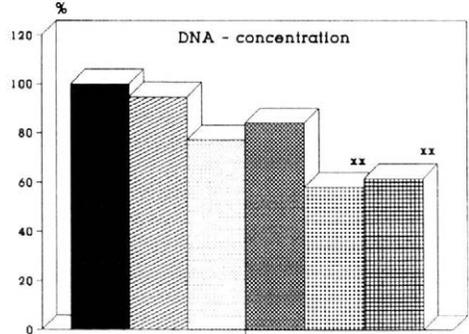
4. The concentration of RNA and DNA and specific activity of DNA in the blood of rats after application of silymarin and continuous gamma irradiation (in percentage of control values):

C = 0.211 ± 0.034 mg RNA/ml

C = 0.057 ± 0.012 mg DNA/ml

C = 1895 ± 361 ($\cdot 10^3$) DPM/mg DNA

For details see Fig. 1



REFERENCES

BARBASON, H. – RASSENFOSSE, C. – BETZ, E. H.: Promotion mechanism of phenobarbital and partial hepatectomy in DNA hepatocarcinogenesis cell kinetics effect. *Brit. J. Canc.*, **47**, 1983: 517–525.

BORS, W. – HELLER, W. – MICHEL, C. – SARAN, M.: Structural Principles of Flavonoid Antioxidants. Springer Verlag 1992: 77–95.

CARTER, D. – HOLMES, B. – MEE, L.: Cell division and nucleic acid synthesis in the regenerating liver of the rat. *Acta Radiol.*, **46**, 1956: 655–666.

FASSATI, P. – FASSATI, M.: Silymarin and some problems of current therapy of chronic hepatopathies. *Čas. Lék. Čes.*, **112**, 1973: 865–869.

FLEMMING, K.: Die therapeutische Wirkung von Silymarin bei röntgenbestrahlten Mäusen. *Arzneim. Forsch.*, **21**, 1971: 1373.

HAKOVÁ, H. – MIŠUROVÁ, E.: The effect of Flavobion on nucleic acids in tissues of rats irradiated with gamma rays. *Byull. Exp. Biol. Med.*, **113**, 1992: 275–277.

HAKOVÁ, H. – MIŠUROVÁ, E.: The effect of silymarin and gamma radiation on nucleic acids in rat organs. *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, 1993: 910–912.

HARPER, J.: Basic program of a robust multiple comparison test for statistical analysis of all differences among group means. *Comput. Biol. Med.*, **14**, 1984: 437–445.

HIGGINS, G. – ANDERSON, R.: Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch. Pathol.*, **12**, 1931: 187–202.

HOLZGARTNER, H.: Die Anwendung von Legalon in der internistischen Fachpraxis. *Therapiewoche.*, **20**, 1970: 1868.

KACZMAREK, L. – RATAJCZAK, M. – JENDRZEJCZAK, W.: Postirradiation recovery of haemopoiesis in Steel mutant mice. *Int. J. Radiat. Biol.*, **53**, 1988: 703–708.

KOŽURKOVÁ, M. – MIŠUROVÁ, E. – KROPÁČOVÁ, K. – REXA, R.: The effect of hepatoprotective preparations Thioctacid and Flavobion on histones in intact and regenerating liver in irradiated rats. *Byull. Exp. Biol. Med.*, **113**, 1992: 191–193.

KROPÁČOVÁ, K. – MIŠUROVÁ, E.: Modification of radiation-induced latent injury of rat liver by Thioctacid and Flavobion. *Bull. Exp. Biol. Med.*, **113**, 1992: 547–549.

KROPÁČOVÁ, K. – MIŠUROVÁ, E.: The effect of protracted pre-irradiation on latent liver injury induced by single acute gamma irradiation in rats. *Radiac. Biol. Radioekol.*, **34**, 1994: 251–256.

LAMERTON, L. F.: Cell proliferation under continuous irradiation. *Radiat. Res.*, **27**, 1966: 119–138.

MACKOVÁ, N. – MIŠUROVÁ, E.: Evaluation of leukocyte numbers using automated blood cell counter and by a traditional hematological method in irradiated animals. *Folia Haematol.*, **114**, 1987: 810–816.

- MISŮROVÁ, E. – KROPÁČOVÁ, K. – PRASLIČKA, M.: Über die Mitoseaktivität und die Chromosomenabnormitätenrate in der regenerierenden Leber kontinuierlich bestrahlter Ratten. *Radiobiol. Radiother.*, 15, 1974: 709–714.
- MISŮROVÁ, E. – GÁBOR, J. – KROPÁČOVÁ, K. – PADO, D.: RNA and DNA changes in the bone marrow and blood of rats after neutron and continuous gamma irradiation. *Radiobiol. Radiother.*, 30, 1989: 423–429.
- PRASLIČKA, M. – CHLEBOVSKÝ, O.: Cytological and histological changes in the spleen of continuously irradiated rats. *Folia Biol.*, 22, 1976: 125–139.
- ROSS, W. – PEEKE, J.: Radioprotection conferred by dextran sulfate given before irradiation in mice. *Exp. Hematol.*, 14, 1986: 147–155.
- SEEGER, R.: Die Wirkung von Silymarin auf die osmotische Resistenz der Erythrocyten. *Arzneim. Forsch.*, 21, 1971: 1599–1605.
- SONNENBICHLER, J. – MATTERSBERGER, J. – MACHICAO, F.: Steigerung der RNA-Synthese durch das Flavolignan Silybin aus *Silybum marianum*. *Dtsch. Apoth. Z.*, 115, 1975: 1332–1333.
- TSANEV, R. – MARKOV, G.: To the question of quantitative spectrophotometrical estimation of nucleic acid. *Biochimija*, 25, 1960: 151–159.
- VOGEL, G. – TEMME, I.: Die curative Antagonisierung des durch Phalloidin hervorgerufenen Leberschadens mit Silymarin als Modell einer antihepatotoxischen Therapie. *Arzneim. Forsch.*, 18, 1969: 613–615.
- WAGNER, H. – HÖRHAMMER, L. – MÜNSTER, R.: Zur chemie des Silymarins (Silybin), des Wirkprinzips der Früchte von *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (*Carduus marianus* L.) *Arzneim. Forsch. (Drug Res.)*, 18, 1968: 688–696.

Arrived 21st September 1995

Contact Address:

Doc. RNDr. Eva Mišúrová, CSc., Univerzita P. J. Šafárika, Prírodovedecká fakulta, Moyzesova 11, 041 67 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/622 83 10, fax 095/622 21 24



Medzinárodná zoohygienická spoločnosť
Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice
Parazitologický ústav SAV, Košice
Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice
Štátna veterinárna správa SR, Bratislava
Ministerstvo pôdohospodárstva SR, Bratislava

poriadajú

3. MEDZINÁRODNÚ VEDECKÚ KONFERENCIU

EKOLOGIA A VETERINÁRNA MEDICÍNA III.



21.–24. 5. 1996
Košice, Slovenská republika

Zameranie konferencie:

Vedecká konferencia bude zameraná na aktuálne problémy ochrany životného prostredia súvisiace s veterinárnou medicínou, zoohygienou, hygienou a epidemiológiou.

Miesto konania konferencie:

Kongresová miestnosť Ústavu experimentálnej veterinárnej medicíny,
Hlinkova 1/A, Košice

Kontaktná adresa:

MVDr. Ján Venglovský, CSc.
Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny
Hlinkova 1/A
040 01 Košice
telefón 095/63–32011, 63–320 12
fax 095/63–318 53
Email: venglov@ccsun.tuke.sk

