

SBORNÍK  
ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

1684/  
58

# Veterinární medicina

1

ROČNÍK 2-(XXX) — PRAHA, LEDEN 1957

CENA 10 Kčs

Předseda redakční rady:  
Председатель редакционного совета:  
Head of the Editorial Board:

*dopisující člen ČSAZV prof. MVDr Vincenc Jelínek*

Redakční rada:  
Редакционный совет:  
Editorial Board:

*gen. MVDr Vladimír Chládek, MVDr Eduard Zach, MVDr František Nižňanský,  
člen korespondent SAV, MVDr Jiří Boháč, MVDr Jan Hiller, MVDr Antonín  
Klauz, prof. MVDr Richard Harnach, MVDr Jaroslav Dražan, prof. Dr Karel  
Šobra*

Vedoucí redaktor:  
Старший редактор:  
The Editor-in-Chief:  
*František Němec*

NÁRODNÍ KNIHOVNA



1000931287

---

Sborník ČSAZV, řada Veterinární medicína, vychází měsíčně. Uveřejňuje výsledky vědecko-výzkumných prací a kritické přehledy o pokroku zemědělské vědy z oboru veterinární medicíny. Celoroční předplatné 120 Kčs, jednotlivá čísla 10 Kčs. Vydavatel: Československá akademie zemědělských věd. Redakce a administrace: Praha XII, Slezská 7, telefon 575-41, 577-51-5.

Сборник ЧСАСХН, серия Ветеринарная медицина выходит ежемесячно. Публикует результаты научно-исследовательских работ и критические обзоры о прогрессе сельскохозяйственной науки в области ветеринарной медицины. Годовая подписка 120 крон, отдельный номер 10 крон. Издатель: Чехословацкая академия сельскохозяйственных наук. Редакция и администрация: Прага XII, Слезска 7, телефон 575-41, 577-51-5.

The Annals of the CAAS the Series Veterinary Science appear monthly. They publish the results of the scientific and research works and critical reviews of veterinary science. The annual subscription rate 120 Kčs, single copies 10 Kčs. Publisher: The Czechoslovak Academy of Agricultural Sciences. Editorial and executive offices: Praha XII, Slezská 7, tel. num. 575-41, 577-51-5. A-10730

## Epizootická studie jihomoravského anthraxového okrsku

Эпизоотическое изучение южноморавского района, пораженного сибирской язвой

Epizootic Study of South Moravian Anthrax District

Epizootologische Studie des süd-mährischen Milzbrandgebietes

MVDr. K. PROKÚPEK

Státní vědecký veterinární ústav, Gottwaldov

Došlo dne 20. 7. 1956

### Úvod

Jihomoravský anthraxový okrsek je vymezen prostorem dolního toku řeky Moravy (úsek Otrokovice—Lanžhot), povodím říčky Olšavy a na jihovýchodě Bílými Karpatami. Zaujímá přibližně oblast okresů Uherského Hradiště, Hodonína a Uherského Brodu v jejich bývalém rozsahu.

Horní tok řeky Moravy je bystřinného rázu. Pod ústím říčky Desné vstupuje Morava do Hornomoravského úvalu, kterým protéká v délce 114 km při poměrném spádu 0,8 % až k Napajedlům, kde vstupuje do úvalu Dolnomoravského. Tímto úvalem protéká v délce 118 kilometrů o průměrném spádu 0,29 %. Malý spád je příčinou pomalého průtoku vody řečištěm, vytváření zákrutů a slepých ramen. Břehy řeky, pokud nejsou regulovány, jsou hlinité, porostlé vegetací. Hydrologické poměry řeky Moravy jsou vyjádřeny četnými měřeními ve vodočetných stanicích za řadu let. Průměrný roční průtok Moravou pod ústím Dyje ve vodočetné stanici Moravský Ján činí 116,9 m<sup>3</sup>/vteř.

Sledujeme-li v průběhu řady let kolísání vodnosti Moravy v jednotlivých ročních obdobích, poznáváme, ve shodě se všemi našimi většími toky, že v jarním období stoupá vodnost pravidelně v důsledku tání sněhu. Nejmenší vodnost vykazuje Morava na podzim.

V tabulce 1 jsou uvedeny charakteristické údaje o srážkách a odtocích v roce průměrném, abnormálně vlhkém a suchém.

Tabulka obsahuje průměrné roční objemy srážek, součinitele odtoku, udávající poměr odteklého množství vody k množství srážek a průměrný roční průtok v m<sup>3</sup>/vteř. Zvláštní pozornosti zasluhují hodnoty součinitelů odtoku, které vyjadřují nepřímo velikost ztrát výparem a vsakováním (1).

Geomorfologicky je povodí dolního toku Moravy rázu nížinného. Při pravém břehu Moravy se nížinný terén zvedá a vytváří zvlněný, pahorkatý reliéf. Obce v tomto úseku jsou ponejvíce posunuty do tohoto pahorkatého terénu. Levý



Tab. 1. Údaje o vzdušných srážkách a odtocích v povodí dolního toku Moravy  
 Табл. 1. Данные об атмосферных осадках и стоках в бассейне нижнего течения реки Моравы  
 Table 1. Data on atmospheric precipitation and run-off in river basin in lower part of Morava River  
 Tab. 1. Angaben über Niederschläge und Abflüsse im Stromgebiet des Morava-Unterlaufes

|                 | Tok                                  | Morava   |         |            |
|-----------------|--------------------------------------|----------|---------|------------|
|                 | Vodočetná stanice                    | Kroměříž | Rohatec | Morav. Ján |
| Průměrný rok    | Roční objem srážek v milionech $m^3$ | 5378,8   | 7129    | 16080      |
|                 | Roční proteklé množství v mil. $m^3$ | 1734     | 2080    | 3687       |
|                 | Součinitel odtoku                    | 0,32     | 0,29    | 0,23       |
|                 | Průměrný roční průtok v $m^3/vt.$    | 55,0     | 66,0    | 116,9      |
|                 | Průměrný odtok v $l/vt. km^2$        | 7,8      | 6,9     | 4,8        |
| Nejvodnější rok | Průměrný roční průtok v $m^3/vt.$    | 97,2     | 115,6   | 261,2      |
|                 | Poměrný odtok v $l/vt. km^2$         | 13,4     | 12,1    | 10,8       |
| Nejsušší rok    | Průměrný roční průtok v $m^3/vt.$    | 21,5     | 23,6    | 44,7       |
|                 | Poměrný odtok v $l/vt. km^2$         | 3,1      | 2,5     | 2,9        |

břeh je charakterisován nížinným pásmem a leží při něm více obcí. Morava zde vytvářela četné zákruty a ramena, postupně regulačními úpravami odstraňovaná. V úseku Hodonín—Lanžhot není Morava dosud regulována. Vytváří zde četná ramena, která zejména při ústí Dyje tvoří úplnou spleť. Povodí dolního toku Moravy je nutno považovat za inundované území, neboť některé úseky jsou občas zaplavovány (jarní záplavy, povodně). V povodí Moravy při obou březích se prostírají většinou rozsáhlé nížinné louky. Místy se však setkáváme s obdělávanou půdou. Z luk sklízí seno nejen přilehlé obce, ale i některé obce vzdálenější, které zde mají pronajaty určité díly. V rámci přidělového hospodaření s krmivy může být seno z těchto oblastí dodáváno někdy i do obcí dosti vzdálených. Je třeba také uvést, že v Otrokovicích jsou největší koželužny u nás, kde se zpracovává i velké množství cizozemských kůží.

Olšava je malá řeka, tekoucí směrem od Uherského Brodu ke Kunovicím a u Uherského Ostrohu se vlévá do Moravy. Je to mělká říčka s měkkými, bahnitými břehy, protékající líně v četných zákrutech neširokým údolím inundovaného území. Pramení na moravsko-slovenském pomezí, protéká Pitínem a Bojkovicemi. U obce Těšova v blízkosti Uherského Brodu se spojuje s Horní Olšavou, která teče od Luhačovic. Těsně před Uherským Brodem je Olšava přehrazena stavidlem. Stojatá voda sahá proti toku řeky až k obcím Těšov a Újezdec. V letech 1928-30 byl regulován úsek Uherský Brod—Havříce, v době 1932—34 úsek Havříce—Hradčovice. Ostatní část toku regulována není. Při jarním tání sněhu se Olšava často vylévá na některých místech z břehů.

K dokreslení této oblasti je třeba se zmínit ještě o povodí říčky Vlárý, která pramení v prostoru Slavičín, protéká jím směrem na Bylnici a Vlárským průmyskem opouští území Moravy. Je to říčka bystřinného rázu, s čilým průtokem a čistou vodou. Ve Slavičíně byla až do r. 1948 v provozu menší kože-



lužna, která však zpracovávala pouze domácí surovinu. Dnes se ve Slavičíně vyrábějí boty z dodané už vyčištěné usně.

Oblast okrsku uzavírají na jihovýchodě Bílé Karpaty, v jejichž podhůří jsou rozsáhlé pastviny.

## Dynamika procesu

Dnešní poznatky o epizootologii anthraxu nám dovolují podati podrobnější charakteristiku uhlákových ohnisek. Je nutno bráti v úvahu a hodnotit jako celek všechny základní okolnosti, které mají význam při posuzování a řešení anthraxového nakažového problému. Především je to otázka biologické proměny infekčního agens v půdě jako výslednice řady půdních faktorů. Tato proměnlivost může se projevovat zmenšením až zánikem virulence, charakterisované vznikem atypických a avirulentních variant.

Rovněž otázku vegetace anthraxových zárodků v půdě nutno posuzovat s hlediska vzniku a zániku nakažových ohnisek. Půda, která se zdá býti, vedle živého těla, druhým životním prostředím anthraxového bacila, má značný vliv na biologický proces rozvoje tohoto mikroba. Nepříznivé podmínky mohou mít za následek oslabení nebo úplný zánik, opačně optimální podmínky rozmnožení uhlákové mikroflory. Otázku životnosti zárodků anthraxu nelze posuzovat izolovaně. Je nutno přihlížet ke složení půdy, klimatickým a hydrologickým poměrům, biocenose a jiným podmínkám zevního prostředí.

Ohnisko uhlákové infekce je závislé na značném pomnožení anthraxových zárodků v půdě, což poukazuje na aktivnost anthraxového procesu. K tomu však jsou nutné podmínky, které určují a uchovávají stacionárnost zamořeného místa. Půda se mění a tyto změny mají přirozeně vliv na dynamiku uhlákového procesu v půdě. Z uvedeného vyplývá, že aktivita procesu po nějaké době může měniti intensitu a vésti postupně nejprve k neúplné a konečně i úplné autosterilizaci půdy. Při takovém cyklu anthraxového procesu v půdě mění se stacionární anthrax v periodicky recidivující ohnisko. V případě úplné autosterilizace nastává zánik ohniska nákazy. Je nepochybné, že zárodkům sněti slezinné, jakožto vysloveně parazitním mikrobům, se nedaří stejně dobře v půdě jako v živém těle. Přes tuto skutečnost je však nutno přiznat zárodkům sněti slezinné schopnost žít v půdě a v ní se i pomnožovat. Svědčí o tom výsledky vyšetřování azerbajdžanského vědecko-výzkumného veterinárního ústavu, kde ze 750 vzorků půdy v 79 vzorcích vykultivovali zárodky sněti slezinné. Fyzikálně chemické vlastnosti vyšetřované půdy byly: vlhkost 32,5–85 %,  $pH = 6,3-6,6$ , obsah humusu 3,1–6,6 %.

B o g d a n o v (2) konal pokusy, jimiž měla býti vysvětlena úloha, kterou mají půda, voda a rostliny v epizootologickém procesu anthraxu. Nejčastěji a nejhojněji se vyskytuje anthrax na bažinatých místech, v inundovaném území a na místech, kde dříve byl vodní tok. Tato místa se vyznačují speciální bažinnou florou, kde hlavní složkou jsou kyselé traviny. Tyto rostliny obsahují kysličník křemičitý, který tvoří na okraji listů jakousi ostrou pilku. V zaživacím traktu dochází k četným drobným poraněním sliznice, kterými proniká anthrax do mízního a krevního oběhu. Anthraxové spory klíčí hlavně ve stojaté vodě bažinatých míst a za teploty nad  $24^{\circ}C$ . Hluboké a tekoucí vody nejsou dobrým prostředím pro rozvoj anthraxových zárodků. Za vhodných podmínek vyklíčí spory anthraxu ve vyšších vrstvách půdy a zárodky se mohou dostat na povrch a dovnitř rostlin. Spory mohou býti zaneseny k povrchu země spodní vodou.

Proto jsou léta s vysokou hladinou spodní vody pro šíření anthraxu zvláště nebezpečná. Periodicita výskytu anthraxu souvisí se stavem vody. V suchých letech anthraxu ubývá. Vlhká léta s nízkou teplotou rovněž nejsou vývoji zárodků sněti slezinne příznivá. Naproti tomu jsou mokrá a teplá léta pro rozvoj anthraxu velmi vhodná. Fiala (3) upozorňuje na okolnost, že nebezpečí šíření se nákaz ze zdrojů půdních je obvykle větší na podzim. Příčina tkví v tom, že následkem malé vodivosti tepla zahřejí se hlubší vrstvy půdy teprve na podzim, čímž opožděně nastanou příznivé podmínky pro tvoření spor, které pak spodní vodou mohou být vyneseny na povrch.

Gordzialsowski (4) uvádí, že nejvíce případů anthraxu bývá v létě a na podzim, kdy vysychají bahnitá místa na loukách a pastvinách a spory, které zůstaly na porostech, dostávají se do zaživacího ústrojí spásáním nebo vyžínáním trávy.

Kmoško (5) získal za svého dlouholetého pobytu v anthraxových krajích na Slovensku četné zkušenosti, které jsou pěkným příspěvkem k epizootologii sněti slezinne na pastvinách. Jsou-li v zaživacím traktu jen jediného kusu skotu virulentní zárodky sněti slezinne, nakazí takový kus svým trusem postupně celou pastvinu. Nastanou-li na pastvině větší deště, smyjí z vysušených výkalů anthraxové zárodky do jednotlivých kaluží. Voda těchto kaluží obsahuje hlavně v měsících červnu až září značné množství uhlákových zárodků. Vypije-li zvíře z takové kaluže větší množství vody (za horka vypije skot 10 až 16 l vody), rozmnoží se anthraxové zárodky velmi rychle v jeho zaživacím traktu a dojde k prudkému onemocnění. Z toho vyplývá, že na každé společné pastvině jsou především nebezpečné veškeré kaluže a močálovitá místa, do nichž stéká voda dešťová. Je třeba zabránit, aby zvířata pila z nebezpečných kaluží tím, že se postaráme o zdravotně nezávadnou vodu k napájení. Kmoško dokládá tato pozorování zkušenostmi, že často došlo po delší dobu trvajícím suchu a následujících vydatných deštích neočekávaně k hromadnému onemocnění anthraxem. Proto jsou staré, řadu roků používané pastviny nebezpečné. Z těchto i jiných důvodů se mají staré pastviny přeměnit na určitou dobu na ornou půdu.

Harnach (6) dochází k poznatku, že české země nemají téměř autochtonního uhláku. Je to proto, že ve většině případů sněti slezinne lze prokázat spojitost nákazy se surovinami, dovezenými z ciziny, hlavně ze zámoří. Nepřímým důkazem toho jest všeobecný pokles případů sněti slezinne, jakmile za války ustal dovoz surovin zámořských, což dokázal v Čechách Bouza, na Moravě Doubrava a v Německu Müssemer. Také více méně rychlé vymizení stacionárního anthraxu v povodí, kde byly zrušeny koželužny, svědčí pro tuto spojitost.

Strzelecki (7) podává zprávu o výskytu sněti slezinne v okrese Glubczyce v kraji Opolském. Od r. 1945 až do r. 1955 se tam anthrax nevyskytl. Počátkem r. 1955 byla zaznamenávána řada případů sněti slezinne v obcích, ležících při řece Cyna. Epizootologickým průzkumem došlo se k závěru, že pravděpodobným ohniskem nákazy je tato řeka, která není regulována, je silně znečištěná a má rozbahněné břehy. Bylo rozhodnuto, aby řeka byla v příslušném úseku vyčištěna a upravena.

Pro epizootologické posouzení stavu anthraxových nákazových ohnisek je třeba pečlivého pozorování a podrobné analýsy epizootologických dat, snesených za dobu nejméně 10 let. Čím delší je doba pozorování a epizootologická data úplnější, tím je obraz nákazové situace v anthraxovém okrsku přehlednější a jasnější. S hlediska epizootologického můžeme podle Mannova (8) rozdělit anthraxová nákazová ohniska na 5 skupin:

1. Stacionární ohniska jsou charakteristická tím, že anthrax se v nich vyskytuje každý rok nebo téměř každý rok. To poukazuje na přítomnost stabilního aktivního procesu v půdě. Takovým místům nutno věnovat zvláštní pozornost a zavést opatření, směřující v první řadě k zamezení rozšiřování anthraxového kontagia, aby nedocházelo k vytváření nových nákazových ohnisek. Současné zavedená opatření musí cílit k zastavení aktivity anthraxového procesu.

2. Periodicky recidivující ohniska. Tato místa jsou charakterisována uhlákovými případy, objevujícími se v různých časových intervalech. Nákazové ohnisko může buď autosterilisací zaniknout nebo za příznivých půdních poměrů přejít v ohnisko stacionární. Opatření, která mají vést k likvidaci recidivujících ohnisek, jsou analogická předchozím.

3. Ohniska sporadického výskytu, kde v určitém časovém období byl anthrax zaznamenán pouze ojediněle. Takové místo vyžaduje pečlivého epizootologického vyšetření a dalšího pozorování. Nutno mu věnovat zvýšenou pozornost, aby se zabránilo reinfekcím.

4. Nákazové ohnisko zaniklé je takové místo, ve kterém případy uhlákové nejsou zaznamenány už po delší dobu (10 i více roků), ač dříve se v nich anthrax nejdnou vyskytoval, anebo místo mělo stacionární charakter. Zaniknutí může být projevem autosterilisace půdy nebo výsledkem zdlouhavých opatření.

5. Nově vytvořené ohnisko. Jsou to místa, kde anthrax byl zaznamenán po prvé. Většinou jde o nákazu zavlečenou zvenčí, kdy pramenem infekce mohou být nakažené krmivo či suroviny živočišného původu, zejména kůže, dovozené ze zámoří. Nově vzniklé nákazové ohnisko vyžaduje pozorného rozboru epizootologického a dobře promyšlených ochranných opatření za účelem jeho lokalisace a likvidace.

## Epizootologická analýsa

Jihomoravský anthraxový okrsek je v podstatě vymezen územím okresů Uherského Hradiště, Hodonína a Uherského Brodu v jejich bývalém rozsahu, dnes území okresů Uherského Hradiště, Veselí n. M., Hodonína, Břeclavy, Uherského Brodu a zčásti okresů Gottwaldov a Valašských Klobouk.

Věrohodné záznamy o rozšířenosti anthraxu na jižní Moravě jsou zachovány od r. 1911 až do dnešní doby.

Celkově je možno rozdělit celé toto dlouhé údobí na čtyři vzájemně na sebe navazující úseky:

První úsek od r. 1911—1927.

Druhý úsek od r. 1928—1937.

Třetí úsek od r. 1938—1947.

Čtvrtý úsek od r. 1948—1955.

První úsek zahrnuje pozorovací údobí sedmnácti roků. Statistická data za tato léta zachytil a zpracoval D o u b r a v a (9). Vztahují se sice na území celé Moravy, avšak zdůrazněna je zejména početnost případů v oblasti jižní Moravy. Autor poukazuje na to, že anthrax se vyskytuje hlavně v povodí řek Moravy a Olšavy (inundované území). Podle početnosti byl nejvíce postižen okres Uherské Hradiště, kde bylo za toto období zaznamenáno 349 případů, dále okres Uherský Brod s 297 případy a okres Hodonín s 221 případy. Počet případů z těchto tří okresů činil třetinu (33 %) všech případů sněti slezinné na Moravě za tuto dobu.



Jelikož je zdůrazňován vliv dovážených kůží na rozšiřování a udržování anthraxu, všimněme si, jak se projevila válečná léta na početnost případů v povodí pod otrokovickými koželužnami.

Rozdělíme-li si celé údobí na několik úseků, a to na léta předválečná, válečná a poválečná, pak v období předválečném (1911—13) připadá průměrně na jeden rok 42 případů, ve válečných letech (1914—18) 26 případů, v prvních letech po válce (1919-21) 21 případů a v pozdějším poválečném období (1922 až 1927) 42 případů. Vyznačují se tedy válečná léta, kdy dovoz kůží ze zámorí byl podvázán, značným úbytkem případů sněti slezinné. V prvních poválečných letech počet případů ještě o něco klesl. To lze vysvětlit tím, že poválečný trh se rozvíjel jen pomalu, neboť bylo třeba znovu navázat válkou přerušena obchodní spojení. V pozdějších poválečných letech, kdy obchodní styky byly už normalisovány a dovoz kůží nabyl opět značného rozsahu, stoupl počet případů na dvojnásobek.

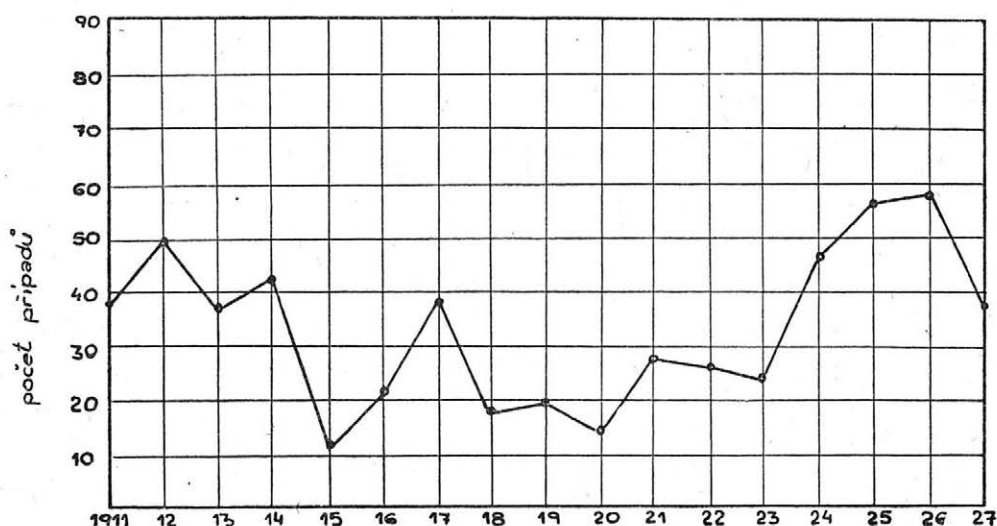
Z průběhu grafické křivky je jasně patrné, že v době války a ještě několik roků po válce udržuje se počet případů poměrně nízký, až na špičku v r. 1917. V poválečných letech počet případů opět značně stoupl. Z uvedeného je možno vyvodit jistou souvislost mezi početností případů sněti slezinné a dovozem cizozemských kůží. I když nemůžeme přičítat stoupnutí počtu případů anthraxu pouze na vrub koželužen, je jasné, že dovoz kůží, zejména zámorských, není bez viny, poněvadž je prokázáno, že mezi importovanými kožemi jsou také kůže snětivé, z nichž se spory odpadní vodou dostávají zpět do terénu. Tak je povodí dolního toku řeky Moravy stále reinfikováno novými, možno říci exotickými kmeny anthraxovými.

Graf 1. Znázornění početnosti případů sněti slezinné v okresech Uherské Hradiště a Hodonín v letech 1911—1927

Диагр. 1. Графическое изображение частоты случаев сибирской язвы в районах Угерске Градище и Годонин в течение 1911-1927 г.

Graph 1. Presentation of number of cases of necrosis of the spleen in Uherské Hradiště and Hodonín districts from 1911 to 1927

Abb. 1. Darstellung der Anzahl der Milzbrandfälle in den Bezirken Uherské Hradiště und Hodonín in den Jahren 1911—1927



Že tento názor se zakládá na skutečných faktech a má proto plně opodstatnění, vyplývá i z výsledků vyšetřování importovaných kůží na anthrax. Aktuální dovoz kůží, soustředěný do otrokovických koželužen, se opírá hlavně o oblast čínskou a indickou na východě a brazilskou a argentinskou na západě. Z Číny se dovážejí především buvolovice a koziny, méně už kraviny a skopovice, z Indie koziny. Menší dovoz kůží (koziny) je z Turecka, Syrie a Vietnamu. Z oblasti brazilsko-argentinské se dovážejí hověziny.

Je pochopitelné, že z technických důvodů nelze dosud podchytit celý dovoz kůží. Vyšetřování kůží na anthrax se provádí jen u importu z východních oblastí, a to namátkovými zkouškami (z každého balíku jeden vzorek), kromě buvolovic, kde se vyšetřují všechny kůže. V roce 1956 bylo vyšetřeno seroreakcí 56.343 čínských buvolovic, z čehož bylo 374 kůží pozitivních (0,7 %), čínských kozin 2250 s 0,6 % pozitivních nálezů, čínských kravín 1500 s 0,9 % pozitivních nálezů a indických kozin 599 s 1,5 % pozitivních nálezů. Z buvolovic bylo vyislováno 10 anthraxových kmenů. Otázka významu koželužen při rozšiřování anthraxu bude předmětem samostatné studie.

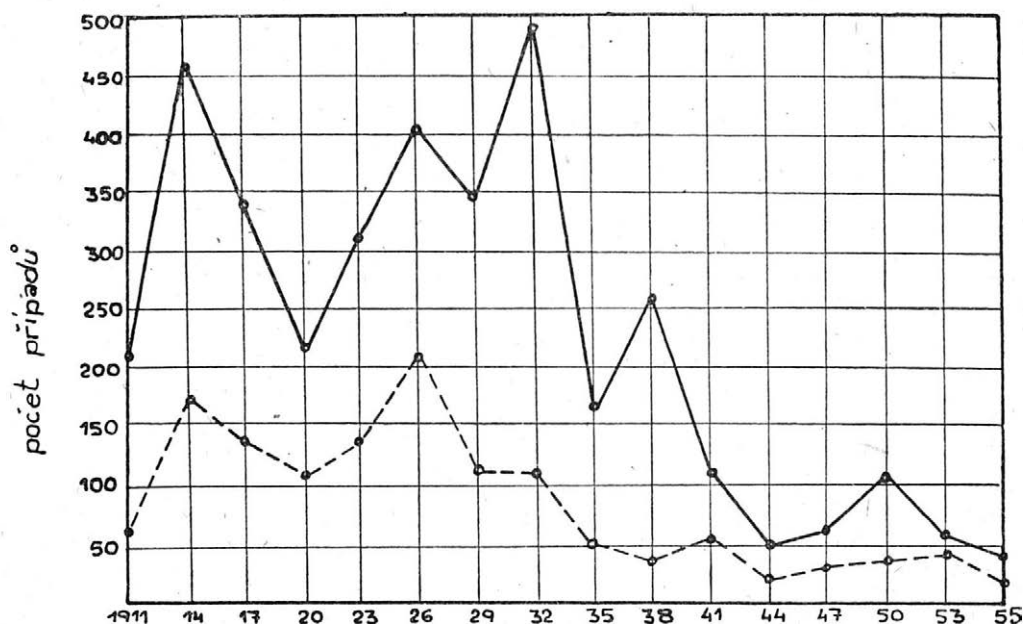
Doubravovo statistické zpracování údobí let 1911–27 je poněkud jednostranné a neúplné, neboť přihlíží pouze k místům, kde se anthrax vyskytoval nápadně často a neobírá se celou epizootologickou problematikou oblasti. Je

Graf 2. Znázornění početnosti případů sněti slezinné na území Moravy a jihomoravského okrsku v tříletých časových obdobích

Диагр. 2. Графическое изображение частоты случаев сибирской язвы на территории Моравии и южноморавского района по трехлетним периодам

Graph 2. Presentation of number of cases of necrosis of the spleen on the territory of Moravia and in the South Moravian district in three-year periods

Abb. 2. Darstellung der Anzahl der Milzbrandfälle im Gebiet von Mähren und im südmährischen Gebiet in dreijährigen Zeitabschnitten



Plná křivka vyznačuje početnost případů sněti slezinné na Moravě, přerušovaná v jihomoravském okrsku.

tudíž nutné ponechat toto období vcelku a navázat na ně dalšími úseky, které členíme po deseti letech.

Ve druhém úseku (1928—37) klesl značně počet zaregistrovaných případů sněti slezinné i když bereme v úvahu, že první období bylo sedmnáctileté, kdežto druhé toliko desetileté.

Celkový počet případů v celém okrsku činil 280, z toho v okrese Uherské Hradiště 76, Hodonín 96 a Uherský Brod 108. Byl-li průměrný počet anthraxu v letech 1911—27 ročně 51 případů, klesl v letech 1928—37 na 28. Současně poklesl úhrnný počet případů sněti slezinné na Moravě za období 1928—37 na 850. Je tedy opět počet případů anthraxu v okrsku zaznamenaných jednou třetinou (33 %) z počtu všech případů na Moravě.

Ve třetím úseku, který zahrnuje léta 1938—47, projevuje se zřetelně vliv válečných let. V tomto období sledujeme další značný pokles případů sněti slezinné v jihomoravském okrsku. V okrese Uherské Hradiště bylo zaznamenáno 18, Hodonín 42, a Uherský Brod 53 případů, celkem 113. Tento počet činí nadále téměř jednu třetinu (32 %) z počtu případů za toto období na Moravě zaznamenaných (363).

Ve čtvrtém úseku (1948—55), zahrnující léta poválečná, sledujeme i nadále celkovou sestupnou tendenci v okrsku, zejména v okrese Uherské Hradiště. Za toto období vyskytlo se v tomto okrese toliko 10 případů, v okrese Hodonín 49 a Uherský Brod 30 případů, celkem v celém okrsku 89.

Význačný pokles případů sněti slezinné je úspěšným výsledkem vytrvalého boje a soustavné a pečlivé preventivní péče veterinární služby s touto nebezpečnou nákazou.

Tab. 2. Počet případů sněti slezinné v jihomoravském okrsku podle jednotlivých období

Табл. 2. Число случаев сибирской язвы в южноморавском районе по отдельным периодам

Table 2. Number of cases of necrosis of the spleen in South Moravian district according to different periods

Tab. 2. Anzahl der Milzbrandfälle im süd-mährischen Gebiet nach den einzelnen Zeitabschnitten

| Okres                       | Sledovaná období |         |         |         |
|-----------------------------|------------------|---------|---------|---------|
|                             | 1911—27          | 1928—37 | 1938—47 | 1948—55 |
| Uherské Hradiště            | 349              | 82      | 21      | 10      |
| Hodonín                     | 221              | 90      | 41      | 49      |
| Uherský Brod                | 297              | 100     | 53      | 30      |
| Okrsek                      | 867              | 272     | 113     | 89      |
| % z počtu případů na Moravě | 33 %             | 33 %    | 32 %    | 42 %    |
| Morava                      | 2045             | 850     | 363     | 217     |

Všimněme si vztahu mezi početností případů sněti slezinné a ročním obdobím. Jak uvádí P o n d e r (10) vykazovala ruská statistika z let 1904 průběh roční křivky s maximem v červenci a srpnu. V září a říjnu následoval rychlý pokles a křivka probíhala potom bez větších výkyvů do března, kdy byla opět zaznamenávána stoupající tendence. Podobná křivka se ukazuje i v německé statistice. Naproti tomu anglická statistika vykazuje nejmenší počet případů v červenci, srpnu a září. Tato fakta se v zásadě vysvětlují závislostí anthraxo-

vých zárodků na změnách půdy, vegetace, teploty a vlhkosti. Jisté epizootologické závěry možno dělat jen na dostatečně početném materiálu. Na Moravě můžeme sledovat závislost početnosti případů na roční době za období dvaceti osmi let (1928—55) s celkovým počtem 1468 případů. Na Slovensku jsme zachytili tuto závislost za období deseti let (1946—55) s celkovým počtem 3183 případů.

Křivka, která vyjadřuje závislost početnosti případů sněti slezinné na ročním období na Moravě, probíhá v zimních měsících na poněkud zvýšené úrovni. V březnu prudce stoupá a dosahuje vrcholu v dubnu. Pak klesá, nejprve prudce

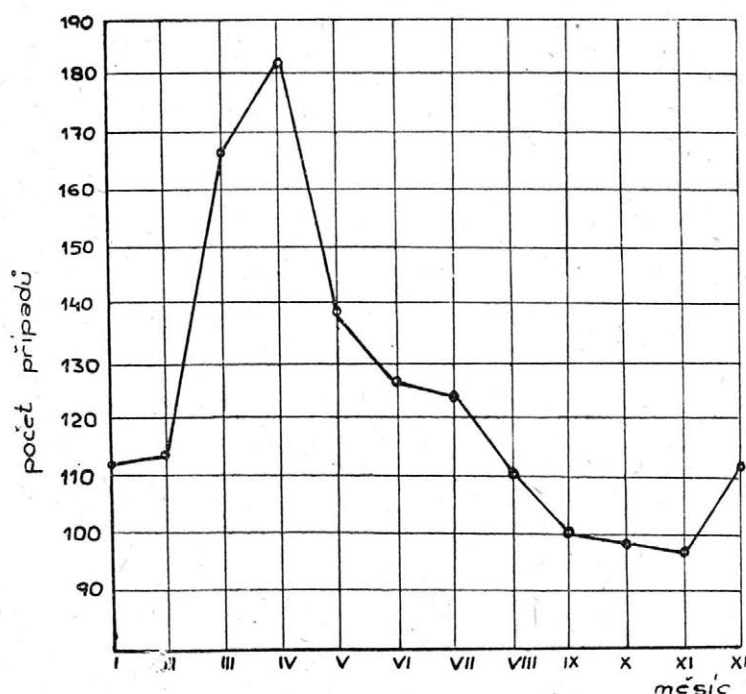
Tab. 3. Počet případů anthraxu v závislosti na ročním období

Табл. 3. Число случаев сибирской язвы в связи с временем года

Table 3. Number of cases of anthrax in relation to time of year

Tab. 3. Anzahl der Milzbrandfälle in Abhängigkeit von der Jahreszeit

| Z e m ě                | M ě s í c : |     |      |     |     |     |      |       |     |     |     |      |
|------------------------|-------------|-----|------|-----|-----|-----|------|-------|-----|-----|-----|------|
|                        | I.          | II. | III. | IV. | V.  | VI. | VII. | VIII. | IX. | X.  | XI. | XII. |
| Morava<br>(1928—55)    | 110         | 111 | 166  | 182 | 138 | 126 | 123  | 108   | 99  | 97  | 97  | 111  |
| Slovensko<br>(1946—55) | 127         | 159 | 192  | 242 | 312 | 341 | 382  | 393   | 406 | 282 | 222 | 125  |



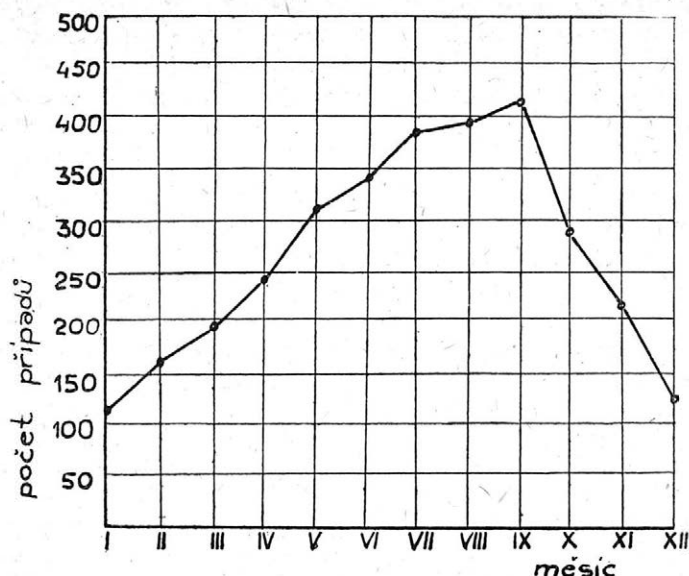
Graf. 3. Znázornění závislosti početnosti případů anthraxu na ročním období (Morava, 1928—1955)

Диагр. 3. Графическое изображение зависимости частоты случаев сибирской язвы от времени года (Моравия, 1928—1955)

Graph. 3. Presentation of relation between cases of anthrax and time of year (Moravia 1928—1955)

Abb. 3. Darstellung der Abhängigkeit der Anthraxfälle von der Jahreszeit (Mähren, 1928—1955)





Graf 4. Znázornění závislosti početnosti případů anthraxu na ročním období (Slovensko, 1946–1955)

Диагр. 4. Графическое изображение зависимости частоты случаев сибирской язвы от времени года (Словакия, 1946–1955)

Graph. 4. Presentation of relation between cases of anthrax and time of year (Slovakia, 1946–1955)

Abb. 4. Darstellung der Abhängigkeit der Anzahl von Anthraxfällen von der Jahreszeit (Slowakei, 1946–1955)

(květen), později volněji a dosahuje minima v podzimních měsících, kdy se udržuje přibližně na stejné úrovni (září, říjen, listopad).

Zcela jinak probíhá křivka závislosti početnosti případů sněti slezinné na ročním období na Slovensku. Vrcholu dosahuje v teplém ročním období (červen, červenec, srpen a září). V říjnu a listopadu nastává prudký pokles, který dosahuje minima v zimních měsících (prosinec, leden, únor). Na jaře vykazuje křivka stoupající tendenci. Závislost početnosti případů sněti slezinné na Moravě se tedy projevuje tak, že největší počet případů se vyskytuje na jaře, zatímco na Slovensku v letních měsících. Vyjdeme-li ze základního předpokladu, že hlavní vstupní branou anthraxové infekce u zvířat je cesta perorální, musíme obrátit pozornost ke krmení. Na Moravě přichází v úvahu jako nejvýznamnější pramen nákazy suché krmivo, především infikované seno z určitých oblastí (zaplavované území, mrchoviště a j.).