VARIATION IN TITRATABLE ACIDITY OF YOGHURT CULTURE AFTER NaNO_3 AND NaNO_2 ADDITION

ZMENA TITRAČNEJ KYSLOSTI JOGURTOVEJ KULTÚRY PRÍDAVKOM NaNO_3 A NaNO_2

M. Baranová¹, O. Burdová¹, P. Maľa¹, P. Turek¹, I. Žežula²

¹University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

²P. J. Šafárik University, Faculty of Sciences, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: The objective of our work was to determine variations in titratable acidity of yoghurt culture RX after NaNO_3 and NaNO_2 addition to inoculated milk as well as to determine the content of sodium nitrate and sodium nitrite residues in the test samples of inoculated milk after thermostat incubation (13 °C/3.5 h) and after refrigerator storage (6 °C and 24 h). Reconstituted milk prepared from Sunar (baby milk powder) and whole milk were used to determine the variations in titratable acidity of yoghurt culture RX due to nitrate and nitrite addition. After thermal treatment (45 min at a temperature of 95 °C and cooling down to 43 °C) the milk was inoculated with 2% yoghurt culture RX and sodium nitrate or sodium nitrite was added to the inoculated milk to establish terminal concentrations 100; 50; 15; 10 and 5 mg NaNO_3 /l and 50; 10; 5; 1 and 0.5 mg NaNO_2 /l. One sample without nitrate or nitrite addition was control. After stirring, the samples were poured by 50 ml to yoghurt pots and incubated in a thermostat at a temperature of 43 °C for 3.5 hours. Titratable acidity of yoghurt culture and nitrate and nitrite residues were determined in samples taken from each concentration of sodium nitrate and sodium nitrite addition to inoculated milk and from control after incubation termination. Identical determinations were done after 6 and 24 hour storage in refrigerator at a temperature of 6 °C. Fig. 1 shows the variations in titratable acidity of yoghurt culture RX due to sodium nitrate addition. A minute decrease in yoghurt culture titratable acidity was determined after addition of 100 and 50 mg NaNO_3 /l to milk inoculated with yoghurt culture RX. On the other hand, the additions of 15; 10 and 5 mg NaNO_3 /l slightly increased yoghurt culture titratable acidity. The titratable acidity of yoghurt culture with addition of 15; 10 and 5 mg NaNO_3 /l gradually increased by 2.20; 3.88 and 4.64% after incubation termination in comparison with the titratable acidity of yoghurt culture without any addition of sodium nitrate. A decrease in the content of sodium nitrate residues was observed in all samples of milk inoculated with yoghurt culture with sodium nitrate addition (Fig 2). It was most marked in samples with addition of 100 mg NaNO_3 /l, where after 3.5 hour incubation in a thermostat at a temperature of 43 °C the content of 52.6 g NaNO_3 /kg was found out only. The content of sodium nitrate residues after 24 h storage in a refrigerator decreased to 15.23 mg NaNO_3 /kg. A decrease in yoghurt culture titratable acidity after incubation and storage termination was recorded in samples with additions of 50; 10; 5 and 1 mg NaNO_2 /l in comparison with yoghurt culture titratable acidity without any sodium nitrite addition. Addition of 50 mg NaNO_2 /l in samples of inoculated milk resulted in 26.46% inhibition of yoghurt culture titratable acidity, but the addition of 0.5 mg NaNO_2 /l led to a decrease in yoghurt culture titratable acidity by 3.26 °SH on average (Fig. 3). Fig. 4 shows the content of residual sodium nitrite in the examined milk samples inoculated with yoghurt culture RX in relation to NaNO_2 addition after termination of incubation, 6 and 24 hour storage. Similarly like in milk samples inoculated with yoghurt culture with NaNO_3 addition, the largest drop of residual nitrite content was recorded in samples with the highest concentration of NaNO_2 /l addition.

yoghurt culture; fermented milk products; fermentation activity of milk; titratable acidity; milk; nitrates; nitrites

ABSTRAKT: Cieľom našej práce bolo stanoviť zmeny titračnej kyslosti jogurtovej kultúry RX prídavkom NaNO_3 a NaNO_2 do inokulovaného mlieka, ako aj stanoviť obsah rezidui dusičnanu a dusitanu sodného v sledovaných vzorkách inokulovaného mlieka po inkubácii v termostate (43 °C/3,5 h) a skladovaní v chladničke (6 °C/6 a 24 h). Na zisťovanie zmien titračnej kyslosti jogurtovej kultúry RX prídavkom dusičnanov a dusitanov sme použili obnovené mlieko pripravené zo Sunaru ako mlieko plnotučné. Po tepelnom ošetrení (45 min pri teplote 95 °C a ochladení na 43 °C) sme mlieko inokulovali 2 % jogurtovej kultúry RX a k jednotlivým vzorkám inokulovaného mlieka sme pridali dusičnan alebo dusitan sodný tak, aby výsledné koncentrácie boli 100, 50, 15, 10 a 5 mg NaNO_3 /l a 50, 10, 5, 1 a 0,5 mg NaNO_2 /l. Jedna vzorka bez prídavku dusičnanu alebo dusitanu sodného slúžila ako kontrola. Po premiešaní, sme vzorky rozliali po 50 ml do jogurtových kelímok a inkubovali v termostate pri teplote 43 °C 3,5 hodiny. Po ukončení inkubácie sme vo vzorkách z každej koncentrácie prídavku dusičnanu a dusitanu sodného do inokulovaného mlieka a kontroly stanovili titračnú kyslosť jogurtovej kultúry a reziduá dusičnanov a dusitanov. Rovnaké stanovenia sme previedli aj po 6 a 24 h skladovania v chladničke pri teplote 6 °C. Zmeny titračnej kyslosti jogurtovej kultúry RX prídavkom dusičnanu sodného znázorňuje obr. 1. Po pridaní 100 a 50 mg

NaNO_3 /l k mlieku inokulovanému jogurtovou kultúrou RX sme zaznamenali nevýrazný pokles titračnej kyslosti jogurtovej kultúry. Prídavok 15, 10 a 5 mg NaNO_3 /l však naopak spôsobil mierne zvýšenie titračnej kyslosti jogurtovej kultúry. Titračná kyslost jogurtovej kultúry s prídavkom 15, 10 a 5 mg NaNO_3 /l po ukončení inkubácie sa zvýšila postupne o 2,20; 3,88 a 4,64 % oproti titračnej kyslosti jogurtovej kultúry bez prídavku dusičnanu sodného. Vo všetkých vzorkách mlieka inokulovaného jogurtovou kultúrou s prídavkom dusičnanu sodného sme po ukončení inkubácie a skladovania pozorovali pokles obsahu reziduí dusičnanu sodného (obr. 2). Najvýraznejšie sa to prejavilo vo vzorkách s prídavkom 100 mg NaNO_3 /l, kde po 3,5-hodinovej inkubácii v termostate pri teplote 43 °C sme stanovili len 52,6 g NaNO_3 /kg. Obsah reziduí dusičnanu sodného po 24 h skladovania v chladničke klesol na 15,23 mg NaNO_3 /kg. Pokles titračnej kyslosti jogurtovej kultúry po ukončení inkubácie a skladovania sme zaznamenali vo vzorkách s prídavkom 50, 10, 5 a 1 mg NaNO_3 /l oproti titračnej kyslosti jogurtovej kultúry bez prídavku dusitanu sodného. Prídavok 50 mg NaNO_3 /l vo vzorkách inokulovaného mlieka znamenal 26,46% inhibíciu titračnej kyslosti jogurtovej kultúry ale prídavok 0,5 mg NaNO_3 /l už spôsobil zvýšenie titračnej kyslosti jogurtovej kultúry priemerne o 3,26° SH (obr. 3). Reziduálny dusitan sodný v sledovaných vzorkách mlieka inokulovaného jogurtovou kultúrou RX v závislosti na prídavku NaNO_2 po ukončení inkubácie, 6- a 24-hodinovom skladovaní nazorňuje obr. 4. Rovnako ako vo vzorkách mlieka inokulovaného jogurtovou kultúrou s prídavkom NaNO_3 aj v tomto prípade sme najvyšší pokles v obsahu reziduálneho dusitanu zaznamenali vo vzorkách s najvyššou koncentráciou pridaného NaNO_2 /l.

jogurtová kultúra; fermentované mliečne výrobky; kysacia aktivita; titračná kyslosť; mlieko; dusičnany; dusitany

ÚVOD

Kyslomliečne výrobky majú významný dieteticko-fyziologický vplyv na zdravie človeka a z toho dôvodu majú i svoje nezapustiteľné miesto vo výžive. Zo zdravotného hľadiska baktérie mliečného kysnutia priaznivo podporujú trávenie, majú vysoký retenčný koeficient voči mnohým živinám a majú dieteticko-liečebné účinky.

Výroba fermentovaných mliečnych výrobkov je však z hľadiska požiadaviek na kvalitu suroviny jednou z najnáročnejších potravinárskych technológií, lebo je založená na biologickom procese, ktorý sa môže uskutočniť len v štandardných podmienkach.

V charakteristike kvalitatívnych ukazovateľov mlieka ako suroviny na výrobu mliečnych výrobkov prioritné postavenie zaujímajú senzorická kvalita, obsah základných zložiek a kysacia schopnosť mlieka, ktoré navzájom úzko súvisia a vzájomne sa ovplyvňujú (Herian, 1990; Larsen, 1990).

Všetky základné technologické vlastnosti mlieka – titračná kyslosť, kysacia aktivita, syriteľnosť, termostabilita, ale i ďalšie sú polyfaktoriálne vlastnosti, ktoré môžu byť ovplyvnené radom faktorov súvisiacich aj s metabolizmom, teda aj s výživou dojníc (Števnková a Sedliak, 1993).

Pre výrobu mliekárenských výrobkov, ktorých technológia spracovania mlieka závisí na výbornom raste a aktivite mliekárenských kultúr, sa ako kritérium technologickej vhodnosti mlieka sleduje jeho kysacia schopnosť (Genčúrová a i., 1992; Hanuš a i., 1993).

Hlavnou príčinou zhoršenia kysacej schopnosti mlieka je prítomnosť cudzorodých inhibičných látok, ktoré brzdia alebo úplne zastavujú rast mikroorganizmov. Nevyhnutnou požiadavkou je, aby mlieko neobsahovalo antibiotiká a chemické reziduá, látky ako sú sulfonamidy, nitrofurany, kvartérne koncentrácie soli a to dokonca i v extrémne nízkych koncentráciách, pretože tieto lát-

ky inhibujú pomnoženie baktérií (Gajdůšek a i., 1988; Herian, 1990). Nedosiahnu sa technologicky-žiaduce parametre ani organoleptické vlastnosti mliečného výrobku (titračná kyslosť, konzistencia, chuť a aróma). Z celkového počtu cudzorodých látok v mlieku zasluhujú v tejto súvislosti pozornosť aj dusičnany, dusitany a niektoré ďalšie nebielkovinné formy dusíka, vzhľadom na ich rozšírenie v životnom prostredí (Cvak a i., 1990).

Podhorský (1984) vo svojej práci uvádza, že mnoho porúch vo výrobe kysaných mliečnych výrobkov je spôsobených zvýšeným obsahom dusičnanov vo výžive dojníc a ich následnom výskyte v mlieku.

Tiež Kuhnert a Fuchs (1983), Gajdůšek a i. (1988) a Geissler a i. (1991) naznačujú možnosť inhibičného účinku čistých mliekárenských kultúr dusičnanmi, ktoré sa objavujú v mlieku v prípade zvýšeného obsahu dusičnanov v krmive a napájacej vode alebo sa dostávajú do mlieka z výplachových vôd. Brzdia rast čistých mliekárenských kultúr a môžu nepriaznivo ovplyvniť kvalitu a hygienickú nezávadnosť finálnych výrobkov.