Že těchto případů je nejvíce na jaře lze si vysvětlit jednak zkrmováním dovážených krmiv při nedostatku statkových krmiv a jednak celkovým oslabením odolnosti organismu, zejména na jaře, takže při náhodném zkrmování infikovaného sena může nákaza vypuknout snadněji. Průběh křivky na Slovensku poukazuje na jinou epizootologickou souvislost. Zde hlavní význam nutno přisoudit zelené píce. Jsou to především infikované pastviny, které hrají zřejmě hlavní úlohu při rozšiřování anthraxu, zejména pastviny nehygienické, kde není postaráno o dobrou, zdravotně nezávadnou vodu k napájení. Jak uvádí ve své pěkné studii Kmoško, obsahuje voda na infikovaných pastvinách, zejména v teplých letních měsících, značné množství anthraxových zárodků, smytých deště s povrchu pastviny. Toto Kmoškovo zjištění je v plném souhlase s průběhem křivky, jejíž vrchol spadá rovněž do období června až září.

Podrobná epizootologická analýza anthraxových ohnisek nám ukáže, v kterých místech je anthrax stacionární, která ohniska jsou periodicky recidivující, kde se objevuje sporadicky, kde zanikl, nebo kde se vytvořilo nové ohnisko.

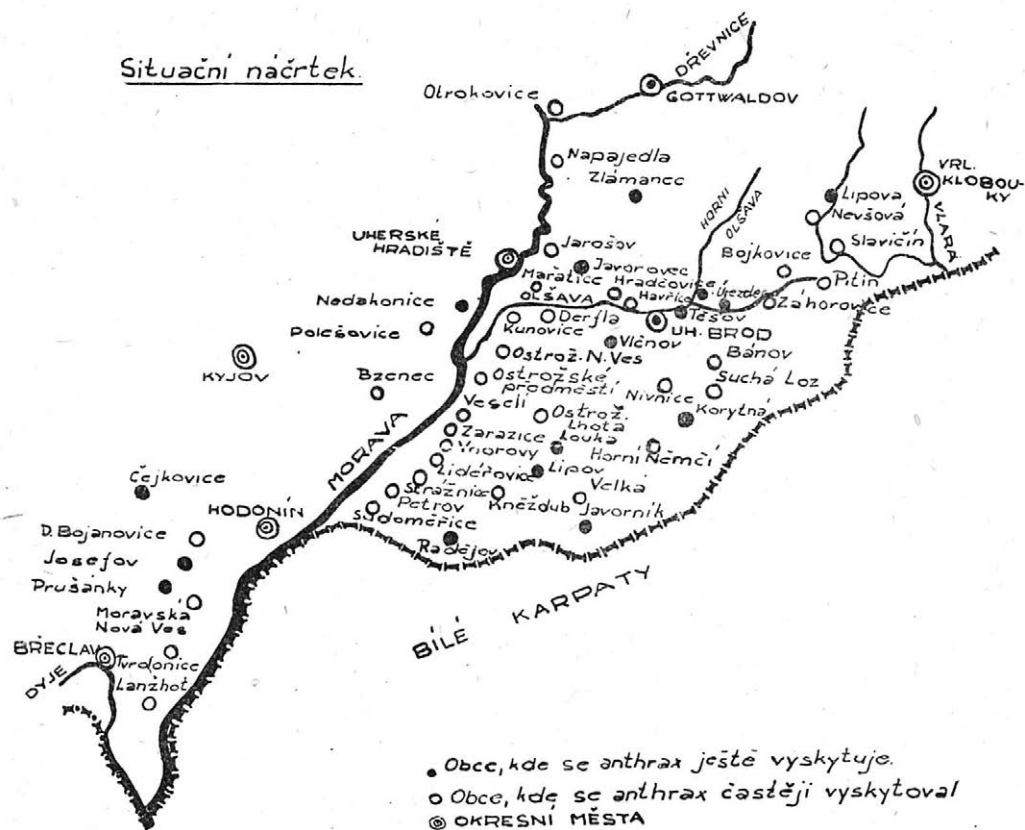
## Okres Uherské Hradiště

V období 1911–27 jsou uvedeny toliko obce s největším počtem případů (počet případů je uveden v závorce):

Blatnice (44), Ostrožská Nová Ves (30), Zarazice (23), Jarošov (13), Bzenec (13). U ostatních obcí statistická data uvedena nejsou. Za toto období bylo na území okresu zaregistrováno 349 případů. V období let 1928–37 vyskytla se snět slezinná podle počtu případů v těchto obcích:

Javorovec (8), Kunovice (8), Ostrožská Nová Ves (7), Zarazice (6), Ostrožské Předměstí (6), Otrokovice (4), Blatnice (4), Derfle (4), Mařatice (3), Lhotka (2), Jarošov (2), Nedakonice (2), Babice (2), Veselí n. M. (2), Spytihněv (2), Popovice (2), Milohoš (1), Mor. Písek (1), Slavkov (1), Polešovice (1), Kostelany (1), Topolná (1), Vážany (1), Napajedla (1), Boršice (1), Věsky (1), Kvačice (1), Louka (1), Kvítkovice (1), Pohořelice (1), Kudlovice (1). Celkově bylo za období deseti roků zachyceno v této oblasti 82 případů.

Situační náčrtek.



Stacionární anthraxová ohniska Blatnice, Ostrožská Nová Ves a Zarazice (1911–27) přešla v ohniska periodicky recidivující. K nim se druží obce Javorovec, Kunovice, Ostrožské Předměstí, Otrokovice, Derfle a Mařatice. Jarošov a ostatní obce lze zařadit v ohniska se sporadickým výskytem. Bzenec je nákazové ohnisko zaniklé. V období let 1938–47 byla zaznamenána snět slezinná v 22 případech v těchto obcích: Blatnice (3), Veselí n. M. (3), Javorovec (2), Ostrožská Nová Ves (2), Otrokovice (2), Derfle (1), Vážany (1),

Staré Město (1), Spytihněv (1), Polešovice (1), Napajedla (1), Zarazice (1), Ostrožská Lhota (1), Kvítkovice (1), Sušice (1). Periodicky recidivující ohniska jsou Blatnice a Veselí.

Ostatní obce jsou ohniska se sporadickým výskytem. Kunovice jako nákazové ohnisko zaniklo. Novými ohnisky jsou Staré Město a Ostrožská Lhota.

V letech 1948—55 vyskytlo se 10 případů anthraxu v těchto obcích: Nedakonice (2), Zlámanec (2), Ostrožská Nová Ves (2), Mikovice (1), Horní Němčí (1), Javorovec (1). Všechna tato místa možno označit za ohniska sporadického výskytu. V r. 1954 a 1955 se nevyskytl žádný případ sněti slezinné.

### Okres Hodonín

V časovém úseku 1911—27 jsou uvedeny jen obce s největším počtem případů:

Radějov (23), Sudoměřice (18), Petrov (14), Strážnice (13). Celkově bylo zaznamenáno 221 anthraxových případů.

V období let 1928—37 vyskytl se anthrax v celkovém počtu 96 případů v těchto obcích: Vnorovy (18), Radějov (10), Sudoměřice (5), Strážnice (4), Břeclav (4), Tvrdonice (4), Lanžhot (4), Liděřovice (3), Kněždub (3), Dolní Bojanovice (3), Terezín (2), Velké Bílovice (2), Chorvatská Nová Ves (2), Moravský Žižkov (2), Mutěnice (2), Čejkovice (2), Hodonín (1), Tvarožná Lhota (1), Tasov (1), Čejč (1), Hrubá Vrbka (1), Ratiškovice (1), Dubňany (1), Moravská Nová Ves (1), Rohatec (1), Těšice (1), Hrubá Vrbka (1).

Obce Vnorovy, Radějov, Petrov, Sudoměřice, dále Strážnice, Břeclav, Tvrdonice, Lanžhot, Liděřovice, Kněždub, Dolní Bojanovice jsou ohniska periodicky recidivující. Ostatní obce jsou ohniska sporadického výskytu.

V letech 1938—47 bylo zaznamenáno 41 případů sněti slezinné v obcích: Sudoměřice (7), Vnorovy (4), Lanžhot (3), Moravská Nová Ves (3), Radějov (2), Kuželov (2), Mutěnice (2), Liděřovice (2), Javorník (2), Krumvíř (2), Petrov (1), Čejkovice (1), Josefov (1), Ratiškovice (1), Mikulčice (1), Dolní Bojanovice (1), Velké Bílovice (1), Kostice (1), Dubňany (1), Lipov (1), Strážnice (1), Tvarožná Lhota (1). Místa s novým výskytem jsou Javorník, Krumvíř, Josefov, Mikulčice, Kostice a Lipov. Periodicky recidivujícími ohnisky jsou obce Sudoměřice, Vnorovy, Lanžhot a Moravská Nová Ves. Zbývající obce jsou místy sporadického výskytu.

V období 1948—55 vyskytlo se 49 případů sněti slezinné v těchto obcích: Javorník (17), Lipov (8), Čejkovice (3), Radějov (3), Prušánky (3), Louka (2), Velká nad Veličkou (2), Liděřovice (2), Ostrožská Nová Ves (2), Josefov (2), Velké Bílovice (2), Zarazice (1), Strážnice (1), Kuželov (1). Obce Javorník, Lipov, Čejkovice a Radějov jsou místy periodického výskytu, ostatní obce jsou ohnisky sporadického výskytu.

### Okres Uherský Brod

V období let 1911—27 bylo zaznamenáno 297 případů sněti slezinné. Místa s největším počtem případů jsou:

Újezdec (37), Těšov (27), Vlčnov (19), Záhorovice (18), Suchá Loz (16). V letech 1928—37 vyskytlo se v okrese 100 případů sněti slezinné, a to podle početnosti v těchto obcích: Suchá Loz (16), Újezdec (8), Záhorovice (8), Nevšová (8), Těšov (6), Havříce (5), Slavičín (4), Pitín (4), Hradčovice (4), Lipová

(4), Biskupice (4), Kelník (3), Kladná Žilín (3), Nivnice (3), Bohuslavice n. Vl. (2), Petrůvka (2), Korytná (2), Šumice (1), Popov (1), Vysoké Pole (1), Dobrokovice (1), Ořechov (1), Smolina (1), Drslavice (1), Vlčnov (1), Rokytnice (1), Rudice (1), Nezdenice (1), Vlachovice (1), Uherský Brod (1).

Suchá Loz je místem stacionárního výskytu, obce Újezdec, Záhorovice, Nevšová, Těšov, Havřice, Slavičín, Pitín, Hradčovice, Lípová, Biskupice, Kelník, Kladná Žilín a Nivnice ohnisky s periodickým výskytem. Ostatní obce možno zařadit do skupiny ohnisek se sporadickým výskytem. V úseku let 1938–47 zaznamenáváme v oblasti okresu 53 případů anthraxu v těchto obcích:

Záhorovice (9), Těšov (9), Suchá Loz (6), Nivnice (5), Újezdec (5), Havřice (3), Šumice (3), Korytná (2), Drslavice (1), Lhotka (1), Březová (1), Bánov (1), Vlčnov (1), Biskupice (1), Prakšice (1), Vlachovice (1), Uherský Brod (1), Pozlovice (1), Nezdenice (1).

Periodicky recidivujícími ohnisky jsou obce Záhorovice, Těšov, Suchá Loz, Nivnice, Újezdec, Havřice a Šumice. Ostatní obce jsou ohniska se sporadickým výskytem. Nákazové ohnisko v obci Nevšová zaniklo.

V letech 1948–55 vyskytlo se 30 případů v těchto obcích:

Těšov (5), Újezdec (4), Bánov (4), Korytná (3), Lípová (2), Šumice (2), Vlčnov (2), Suchá Loz (1), Záhorovice (1), Nezdenice (2), Hradčovice (1), Kaňovice (1).

Periodicky recidivujícím místem zůstaly obce Těšov, Újezdec, Bánov a Korytná. Ostatní obce jsou ohniska sporadického výskytu.

## Souhrn

Četné případy sněti slezinné, zaznamenané v oblasti dolního toku Moravy, v povodí Olšavy a v obcích v podhůří Bílých Karpat, vytvořily předpoklad k tomu, že toto území je považováno za anthraxový okrsek. Jihomoravský anthraxový okrsek zaujímá rozsah původního území okresů Uherského Hradiště, Hodonína a Uherského Brodu. Co do počtu případů participoval okrsek vždy dobrou třetinou na celkovém počtu případů sněti slezinné na Moravě.

Jak ze situačního náčrtu patrné, možno v anthraxovém okrsku rozeznati tři oblasti. První oblastí je povodí řeky Moravy mezi Otrokovicemi a Lanžhotem. Největší počet případů sněti slezinné se vyskytoval v obcích, které leží při levém břehu Moravy, zejména v úseku mezi Uherským Hradištěm a Hodonínem. Při pravém břehu byly to hlavně obce Bzenec, Polešovice a Nedakonice, z nichž poslední obec je ještě živým ohniskem. Jde většinou o obce ležící v zaplavovaném území. Pro tento úsek jsou hlavním zdrojem infekce velké koželužny v Otrokovicích, kde je soustředěn takřka celý dovoz cizozemských kůží. Zárodky sněti slezinné dostávají se odpadní vodou z koželužen do vody řeky Moravy a při záplavách zamořují rozsáhlé komplexy luk v jejím povodí. Mnohé obce, které neleží v blízkosti řeky, mají přiděleny určité úseky luk, nebo alespoň z těchto oblastí dovážejí seno v rámci přidělového hospodaření s krmivem. I když postupně prováděnou regulací řeky Moravy (až na úsek jižně od Lanžhotu) se nebezpečí záplav značně zmenšilo, přece jen k záplavám dochází, zejména na jaře při tání sněhu a po déletrvajících deštích. Tu se zvedne řečištní kal, obsahující i spory sněti slezinné a usadí se na vegetaci zaplavené oblasti. Inf-



kované seno, sklizené z těchto oblastí, bývá pak často pramenem nákazy domácích zvířat.

Druhou oblastí okrsku je povodí Olšavy. V obcích ležících při tomto toku býval anthrax velmi často a v některých, jako je Těšov, Újezdec a Šumice vyskytuje se dosud. Až do r. 1928 byla Olšava neregulována a často se vylévala z břehů. V letech 1928—34 byly některé úseky regulovány, ale dolní tok od Veletin až po ústí zůstal neregulován. Podle ústního sdělení Dr. S r n s k é h o bývala v Havřicích cikánská stanice.

Častý výskyt sněti slezinné v obcích v povodí Olšavy lze si vysvětliti splavováním anthraxových spor z nesprávně umístěných a hygienicky neošetřovaných mrchovišť, případně i vyplavováním spodní vodou a neblahou činností cikánů, jejichž zvykem bylo vyhrabávat zdechliny a maso promývat po několik dní v tekoucí vodě. Tak bývaly zamořovány vody řeky Olšavy, která je mělká, má líný tok s četnými zákruty a je dosti bahnitá, takže skýtá příznivé prostředí pro udržení a za určitých okolností snad i pomnožení anthraxových zárodků, které při záplavách byly rozvlékány na přilehlé louky.

Je zajímavé, že v povodí Horní Olšavy, která teče od Luhačovic, se anthrax vyskytoval jen zřídka, ač i zde se jedná o vodní tok, který má celkem malý spád a jehož břehy jsou hlinité. Rovněž v obcích, ležících při říčce Vláře, se anthrax vyskytoval jen ojediněle. Na jejím horním toku ve Slavičíně bývala sice koželužna, avšak zpracovávala pouze domácí surovinu. Kol r. 1950 byl její provoz zastaven a zůstala zde jen výroba bot (konfekce).

Nutno zdůraznit, že říčka Vlára má spíše bystřinný ráz.

Třetí oblastí jsou obce, ležící v podhůří Bílých Karpat. Jsou to zejména obce Lípová, Nevšová, Bánov, Suchá Loz, Němčí, Javorník, Velká a Radějov. Zdrojem infekce zde bývaly hlavně infikované pastviny a ovšem i mrchoviště, případně nekontrolovaně zakopávané kadavery a nehygienické odstraňování těl uhynulých zvířat.

Postupné ubývání početnosti případů sněti slezinné v jihomoravském okrsku je výsledkem celého komplexu veterinárních zdlavacích opatření, prováděných soustavně a důsledně po řadu let a současně pěkným dokladem úspěšného boje veterinární služby na poli prevence. Jedním z hlavních předpokladů preventivní péče byla snaha po hygienickém odstraňování zvířat, uhynulých na anthrax, jakožto zdrojů nákazy. Od nekontrolovatelného a libovolného zakopávání kadaverů kdekoli, zpravidla na místě uhynutí, přešlo se k zakopávání na mrchovištích. Tento způsob, i když znamenal nesporné zlepšení, měl řadu závažných nedostatků (vyplavování zárodků anthraxových spodní vodou, vyhrabávání kadaverů cikány, spásání trávy a zužitkování sena). Kol r. 1930 přešlo se k spalování. Tělo zvířete bylo třeba napřed rozsekát na menší kusy, proložit dřevem a políti petrolejem. Kromě dosti značných nákladů finančních měl tento postup hlavní hygienickou závadu v tom, že při dělení kadaveru se rozstříkávaly drobné infikované částičky do okolí a dešťovou vodou byly pak dále rozvlékány. Teprve systém kafilerií ukázal se býti po stránce hygienické i ekonomické nejvhodnější. Lze pozorovat, že od doby uvedení otrokovické kafilerie do provozu (r. 1950), ubylo značně a trvale případů sněti slezinné v okrsku.

Hodnotíme-li současnou epizootologickou situaci v anthraxovém okrsku, pak možno ji právem považovat za příznivou. Je třeba ještě zlikvidovat několik

dosud živých nákazových ohnisek a zabránit reinfekci terénu z importovaných kůží. Tak bude možno dosáhnout konečného cíle, totiž zániku anthraxového okrsku. Bylo by jistě velmi účelné, kdyby podobný rozbor byl proveden i v jiných anthraxových okrscích v českých i slovenských krajích.

## **Z á v ě r**

V jihomoravském anthraxovém okrsku jest zaznamenán v posledních letech značný a trvalý pokles případů sněti slezinné. Tohoto příznivého stavu bylo dosaženo prováděním zdolávacích opatření a soustavnou preventivní veterinární péčí. Odstraněním několika dosud aktivních ohnisek a zabráněním reinfekce terénu anthraxem z importovaných kůží, jihomoravský anthraxový okrsek zanikne.

## **L iteratura**

1. Sborník: Průplav Dunaj - Odra - Labe, naše moře. Přerov 1948. — 2. Bogdanov: Koloběh anthraxu. (Tierärztl. Rundschau, 1940, č. 7-8.) Ref. Zvěrolékařský obzor 1940, 174. — 3. Fiala: Směrnice pro pastevní odchov zvířat. Časopis československých veterinářů 1949, 423. — 4. Gordzialkowski: Choroby zakażne zwierząt domowych. Warszawa, 1929. — 5. Kmoško: Příspěvek k epidemiologii sněti slezinné u skotu. Zvěrolékařský obzor 1934, 281. — 6. Harnach: Uhláková enzootie u žírného skotu a jeho disponovanost pro anthrax. Zvěrolékařský obzor 1932, 251. — 7. Strzelecki; Waglik w powiecie Głubczyce, woj. Opole. Medycyna Weterynaryja, 1955, 530. — 8. Mannov: Epizootologičeskaja charakteristika neblagopolučnych po sibirskoj jazve punktov i postrojenie v nich diferencirovannyh protivoevizootičeskich měroprijatij. Veterinarija 48, čís. 2, 42. — 9. Doubava: Sněť slezinná na Moravě. Zvěrolékařské rozpravy 1928, 157. — 10. Ponder: Report on Anthrax (1911).

## **Эпизоотическое изучение южноморавского района, пораженного сибирской язвой**

В южноморавском районе, пораженном сибирской язвой, констатировано в течение последних лет значительное и постоянное уменьшение случаев заболевания. Такое благоприятное положение было достигнуто в результате последовательного осуществления целеустремленных мероприятий систематической профилактической ветеринарной помощи. Путем устранения нескольких до сих пор активных очагов и воспрепятствования реинфекции местности сибирской язвой, возникшей от импортированных кож, южноморавский район поражения сибирской язвой будет ликвидирован.

## **Epizootic Study of South Moravian Anthrax District**

The South Moravian anthrax district has been marked in recent years by a substantial and constant decline in cases of necrosis of the spleen. This favourable situation was achieved by consistently carrying out measures to master the problem

and consistent preventive veterinarian care. The elimination of several active foci and prevention of re-infection of the terrain by anthrax from imported hides is causing the South Moravian anthrax district to disappear.

### **Epizootologische Studie des südmährischen Milzbrandgebietes**

In dem südmährischen Anthraxgebiet wird in den letzten Jahren eine bedeutende und dauernde Senkung der Milzbrandfälle verzeichnet. Dieser günstige Zustand wurde durch konsequente Durchführung der Bekämpfungsmaßnahmen und durch systematische veterinäre Präventivmaßnahmen erreicht. Die Beseitigung einiger bisher aktiver Herde und die Verhütung von Reinfektionen des Terrains mit Anthrax aus importierten Häuten führt zum Erlöschen des südmährischen Anthraxgebietes.

## Příspěvek k biopsii endometria u klisny

Сообщение о биопсии эндометрия у кобыл

Contribution to the Biopsy of the Endometrium of the Mare

Ein Beitrag zur Biopsie des Endometriums bei Stuten

MVDr. Zd. VĚŽNÍK

Z oddělení fyziologie a pathologie rozmnožování hospodářských zvířat VÚV ČSAZV  
Brno. Vedoucí oddělení prof. Dr. E. Přibyl

Došlo dne 27. 9. 1956

### Úvod

Od dob prvního provedení kyretáže, zkonstruování kyrety a zavedení tohoto výkonu do humánní gynekologie, uplynulo více jak sto let. (Josef R é c a m i e r 1774—1852).

Mohutný rozvoj techniky a mocné pokroky přírodních věd způsobené uvolněním pout feudalismu mají vliv na rychlý rozvoj všech věd. Také na tomto malém metodickém úseku — kyretáži — došlo k důkladnému propracování a všeobecnému použití této nové metody, jak dnes můžeme sledovat z bohaté literatury (Weibel, Schröder, E. Novák, Deelman, Curtis, R. Meyer, F. Horálek, J. Trapl a j.).

Marně však bychom hledali v těchto dobách zmínky o provádění kyretáží, ať již pokusných — výzkumných, či diagnostických v medicíně veterinární. Náléhavější úkoly brzdily rozmach výzkumu v tomto mladém odvětví medicíny a bezprostřední praxe zde měla vedoucí místo.

První zmínky o výzkumných abracích u zvířat nacházíme v zahraniční literatuře až v nedávné době.

Je nesporné, že tato praktická technika má velký význam při studiu stavby a stavu endometria živých zvířat, nemenší význam pak při studiu fyziologie a pathologie cyklu pohlavního ústrojí.

Po prvé byla biopsie sliznice děložní u velkých domácích zvířat popsána Andrewsem a Mc. Kenziem. Autoři prováděli odběr vzorků endometria u klisen v různých fázích cyklu zvláště k tomuto účelu sestrojenými t. zv. „zkušebními kleštěmi“ (1941).

Ještě v roce 1951 píše J. E. Miller ve svém článku „Technika biopsie endometria u skotu“, že ač v humánní medicíně je znám široký význam a adaptace endometriální biopsie jak pro experimentální, tak pro diagnostický užitek,

Práce je věnována oslavě šedesátých narozenin prof. Dr. E. Přibyla.



nebyl autor schopen v literatuře nalézt žádnou zprávu o účelu endometriální biopsie ve veterinárním výzkumu.

V roce 1954 byly to hlavně disertační práce z Utrechtu, které se obíraly touto tematikou (R e s s a n g, K a m p e l m a c h e r, B r u s).

V témže roce se ve své studii o hodnocení endometritid zmínil H. B r o d a u f o závažnosti zavádění nových metod do diagnostiky, mezi jinými jmenoval biopsii na čelném místě.

G r u n e r t E. navazuje na Brodaufovu práci a podrobně popisuje zpracování bioptického materiálu u klisen (1955). Také A. S z é k y a L. D ó s z a věnovali pozornost tomuto problému a ve své práci zhodnotili biopsii endometria skotu, žel stať postrádá zmínky technického rázu o přístroji a způsobu odběru vzorků.

Pozastavme se nad vývojem odběru vzorků sliznice k biopsii endometria hospodářských zvířat.

Snahy po stanovení fyziologických i patologických změn endometria vedly k použití různých způsobů získání sliznice děložní. Počáteční poznatky jsou studijní práce o skladbě a funkčních změnách endometria odebraného post mortem. U klisen v souvislosti s problémem sterility studoval histologické změny na sliznici děložní C o n s t a n t i n e s c u (1921). Materiál byl však brán ze zvířat zabitých, ev. uhynulých a postrádal anamnestických údajů, úseky cyklu byly stanoveny podle stavu ovarií ev. cervixu.

Podrobněji již byla historie a anamnesa říjového cyklu sledována před poražením zvířete S e a r b o r n e m, D r a h a n e m a jinými.

Jako další možnosti odběru sliznice děložní můžeme vzpomenout probatorní laparotomie s hysterotomií a excisi kousku sliznice pro histologické studium. Tyto pokusné laparotomie prováděné K e l l e r e m u psů, nehodí se u velkých zvířat, hlavně u koní, pro studijní metodiku.

Prvním přístrojem, který umožnil odběr kousků mukosy děložní k bioptickému studiu byly t. zv. zkušební kleště (Probezangen) A n d r e w s e a M c K e n z i e, které byly Z u r g i l g e n e m též modifikovány. Tento přístroj sestával z trubice o průměru 9 mm, do které byla vsunuta kovová tyčka opatřená vpředu dvěma pěrujícími, pevnými, ocelovými proužky, na jejichž konce byly připevněny ostré lžičky. Posunem držadla mohly se takto utvořené kleště sevřít ostrými hranami proti sobě a opět rozevřít. Přístroj byl zaváděn do uteru uzavřený, na žádaném místě byl otevřen a mukosa do něj vtlačena prstem *per rectum*. Tahem za držadlo umístěné na konci vsuvné tyčky byl vtlačený kousek sliznice děložní odříznut.

B r u s ve své práci přezkoušel nejrůznější přístroje na odběr děložní sliznice od ssacích humánních kyret, až po modely vyhovující dosud.

Humánní ssací kyrety v čele s nejznámějším modelem E. N o v a k o v ý m nedají se použít (podle B r u s e h o) pro účely odběru mukosy u velkých zvířat. Přístroj jest jednoduchý, sestává z kovové trubice (podle použití různě dlouhé a široké — B r u s uvádí délku 32 až 61 cm a průměr 4 až 8 mm). Část přední asi v jedné třetině délky jest zahnutá v mírný oblouk, na jeho menším ohnutí nedaleko předního zaobleného konce jest okénko, jehož přední hrana jest ostře zabroušená a boční hrany jsou opatřeny třemi a čtyřmi zabroušenými zoubky dozadu obrácenými. Odběr provádí se tahem celého přístroje po sliznici za nasání a mírného tlaku druhého prstu, který jest položen na hřbetní straně kyrety. Po tomto odběru však byla shledána častá poranění většího rozsahu, dokonce i perforace (B r u s). Také krvácení je mnohem větší než u přístrojů dále uvedených.

Další přístroj zkoušený Brusem a provedený podle návrhu prof. Thyje, splnil již částečně očekávání. Řez byl prováděn uzavřením kloboučkovitého uzávěru, který na své doléhající hraně k základní trubici byl ostře přibroušen. Uzávěr jest spojen táhlem a držadlem na druhém konci trubice, kterým se dá otevřít a uzavřít. Přístroj vsunuje se do dělohy uzavřen, to značí, že kloboučkovitý uzávěr doléhá svým ostrým okrajem k zakončení trubice. Na místě odběru otevře se uzávěr zasunutím držadla a do takto vzniklého otvoru mezi nožem a zakončením trubice mírným tlakem *per rectum* se vmáčkne mukosa děložní. Nyní stačí pouze držadlo povytáhnout na doraz a kousek vnořené sliznice děložní jest odříznut.

Za zmínku též stojí přístroje: Kampelmacherův konstruovaný Former Nielsonem, a pak o něco pozměněný Ressaungův (1954), které se v podstatě mnoho neliší a kterými prováděli autoři studia bioptická a současně i bakteriologická. Podle Morgana hodí se pro kultivace lépe vaginální hlen než materiál děložní biopsie.

Chronologicky mnohem dříve vyzkoušel a popsal Miller (1951) přístroj pro biopsii uteru, který byl navržen Robertsonem z New-Yorské státní veterinární koleje. Tento přístroj byl původně připraven k odběru endometria skotu a obstál podle Millerova posudku velmi dobře. Podstata celého zařízení tkví v nassání mukosy do otvůrku (okénka) v přední části přístroje, ve kterém jest nassátý kousek odříznut posuvným nožem. Řezací zařízení u Millerova přístroje i u přístroje, který užívali Székely a Dózsa (podle ústního sdělení profesoru Příbylovi), sestávalo z vnější trubice opatřené na konci proximálním okénkem a vnitřní trubice na proximálním konci zaostřené v řeznou plochu a na konci distálním opatřené držadlem. Řez byl proveden zasunutím vnitřní trubice, takže proximální zaostření uřízlo nassátý kousek mukosy do okénka. Vyjmutí vzorku mukosy bylo provedeno odšroubováním přední části vnější trubice před okénkem a tak otevřením prostoru v němž se nacházel odříznutý vzorek.

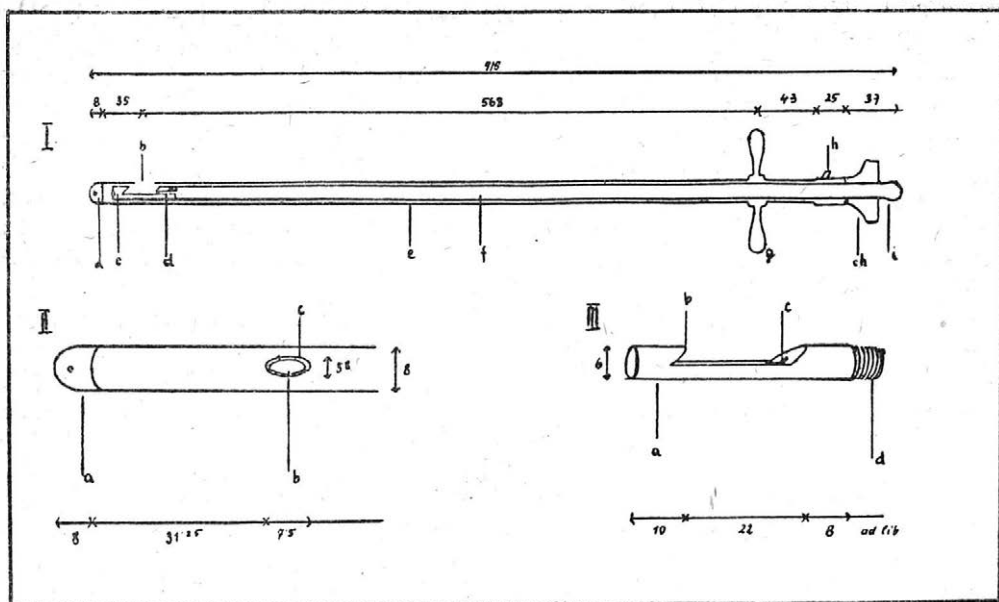
Grunert upravil tento přístroj (1955) pro použití u klisen. Princip zůstal stejný až na změněné délky a šířky přístroje i na upravení způsobu řezu. Řez u Grunertova přístroje byl proveden povytáhnutím vnitřní trubice, čímž proximálně upravený zpětný nůž odřízl kousek mukosy.

## Popis přístroje

K sestrojení přístroje užili jsme modelu Grunertovy modifikace, Millerovy kyrety, která má proti originální některé výhody a je přizpůsobena pro použití u klisen.

Přístroj je složen ze dvou trubic do sebe zapadajících. Vnější trubice je na svém proximálním konci opatřena na vrchní ploše okénkem a na svém konci distálním

| Velikost přístroje        | Miller           | Grunert            | Náš přístroj           |
|---------------------------|------------------|--------------------|------------------------|
| délka:                    | 460 mm           | 690 mm             | 675 mm                 |
| průměr vnější trubky:     | 6 mm             | 7 mm               | 8 mm                   |
| průměr vnitřní trubky:    | 5 mm             | 5,2 mm             | 6 mm                   |
| okénko na vnější trubici: | 5 × 6 mm<br>skot | 6 × 9 mm<br>klisna | 3,8 × 7,5 mm<br>klisna |



I. a) odšroubovací víčko, b) řezací okénko, c) nůž, d) kanálek nože, e) vnější trubice - plášť kyrety, f) vnitřní trubice - táhlo kyrety, g) držadlo pláště kyrety, h) jezdec pro přímé vedení řezu, ch) hmatec táhla kyrety, i) konus na nasazení gumové hadice a stříkačky Janetovy.

II. a) zaoblené odšroubovací zakončení kyrety, b) okénko pro nassání sliznice děložní se zaostřenými okraji (c).

III. a) nůž upevněný na táhlu kyrety, b) ostří vybroušené asi v  $60^\circ$ , c) výbrus kanálku pro vyrovnání podtlaku, d) závit na upevnění k táhlu.

I. a) отвинчиваемая крышка, б) режущее окно, в) нож, г) канавка в ноже, д) внешняя трубка — оболочка кюреты, е) внутренняя трубка — тяга кюреты, ж) держатель оболочки кюреты, з) бегунок для проведения прямого разреза, и) зажим тяги кюреты, к) конус для включения резиновой трубки и шприца Джанета.

II. a) закругленная отвинчиваемая часть кюреты, б) окно для всасывания слизистой оболочки матки с заостренными краями (в).

III. a) нож прикрепленный к тяге кюреты, б) лезвие наточенное приблизительно на  $60^\circ$ , в) канавка отшлифована для выравнивания вакуума, г) винтовая нарезка для прикрепления к тяге.

I. a) screw-off lid, b) cutting window, c) knife, d) knife sheath, e) outer tube-sheath of curette, f) inner tube-pull of curette, g) sheath handle of curette, h) guide for straight cut, ch) handle of the pull of the curette, i) cone for fixing rubber tube and syringe.

II. a) rounded unscrewable end of curette, б) suction window with sharpened edges for drawing in the mucosa of the uterus.

III. a) knife fixed to the pull of the curette, б) edge sharpened in an angle of  $60$  degrees, c) canal in the sheath to balance underpressure, d) screw for tightening the pull.

I. a) abschraubbarer Deckel, b) Schneidering, c) Messer, d) Messerkanal, e) äußeres Rohr- Kürettenmantel, f) inneres Rohr-Kürettenhebel, g) Griff des Kürettenmantels, h) Reiter zur direkten Schnitfführung, ch) Taster zum Kürettenhebel, i) Konus zum Ansetzen des Gummischlauches und der Janet-Spritze.

II. a) abgerundete, abschraubbare Kürettenendung, б) Öffnung mit geschärftem Rand, c) zum Ansaugen der Gebärmutter Schleimhaut.

III. a) auf dem Kürettenhebel befestigtes Messer, б) die in etwa  $60^\circ$  ausgeschliffene Schneide, c) Schliff des Kanälchens zum Unterdruckausgleich, d) Gewinde zur Befestigung am Hebel.

držadlem. Vnitřní těsnicí trubice má na proximálním konci upraveno řezací zařízení na svém konci distálním pak konus na nasazení stříkačky a taktéž držadlo pro posun.

Sestavený přístroj se zasunutou vnitřní trubicí a konusem pro stříkačku má délku 715 mm. Zdůvodnění prodloužení přístroje Grunertova je dáno anatomickými podmínkami pohlavního ústrojí klisny.

Také na našem přístroji (zhotoveném odborným mechanikem F. Lněničkou) použili jsme částečně stejného způsobu úpravy nože a řezání jako Grunert. Výhody jsou zřejmé. S aparaturou Millerovou je při odběru nutno postupovat tak, že po každém odříznutí vzorku musí být celý přístroj vysunut, aby bylo možno otevřít přední část trubice a vyjmout kousek odříznutého endometria. Grunert úpravou zpětného nože usnadnil tento způsob tím, že při odříznutí vzorku je vytlačena jen trubice vnitřní, která současně i s nožem nese ve své dutině kousek odebrané sliznice a vnější trubice zůstává v připravené poloze pro další odběr, což usnadňuje značně manipulaci se zvířetem a snižuje i možnost styku nástroje s okolím a tak jeho znečištění při zákroku.

Grunertův nůž byl zhotoven z duté trubice o stejné síle jako byla trubice vnitřní. Distální konec nože je opatřen závitem k upevnění na vnitřní trubicí. Proximální konec nože jest zaostřen ve zpětně vyběhající ostří. Náš nůž je broušen v válce o stejném průměru jako vnitřní trubice z nerezavějící oceli. Spojení vzduchového sloupce ve vnitřní trubicí s vybroušenou komůrkou v noži jest provedeno kanálkem o průměru 1 mm. Výhody: Zbrus nože vytváří komůrku, která svou hloubkou dovoluje vchlipení sliznice děložní při podtlaku jen do určité hloubky — snižuje se tak možnost porušení větších cév, hlavně ve *stratum fibrillare* a tím i zmenšení případného krvácení. Nůž lépe zachovává ostrost, případné ostření je mnohem snazší.