Cieľom našej práce bolo stanoviť zmeny titračnej kyslosti jogurtovej kultúry RX prídavkom NaNO_3 a NaNO_2 do inokulovaného mlieka, ako aj stanoviť obsah reziduí dusičnanu a dusitanu sodného v sledovaných vzorkách inokulovaného mlieka po inkubácii v termostate (43 °C/ 3,5 h) a skladovaní v chladničke (6 °C/6 a 24 h).

MATERIÁL A METÓDY

Na zisťovanie zmien titračnej kyslosti jogurtovej kultúry RX prídavkom dusičnanov a dusitanov sme použili obnovené mlieko pripravené zo Sunaru ako mlieko plnotučné. Po tepelnom ošetrení – 45 min pri teplote 95 °C a ochladení na 43 °C sme mlieko inokulovali 2 % jogurtovej kultúry RX a rozliali ako jedenlitrové

vzorky do sterilných odmerných nádob. K jednotlivým vzorkám inokulovaného mlieka sme pridali dusičnan alebo dusitan sodný tak, aby výsledné koncentrácie boli 100, 50, 15, 10 a 5 mg NaNO_3/l a 50, 10, 5, 1 a 0,5 mg NaNO_2/l . Jedna vzorka bez prídavku dusičnanu alebo dusitanu sodného slúžila ako kontrola. Po premiešaní sme vzorky rozliali po 50 ml do jogurtových kelímok a inkubovali v termostate pri teplote 43 °C 3,5 hodiny.

Po ukončení inkubácie sme vo vzorkách z každej koncentrácie prídavku dusičnanu a dusitanu sodného do inokulovaného mlieka a kontroly stanovili titračnú kyslosť jogurtovej kultúry a reziduá dusičnanov a dusitanov.

Rovnaké stanovenia sme previedli aj po 6 a 24 h skladovania v chladničke pri teplote 6 °C.

Titračnú kyslosť jogurtovej kultúry sme stanovili metódou podľa Soxhlet-Henkela a vyjadrili v °SH.

Reziduá dusičnanov a dusitanov vo vzorkách mlieka inokulovaného jogurtovou kultúrou RX sme stanovili modifikovanou IDF a ISO metódou pre mlieko a mliečne výrobky (C v a k a i., 1985).

Výsledky boli spracované metódou analýzy rozptylu a regresnou analýzou pomocou programového systému Prophet firmy BBN.

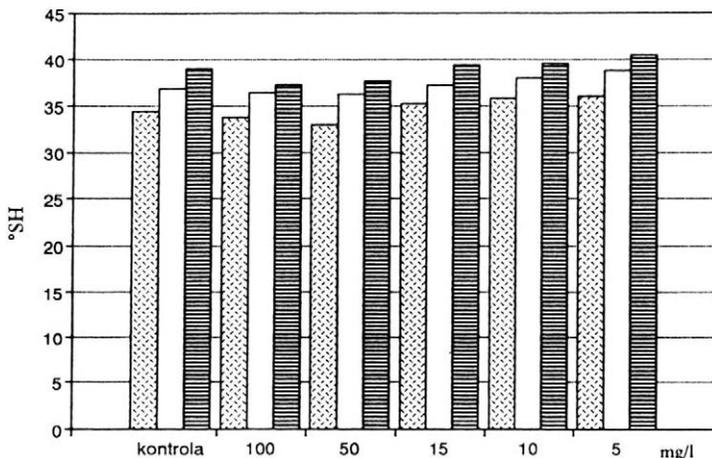
VÝSLEDKY

Zmeny titračnej kyslosti jogurtovej kultúry RX prídavkom dusičnanu sodného znázorňuje obr. 1. Po pridaní 100 a 50 mg NaNO_3/l k mlieku inokulovanému jogurtovou kultúrou RX sme zaznamenali nevýrazný pokles titračnej kyslosti jogurtovej kultúry. V porovnaní s titračnou kyslosťou vzoriek bez prídavku dusičnanu alebo dusitanu sodného, najväčšie zníženie titračnej kyslosti jogurtovej kultúry sme zaznamenali vo vzorkách s prídavkom 100 mg NaNO_3/l po 24 h skladovania v chladničke pri 6 °C. Priemerná hodnota titračnej kyslosti šiestich vyšetrených vzoriek s prídavkom

100 mg NaNO_3/l bola 37,30 °SH, čo predstavuje 4,36% zníženie oproti priemernej hodnote titračnej kyslosti vzoriek bez prídavku dusičnanu sodného, ktorá bola 39 °SH.

Prídavok 15, 10 a 5 mg NaNO_3/l však naopak spôsobil mierne zvýšenie titračnej kyslosti jogurtovej kultúry. Titračná kyslosť jogurtovej kultúry s prídavkom 15, 10 a 5 mg NaNO_3/l po ukončení inkubácie sa zvýšila postupne o 2,20; 3,88 a 4,64 % oproti titračnej kyslosti jogurtovej kultúry bez prídavku dusičnanu sodného. Najväčšie zvýšenie titračnej kyslosti sme zistili vo vzorkách s prídavkom 5 mg NaNO_3/l inokulovaného mlieka. Po 6 h skladovania v chladničke rozdiel v titračnej kyslosti jogurtovej kultúry s prídavkom 5 mg NaNO_3/l a bez prídavku dusičnanu dosiahol maximum – 5,04 %. Priemerná hodnota titračnej kyslosti bola v tomto prípade 38,76 °SH. Po 24 h skladovania tento rozdiel sa znížil na 3,58 %. Vplyv prídavkov a času bol posúdený pomocou modelu dvojitého triedenia, pričom sa zohľadnilo, že merania v rôznych časoch sa uskutočnili na rovnakých subjektoch. Vplyv prídavkov, času i ich interakcie boli vysoko významné ($p < 0,0001$), pričom sa ukazovala približne lineárna závislosť kyslosti na čase. Preto sme ďalej robili analýzu kovariancie, kde regresnou premennou bol čas. Závislosti kyslosti na čase pre rôzne hodnoty prídavku dusičnanov boli rovnobežné priamky ($p = 0,533$), a tak môžeme hovoriť o ich účinkoch nezávisle od času. Pri hodnotách 15, 10 a 5 mg NaNO_3/l bola kyslosť vyššia ako pri kontrole, pričom rozdiel medzi účinkom 10 a 15 mg nebol štatisticky významný; pri hodnotách 100 a 50 mg NaNO_3/l bola kyslosť nižšia ako pri kontrole, pričom rozdiel medzi ich účinkom tiež nebol štatisticky významný. Rozdiely oproti kontrole boli štatisticky významné (spoločná hladina všetkých porovnaní medzi skupinami bola $p = 0,05$).

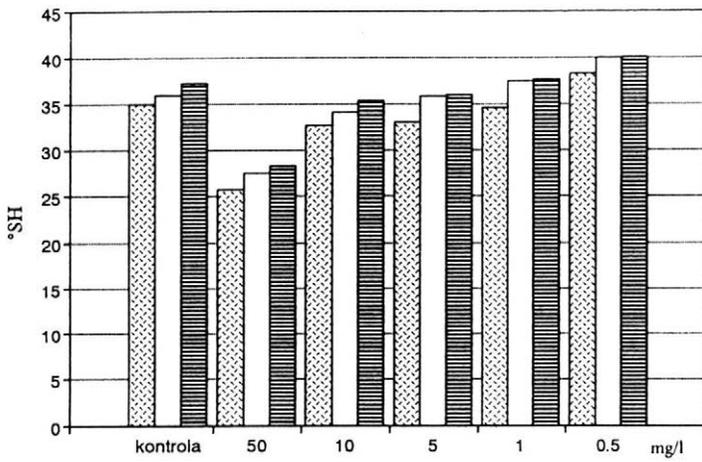
Vo všetkých vzorkách mlieka inokulovaného jogurtovou kultúrou s prídavkom dusičnanu sodného sme po ukončení inkubácie a skladovania pozorovali pokles



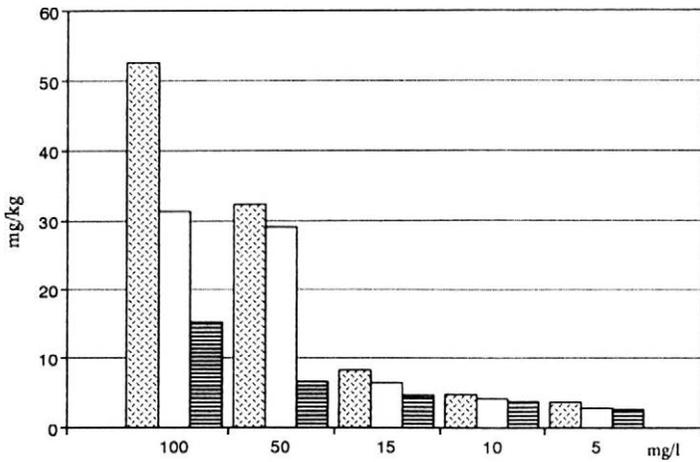
1. Zmeny titračnej kyslosti jogurtovej kultúry RX prídavkom dusičnanu sodného – Variations in titratable acidity of yoghurt culture RX after sodium nitrate addition

Vysvětlivky k obr. 1 až 4 – Explanatory notes to Figs. 1 to 4:

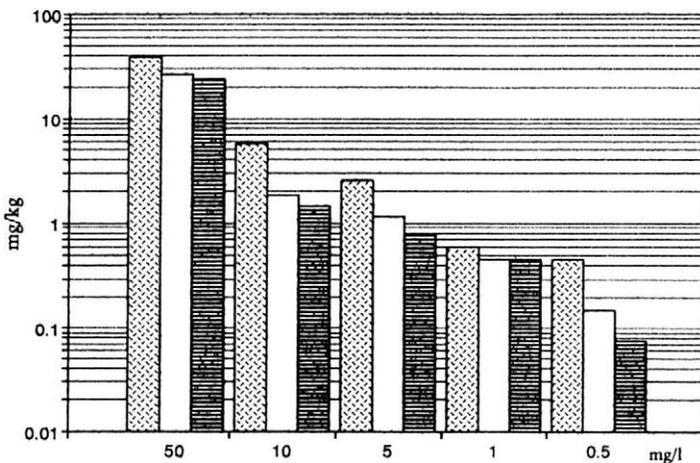
- 1 - inkubácia 3,5 h/43 °C – incubation 3.5 h/43 °C
- 2 - skladovanie 6 h/6 °C – storage 6 h/6 °C
- 3 - skladovanie 24 h/6 °C – storage 24 h/6 °C
- 4 - kontrola – control



2. Reziduá dusičnanu sodného v sledovaných vzorkách mlieka inokulovaných jogurtovou kultúrou RX – Sodium nitrate residues in the examined samples of milk inoculated with yoghurt culture RX



3. Zmeny titračnej kyslosti jogurtovej kultúry RX prídavkom dusitanu sodného – Variations in titratable acidity of yoghurt culture RX after sodium nitrite addition



4. Reziduá dusitanu sodného v sledovaných vzorkách mlieka inokulovaných jogurtovou kultúrou RX – Sodium nitrite residues in the examined samples of milk inoculated with yoghurt culture RX

obsahu reziduí dusičnanu sodného (obr. 2). Najvýraznejšie sa to prejavilo vo vzorkách s prídavkom 100 mg NaNO_3/l kde po 3,5-hodinovej inkubácii v termostate pri teplote 43°C sme stanovili len 52,6 mg NaNO_3/kg . Obsah reziduí dusičnanu sodného po 6 h skladovania v chladničke klesol na 31,39 mg NaNO_3/kg a po 24 h sme vo vzorkách stanovili 15,23 mg NaNO_3/kg .

Po 24 h skladovania obsah reziduí dusičnanu sodného u všetkých ostatných vzoriek mlieka inokulovaného jogurtovou kultúrou bol nižší ako 15 mg NaNO_3/kg . Hodnoty reziduálneho dusitanu v sledovaných vzorkách sa pohybovali do 0,3 mg NaNO_2/kg . Najlepším modelom závislosti reziduí dusičnanov na počiatocnom prídavku vzhľadom k obmedzenému počtu pozorovaní sa ukázala byť priamka prechádzajúca počiatkom so smernicou $b = 0,154$. Koefficient determinácie bol 95,3 %, čo je hodnota vysoko významná ($p < 0,0001$), svedčiaca o dobrej kvalite modelu.

Pokles titračnej kyslosti jogurtovej kultúry po ukončení inkubácie a skladovania sme zaznamenali vo vzorkách s prídavkom 50, 10, 5 a 1 mg NaNO_2/l oproti titračnej kyslosti jogurtovej kultúry bez prídavku dusitanu sodného (obr. 3). Najväčšie zníženie titračnej kyslosti jogurtovej kultúry sme zistili vo vzorkách inokulovaného mlieka s prídavkom 50 mg NaNO_2/l . Priemerná hodnota titračnej kyslosti po 3,5-hodinovej inkubácii v termostate pri teplote 43°C v tomto prípade bola 25,74 °SH, čo znamenalo 26,46% inhibíciu titračnej kyslosti jogurtovej kultúry. Rozdiel v titračnej kyslosti vzoriek s prídavkom dusitanu sodného a kontroly klesol so znižovaním prídavku dusitanu sodného. Prídavok 1 mg NaNO_2/l k inokulovanému mlieku spôsobil len 1,1% inhibíciu jogurtovej kultúry a prídavok 0,5 mg NaNO_2/l už spôsobil zvýšenie titračnej kyslosti jogurtovej kultúry priemerne o 3,26 °SH. Priemerná hodnota titračnej kyslosti šiestich vyšetrených vzoriek s prídavkom 0,5 mg NaNO_2/l po ukončení inkubácie bola 38,26 °SH. Priemerná hodnota titračnej kyslosti jogurtovej kultúry bez prídavku dusitanu po ukončení inkubácie bola 35 °SH. Použitie štatistické metódy boli rovnaké ako v prípade dusičnanov. Vplyv prídavkov, času i ich interakcie boli takisto vysoko významné ($p < 0,0001$), pričom aj tu bola závislosť kyslosti na čase približne lineárna. Pri analýze kovariancie závislosti kyslosti na čase pre rôzne hodnoty prídavku dusitanov boli opäť rovnobežné priamky ($p = 0,521$), preto aj tu môžeme hovoriť o ich účinkoch nezávisle od času. Pri hodnote 0,5 mg NaNO_2/l bola kyslosť vyššia ako pri kontrole a pri hodnotách 50, 10 a 5 mg NaNO_2/l bola kyslosť nižšia ako pri kontrole, pričom rozdiel medzi kontrolou a prídavkom 1 mg NaNO_2/l nebol štatisticky významný. Ostatné rozdiely boli štatisticky významné, pričom výrazne najväčší pokles kyslosti bol pri prídavku 50 mg NaNO_2/l (spoločná hladina všetkých porovnaní bola $p = 0,05$).

Reziduálny dusitan sodný v sledovaných vzorkách mlieka inokulovaného jogurtovou kultúrou RX v závislosti na prídavku NaNO_2 po ukončení inkubácie, 6- a 24-hodinovom skladovaní znázorňuje obr. 4. Rov-

nako ako vo vzorkách mlieka inokulovaného jogurtovou kultúrou s prídavkom NaNO_3 aj v tomto prípade sme najvyšší pokles v obsahu reziduálneho dusitanu zaznamenali vo vzorkách s najvyššou koncentráciou pridaného NaNO_2/l . Reziduálny dusitan však aj po 24-hodinovom skladovaní v chladničke pri teplote 6°C okrem vzoriek s prídavkom 0,5 NaNO_2/l bol nad povolenou hladinou 0,1 mg. NaNO_2/kg . Regresný model v tomto prípade mal smernicu priamky $b = 0,453$. Koefficient determinácie bol 97,7 %, čo je takisto hodnota vysoko významná ($p < 0,0001$).

DISKUSIA

Dnes je najpopulárnejším fermentovaným mliečnym výrobkom jogurt. Vyrába sa takmer na celom svete a sú známe rôzne miestne druhy pod rozličnými názvami (Herian, 1990; Larsen, 1990). Vo všetkých fermentovaných mliečnych výrobkoch je prítomná kyselina mliečna a je to práve ona, ktorá dáva týmto výrobkom osviežujúcu chuť a dobrú trvanlivosť. Za mliečne kvasenie v jogurte zodpovedajú dva druhy mikroorganizmov: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*. Mlieko predstavuje fermentačné médium, ktoré obsahuje všetky rastové faktory potrebné pre baktérie mliečného kvasenia.

Prvou požiadavkou, ktorá musí byť splnená pri výrobe kvalitného finálneho fermentovaného výrobku, okrem použitia aktívnych kultúrnych baktérií, je použitie mlieka vysokej kvality (Havlová a Cvak, 1990; Hylmar, 1992). Vhodnosť mlieka pre výrobu kysaných mliečnych výrobkov umožňuje posúdiť stanovenie kysacej schopnosti mlieka (Genčúrová a i., 1992; Hanuš a i., 1993).

Podľa STN 57 0529 Surové kravské mlieko na mliekárenské ošetrovanie a spracovanie, schopnosť kysnutia jogurtovou kultúrou vyjadrená metódou Soxhlet-Henkela musí byť najmenej 25 °SH. To znamená, že mlieko musí vytvárať vhodné prostredie pre rast pridaných mikroorganizmov. V mlieku teda nesmú byť prítomné žiadne prirodzené inhibičné alebo cudzorodé látky, ktoré brzdia, alebo úplne zastavujú rast mikroorganizmov.

Gajdůšek a i. (1988), Podhorský (1988), Cvak a i. (1990) a ďalší uvádzajú ako inhibičné látky, ktoré môžu byť príčinou zhoršeného kysnutia mlieka aj dusičnany a dusitanu, ktoré sa dostávajú do mlieka následkom zvýšeného obsahu dusičnanov vo výžive dojníc.

Podhorský (1984) uvádza, že dusičnany v mlieku v koncentracii 5 až 10 mg/l znižujú kysaciu schopnosť jogurtovej kultúry o 15 až 20 %, koncentrácie 20 až 30 mg/l potláčajú túto kultúru až o 50 %.

V našej práci pri sledovaní vplyvu dusičnanov a dusitanov na zmeny titračnej kyslosti jogurtovej kultúry RX sme zistili nevýraznú inhibíciu titračnej kyslosti jogurtovej kultúry po prídavku dusičnanu sodného v koncentraciách 100 a 50 mg NaNO_3/l (obr. 1). Pri nižších koncentraciách pridaného dusičnanu sodného

k mlieku inokulovanému jogurtovou kultúrou RX nastalo postupné zvýšenie titračnej kyslosti jogurtovej kultúry o 2,20; 3,88 a 4,64 %.