Konečně vyjímání vzorku u přístroje Millerova (podle ústního sdělení prof. Dr. Příbylovi) používají též tento způsob Széky a Dózsa) je zdoluhavější, neboť se vzorek vyjímá předem. Grunert dostává odříznutý kousek sliznice dalším nassáním do lumina vnitřní trubice. U našeho nože jest vzorek kryt vybroušenou částí, takže jeho vyjmutí je snadné a nedochází k jeho poškození.

## Příprava kyřety a pacienta k provedení výkonu

Provedením probatorní excise endometria lze provádět jak na klinice, ambulatoriu, tak i v terénu, pokud ovšem je možnost odebrané vzorky sliznice děložní dále zpracovat. V každém případě musíme souhlasit s Grunertem, že zavedením bioptického vyšetření děložní sliznice doplní se značně celkové gynekologické vyšetření, zvláště co do funkce, korelace a recepčních schopností endometria.

Výkon sám není náročný, je však záhodno zvyknout si na vyhovující postup a tento zachovávat i nadále. Je-li zvíře klidné, po případě může-li být proveden celý operační výkon v kleci, pak je k němu mimo operátéra zapotřebí jedné osoby k asistenci a jednoho zřízence.

Připravené nástroje a potřeby je nejlépe mít v určitém stálém pořadí sestavené na instrumentárním stolku, k obsluze asistence. Navykli jsme si připravovat přístroje v tomto pořadí:

A. Tyto přístroje obsluhuje sám operátor.

B. Přístroje obsluhované asistencí, nemusí být sterilisovány.

A. 1. Rouškové sterilní gumové rukavice.

2. Vysterilisovaná kyřeta s hadicí k spojení s Janetovou stříkačkou.

3. Jedna až dvě sterilní preparační jehly.

Tyto nástroje jsou uloženy na sterilní roušce na instrumentárním stolku.

B. 1. Janetova stříkačka.

2. Několik prachovek s 5% formalinem, očíslovaných, na vzorky sliznice.

Ke sterilisaci je nutno kyřetu rozložit, což se provede vytážením vnitřní trubice, je-li nůž pevně připevněn, obalí se kouskem vaty, dá-li se odšroubovat, pak po sterilisaci je ukládán do kasety s alkoholem.

## Provedení výkonu

O přípravě pacienta k výkonu budeme ještě hovořit. Považujeme proto zvíře za připravené.

1. Operátor si oblékne sterilní dlouhé rukavice, aby neznečistil při dále uvedeném postupu, sterilní nástroje,



Рис. 1. Стадия покоя: поверхностный эпителий низкий, кубической формы, эпителий желез тоже низкий, с плазмой гомогенной окраски. Ядро темной окраски наполняет большую часть клеток. Тубулы желез проходят почти ровно (влево, вверху и вправо), слизистая оболочка достаточно низкая (высоту ее можно видеть влево вверху в поперечном разрезе). Железы не люминизированы, только в отдельных случаях можно наблюдать расширение люмины желез, наполненные большей частью скопившимся эозинофильным секретом, окрашенным в красный цвет. Субэпителиальный слой микозы не имеет большого нарастания клеток, компактная часть не отделена ясно (окрашивание Н. Е., увеличение в 25 раз)

Fig. 1. Stage of rest. The Surface epithelium is low and cubical. Also the epithelium of the glands is low with plasma homogenously stained. The darkly stained nucleus fills most of the cells. The tubuli of the glands are almost straight (left top and right), the mucosa is quite narrow (left top shows its thickness on cross section). The glandulae have no lumen, only in places enlarged lumina of glands filled with mostly red stained and crowded secretion can be observed. The subepithelial layer of the mucosa does not show much crowding of cells, the compacta is not distinctly separated. (Staining H. E. — magnified 25 times)

Abb. 1. Ruhestadium: Das Oberflächenepithel ist niedrig, kubisch, auch die Drüsenepithelien sind niedrig und haben ein homogen sich färbendes Plasma. Der sich dunkel färbende Kern füllt den größeren Teil der Zellen aus. Die Drüsentubuli haben einen fast geraden Verlauf (links oben und rechts). Die Schleimhaut ist genügend niedrig (ihre Höhe ist links oben auf dem senkrechten Schnitt bemerkbar). Die Drüschsen sind nicht luminisiert, nur an Einzelstellen sind erweiterte Drüsenlumina, größtenteils mit einem sich rot färbenden eosinophilen, angereicherten Sekret bemerkbar. Die subepitheliale Mukosaschicht weist keine große Zellenanhäufung auf, die Kompakta ist nicht deutlich abgesondert. (Färbung H. E. 25× Vergrößerung.)

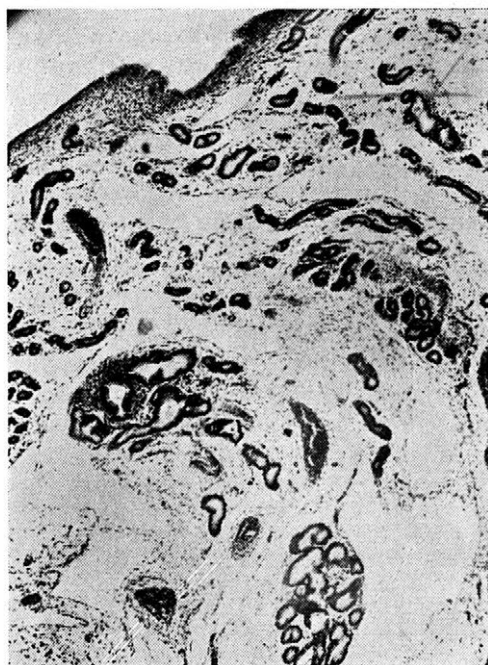
Рис. 2 и 3: Эструс: поверхностный эпителий становится более высоким и складчатым, увеличиваются цилиндрические клетки с базально расположенным ядром. Тубулы желез покрыты цилиндрическим эпителием, в некоторых местах уже расширены — большей частью уже все люминизированы, создают значительное количество загибов и завитков. Железы местами обнаруживают тенденцию создавать бугорки. Отдельные тубулы становятся более ровными, однако вытянуты, и их нижняя часть приобретает спиралеобразную форму. Кровяные сосуды сильно наполнены кровью и расширены, большая лимфатическая эктазия вызывает элементозное просачивание струмы с большим числом экстравазатов, главным образом в субэпителиальных частях. Равно и субэпителиальный слой более ясно отделен от спонгиозного слоя ретикулярной ткани. (Окрашивание Н. Е., увеличение в 100 раз)

Fig. 2. and 3. Oestrus: The surface epithelium gets taller and ciliated consisting of cylindrical cells with their nucleus situated at the base. The tubuli of the glands lined with cylindrical epithelium are in places already dilated, mostly showing a lumen with numerous curves and windings. The glands show a tendency to forming lobules. Some of the tubuli are straight but lengthened and their deep parts are contorted into the shape of a spiral. The blood vessels are well filled with blood and enlarged. A considerable enlargement of the lymph vessel causes oedema of the stroma with numerous extravasations, particularly in the subepithelial layers. Also the subepithelial stratum is already distinctly differentiated from the spongy stratum reticulare (H. E. staining — magnified 100 times)

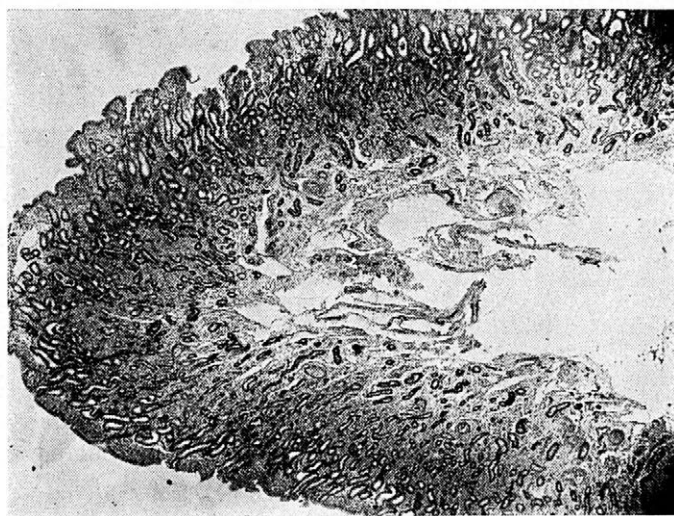
Abb. 2. u. 3. Oestrus: das Oberflächenepithel wird höher, enthält Flimmerzellen und zylindrische Zellen mit basal gelagertem Kern. Die Tubuli der Drüschsen sind mit zylindrischem Epithel ausgekleidet, an einigen Stellen bereits erweitert — größtenteils sind alle luminisiert und bilden zahlreiche Falten und Windungen. Die Drüschsen weisen stellenweise eine Tendenz zur Lappung auf. Vereinzelte Tubuli sind mit in ihrem Verlauf gerader, sind aber länglich und ihre unteren Anteile weisen eine spiralförmige Windung auf. Die Blutgefäße sind stark mit Blut gefüllt und erweitert; eine große Lymphektasia verursacht eine ödematische Durchtränkung des Stroma mit zahlreichen Extravasaten, besonders in den subepithelialen Teilen. Auch das Stratum epitheliale ist bereits deutlicher vom Stratum reticulare abgesondert. (Färbung H. E., 100× vergrößert.)



Obr. 1. Stadium klidu: povrchový epitel je nízký kubický, též epithelie žláz jsou nízké s plasmou homogenně se barvící. Temně se barvící jádro vyplňuje větší část buněk. Tubuly žláz probíhají téměř rovně (vlevo nahoře a vpravo), sliznice je dost nízká (její výška je patrna vlevo nahoře na kolmém řezu). Žlázky nejsou luminisovány, jen ojediněle jsou patrna rozšířená lumina žláz naplněná většinou červeně se barvícím, eosinofilním, nahloučeným sekretem. Subepitheliální vrstva mukosy nevykazuje velké nahloučení buněčné, kompakta není zřetelně oddělena. (Barvení H. E. Zvětšení 25 $\times$ .)



Obr. 2 a 3. Oestrus: povrchový epitel se stává vyšší a řasinkový, cylindrických buněk, s basálně uloženým jádrem. Tubuly žlázek jsou vystlány epitelem cylindrickým, jsou na některých místech již dilatovány — většinou již všechny luminisovány, vytváří četné záhyby a vinutí. Žlázky vykazují místy tendenci lalůčkování. Ojedinělé tubuly jsou ve svém průběhu rovnější, jsou však protažené a jejich spodní části jeví spirálovité stočení. Cévy krevní jsou silně naplněny krví a rozšířeny, velká lymfektasie působí oedematosní prosáknutí stromatu s četnými extravasáty, hlavně v částech subepitheliálních. Také stratum subepitheliále je již zřetelněji odděleno od spongiosního stratum reticulare. (Barvení H. E. Zvětšení 100 $\times$ .)



Obr. 4. Malé přehledné zvětšení sliznice děložní v počáteční sekreci: povrchový epitel je vysoký, buněk cylindrických s jádry již puchýřkovými. Tubulů žláz nápadně přibýlo a jsou všechny kanalisovány, v povrchových částech dilatovány s epitelem sekrečně projasněným, vlnitého průběhu s náznaky počátků vytváření lalůčků. Hluboké části žlázek nejsou dosud v plné funkci. Ektasie krevních a lymfatických

cév jsou více v hlubších partiích sliznice, také oedem je rozprostřen difusněji. (Barvení H. E. Zvětšení 25×.)

Рис. 4. Мало заметное увеличение слизистой оболочки матки в начале секреции: поверхностный эпителий высокий, цилиндрические клетки с ядрами уже образуют пузырьки. Количество железных tubulů резко увеличилось и все имеют каналы, в верхней полости расширены с эпителием секретарно проясненным, волнообразного вида, с признаками первоначального образования долей. Глубокие части желез до сих пор не полностью выполняют свои функции. Эктазия кровяных и лимфатических сосудов происходит больше в более глубоких частях слизистой оболочки, также отек распространен более диффузно (окрашивание H. E., увел. в 25 раз.)

Fig. 4. Small but distinct enlargement of the uterine mucosa during initial secretion: the surface epithelium is tall, composed of cylindrical cells with nuclei already vacuolated. The number of tubuli glands has considerably increased, all having lumina and near the surface they are dilated, their epithelium cleared by secretion, their course being undulating with signs of lobulation. The deep parts of the glands are not functioning fully. Enlarged blood and lymph vessels can be found mostly in the deep layers of the mucosa. Also the oedema is more diffuse. (Stain H. E. — magnified 25 times.)

Abb. 4. Schwache übersichtliche Vergrößerung der Gebärmutter Schleimhaut zu Anfang der Sekretion: Das Oberflächenepithel ist hoch, und besteht aus zylindrischen Zellen, mit blasenartigen Kernen. Die Anzahl tubulöser Drüsen ist auffallend vermehrt, alle sind kanalisiert, in den Oberflächenteilen erweitert, mit einem durch Sekret aufgehelltem Epithel, von wellenartigen Verlauf und Andeutungen des Beginns einer Lappenbildung. Die tiefen Drüsenteile funktionieren bisher nicht völlig. Die Ektasien der Blut- und Lymphgefäße befinden sich mehr in den tieferen Teilen der Schleimhaut. Auch das Oedem ist mehr diffus verbreitet. (Färbung H. E., 25× vergrößert.)

aby tyto za všech požadavků sterilního posupu výkonu mohl zavést až do dělohy, aby po sejmutí rukavice, měl čistou suchou ruku.

2. Nyní sestaví kyretu, t. j. zasune vnitřní trubici (na kterou byl předem připevněn nůž) do vnější tak, aby jezdec (I. h) zapadl do drážky v objímce až ke konci. Tím jest kyreta připravena, pohledem do okénka (I. b) zjistíme, že nůž jest v poloze „otevřen“, můžeme se přesvědčit mírným tahem a zasouváním o chodu nože. V našem případě, kdy je komůrka nože spojena se vzduchovým sloupcem vnitřní trubice pouze úzkým kanálkem, je dobře přezkoušet jeho průchodnost, aby se předešlo chybnému postupu.

3. Na distální konci kyrety je připevněna hadička, do které se nasune konus Janetovy stříkačky. Hadička je sterilisována současně s kyretou. Operátor podá hadičku asistenci, která si již úpravu připevnění stříkačky provede.

4. Záleží naprosto na operátorovi, zda volí k zavedení kyrety do dutiny děložní ruku pravou či levou. Kyreta je zaváděna krytá rukou a do cervikálního kanálu je vnořována pomocí prstů. Pokud je možné, orientujeme směr zavádění ukazovákem tak daleko, kam až dosáhneme. Rektální kontrola není při tomto výkonu nutná. Kyreta svým zaobleným koncem nemůže způsobit žádné poranění, je-li s ní šetrně manipulováno v dutině děložní.

5. Řez: Kyreta je nastavena na místě žádaného odběru děložní mukosy. Jemným a šetrným tlakem je přidržována proximální část (její dorsum) ke stěně děložní. Operátor dá pokyn po připravení kyrety k nassání. Je nutné nassání provést rychle a raději předem vyzkoušet, zda sliznice lne k nástroji. Toto provádíme malým potáhnutím pistu ve stříkačce, abychom zjistili zda jde volně — nebo zda cítíme odpor. Vlastní nassání provádíme pak rozhodným tahem asi 30 až 50 ccm a lze doporučit provést řez před dokončením ssání. Obě akce tedy probíhají současně a velké zvýšení podtlaku není věci k prospěchu, vyvolává totiž v mukose značné výlevy krevní, které arteficiálními změnami znehodnocují preparát někdy velmi vážně. S částečnými extravasacemi musíme však počítat. Řez provádí operátor krátkým, rychlým tahem za hmatec (I. ch), při čemž poloha kyrety udržována držadlem (I. g) se nesmí změnit.

6. K vyjmutí vzorku je nutno vytáhnout vnitřní trubici kyrety (táhlo) s nožem, při čemž vnější část kyrety (plášť) zůstává zasunuta v děloze a je možno tak pokračovat v dalších odběrech jen změnou posice proximálního konce kyrety. Záleží na vyšetřujícím, kolik vzorků sliznice si zvykne odebírat. Lze však doporučit odběr materiálu ze sliznice těla děložního a obou rohů, i když rozdíl v histologickém posouzení preparátů z různých míst děložní sliznice jsou malé a je možno tyto nepatrné rozdíly opominout, jak potvrzují práce Kellero v y. Vynětí excidované části sliznice děložní z komůrky tvořené výbrusem nože je nejlépe provádět přímo v prachovce s 5% formalinem. Tak také se dotýkáme co nejméně povrchu sliznice. Obvykle stačí pouhé zatřepání nožem, nebo profouknutí, aby se uvolnila sliznice lnuoucí k stěnám nože, po případě sesunout vzorek preparační jehlou. Nařízením pláště do druhého rohu děložního, zasunutím táhla až na doraz je kyreta opět připravena k dalšímu odběru.

### Příprava pacienta

Klisny snáší odběr mukosy celkem dobře. U nervosnějších zvířat jest snad okamžik zavádění kyrety po případě dilatace krčku provázena zvýšeným neklidem. Na vlastní řez nereagovalo nám však žádné zvíře zvláště výrazně.

Příprava zvířete k probatorní excisi musí zahrnovat veškerá opatření pro sterilní provedení tohoto zákroku. Musíme mít stále na mysli, že se jedná o krvavý výkon otvírající bránu infekci, která se tak dostává do nehlubších partií děložní sliznice, i když je vlastní krvácení malé, mnohdy nepatrné.

Musíme tedy dbát, aby okolí vulvy a vulva sama byla důkladně omyta, ocas klisny ovázan a vyvázán, u neklidných zvířat přichází v úvahu i rouškování, aby operátor před zasunutím kyrety do vaginy nepřišel do styku ani nástrojem ani sterilní rukavicí s okolím vulvy. Vagina před provedením výkonu má být vypláchnuta jemným desinfekčním roztokem (obvyklými prostředky: acridinová barviva, hydrog. perox., chlorseptol, chloramin, a p.). Roztoky musí mít přiměřenou teplotu a slabou koncentraci, aby nedošlo k termickému nebo chemickému podráždění, což by reflexně mohlo značně změnit fyziologické poměry na endometriu.

Po provedení probatorní excise, byla-li tato provedena mimo připouštěcí den, je možné provést slabý adstringenční výplach dělohy. Opět jest nežádoucí velká teplota a koncentrace vzhledem k nebezpečí zvýšeného krvácení z míst excidované sliznice. Touto přípravou klisny a svědomitým a čistým provedením výkonu jest zaručen zdárný průběh této opravdu snadné vyšetřovací metody.

Případy zvýšeného krvácení nejsou v literatuře uvedeny a nepozorovali jsme je ani při našich odběrech.

### Laboratorní zpracování vzorků sliznice děložní

Průměrná velikost odebraných částí sliznice závisela na tvaru excidovaného kousku endometria. Naším přístrojem dostávali jsme obvykle vzorky v podobě kopulek, nebo pásků, tedy o kruhové nebo obdélníkové základně. Velikost kulatých nebo oválných vzorků se pohybovala v průměru 8,1 mm až 9,3 mm o průměrné výšce 3,2 mm. U vzorků obdélníkových, průměrná délka 11,7 mm, šířka 4,8 mm a výška 1,6 mm.

Tvar vzorků, jak jest z uvedených rozměrů zřejmé, nebyl vhodný pro zalití, bylo proto nutno vzorky přezévat, a to tak, aby při úpravě preparátu do zalévací krabičky ležel řeznou plochou, která je kolmo vedená na bási endometria. V některých případech bylo profiznutí vzorků tak, aby řez šel kolmo, dosti obtížné. Dobře však poslouží zvětšení lupou k odhadu průběhu žlázek. Řez prováděli jsme žiletkou a nejlépe za krátkou dobu po odběru, neboť vzorek za tu dobu v 5% formalinu něco málo zpevní, takže nedojde tak lehce dotykem prstů k poškození jeho povrchu.

### Fixace

Na našem pracovišti užíváme téměř výlučně 4 až 5% formalin. Formalin je opravdu jeden z nejužívanějších prostředků, ač nevykazuje oproti tekutině Bouinově žádné výhody. Jeho levnost, dobré pronikání do hloubky, dobrá barvitelnost tkání, které neporušuje srážením bílkovin a hlavně možnost dlouhého udržování preparátu beze změn, bez bobtnání kolagenu, nebo rozpouštění tuků, to vše stačí pro jeho doporučení. Fixační doba námi užívaná jsou 2 až 3 dny.

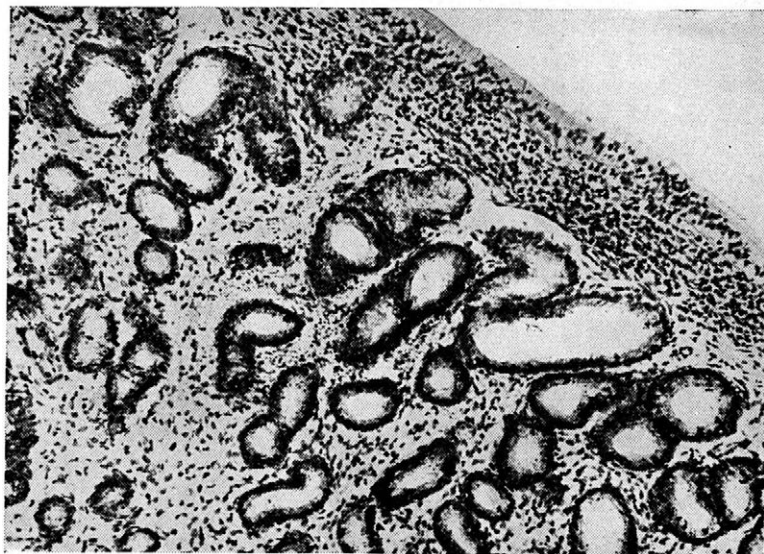
Рис. 5. Резко поднятый слой поверхностного эпителия проявляет секреторную разжиженность и неточное разграничение, плазма эпителий сливается, их пузырчатое ядро большей частью отодвинуто от базы субнуклеарными вакуолями. Точно разграничены компактный и спонгиозный слои. Компактный слой сравнительно более густой, но более бедный железными элементами, так как тубулы выходят на поверхность только узкими каналами, под компактным слоем находится мощный спонгиозный слой, проявляется отёк с клетками пузырчатых ядер. Эпителий тубулов, сильно расширенных и приобретших винтообразную форму, является более высоким главным образом в верхних слоях, в более глубоких частях снижается. В спонгиозе (слой ретикулярной ткани) видны (посередине) вытекание крови и расширенные лимфатические сосуды. (Окрашивание Н. Е., увеличение в 375 раз.)

Fig. 5. The marked broad layer of the surface epithelium becomes indistinct as a result of secretion with blurred edges; the plasma of the epithelial cells flows together, the nuclei are vacuolated and mostly pushed off the base by a subnuclear vacuole. There is a distinct border between the layers of the compacta and spongiosa. The compacta is rather dense and has fewer glandular elements because the tubuli open at the surface only by narrow ducts. Beneath the compacta there is a great layer of spongiosa which shows oedema and cells with vacuolated nuclei. The epithelium of the tubuli which are considerably dilated and contorted into the shape of a screw is taller, particularly in the superficial layers. In the deeper layers the epithelium is lower. In the spongiosa (stratum reticulare) extravasations of blood and enlarged lymphatic sinuses (in the middle) can be observed. (Stain H. E. — magnified 375 times)

Abb. 5. Eine auffallende Schicht des Oberflächenepithels weist ein dünn gewordenes Sekret und verwischte Grenzen auf, das Epithelplasma ist zusammengefloßen, sein Kern ist blasenartig aufgetrieben und meistens von der Basis durch eine subnukleare Vakuole abgedrängt. Zwischen Kompakta und Spongiosa besteht eine deutliche Grenze. Die Kompakta ist verhältnismäßig dichter und ärmer an Drüsenelementen, da die Tubuli nur mittels verengter Kanäle an der Oberfläche münden; unter der Kompakta ist eine mächtige spogiose Schicht, ist ödematös und weist blasenartige Zellen auf. Das Epithel der stark dilatierten bis schraubenartig gewundenen Tubuli ist besonders in der oberflächlichen Schicht höher, in den tieferen Partien wird es niedriger. In der Spongiosa (stratum reticulare) sind (inmitten) Blutergüsse und erweiterte Lymphsini sichtbar. (Färbung H. E., 375× vergrößert.)



Obr. 5. Nápadně vysoká vrstva povrchového epitelu jeví sekreční rozhradlost a nepřesnost hranic, plasma epithelií splývá, jejich jádro jest puchýřkové většinou odsunuto od base subnukleární vakuolou. Zřetelné rozhraní kompakty a spongiosy. Kompakta je poměrně hustší a chudší na žlázné elementy, ježto tubuly ústí na povrch jen zúženými kanály. Pod kompakťou jest mohutná vrstva spongiosní, jeví oedem s buňkami puchýřkových jader. Epithel tubulů silně dilatovaných až šroubovitě vinutých je vyšší hlavně ve svých povrchových vrstvách, v hlubších partiích se snižuje. Ve spongiose (stratum reticulare) jsou patrné (uprostřed) výlevy krevní a rozšířené lymfatické síny. (Barvení H. E. Zvětšení 375X.)



Obr. 6. Velké zvětšení sekrečního povrchového epitelu a zúženého vyústění tubulosních žláz sliznice děložní. Dobře zřetelná membrána basalis povrchového epitelu (vpravo). Buněčně bohatá kompakta, ve spongiose stromatosní buňky s dlouhými plasmatickými výběžky (vlevo dole). (Barvení H. E. Zvětšení 750X.)

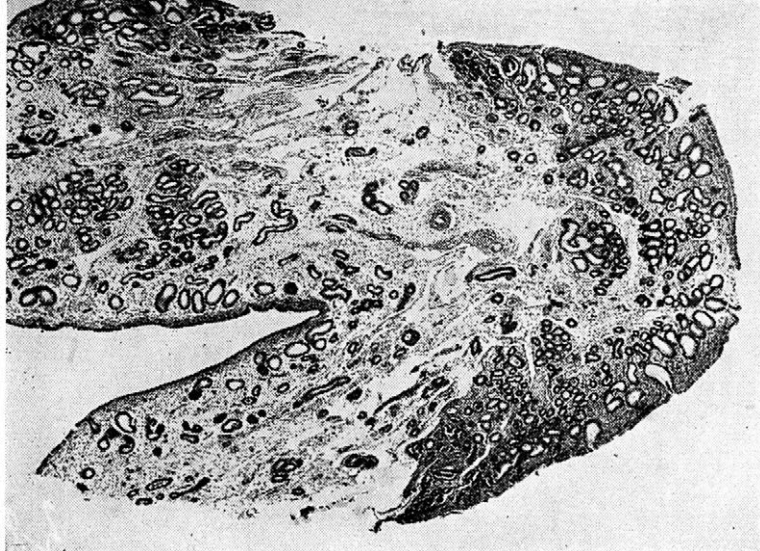


Рис. 6. Большое увеличение поверхности секреторного эпителия и суженных выходов трубчатых желез слизистой оболочки матки. Хорошо выражена базальная мембрана поверхности эпителия (вправо). Компактный слой богат клетками, в спонгиозном слое клетки стромы с длинными плазматическими отростками (внизу влево). Окрашивание H. E., увеличение в 750 раз.)

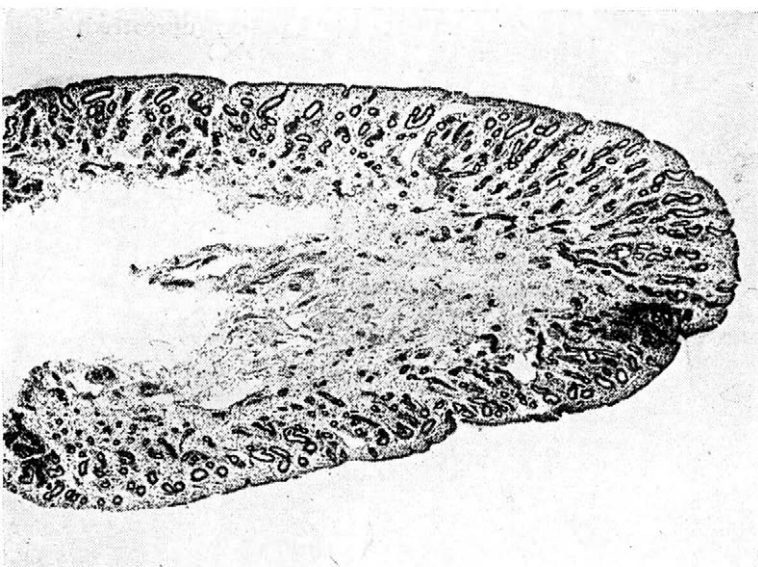
Fig. 6. Great enlargement of the secretory surface epithelium and narrowing of the openings of the tubular glands of the uterine mucosa. The membrana basalis of the surface epithelium is distinctly visible (right). The compacta is rich in cells. On the spongiosa stroma cells have long plasmatic ventricles (below on the left). (Stain H. E. — magnified 750 times.)

Abb. 6. Starke Vergrößerung des sekretorischen Oberflächenepithels und der verengten Mündung tubulöser Drüsen der Gebärmutter Schleimhaut. Gut sichtbare Membrana basalis der Oberflächenepithels (rechts). Zellenreiche Kompakta, in der Spongiosa stromatöse Zellen mit langen plasmatischen Ausläufen (links unten). (Färbung H. E., 750X vergrößert.)

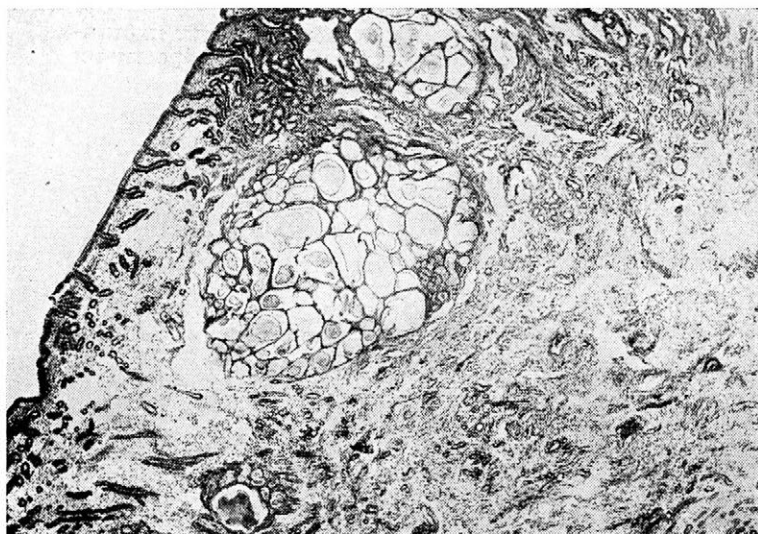




Obr. 7. Regrese: epithel povrchový i epithel žlázek se stává nižší, jádro zabírá jeho dolní polovinu. Plasma buněk se barví pozvolna homogenně. Dilatace žlázek se menší, zůstává ještě místy patrna lobulární struktura separovaných žlázek, která se však též pozvolna ztrácí. (Barvení H. E. Zvětšení 25 $\times$ .)



Obr. 8. Pokročilejší regrese endometria, žlásky se pozvolna napřimují a zkracují, epithel se snižuje, stává se až kubický, místy mizí kanalisace tubulů. Toto období během 6 až 8 dnů přechází do stadia klidu. (Barvení H. E. Zvětšení 25 $\times$ .)



Obr. 9. Senilní endometrium (sterilní 20letá klisna). Nerecipující endometrium klidových tubulů se stromatem místy charakteru vřetenobuněčných pojiv až fibrosním, místy i malobuněčně infiltrovaným. Vedle rovných úzkých žlázek se středně vysokým epithelem jsou žlázkové uzlíky i makroskopicky na řezu viditelné, tvořené enormně dilatovanými žlázkami s nízkým kubickým až plochým epithelem, temně se barvicím, jejichž lumina jsou vyplněna nahloučeným eosinofilním sekretem. Ojedinele jsou vidět tyto cystické adsiny v různých velikostech roztroušené. (Barvení H. E. Zvětšení 50 $\times$ .)

Рис. 7. Регрессия: эпителий поверхности и эпителий желез становится более низким, ядро составляет нижнюю половину. Плазма клеток окрашивается постепенно гомогенно. Расширение желез уменьшается, местами еще остается трубчатая структура отделившихся желез, которая, однако, также постепенно исчезает. (Окрашивание Н. Е., увеличение в 25 раз)

Fig. 7. Regression: The surface epithelium and that of the glands becomes lower, the nuclei filling lower half of the cell. The cellular plasma gradually stains homogeneously. The dilation of the glands diminishes, in places the lobular structure of separated glands, though gradually disappearing, can still be observed. (Stain H. E. — magnified 25 times).

Abb. 7. Regression: Das Oberflächenepithel und das Drüsenepithel wird niedriger, der Kern nimmt die untere Hälfte ein. Das Zellenplasma färbt sich allmählich homogen. Die Drüsendifilatation wird schwächer, es bleibt noch stellenweise die Lobularstruktur vereinzelter Drüsen bemerkbar, die aber auch allmählich schwindet. (Färbung H. E., 25× vergrößert.)

Рис. 8. Более разившаяся регрессия эндометрита, железы постепенно выпрямляются и сокращаются, эпителий снижается, приобретает кубическую форму, местами уже исчезают трубчатые ходы. Эта фаза продолжается в течение 6—8 дней и переходит в стадию покоя (окрашивание Н. Е., увеличение в 25 раз)

Fig. 8. More advanced regression of the endometrium; the glands straighten and shorten gradually, the epithelium gets lower and becomes almost cubical; in places tubuli lose their lumen. In the course of six to eight days this phase leads to the stage of rest. (Stain H. E. — magnified 25 times).

Abb. 8. Eine mehr fortgeschrittene Regression des Endometriums, die Drüsen richten sich langsam auf und werden kürzer, das Epithel wird niedriger, bis kubisch; Stellenweise verschwindet die Kanalisation der Tubuli. Dieser Zeitabschnitt geht im Laufe von 6—8 Tagen in ein Ruhestadium über. (Färbung H. E., 25× vergrößert.)

Рис. 9. Сенильный эндометрит (стерильная 20-летняя кобыла). Эндометрит без восприятий спокойного состояния трубок со струмой местами характера веретенообразных клеточных связок, доходящих до фиброзных, местами инфильтрированной небольшими клетками. Около ровных узких желез эпителий средней высоты, имеются узелки желез, видимые в разрезе и макроскопически, создаваемые чрезмерно расширенными железами с низким кубическим, почти плоским эпителием, с темной окраской, lumiны которого заполнены эозинофильным секретом. Местами видны эти разбросанные различных размеров цистические адсины. (Окрашивание Н. Е., увеличение в 50 раз)

Fig. 9. The senile endometrium (sterile 20-year-old mare). The non-recipient endometrium of quiescent tubuli with stroma in some places having the character of fusiform cells and even fibrous connective tissue, in other places resembling small cell infiltration. Apart from straight, narrow glandulae with average tall epithelium, clusters of glands can be seen also macroscopically. These are formed by enormously dilated glands with low, even flat, darkly stained epithelium whose lumina are filled with crowded eosinophile secretions. In some instances these cystic adenosinuses are scattered in various sizes.

Abb. 9. Seniles Endometrium (eine 20jährige sterile Stute). Nicht rezipierendes Endometrium der Tubuli im Stand der Ruhe, mit einem Stroma, das stellenweise den Charakter von Spindelzellen-Bindegewebe mit fibrösen Übergängen, stellenweise auch Kleinzelleninfiltrat aufweist. Außer gerader schmaler Drüsen mit mittelhohem Epithel sind die Drüsenpakete im Schnitt auch makroskopisch sichtbar, gebildet durch enorm erweiterte Drüsen mit einem niedrigen kubischen bis flachen, sich dunkel färbenden Epithel, deren Lumina mit angehäuften eosinophilen Sekret ausgefüllt sind. Diese zystischen Adsinen sind, in verschiedene Größen zerstreut, sichtbar. (Färbung H. E., 50× vergrößert.)

## Příprava preparátu k zalití

Po fixaci prodělává preparát normální postup odvodnění a projasnění. Chtěl bych jen upozornit, že se nám velice osvědčil způsob odvodňování s vatovým podkladem v prachovce. Voda extrahovaná z preparátu alkoholu klesá ke dnu nádoby a když jsou řezy uloženy na dně, je v některých případech zavodnění alkoholu tak značné, že preparáty jsou špatně odvodněny, což má za následek horší prosycení parafinem a špatnou řezatelnost. Uložíme-li však vzorky na chomáček vaty, překrytý gázou, aby se vatové chloupky nenalepily na preparát, klesá voda ke dnu a preparát zůstává stále v hodnotném prostředí alkoholu. V tomto případě postáčí nám také mnohem kratší časové období pro odvodňování alkoholickou řadou.

Nejlépe nám vyhovující způsob zalévání trval celkem 26 hodin, bylo použito provádění třemi alkoholy, pak benzenem, benzen-parafinem, parafinem a zalití.

Dobu působení alkoholů na vzorky jsme několikrát měnili a uvedené nejlépe vyhovují:

alkohol 96% dvakrát použitý 30 minut,

alkohol 96% jedenkrát použitý 30 minut,

alkohol 100% — preparáty ponechány do příštího dne.

Druhý den ráno předáno do benzenů I (2× použitý) na dobu 20 minut,

II (1× použitý) na dobu 20 minut,

III (čistý) na dobu 20 minut.

Před vlastním prosycováním parafinem, použili jsme směsi aa benzen-parafin, kde jsme preparáty ponechali po dobu 30 minut.

V roztopeném parafinu byly preparáty před zalíváním 120 až 150 minut.