K l u p s c h (1988) vo svojej práci poukazuje na to, že metabolizmus termofilných baktérií mliečného kysnutia *Lactobacillus bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus* pôsobí navzájom synergicky. Integrácia metabolizmu sa prejavuje v tom, ako sa každý druh využíva a akým spôsobom prebieha ich pomnožovanie v zmesnej kultúre. Bolo dokázané, že pôsobenie lactobacilov štiepením bielkovín proteázami v buncnej stene stimuluje streptokoka a dodáva mu tak peptidy a aminokyseliny len čo sa vyčerpá v mlieku nebielkovinná dusíkatá frakcia. Bolo tiež dokázané, že *Streptococcus thermophilus* môže povzbudzovať *Lactobacillus bulgaricus* k tvorbe kyseliny mravčej v mlieku. Podobne aj H a n u š a i. (1993) pri sledovaní vzťahov medzi kysacou schopnosťou bazénového kravského mlieka, jeho zložením a obsahom niektorých metabolitov hodnotil vzťah „jogurtový test k obsahu dusičnanov“ ako nevýznamný ($p < 0,05$). Pokles obsahu dusičnanu sodného vo vzorkách po ukončení inhibície a skladovania v porovnaní s východným obsahom, ako aj nízký obsah reziduálneho dusitanu v týchto vzorkách možno spájať s mikrobiálnou redukciovou.

S t e i n k a a P r z y b y l o w s k i (1993) pri sledovaní zmien v obsahu dusičnanov v jogurte a kefire poukazujú na možnosť metabolizovania NO_x látok príslušným lactobacilom. Prídavok dusitanov k mlieku inokulovanému jogurtovou kultúrou v našom pokuse zapríčiniť pokles titračnej kyslosti jogurtovej kultúry v závislosti od zvyšujúcej sa koncentrácie prídavku NaNO_2/l , avšak aj tu došlo k výraznému poklesu reziduálneho dusitanu pôsobením mikroorganizmov. M l o d e c k i (1984) zistil, že dochádza v procese mikrobiologickej redukcie dusičnanov aj k javu amonifikácie v ktorom baktérie využívajú zredukované dusitanu ako zdroj dusíka. V prípade neprítomnosti dusitanov vo fermentovaných médiách by nemalo dôjsť k dodatočnému vytvoreniu karcinogénnych zlúčenín.

Z uvedených výsledkov je vidieť, že k výraznej inhibícii čistej mliekárenskej kultúry RX používanej k výrobe kyslomliečnych výrobkov a tým aj k zmene kvalitatívnych ukazovateľov fermentovaných mliečnych výrobkov, dochádza len pri koncentráciách dusičnanov a dusitanov, ktoré sú v bežnej praxi v mlieku nereálne, vyskytujú sa veľmi zriedka a zvyčajne sa používajú len v prípade modelových pokusov. Rovnaký názor zdieľajú aj P l e v a a i. (1992), H a n u š a i. (1993) a K o r é n e k o v á a i. (1994). Sledovania s prídavkami močoviny, dusičnanov a dusitanov do mlieka pri fermentácii jogurtovou kultúrou ukázali, že inhibícia spôsobená týmito látkami vzniká až pri vysokých, v praxi málo zachytávaných koncentráciách.

K a l b l e (1990) však konštatuje, že problematika dusičnanov a dusitanov v mliekárskom priemysle a vplyv na titračnú kyslosť je stále aktuálna, pretože dusitanu predstavujú vážne riziko ako prekursoru karcinogénnych nitrozamínov. V tejto súvislosti sa dostá-

va do popredia úloha fermentovaných mliečnych výrobkov využívajúcich čisté mliekárenské kultúry, ktoré sú schopné pôsobiť inhibične na nitrozamíny, rozkladajú ich v tráviacom trakte a svojimi účinkami pozitívne vplývajú pri nádorových ochoreniach (H o s o n o a i., 1990; J o d l a H y l m a r, 1991; P o l í v k a a i., 1993).

LITERATÚRA

- CVAK, Z. – BARTŮLÍKOVÁ, M. – ČERNÝ, I.: Stanovení obsahu dusičnanů a dusitanů v mléce a mlékářenských výrobcích z hlediska mezinárodní normalizace. Acta Hyg. Epidemiol. Mikrobiol. (Praha), 15, 1985: 24–33.
- CVAK, Z. – PAVELKA, J. – DRÁPAL, J.: Cizorodé látky a jejich vliv na hygienickou jakost a technologickou zpracovatelnost mléka a mlékářenských výrobků. Prům. Potravn., 41, 1990: 87–91.
- GAJDŮŠEK, S. – KLÍČNIK, V. – ŠEBELA, F.: Změny technologické využitelnosti mléka při subklinické mastitidě. Prům. Potravn., 14, 1988: 301–302.
- GEISLER, C. – STEINHOFEL, O. – ULBRICH, M.: Zum Nitratgehalt in der Milch. Arch. Anim. Nutr., 41, 1991: 649–656.
- GENČUROVÁ, V. – HANUŠ, O. – ŽVÁČKOVÁ, I. – GABRIEL, B.: Nálezzy inhibičních látek v mléce a jejich detekce mikrometodou In test. Veterinářství, 45, 1992: 57–61.
- HANUŠ, O. – BEBER, K. – FICNAR, J. – GENČUROVÁ, V. – GABRIEL, B. – BERANOVÁ, A.: Vztahy mezi kysací schopností bazénového kravského mléka, jeho složením a obsahem některých metabolitů. Živoč. Výr., 38, 1993: 635–644.
- HAVLOVÁ, J. – CVAK, Z.: Nové směry v metodách hodnocení syrového mléka v ČSSR. Mlék. Listy, 16, 1990: 633–635.
- HERIAN, K.: Tendencie výroby kyslomliečnych výrobkov. Prům. Potravn., 41, 1990: 79–81.
- HOSONO, A. – WARDOJO, R. – OTANI, H.: Inhibitory effects lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosamines. Agric. Biol. Chem., 54, 1990: 1639–1643.
- HYLMAR, B.: Výroba koncentrátů čistých mlékařských kultur. Potravn. Akt., Mlék. Prům., 35, 1992: 36–42.
- JODL, J. – HYLMAR, B.: Dieteticko-léčebné účinky kysaných mliečnych výrobků. Mlék. Listy, 17, 1991: 115–117.
- KALBLE, M.: The role of nitrate and nitrosamines in carcinogenesis of colon tumours following uretosigmoidostomy. Urol. Res., 18, 1990: 123–129.
- KLUPSCH, H.: Yoghurt und andere saure Milchprodukte. Dtsch. Milchwirtschaft., 39, 1988: 987–991.
- KORÉNEKOVÁ, B. – KOTFEROVÁ, J. – KORÉNEK, M.: Zisťovanie zmien titračnej kyslosti po prídavku dusitanov do mlieka s jogurtovou bakteriálnou kultúrou. Zbor. Ved. Prác ŤEVM, Košice, X, 1994: 215–222.
- KUHNERT, M. – FUCHS, V.: Zur Wirkstoffbelastung der Umwelt am Beispiel der Nitratproblematik und ihrem Einfluss auf das Nutztier und der Menschen. Mh. Vet.-Med., 38, 1983: 1–4.

LARSEN, N. E.: Production of yogurt. FL APV Pasilac As., Marketing Bull., 1990: 1–10.

MLODECKI, K.: Zagadnienia zdrowotne bakteriami *E. coli* na rozpad azotanow w czasie procesow fermentacyjnych. [Praca magisterska.] AM w Warszawie, Zaklad Bromatologii, 1984.

PLEVA, J. – BURDOVÁ, O. – BARANOVÁ, M.: Miesto a význam kyslo-mliečnych výrobkov vo výžive. Zbor. Prác Hygiena Alimentorum, XIII., Košice, 1992: 14–17.

PODHORSKÝ, M.: Prokysávací schopnosti mléka ve vztahu ke zvýšenému obsahu dusičnanů a dusitanů ve výživě dojníc. *Náš Chov*, 44, 1984: 3–4.

PODHORSKÝ, M.: Vliv zvýšeného obsahu nitrátu ve výživě dojníc na kvalitu mléka. In: Zbor. Ref. z celoslovenského

odborného seminára Kvalita nakupovaného mlieka, Žilina, VÚM 1988: 35–41.

POLÍVKA, L. – GLONČÁKOVÁ, B. – GALIS, O. – ŠKÁRKA, B.: Bifidobaktérie ako potravinárske aditívum. *Mliekárstvo*, 24, 1993: 15–20.

STEINKA, I. – PRZYBYŁOWSKI, P.: Zmiany zawartosci azotanow w jogurcie i kefirze. *Przem. Spozyw.*, 1993: 281–288.