Zalití preparátů je okamžik v jejich přípravě velmi důležitý. Jde o to, aby v bločku seděl vzorek tak, že řezem je opravdu zachycen žádaný kolmý směr k basi endometria. Proto je lépe, nemáme-li dosud zkušeného a zacvičeného laboranta, na tento úkon vždy dohlédnout či provést sám.

## Řezání

Znovu připomínáme, že řez má být proveden kolmo k basi, tak aby zachytil co možná podélně průběh žlázek děložních. Z tangenciálních řezů lze ovšem též dostatečně sledovat stavbu a poměry cylindrického epithelu žláz, nejvíce se však mění poměr výšky mukosy a povrchový epithel.

Pro studium endometria, hlavně epithelií povrchových a žlázek, je nutné, aby řezy byly co nejtenší. Vystačujeme naprosto tloušťkou řezu 4  $\mu$ .

Sikmo zasazeným správně skloněným nožem odříznuté parafinové řezy jsou přeneseny do teplé vody, kde se vypnou (teplota nesmí přesáhnout bod tání parafinu). Vodu je dobře okyselit na kyselou pH, poněvadž alkalická smývá bílek na podložních sklech při uchycování řezů, takže tyto odpadávají a odplavují se při barvení.

Fig. 10. Focal inflammatory infiltrations of the endometrium, partly subepithelial, in places also in the vicinity of dilated tubuli. The mucosa shows signs of weak secretion, the epithelial cells are infiltrated by numerous mononuclear and even polynuclear elements. Frequent epithelial invagination of the tubuli can be observed which may be the result of weakness of the connective tissue following the inflammatory changes which damage the firmness of the stroma of the mucosa. (Stain H. E. — magnified 25 times).

Abb. 10. Herdartige entzündliche Infiltration des Endometriums in den subepithelialen Teilen, stellenweise auch in der Umgebung der erweiterten Tubuli. Die Schleimhaut weist eine Andeutung schwacher Sekretion auf, die Epithelialzellen sind mit zahlreichen Mono- und Polynuklearen durchsetzt. Es sind öftere Epithelial-Invaginationen der Tubuli bemerkbar, was vielleicht die Folge einer Insuffizienz des Bindegewebes ist, auf Grund entzündlicher Veränderungen, die die Festigkeit des Schleimhautstromas beeinträchtigen. (Färbung H. E., 25× vergrößert.)

Abb. 11. Stärkere Vergrößerung des Oberflächenepithels bei entzündlicher Infiltration der Gebärmutter Schleimhaut. In den Oberflächenepithelzellen ist eine bedeutende Anzahl emigrierender Leukozyten zu sehen. Die subepitheliale Stromaschicht ist stark mit Erythrozyten, Mono- und Polynuklearen und plasmatischen Zellen durchsetzt. (Färbung H. E., 350× vergrößert.)



Obr. 10. Ložisková zánětlivá infiltrace endometria v částech subepiteliálních místy i v okolí dilatovaných tubulů. Sliznice jeví náznak chabé sekrece, buňky epitheliální jsou prostoupeny četnými mono- i polynukleáry. Jsou patrné časté epitheliální invaginace tubulů, což snad je výsledkem insuficience pojiv následkem zánětlivých změn poškozujících pevnost stromatu sliznice. (Barvení H. E. Zvětšení 25×.)

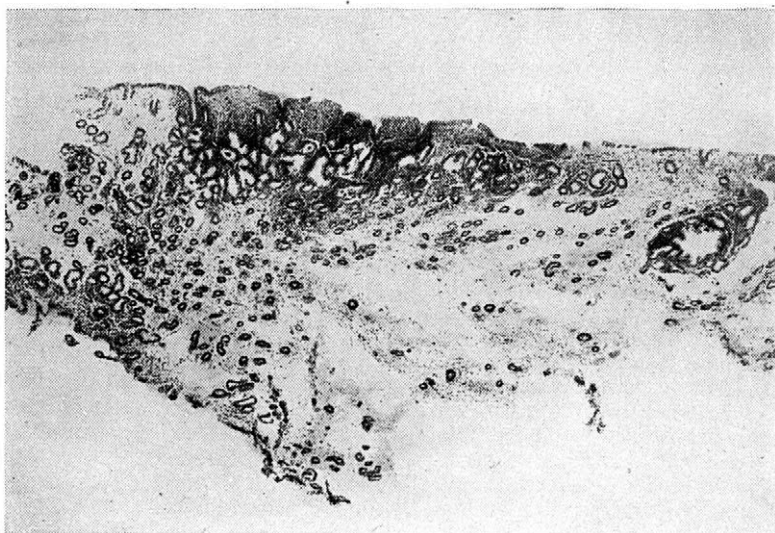


Рис. 10. Очаговая воспалительная инфильтрация эндометрия в субэпителиальных частях, местами и около расширенных трубок. Слизистая оболочка проявляет признаки ослабленной секреции, эпителиальные клетки заполнены большим количеством моно- и полинуклеарами. Заметны частые эпителиальные проникновения трубок, что вероятно является результатом недостаточности соединительной ткани вследствие воспалительных изменений, повредивших плотность стромы слизистой оболочки. (Окрашивание Н. Е., увеличение в 25 раз)

Obr. 11. Větší zvětšení povrchového epithelu při zánětlivé infiltraci sliznice děložní. V buňkách povrchového epithelu jest patrné značné množství emigrujících leukocytů. Subepiteliální vrstva stromatu je silně prostouplá erythrocyty, mono- i polynukleáry, plasmatickými buňkami. (Barvení H. E. Zvětšení 350×.)

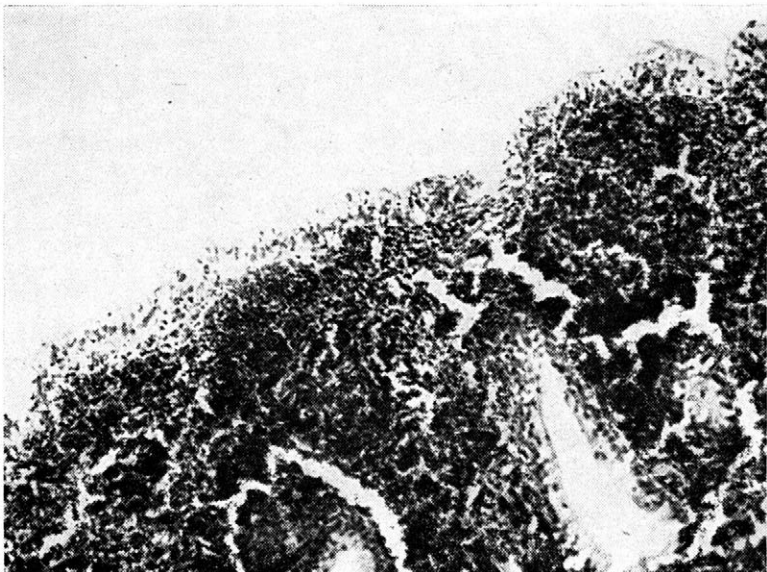


Рис. 11. Более значительное увеличение поверхности эпителия при воспалительной инфильтрации слизистой оболочки матки. В клетках поверхностного эпителия наблюдается значительное количество эмигрирующих лейкоцитов. Субэпителиальный слой стромы сильно заполнен эритроцитами, моно- и полинуклеарами и плазматическими клетками (Окрашивание Н. Е., увеличение в 350 раз)

Fig. 11. Greater enlargement of the surface epithelium during inflammatory infiltration of the uterine mucosa. A great number of emigrating leucocytes can be observed. The subepithelial layer of the stroma is considerably infiltrated with erythrocytes, mononuclear and even polynuclear elements and with plasma cells. (Stain H. E. — magnified 350 times).





Před barvením je nutno řezy nechat dobře zaschnout. Při teplotě parafinových kamínek 56° C stačí 20 až 30 minut, za thermostatové teploty 37° C je lépe nechat zaschnout preparáty déle, nejlépe přes noc do druhého dne.

## Barvení

Běžnou barvicí metodou je barvení preparátů haematoxylineosinem. Také naše preparáty jsme barvili touto běžnou metodou. Jako barviv jsme užili kyselého haematoxylinu dle Mayera, též zvaného „haemalaun“ a pro dobarvení 0,3 % eosinu.

Barvicí postup řezů probatorních excisí se téměř neliší od normálních způsobů barvení preparátů. Po důkladném oschnutí převádí se preparáty do xylolu a pak přes absolutní alkohol do vody a vodného roztoku barviv. Nesnáze při barvení vznikají obvykle u rychlého postupu odparafinování, kdy místa špatně odparafinovaná jsou buď méně a nebo vůbec nenabarvena. Xylol musí být často měněn, aby nebyl parafinem prosycen. Též 5minutovou dobu je radno vždy zachovávat, aby odparafinování řezu bylo důkladné. Velmi dobře tomuto postupu napomáhá vkládání preparátů do xylolu ještě zahřátých z kamínek. Když jsme prováděli zaschnutí preparátů v termostatu o nižší teplotě, vkládáme je před odparafinováním do parafinových kamínek alespoň na 5 až 10 minut. Parafin zde změkne a v xylolu se snáze a rychleji rozpouští. Po odparafinování odstraňujeme poslední zbytky rozpustidla v absolutním alkoholu, kde ponecháváme preparáty též 3 až 5 minut. Poté osušujeme filtračním papírem a převedeme vodou do haematoxylinu.

Haematoxylinem barvíme preparáty probatorních excisí 5 minut (záleží na vzrání haematoxylinu). Po obarvení promýváme preparáty v tekoucí vodě 10 až 20 minut, kde díky alkalitě vody dosáhneme jasně modrého zbarvení řezu. Jsou-li preparáty přebarveny, differencujeme je v 0,1% kyselině solné a důkladně vypíráme, není-li barevný modrý tón dosti jasný, vkládáme řezy do 70% alkoholu s několika kapkami amoniaku nebo do lithium carbonatu či roztoku sody, čímž dosáhneme intensivně modrého tónu. Důkladné vyprání má velký význam též co do trvanlivosti preparátu.

Po promývání dobarvujeme 0,3% eosinem, a to jen velmi krátce, asi 1—1½ minuty. Po tomto přebarvení promýváme již preparát jen několikerým přelitím vody, dokud odchází eosinem zbarvená a provádíme řezy vzestupnou řadou alkoholu, přes xylol a montujeme kanadským balzámem.

Přehledné orientační barvení, jak již bylo podotknuto, je nejlépe zachovávat, navyknout si jak na určitá barviva, tak i na stejný barvicí postup. Výhoda tkví v tom, že mnohdy již toto přehledné barvení upomene svými odchylkami na určité změny endometria či jeho stavby.

K speciálním barevným metodám, které jsou při studiu nutné a bez nichž se neobejdeme při studiu funkčních změn endometria patří především:

1. barvení na glykogen:
  - a) průkaz glykogenu jodem,
  - b) metoda Fischeroва, barvení tanin-kaliumbichromat-safranin,
  - c) nejlepší metoda barvicí pro průkaz glykogenu je barvení Bestovým karminem;
2. barvení hlenu-sekretu žláz:
  - a) Mayerovým mucikarminem (je dobře předbarvovat haemalaunem, poněvadž nemá afinitu k hlenu jako haematoxylin, což ruší výsledky barvení),
  - b) metodou Metzenerovou (méně užívaná);
3. barvení plasmatických buněk:
  - a) podle Unny-Pappenheima (k spolehlivému průkazu je zdárnější fixace alkoholem, při fixaci formolem i jinými prostředky, metoda barvení plasmatických buněk elementy mnohdy neprokáže).

## Endometrium-histologická skladba

Endometrium klisny, tak jako ostatních ssavců, je tkáň vytvářená z Müllerových vývodů, která je hormonálně receptně sensibilisována. Této skutečnosti odpovídají změny na genitálu a převážně v endometriu, odehrávající se souběžně s ovariálním cyklem.

Sliznice děložní je kryta cylindrickým epitelem u klisny obzvláště vysokým (Novotný), který spočívá na zřetelně základně na *tunica propria mucosae* (Barone, Poirier). Tato základna je tvořena bezstrukturní membránou — *membrána*

*basalis* (Széky - Dózsa). Výška cylindrických epithelií se mění a je ovlivňována též ovariálním cyklem. V některých obdobích se epithel jeví nízký, tvořený kubickými buňkami s ústředně uloženým jádrem. Některé z buněk epitheliálních jsou opatřeny řasinkami. Jejich počet, množství a období zvýšeného výskytu, není konstantní. Buňky jsou ostře ohraničeny, zvláště u buněk nemajících řasinky je cytoplazma jemně zrnitě struktury (což souvisí s funkčními změnami — sekreční zrna). Větší část buněčného těla zabírá oválně utvořené jádro bohaté chromatinem. Podle Beilinga připouští někteří autoři nejhojnější výskyt řasinkových buněk v oestru. Barone-Poirier uvádějí, že zvláště nepatrný jejich počet pozorovali v progestační periodě ovariálního cyklu.

*Lamina propria mucosae* (stroma sliznice děložní) je značně silná vrstva vystylající děložní dutinu, mění svou výšku za ovariálního cyklu, obsahuje tubulosní uterinní žlázy. Její skladba ji rozděluje ve tři vrstvy, z nichž nejspodnější je uložena vrstva (*stratum fibrillare*) se síťovitým uspořádáním fibrill vaziva a slepým zakončením děložních žlázek. V této vrstvě mukosy setkáváme se s četnými snopci svaloviny i ojedinělými buňkami svalovými, které ji intimně připojují k spodním vrstvám muskularis. V této vrstvě probíhá též značný počet krevních cév.

Střední vrstva (*stratum reticulare*) pozůstává z velmi jemných četných, pojivových vláken, která se mezi sebou kříží a vytvářejí tak velmi jemnou síťovinu (označována také s předešlou jako spongiosa, Széky - Dózsa).

Povrchová, subepitheliální vrstva (*stratum subepitheliale s. cellulare*), se vyznačuje hustou buněčnou skladbou, ve které se sotva ještě dá rozeznat retikulární tkáň, jen na ojedinělých místech lze rozeznat snopečky pojiv síťovité struktury (též nazývaná kompakta).

Podle výzkumů Putnokyho vychází část mřížovitých pramének ze stromatosních buněk a jest barvitelná plasmatickými barvivy. Zbylé pramenky sítě lze prokázat jen impregnací, acidofilními barvivy se neobarví.

Ellenberger vysvětluje nález těchto plasmatických se barvicích vláken, jako boční pohled na ploché, epitheloidní podobné buňky. Tyto buňky jsou rozloženy ve všech vrstvách s převahou v subepitheliální. Jsou dosti velké, oploštělé, na protoplasmu chudé s oválným nebo kulatým jádrem. Na svém kolmém průřezu upomínají na vřetenité buňky s dlouhými plasmatickými výběžky. V subepitheliální vrstvě nacházíme řadu dalších roztroušených buněk v síti jemných kapilár, jsou zde bloudící granulocyty, lymfocyty, plasmatické buňky, histiocyty a j.

Podle náhledů Farkasových počítají se buňky stromatosní děložní sliznice s nového hlediska k systému reticuloendotheliálnímu (Széky - Dózsa). Této souvislosti stromatosních buněk s RES nasvědčovala by i ohromně živá výměna látková, se kterou se v endometriu setkáváme. Periodicky dochází k zatížení velkým množstvím uhlohydrátů, látek minerálních působících nepříznivě ukládáním na cévní soustavu.

Caffierovy studie s tkáňovou kultivací prokázaly, že stromatosní buňky v tkáňových kulturách se mění ve velké kulaté buňky, upomínající monocyty, nebo na buňky plasmatické, aby znovu mohly vytvořit síť histiocytů.

Kiszeliy (1952) také na podkladě studií tkáňových kultur připočítává stromatosní buňky děložní mukosy k systému retikuloendotheliálnímu.

Ashein (1951) mluví o stromatu děložní sliznice, jako o části retikuloendotheliálního systému.

Francouzští autoři (Varangot, Beclère) mluví o lymfoidním stromatu, tedy o období skladby lymfatických žláz, ale s recepcí sensibilisací na hormony.

Uterinní žlázy jsou tubulosní u klišny jednoduché (Novotný, někdy se dělí ve dvě větve a jsou na svém slepém zakončení poněkud rozšířeny (Ellenberger). Žlázy jsou oplétány jemnou sítí retikula a k jejich zakončení vybíhá mnohdy několik vazivových snopečků ke *stratum fibrillare*. Basální membrána tvoří podklad cylindrickému epithelu. Epithel cylindrický je jednovrstevný, v dolních partiích žláz nižší, směrem k povrchu něco se zvyšující. Jádro epithelií děložních žlázek odpovídá impulsům hormonálního cyklu ovariálního variabilitou své chromatinové skladby a změnami formy a polohy.

Plasma buněk barví se podle stavu mukosy buď světle a jest jemně zrnitá, kouřové struktury — což jest charakteristické pro funkci, nebo se barví homogenně a pak ukazuje na stav klidu — bez sekrece (Széky - Dózsa).

## Vlastní pozorování a výzkum

Úkolem našeho vyšetřování bylo objasnit metodiku, její použití, možnost zpracování a vyšetření odebraných vzorků a stanovit funkční variace stavby endometria klisny pro využití k účelům výzkumným i diagnostickým.

Zařadili jsme do pokusu čtyři klisny, u nichž bylo provedeno před vlastními odběry sliznice k biopsii důkladné klinické vyšetření. První a poslední odběr vzorků byl proveden v časovém rozmezí 49 dnů. Po tuto dobu byla tedy sliznice děložní klisen pozorována bioptickým vyšetřením a to 15 odběry. Průměrné mezidobí bylo tedy 3,3 dny. Při každém výkonu byly odebrány 2 až 3 vzorky sliznice a tyto zpracovány 4–8 řezy. Bylo celkem za tuto dobu pořízeno na 600 řezů, které byly barveny přehlednými i speciálními metodami a prohlédnuty.

Funkční strukturální změny, které jsme mohli pozorovat v rozličných fázích sexuálního cyklu, jeví se jako jednotná odpověď mesenchymu receptně sensibilizovaného na popudy hormonální nadřazených složek.

Histologicky můžeme na sliznici děložní pozorovat dvě od sebe zřetelně strukturou stavby oddělená funkční stadia. Tato odpovídají ve spojitosti s ovariálním cyklem období zrání folikulů a období rozkvetu žlutého tělíska.

Období zrání folikulů jest provázáno na sliznici děložní mohutnou její výstavbou (období proliferace), doba rozkvetu žlutého tělíska pak odpovídá stadiu sekrece endometria.

Tyto dvě fáze spojují další dvě stadia cyklických změn na sliznici děložní. Jsou to přechod z proliferace do sekrece spadající do období posledních dnů a hodin říje a stadium regresivních změn na endometriu spadající do téhož období žlutého tělíska.

Posledním histologickým obrazem, se kterým se můžeme setkat, je stadium klidu vyplňující přechod regrese do stadia proliferace a se kterým se setkáváme za období „zimního klidu“ (B r o d a u f), představující nám afunkční stadium sliznice děložní.