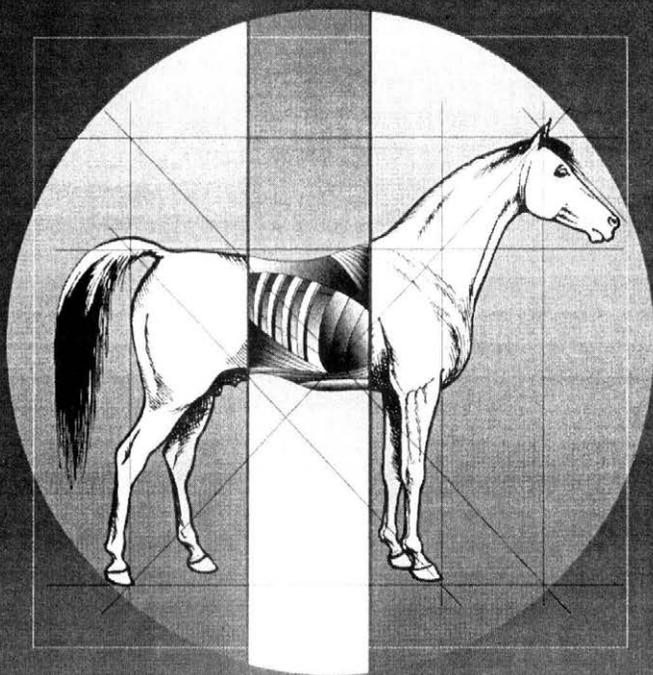
ŠTEVONKOVÁ, E. – SEDLIAK, V.: Zloženie a technologické vlastnosti mlieka získaného od dojníc pasených na poloprirodných trávnych porastoch. *Mliekárstvo*, 24, 1993: 16–19.

Došlo 13. 9. 1995

Kontaktná adresa:

RNDr. Mária Baranová, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 040 01 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/622 99 24, fax 095/76 76 75

BRNO 30.4.-4.5.1996



2. mezinárodní veterinární veletrh
2nd International Veterinary Fair
2. Internationale Veterinärmesse



**Brněnské veletrhy
a výstavy a.s.**

**VYSTAVIŠTĚ
EXHIBITION CENTRE
MESSE GELANDE**

ČESKÉ VETERINÁRNÍ PUBLIKACE VE SVĚTOVÉ INFORMAČNÍ BÁZI

Úvod

Do nedávné doby žily naše veterinární vědy novými nadějemi. Některé z nich odvál čas, jiné byly překonány, některé naplněny. Mnoho jich však bylo, a to do značné míry i vlastní vinou, promrháno a zmarněno. Náhle se objevivších možností a šancí a nebývalých, nově se otevírajících a skýtaných příležitostí nebylo využito. A tak se po prvních kontaktech a konfrontacích s realitami tržního hospodářství u nás i ve světě u mnohých pracovníků počala šířit skepse se všemi důsledky; od stesků a nářků nad nedostatkem prostředků, o něž se mnozí dodnes nedovedou kvalifikovaně ucházet, až po beznaděj. Cesta, po které jsme vykročili, je mnohem delší a klikatější, než si mnozí byli ochotni připustit. V této atmosféře úvah o nových realitách světa někteří naši účastníci soutěží a střetů počali selhávat, sami vyklízet pozice, které byli vázáni, a to nejen morálně, hájit. Nebylo dost dobré vůle, ochoty, rozhledu a mnohdy snad ani dost sil k tomu, aby se usilovně soutěžilo nejen o stále ještě dobré jméno naší veterinární vědy, ale i celého českého zvěrolékařství.

Jednou z příčin těchto výkyvů ve vědomí našich pracovníků, na jedné straně nezdůvodnitelného podceňování a na druhé nepodloženého zdůrazňování významu našich vědeckých cílů či úrovně řešení výzkumných programů a úkolů, je nepochybně i fakt, že v kritické, zlomové fázi vývoje naší veterinární medicíny nebyla provedena objektivní analýza jejího stavu, možností a perspektiv. Nebyly ani vtyčeny mety, k nimž bychom chtěli cílit. Jedním ze startovních kroků takového rozboru mělo být objektivní srovnání vlastní práce s veterinárním děním ve světě.

Úplně jsme nebyli izolováni nikdy. I někteří naši zvěrolékaři si byly vědomi toho, že pracují v neviditelném kolektivu vědců, kteří o sobě vědí, bez ohledu na státní hranice se cítují s vědomím, že i ve veterinární medicíně je pokrok nedělitelný.

To se ovšem v minulosti nerado slyšelo. I když význam mezinárodní spolupráce nikdy oficiálně popírán nebyl, byl deformován. Byly preferovány především styky se zeměmi bývalé RVHP, krátkodobé návštěvy, reciproční výměny, zčásti i společné výzkumné programy a projekty. Ke skutečným výsledkům této aktivity se přihlíželo jen málo. O jejích nositelích se rozhodovalo na základě kritérií, majících s vědeckou kvalifikací vyslaných málo společného. Direktivně se určovaly počty vzájemných výměn, počty pobytových dnů na zahraničních pracovištích i tematické okruhy, v nichž se tyto málo účinné formy vědecké kooperace realizovaly. Často nízká úroveň spolupracujících pracovišť, postihovaných obdobnými neduhy, byla pro nás někdy

spíše přítěží než přínosem. Společné vědecké publikace se zahraničními pracovníky byly proto velmi vzácné a hodnocení dosažených výsledků ve světě užívanými parametry nebylo doceňováno.

I dnešní veterinární lékařství je výsledkem globálního vědeckého úsilí. Nezná ideologické či státní bariéry. Proto je nezbytné posuzovat i u nás, pro domo, výsledky našich výzkumných zvěrolékařských pracovišť mezinárodně užívanými měřítky, ve světě uznávanými parametry.

Aplikovaný výzkum

Jednoduché a jednoznačné je hodnocení výzkumu aplikovaného. Jeho cílem je totiž zvyšování zisků. Zákazník, který si jeho výsledky objednává, je sám determinován pravidly tržního hospodářství. Objednané postupy uplatňuje, jen když jsou pro něho ziskové. Lze je tudíž měřit bezprostředními ekonomickými parametry, poměrem inputu a outputu (cost/benefit analysis). I zdraví zvířat možno interpretovat jako finanční položku, a to nejen v agrobiznisu. Ostatně výlučné pojetí veterinární péče quod ad pecuniam není ani u nás nové. Jeho pamětníci ještě žijí. A tak dnes klienti praktikujících zvěrolékařů právem předpokládají, že též aktivity naší vědecké základny podléhá zákonům trhu. Není-li tomu tak, je ignorována. Nakupuje se jinde.

Základní výzkum

Poněkud jinak je tomu u veterinárního výzkumu základního, i když jej od výzkumu užitého, jako v biomedicínských vědách obecně, lze často rozlišit jen nenasadno; pokud rozdíly existují, týkají se spíše jen časového horizontu uplatnění. Cílem badatelského, základního výzkumu je samo poznání. Směřuje tudíž do vědy samé, ukájí její vnitřní potřeby, posunuje její hranice a přetváří její jednotlivé obory tak, že z nich posléze vznikají nové.

Pres četné kritické hlasy jsou dodnes nejobvyklejší cestou šíření vědeckých informací periodika. I veterinární vědecké poznatky se zveřejněním stávají zbožím, které je marketingováno. Je nabízeno široké vědecké obci. Ta je buď využije, pomine nebo odmítne. Analýza takového počínání není snadná. V poslední době se jí věnuje mnoho pozornosti, stala se vědním oborem. Značný zájem se na ni soustřeďuje i v naší vědecké komunitě (Jirásková, 1989; Zicha a Vyskočil, 1990; Tondl, 1990).

Základní poznatky o produkci nových vědeckých poznatků z veterinárních výzkumných pracovišť, tedy

o jejich publikační aktivitě, výkonu, outputu, skýtají ve světě báze vědeckých dat, např.: AGRICOLA, AGRIS, BIOSIS (jsou dvě, americká vydává Biological Abstracts a britská Zoological Record), CAB, CA SEARCH, EMBASE, FSTA, INIS a MEDLINE. Další nově vznikají. Dnes jsou jich již tisíce.

Vydávají se i četné referátové časopisy. Patří mezi ně zejména: Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Current Awareness of Biological Sciences (CABS), Current Contents/Agriculture, Biology and Environmental Sciences (CC/ABES), Current Contents/Life Sciences (CC/LS), Focus on – Veterinary Science and MedicineTM, Index Medicus, Index Veterinarius, Quarterly Index, Research Alert^R, SciSearch^R, Small Animal Practice, Veterinary Bulletin, Veterinary Reference Service a další (Veenstra a Wright, 1990; Prosbová, 1990).

Tato činnost je v posledních letech stále efektivněji komputerovaná. Technické vybavení umožňuje přímý vstup do zmíněných informačníchází i našim veterinárním pracovištím. Cena služeb těchto institucí je však stále nemalá a velmi různá. V jakém rozsahu jsou s to naše potřeby uspokojovat však nezáleží jen na jejich velikosti a zaměření, ale i na tom, jak kvalifikovaně dovedou naši pracovníci jejich nabídku využívat.

Nejvíce vlastních zvěrolékařských titulů je excerbováno v Index Veterinarius. Zcela mimořádný význam však má i pro naše vědy mohutný komerční producent vědeckých informací na světě, Institute for Scientific Information (ISI). V sedmi řadách vydává Current Contents. Z nich jsou pracovníkům ve veterinárních vědách zvláště užitečné již zmíněné dvě, CC/ABES a CC/LS. ISI poskytuje komplex informačních služeb rychle, a to jak v tradiční (tištěné), tak v komputerované formě, na disketách. Vydává i citační rejstřík (Science Citation Index, SCI), informující o publikujících, citujících i citovaných autorech a jejich pracovištích.

Důležité je, že ISI podchycuje informace z celé oblasti věd biologických, biomedicínských, zemědělských, o životním prostředí atd., tedy nejen veterinárních. Mnoho pro zvěrolékařství významných a podnětných informací se totiž objevuje i neveterinárních publikacích. Ve výzkumu orientovaném na zdraví zvířat se proto hojně používá multidisciplinárních informačních zdrojů a naopak, zvěrolékařské časopisy jsou často citovány v literatuře biomedicínské a zemědělské. Takovýmto meziodborovým propojením připomíná naše profese některé specializace medicíny humánní, např. zubní lékařství (Garfield, 1982).

O rozsahu činnosti ISI svědčí, že do konce osmdesátých let zpracoval na 18 milionů vědeckých článků z mnoha tisíc časopisů a víc než 217 milionů citací (Garfield, 1990). V SCI bylo v první polovině osmdesátých let excerbováno i 76 periodik, pokládáných ve světě za publikační jádro veterinárních věd. V roce 1980 z nich bylo zpracováno 4 346 titulů, které představují 1,8 % veškerých zachycených publikací. Plná čtvrtina těchto titulů vyšla v pěti následujících periodících: Journal of Animal Sciences, American Jour-

nal of Veterinary Research, Veterinary Record, Journal of the American Veterinary Medical Association a v Research in Veterinary Science.

I ve veterinární medicíně se tedy uplatňuje koncentrační efekt scientometricky dokumentovaný i v jiných vědních oblastech.

V SCI byla zpracovávána i dvě česká veterinární periodika: **Chemizace a biologizace živočišné výroby – Veterinaria** (po změně titulu od roku 1991 Biopharm; nyní již nevychází) a **Veterinární medicína (Praha)**.

V nich publikovali a publikují i pracovníci dnešní fakulty veterinárního lékařství Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně (VFU) a Výzkumného ústavu veterinárního lékařství (VÚVeL) v Brně, které tvoří jádro vědecké základny českého zvěrolékařství (Holub, 1996). V letech 1970 až 1993 se pracovníci jmenovaných brněnských institucí podíleli na vědecké produkci zpracovávané v SCI 819 případně 802 (VF 381 či 364, VÚVeL 438), za rok průměrně 31 až 34 pracemi. V roce 1980 jich bylo 57, tedy 1,3 % veškeré vědecké produkce v SCI podchycené.

V průběhu let se vědecká produkce VFU a VÚVeL zachycená v SCI během posuzovaného údobí měnila (tab. I). Až do roku 1978 kolísala mezi 4 a 14 tituly za

I. Počet prací VFU a VÚVeL v Science Citation Index v letech 1970 až 1993

Rok	VFU	VÚVeL	Celkem
1970	1	4	5
1971	7	6	13
1972	0	4	4
1973	1	7	8
1974	0	11	11
1975	1	11	12
1976	0	14	14
1977	0	9	9
1978	1	12	13
1979	21	36	57
1980	25	32	57
1981	12	35	47
1982	20	30	50
1983	28	24	52
1984	40	23	63
1985	39	27	66
1986	34	27	61
1987	21	24	45
1988	31	21	52
1989	21	22	43
1990	15	8	23
1991	16	18	34
1992	22 (13)	16	38 (29)
1993	25 (17)	17	42 (34)
1994	20 (12)	20	40 (32)
Celkem	401 (376)	458	859 (834)

rok. Zřejmě to souviselo více s technikou zpracování pramenů v ISI než s vlastní produktivitou analyzovaných brněnských institucí. Od roku 1979, kdy se začalo s prezentací pracovišť ve zvláštní zeměpisné sekci SCI (Corporate Index, Geographic Section), se roční záhyt publikací zvýšil na 23 až 66. Od poloviny osmdesátých let však vykazuje prudký pokles, na méně než polovinu. Tato negativní tendence se u VÚVeL začala projevovat časněji, od začátku osmdesátých let, ale u školy byla zřejmější. V sedmdesátých letech převažovaly práce z VÚVeL. V osmdesátých letech na tom byla obě pracoviště zhruba stejně (tab. II).

II. Vzájemný podíl VFU a VÚVeL (%) na pracích zachycených v Science Citation Index v letech 1970 až 1993

Rok	VFU	VÚVeL
1970	20	80
1971	38	62
1972	0	100
1973	12	88
1974	0	100
1975	8	92
1976	0	100
1977	0	100
1978	8	92
1979	37	63
1980	44	56
1981	26	74
1982	40	60
1983	54	46
1984	63	37
1985	59	41
1986	56	44
1987	47	53
1988	60	40
1989	49	51
1990	60	40
1991	47	53
1992	58 (45)	42 (55)
1993	60 (50)	40 (50)
1994	50 (38)	50 (62)
Průměr	36 (34)	64 (66)

ISI však zpracovává i další veterinární periodika, nejen již zmíněná, pokládána za publikační jádro veterinárních věd. V roce 1980 bylo takovýchto časopisů uváděno 19 (Garfield, 1982). Nebyla sice zahrnována do SCI, ale byla zpracovávána v jiných informačních dokumentech ISI. Mezi nimi byla i **Acta veterinaria (Brno)**, která byla pokládána pro SCI za vhodná, ale z důvodů kapacitních byla zpracovávána do CC/ABES, SciSearch® a Research Alert®. Nyní jsou však do SCI zahrnuta také a od roku 1993 jsou

zachycena i ve Focus on-Veterinary Science and Medicine™, jenž pokrývá řadu vybraných zvěrolékařských periodik. Po jejich započítání stoupá podíl českých veterinárních časopisů na celkovém počtu zvěrolékařských vědeckých publikací zpracováváných ISI až na 3 %.

Zaznamenán byl i další pozoruhodný fenomén, pozorovaný i v jiných oborech, že totiž vědecká produkce brněnské veterinární báze podchycená ISI byla výsledkem tvůrčí aktivity poměrně malého počtu pracovníků. Častěji než pětkrát se za pětadvacet let v analyzovaných údajích objevuje jen kolem dvaceti jmen z VÚVeL a z VFU pouze asi tucet. Proto značnou část pracovníků těchto institucí, kterým byla propůjčena vědecká hodnost, dle světových kritérií za vědecké pracovníky pokládat nelze.

Publikační činnost

Československo patřilo v letech 1981 až 1985 mezi 36 vědecky nejproduktivnějších států. Počtem publikací evidovaných ISI (19 153) však bylo až za některými méně lidnatými zeměmi, jako Nizozemsko, Švédsko a Izrael. V bývalé RVHP je vedle dřívějšího SSSR předstihovala bývalá NDR a Polsko. Jak je zřejmé z nedávných rozborů 3 300 časopisů vybraných z více než 70 000 vědeckých periodik celého světa, je naše vědecká produkce sužována nejen lingvistickými problémy, ale i nezájmem a předsudky předních světových informačních center. V důsledku tohoto přezírání i některé naše vědecké poznatky vysoké inovační hodnoty lidstvu unikají, ztrácejí se a nevratně mizí (Gibbs, 1995).

Celý problém je násoben tím, že počet a ohlas našich publikací v průběhu osmdesátých let klesal. Byla vyslovena hypotéza, že hlavní příčinou tohoto jevu byl nedostatek mezinárodních kontaktů a spolupráce. Nasvědčuje tomu skutečnost, že země, které se otevřely světové vědě dřív, např. Maďarsko, tento nepříznivý trend překonaly časněji (Tondl, 1990).

Ústup z pole světové vědy se projevil i v našem lékařství (Schreiber, 1990). Postihl též brněnskou veterinární výzkumnou základnu (Holub, 1996). Po eliminaci skokovitého zvýšení na konci sedmdesátých let, které bylo zřejmě důsledkem změn ve zpracování dat, se počet prací zachycených ISI již zmíněným způsobem snižoval (tab. I).

Jak je patrné, analyzovaná brněnská veterinární výzkumná aglomerace zapadá do hodnocení zveřejněného v USA. Z něho vyplývá, že v bývalých komunistických zemích sice působili i brilantní vědci s vynikajícími, mezinárodně uznávanými výsledky, a odborníci velmi úspěšní při řešení domácích, lokálních inovačních problémů, ale že zhruba polovina výzkumníků těchto zemí americká kritéria vědeckých pracovníků nesplňovala (Garfield, 1991a, b).

Důsledky popisovaných negativních trendů vědecké produkce VFU a VÚVeL podchycené v pramenech

a zdrojích ISI, jsou pro naši veterinární medicínu o to závažnější, že se – až na aplikační výzkum veterinárních léků a biopreparátů – pro ni žádoucí prostor nevytvořil a že navíc snahy o rozvoj základního výzkumu ve VÚVeL byly sice v minulosti opakovaně proklamovány, ale fakticky tam byla badatelská práce vesměs jen dočasně trpěna, většinou tlumena a někdy brutálně, a to i justičně, likvidována. Na VFU pak postupná byrokratická výzkumu vedla k vědecké pseudoaktivitě malého okruhu vzájemně provázaných a zavázaných účastníků ústící v oponování výzkumných zpráv, které nepřekračovaly rámec dokumentů vyhotovovaných z administrativních důvodů a zůstávaly pouhými interními informacemi. Ke zveřejňování dosažovaných výsledků se přistupovalo tak omezeně, že převážně zůstávaly širší vědecké obci nepřístupné, do světového fondu vědy nevstupovaly a ISI nemohly být registrovány (Holub, 1996). Věc o to fatálnější, že se dnes informací ISI obecně využívá při rozhodování o uvolňování finančních prostředků na výzkumné programy.

Závěr

Vstoupili jsme do věku globální ekonomické integrace, kdy geografické hranice ztrácejí na významu. Skončila polarita supervelmocí. Vstupujeme do multipolárního světa, kdy nedostatek surovin a zdrojů či ideologická diference a skepse přestává být rozhodujícím problémem, ale stává se jím heterogennost jednotlivých členů tohoto nového světa. Globálně roste význam šíření informací, i vědeckých. Kontrola jejich toku pozbývá na striktnosti. Dosah vědecké spolupráce roste, její posuzování je stále náročnější a kritičtější.

Tyto trendy zasahují i do veterinární medicíny, od přípravy nových generací odborníků, přes orientaci vědy a jejího užití až po zaměření, organizaci a technizaci zvěrolékařské praxe. Máme-li v této globální soutěži obstát, musíme i vývoj brněnské veterinární báze změnit. Je nutné opustit cesty neplodné extenze a omezeného poručnickování, byt byly zakrývány a maskovány sebehorlivěji a sebeumněji, rozejít se s hlásáním dezinformací, byt byly odívány do sebelákových sloganů, zbavit se starých dogmat a omšelých mýtů, bořit staré administrativní bariéry a nebudovat nové, byt by vypadaly sebeatraktivněji, ale ve své podstatě byly prostoduché, naivní, s novými směry vývoje neslučitelné, a proto ve svých důsledcích záhubné. Je třeba skoncovat s marněním umenšujících se prostředků a mrháním slábnoucích sil.

Proto by bylo velmi neprozřetelné se k součinnosti s veterinárními obcemi vyspělých zemí nepřidružit. Nelze jí uhnout. Nemožno jí uniknout. Je třeba jí uvítat, pokládat za výzvu. Vyhýbat se jí a stranit by znamenalo posouvat se na periferii rozhodujícího dění ve veterinárních vědách a předem se rozhodnout pro prohru. Pak by se brněnská pracoviště na pokrocích veterinárních věd světa přestala podílet. Neplnění obecně uznávaných parametrů vědecké produktivity by i nadále dokumentovalo jejich rozklad a vedlo by k jejich přezírání. Konečným výsledkem takového destruktivního vývoje by mohlo být nanejvýš hledání alternativních řešení, pokusy o harmonický rozvoj české veterinární vědy na jiné bázi novými cestami.

LITERATURA

- GARFIELD, E.: Journal citation studies. 35. Veterinary journals: What they cite and vice versa. *Curr. Cont. ABES*, 13, 1982 (13): 5–13.
- GARFIELD, E.: How ISI select journals for coverages: Quantitative and qualitative considerations. *Curr. Cont. LS*, 33, 1990 (22): 5–13.
- GARFIELD, E.: The impact of citation Indexes on biochemists and sociologists. In: A survey by L. Hargens and H. Schuman. Part 1. Methodology. *Curr. Cont. LS*, 34, 1991a (1): 5–12.
- GARFIELD, E.: The impact of citation Indexes on biochemists and sociologists – A survey by L. Hargens and H. Schuman. Part 2. Results and conclusions: Who uses what, when, and why? *Curr. Cont. LS*, 34, 1991b (3): 5–11.
- GIBBS, W. W.: Lost science in the Third World. *Sci. Amer.*, 273, 1995 (2): 92–99.
- HOLUB, A.: Časopisy Acta veterinaria (Brno), Veterinární medicína a české veterinární vědy v letech 1960 až 1994. *Vet. Med. – Czech*, 41, 1996, v tisku
- JIRÁSKOVÁ, V.: Využívání Science Citation Index. Praha, ČSAV 1989. 39 s.
- PROSBOVÁ, M.: Veterinární bázy dat a možnosti ich sprístupňovania. *Vet. Med. (Praha)*, 35, 1990: 443–446.
- SCHREIBER, V.: Ptali jsme se. *Vesmír*, 1990 (5): 20.
- TONDL, L.: Mezinárodní vědecká spolupráce. *Bull. ČSAV*, 23, 1990: 1–4.
- VEENSTRA, R. J. – WRIGHT, J. C.: Coverage of sixty core veterinary medical journals by ten indexing and abstracting tools. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 196, 1990: 1931–1936.
- ZICHA, J. – VYSKOČIL, F.: Je možné objektivizovat úroveň základního výzkumu v Československu? *Vesmír*, 69, 1990: 644–645.

Antonín Holub, Koliště 9, 602 00 Brno

POKYNY PRO AUTORY

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem. Časopis zveřejňuje i názory, postřehy a připomínky čtenářů ve formě kurzívy, glosy, dopisu redakci, diskusního příspěvku, kritiky zásadního článku apod., ale i zkušenosti z cest do zahraničí, z porad a konferencí.

Autori jsou plně odpovědní za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce. Redakce přijímá práce imprimavou vedoucím pracovníčt nebo práce s prohlášením všech autorů, že se zveřejněním souhlasí.

Rozsah původních prací nemá přesáhnout 10 stran psaných na stroji včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI (ČSN 01 1300).

Vlastní úprava práce rukopisu má odpovídat státní normě ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojitě mezery). K rukopisu je vhodné přiložit disketu s textem práce, popř. s grafickou dokumentací pořízenou na PC s uvedením použitého programu. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

Pokud autor používá v práci zkratky jakéhokoliv druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vysvětleny (vypsány), aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratky nepoužívat.

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů a musí dát přesnou představu o obsahu práce. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

Krátký souhrn (Abstrakt) musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo v práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě.

Rozšířený souhrn prací v češtině nebo slovenštině je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 1–2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je vhodné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

Literární přehled má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému. Tato úvodní část přináší také informace, proč byla práce provedena.

Metoda se popisuje pouze tehdy, je-li původní, jinak postačuje citovat autora metody a uvádět jen případné odchylky. Ve stejné kapitole se popisuje také pokusný materiál a způsob hodnocení výsledků.

Výsledky tvoří hlavní část práce a při jejich popisu se k vyjádření kvantitativních hodnot dává přednost grafům před tabulkami. V tabulkách je třeba shrnout statistické hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostacích a výsledky se konfrontují s údaji publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, jejichž práce mají k publikované práci bližší vztah). Je přípustné spojení v jednu kapitolu spolu s výsledky.

Literatura musí odpovídat státní normě ČSN 01 0197. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu. Na práce v seznamu literatury musí být odkaz v textu.

Klíčová slova mají umožnit vyhledání práce podle sledovaných druhů zvířat, charakteristik jejich zdravotního stavu, podmínek jejich chovu, látek použitých k jejich ovlivnění apod. Jako klíčová slova není vhodné používat termíny uvedené v nadpisu práce.

Na zvláštním listě uvádí autor plně jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSC, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short or a longer summary. The journal also publishes readers' views, remarks and comments in form of a text in italics, gloss, letter to the editor, short contribution, review of a major article, etc., and also experience of stays in foreign countries, meetings and conferences.

The authors are fully responsible for the originality of their papers, for its subject and formal correctness. The authors shall make a written declaration that their papers have not been published in any other information source.

The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper. The editors accept papers approved to print by the head of the workplace or papers with all the authors' statement they approve it to print.

The extent of original papers shall not exceed ten typescript pages, including tables, figures and graphs.

Manuscript layout shall correspond to the State Standard ČSN 88 0220 (quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript). A PC diskette with the paper text or graphical documentation should be provided with the paper manuscript, indicating the used editor program. Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

The title of the paper shall not exceed 85 strokes and it should provide a clear-cut idea of the paper subject. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract. It must present information selection of the contents and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes and comprise base numerical data including statistical data.

Introduction has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form. This introductory section also provides information why the study has been undertaken.

Review of literature should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem.

Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material and the method of result evaluation.

In the section **Results**, which is the core of the paper, figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

Discussion contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited). The sections Results and Discussion may be presented as one section only.

The citations are arranged alphabetically according to the surname of the first author. **References** in the text to these citations comprise the author's name and year of publication. Only the papers cited in the text of the study shall be included in the list of references. All citations shall be referred to in the text of the paper.

Key words should make it possible to retrieve the paper on the basis of the animal species investigated, characteristics of their health, husbandry conditions, applied substances, etc. The terms used in the paper title should not be used as keywords.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code, telephone and fax number, or e-mail.

VETERINARY MEDICINE – CZECH

Volume 41, No. 4, April 1996

CONTENTS

Herzig I., Říha J., Písaříková B.: Urinary iodine level as an intake indicator in dairy cows.....	97
Krupicer I., Velebný S., Legáth J.: Effect of emissions from a mercury treating metallurgical works on the intensity of experimental <i>Fasciola hepatica</i> infection in sheep	103
Vrzal V., Matouch O.: Tests of annual immunity in foxes after oral immunization against rabies.....	107
Haková H., Mišúrová E., Kropáčová K.: The effect of silymarin on concentration and total content of nucleic acids in tissues of continuously irradiated rats.....	113
Baranová M., Burdová O., Mařa P., Turek P., Žežula I.: Variation in titratable acidity of yoghurt culture after NaNO ₃ and NaNO ₂ addition	121
INFORMATION	
Holub A.: Czech veterinary publications in a world information database.....	129

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Ročník 41, č. 4, Duben 1996

OBSAH

Herzig I., Říha J., Písaříková B.: Hladina jodu v moči dojníc – ukazatel jeho příjmu.....	97
Krupicer I., Velebný S., Legáth J.: Vplyv imisí z kovohút na výrobu ortuti na intenzitu experimentálnej infekcie <i>Fasciola hepatica</i> u oviec	103
Vrzal V., Matouch O.: Ověření roční imunity u lišek po orální imunizaci proti vzteklině	107
Haková H., Mišúrová E., Kropáčová K.: Vplyv silymarinu na koncentráciu a celkový obsah nukleových kyselín v tkanivách kontinuálne ožarovaných potkanov.....	113
Baranová M., Burdová O., Mařa P., Turek P., Žežula I.: Zmena titračnej kyslosti jogurtovej kultúry prídavkom NaNO ₃ a NaNO ₂	121
INFORMACE	
Holub A.: České veterinární publikace ve světové informační bázi	129