Odpovídá tedy:

1. Období zrání folikulu — prooestru — stadiu proliferace endometria.
2. Prasknutí Gráfova folikulu, oestru — přechodu stadia proliferace v sekreci.
3. Období funkce žlutého tělíska — metoestru — stadiu sekrece endometria.
4. Období regrese žlutého tělíska — interoestru — stadiu regrese endometria.

### Stadium proliferace

Stadium proliferace jest představováno mohutnou výstavbou sliznice děložní, která se v tomto období zvyšuje jedenapůlkrate i vícekráte.

Mocný vývoj jest patrný na všech složkách sliznice děložní a stupňuje se až do maxima, kterého dosahuje za ovulace. Biopsie provedená za prvních dnů říje má proto charakteristický obraz proliferativní fáze, kdežto obraz biopsie, před jejím zakončením, má charakter stadia rané sekrece.

Proliferativní fáze jest představována zvýšením epithelií povrchových, zvýšením počtu řasinkových buněk seskupujících se do hloučků. Epithelie jsou cylindrické s basálně uloženým jádrem, zaujímajícím dolní polovinu buněčného prostoru. Ohraničení buněk zejména povrchové jest zřetelné, byť i rozlišení jejich společných hranic jest ztíženo dosud jejich zvýšenou barvitelností cyto-



plasmy. Buňky nevykazují dosud sekreční činnost. Jejich jádra jsou kulatá a oválná, temně se barvící s bohatým obsahem chromatinu.

Stroma vykazuje pozvolna diferenciaci vrstev. Ve vrstvě subepitheliální nachází se četná malobuněčná infiltrace. Buňky stromatosní jsou ve vrstvě subepitheliální více nahloučeny než ve vrstvě spongiosní, kde jsou ve větším počtu, hlavně v okolí tubulů. Jejich jádra jsou ponejvíce okrouhlá, též však oválná až protáhlého tvaru. Jsou bohatá chromatinem s temnou barvitelností. Cytoplasma je téměř nezřetelná a jen v ojedinělých případech lze nalézt formy vřetenité s dlouhými plasmatickými výběžky. Postupně dochází k silnějšímu prosáknutí stromatu rozšiřováním lymfatických cév, které hlavně v období říje a rané žluté fáze vytváří mocné dilatace až lakuny. Též krevní cévy se množí, částečně dilatují a jsou naplněny krví. Na četných místech lze pozorovat extravasaty, jak červených tak bílých elementů krevních.

Žlázy děložní stávají se ve svém průběhu vlnitější, protahují se do délky. Buňky jejich výstelky jsou ve vyšších partiích žláz blíže povrchu endometria nepatrně o něco vyšší než v částech hlubších. Narůstáním žlázek do délky stává se také mohutnější celá jejich vrstva, tubuly nejsou tak úzké, vesměs již nacházíme žlázy luminisované. Postupem tohoto stadia dochází již k silnému spirálovitému zatočení žlázek, které je nejdříve patrné v klubičkovitém zvlnění jejich terminálních částí. Lumen tubulů na některých místech je již dilatováno — nejčastěji též ve spodnějších částech.

Všechny tyto jevy dosahují v období oestru maxima a přecházejí po ovulaci do stadia rané sekrece a vlivem rozkvětu žlutého tělíska do plného funkčního období žluté fáze.

#### Stadium sekrece

Buňky povrchového epithelu jsou nápadně vysoké, projasněné, s kouřově zrnitou cytoplasmou, jasně zřetelného rozhranění, ale rozbředajících povrchových hranic. Jádro buněk často od base odtlačené subnukleární vakuolou jest puchýřkovité, světleji se barvící. Řasinkové buňky, jejichž počet značně stoupl již během proliferativního stadia, jsou seskupeny v četná hnízda.

Epitheliální buňky tubulů uterinních žláz jsou vysoké a projasněné, jejich výška směrem k zakončení žláz se poněkud zmenšuje. Jádra i zde puchýřková, oválného tvaru s volnějším obsahem chromatinu, jsou uložena basálně, občas též odsunuta subnukleárními vakuolami. Povrch epithelií, obzvláště ve žlázkách, jest nejasný, rozbředající, pokryt lpícími hrudkami a vlákny sekrečních hmot.

Lumina tubulů jsou mnohdy tímto sekretem vyplněna. Vrstva žlázek značně zmohutněla, tubuly jsou zmnoženy a tvoří silnou vrstvu zřetelně ohraničenou v hloubce. Žlázy mají charakteristický spirálovitě vinutý tvar, jsou stočeny v klubička, vytváří lalůčky, které jsou ohraničeny septy proprie. Lalůčky jsou tvořeny jednou nebo dvěma žlázkami. Lumen žláz jeví značnou dilataci, mnohdy vytváří žlázka cystickou laločnatou formaci.

Stroma sliznice je výrazně diferencováno ve vrstvu subepitheliální — kompaktní a vrstvu retikulární — spongiosní. Tato diferenciace je ještě podtržena tím, že kompaktní je mnohem méně prostoupěna žlázkami, ježto tyto ústí ze spongiosy na povrch poněkud zaškrćenými zúženými vývody. Naproti tomu spongiosa je rozšířena mohutnou vrstvou žláz. Stromatosní buňky mají též charakteristický vzhled. Jsou téměř dvakrát tak velké s puchýřkovitě zvětšeným a projasněným jádrem většinou oválného tvaru. Kol světleji se barvících jader stromatosních buněk jest možno pozorovat buněčné tělo, které v mnoha případech vybíhá v jeden i více tenkých a dosti dlouhých výběžků.

V počáteční fázi sekrece jest propria oedematosně prosáklá. Oedem je tak značný, že mnohdy odděluje jednotlivé tubuly žláz téměř v izolovaných okresech, prostorami, vyplněnými serosní tekutinou. Cévy krevní jsou enormně rozšířeny, vytváří až prostory vyplněné krví. Též sinusovité rozšíření lymfatických cév dává sliznici tento oedematosní charakter. V pozdějších obdobích žluté fáze přechází toto oedematosní prosáknutí do spodnějších vrstev sliznice.

### Stadium regrese

Povrchový epitel jest tvořen buňkami nižšími s trávějí se barvící cytoplasmou, s jádry většinou u base ležícími, temnými, zabírajícími téměř polovinu buněčného těla. Buňky řasinkovité téměř vymizely. Na některých buňkách nacházíme ještě náznaky dohasínající sekrece, které postupně mizí.

Žlázková vrstva neprostupuje proprii s takovou bohatostí, jako ve stadiu sekrece. Žlásky se stávají jednodušší, napřimují se ve svém průběhu, i když jejich zakončení mají dosud mnohdy zachován lalůčkovitý vzhled. Jejich cystičnost mizí, lumen stává se užší až místy úplně mizí. Na některých žlázkách je však možno pozorovat některé buňky ve stadiu sekrece a terminální části žlázek jsou místy dosud vyplněny drtí sekrečních hmot.

*Propria mucosae* ztratila oedematosní charakter. Buněčné elementy jsou poněkud více nahloučeny. Stromatosní buňky mají jádra temněji zbarvena s větším obsahem chromatinu. Také velikost jader se zmenšuje proti stadiu sekrece. Diferenciace vrstev stromatu zaniká.

Krevní cévy napřimují svůj průběh současně s průběhem tubulů. Stávají se užší a jasnějších stěn. Také lymfatické cévy se úží a jsou zřetelnější ve svém průběhu.

Celkový ráz sliznice děložní přechází ze stadia sekrece asi těmito znaky do období klidu, kterého dosáhne asi v osmi dnech.

### Období klidu

Toto stadium má charakteristický obraz sliznice děložní v afunkčním stavu. Setkáváme se s ním v období „zimního klidu“ (B r o d a u f), někdy v posledních dnech regresivního období před započatím proliferačního stadia následného cyklu.

Povrchový epitel i buňky výstelky žlázek barví se homogenně s větší intenzitou. Obzvláště na povrchovém epitelu jest patrna jeho malá výška. Jádra zaujímají větší část buněčného těla. Jsou tvaru oválného i kulatá, temně se barví, uložena basálně, některá něco málo odtlačena od base. Epitheliální buňky žlázek jsou poněkud vyšší, hlavně v povrchnějších částech tubulů žláz. I zde jsou buňky epitelu zbarveny téměř homogenně bez funkčního projasnění a téměř nezřetelné granule.

Sliznice nejeví obzvláštní výšku a diferenciace vrstev je nejasná. Stroma je tvořeno řídce rozloženými buňkami kulatého tvaru, často však oválnými až vřetenitými. Tyto jsou ve vrstvě subepitheliální a v okolí žlázek něco hustěji uspořádány. V částech subepitheliálních nacházíme mnohdy infiltrace malobuněčné s nálezem mono- i polymorfonukleárů, prostupujících povrchovým epitelem. Jejich množství a rozsah infiltrací je však velmi malý.

Tubuly žlázek tvoří poměrně slabou a řídkou vrstvu v proprii. Průběh tubulů žláz je téměř přímý, žlásky směřují kolmo k povrchu, jejich epitel, jak již bylo uvedeno, je o něco vyšší než povrchový. Pouze terminální části tubulů

# Histologický obraz sliznice děložní za cyklu:

Гистологическая картина слизистой оболочки в течение цикла:

Histological picture of mucous membrane during the cycle:

Histologisches Bild der Scheimhaut während des Zyklus:

| Období:                         | Epithel:                                                                                                                                                                                  | Stroma:                                                                                                                                            |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Období klidu.                   | Povrchový epithel je nízký, buněk téměř kubických, jejichž jádro basálně uložené zaujímá jejich větší část. Řasinkové buňky jsou rozděleny nepravidelně a je jich malý počet.             | Výška stromatu je poměrně malá, rozdělení vrstev méně zřetelné, mnohdy nepatrná infiltrace blíže lumina dělohy.                                    |
| Období zrání folikulů.          | Epithel je tvořen již vyššími buňkami, které jsou jasnější, zřetelně ohraničené a oválným jádrem zaujímajícím celou dolní polovinu. Řasinkové buňky seskupují se do okrsků.               | Povrchová vrstva stromatu vykazuje malobuněčnou infiltraci, ve vrstvách hlubších se zmnožují cévy krevní.                                          |
| Období říje.                    | Předcházející zjevy dosáhnou maxima.                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                    |
| Období vývoje žlutého tělíska.  | Buňky povrchového epithelu jsou nápadně vysoké s plasmou kroužkově zrnitou. Četné sekreční vakuoly odtlačující jádro od base. Řasinkové buňky hojné, řasinky se často slepují do hloučků. | Basální membrána povrchového epithelu zřetelná. Kompakta a spongiosa poměrně dobře odlišeny, mnohdy malobuněčná infiltrace. Zvýšená vaskularisace. |
| Období regrese žlutého tělíska. | Povrchový epithel se snižuje. Řasinkové buňky mizí.                                                                                                                                       | Stroma jeví menší diferenciaci, větší prořidlost.                                                                                                  |

# Makroskopický obraz sliznice:

Микроскопическая картина слизистой оболочки:

Macroscopic picture of mucous membrane:

Makroskopisches Bild der Schleimhaut:

| Žlásky:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Cévy:                                                                                                                | Mukosa:                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Vrstva žlázek je slabá a řídká. Buňky výstelky žlázek jsou něco vyšší než povrchového epitelu, jsou cylindrické a jejich oválné jádro zaujímá větší část jejich dolní poloviny. Ojedinelé jsou řasinkové. Žlázy jsou krátké, téměř přímočaré až na dolní části, které jsou křivolaké. Tingce buněk je homogenní. Žlásky nejsou dosud luminičovány. | Jsou četné, jsou však úzké a málo vyvinuté. Lymfatické cévy jsou zvláště pozorovatelné na úrovni řas jsou však úzké. | Mukosa je poměrně málo silná.                                          |
| Žlázy se stávají zprohýbanější, postupně se protahují, rozdělují. Ke konci období se stávají velmi stočené, jako spirály, mají tendenci vytvářet lalůčky, vykazují určitou dilataci, která je obvykle větší u jejich base.                                                                                                                         | Krevní cévy jsou zmnoženy taktéž i lymfatické, jsou velmi dilatovány.                                                | Mukosa se ztlusťuje v úrovni žláz.                                     |
| Četné extravasace, prosáknutí stromatu.                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                      | Subepitheliální krvácení.                                              |
| Žlázy jsou zmnoženy a vykazují značnou sekreční činnost. Tvoří silnou vrstvu, zřetelného ohraničení v hloubce, seskupují se v jasné lalůčky jedné i více tubulů. Žlásky vykazují velkou dilataci, jsou šroubovitě zprohýbané a vytváří cysticky laločnaté formace. Krypty četné, hluboké zprohýbané.                                               | Na některých místech vykazují cévy značnou dilataci až krevní laguny. Rozšíření lymfatických cév jest mocné.         | Stav krevních a lymfatických cév působí oedematosní prosáknutí mukosy. |
| Žlásky se stávají jednoduchými, napřimují se a místy mizí lumen. Řasinkové buňky téměř úplně vymizely, lalůčkovitý vzhled mizí i s dilatací žláz především v povrchových partiích, v hloubce nacházíme někdy ještě ve stadiu klidu dilatované tubuly s acidofilním sekretem.                                                                       | Vaskularisace se značně zeslabila, lymfatické cévy nabývají struktury, stávají se zřetelnější.                       | Asi v 8 dnech nabývá mukosa vzhledu stadia klidu.                      |



jeví mírné stočení. Přímý průběh ještě zdůrazňuje poměrně úzký průměr tubulů žlázek, které namnoze postrádají lumen.

Přímý směr zachovávají též cévy krevní a lymfatické. Úzké cévy probíhají bez značějšího větvení kol tubulů, jsou málo vyvinuté. Též lymfatické cévy jsou dobře zřetelné, jsou četné a jejich průměr jest úzký.

### **Průkaz glykogenu v endometriu**

Průkaz glykogenu v bioptickém materiálu z endometria byl prováděn barvením Bestovým karmínem, kterým se glykogen barví jasně červeně až červenofialově.

Strukturálně se nám jeví glykogen jako granula různých velikostí a různého množství nahloučená v buňkách.

Výskyt glykogenu byl nejnápadnější v povrchovém epithelu, kde také vykazoval pravidelnou cyklickou variaci odpovídající periodicitě ovariálního cyklu. Tato skutečnost se však již nevztahovala na výskyt glykogenu v epithelu žláz, po případě na granula glykogenu, která se nacházela v hlubších partiích stromatu i v cévách.

Největší výskyt glykogenu v povrchovém epithelu byl shledán v preparátech z biopsie odebrané v období proliferace a dále regresivního stadia. Granula glykogenu, která byla nahloučená v cytoplasmě buněk, byla převážně uložena v částech supranukleárních, bylo je však možno nalézt i subnukleárně. Jejich množství bylo různé a byla někdy nahloučena tak, že zabarvovala celou basi buněk, takže nebylo lze téměř rozeznat jednotlivá granula. Nestejnoměrnost množství a velikosti glykogenových granul byla rozličná i v jednotlivých buňkách.

V období říje byl tedy nález glykogenu v povrchovém epithelu největší. Výskyt granul glykogenu postupně mizí a nachází se naproti tomu ve větší míře ve vrstvách subepitheliálních, kde se udržuje krátkou dobu a též stupňovitě opadá.

V období sekrece je povrchový epithel prost granul glykogenu, která se počnou objevovat zase až postupem regrese.

Cyklický výskyt glykogenu ve stromatu je možno pozorovat jen v povrchových subepitheliálních vrstvách. V hlubších partiích stromatu, stejně jako ve stěnách cév i v endothelu cév a v epithelu žláz, jest nález glykogenu nezávislý na ovariálním cyklu.

### **Posouzení preparátů**

Posouzení preparátů je závěrem tohoto doplňovacího gynekologického vyšetření. Z předešlých kapitol jest zřejmé, že spolehlivé posouzení preparátů bude záviset:

1. na provedení vlastního odběru a
2. na provedení laboratorního procesu.

Ukládá nám tedy tato skutečnost za povinnost pečlivě provést jak vlastní operativní zákrok, tak laboratorní přípravu preparátů. Již v kapitole „barvení“ jsme se zmínili o prospěchu užívání jednoho přehledného, orientačního barvení, při kterém jsou pak rozdíly stavby nejlépe postřehnutelné.

Posouzení preparátů není možno úplně schematisovat, doporučuje se však užívat ustálených popisů, postupu při popisu jednotlivých složek endometria a podobně. Schöder navrhl pro humánní účely formuláře, kde vyšetřující vyplňuje jednotlivé údaje v určitém pořadí.

Průvodka materiálu k histologickému vyšetření

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |       |      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |               |                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-----------------|
| Majitel:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Obec: | čís. | Došlo:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | počet vzorků: | čís. protokolu: |
| <p>Nationále klisny: stáří:</p> <p>Zdravotní stav — výživný stav:<br/>         Počet hříbat: zmetala (v letech):<br/>         Poslední porod (kdy, průběh, komplikace):</p> <p>Říje (intensita, nepravidelnosti):<br/>         Poslední říje:<br/>         Přípuštěna v roce: dne:</p> <p>Vyšetření vaginální:<br/>         vulva:<br/>         vagina:<br/>         cervix:<br/>         tonus:</p> <p>Vyšetření rektální:<br/>         pravé ovarium:<br/>         levé ovarium:<br/>         rohy děložní:<br/>         Diagnosa:</p> <p>Odběr prob. excise:<br/>         prob. excise z míst:<br/>         počet vzorků:<br/>         odebráno dne: zasláno v 5% formalínu:<br/>         místo ošetření: číslo protokolu:<br/>         dne: ošetřující zvěrolékař</p> |       |      | <p>Převzal: Poř. číslo mater. lab.:</p> <p>Povrchový epitel (výška):<br/>         jádro (poloha, velikost, barvit.):<br/>         Cytoplasma (barvit.):</p> <p>Žlázky děložní:<br/>         Průběh:<br/>         Epithel (jádro, plasma):<br/>         lumen:<br/>         obsah žláz:</p> <p>Stroma mucosy:<br/>         St. buňky (tvar, vrstevnatost):</p> <p>Buňky plasm.:</p> <p>průběh cév:<br/>         vlákna vaziva:</p> <p>Histologická diagnosa:</p> <p>dne: vyšetření provedla laboratoř:</p> <p>podpis zvěrolékaře:</p> |               |                 |

Grunert ve své práci o biopsii souhlasí s tímto návrhem a sám vypracoval pro veterinární účely formulář pro posouzení děložní sliznice.

Pro naši potřebu volili jsme formulář, který je průvodkou materiálu k histologickému vyšetření. Neprovádí totiž obvykle výkon i posouzení preparátů jeden lékař a lékař laboratorní posuzující excise nemá mnohdy možnost nahlédnout do vyšetřovacího protokolu a provést posouzení a stanovit diagnosu bez znalosti celkového vyšetření, tedy aniž bychom znali celkový zdravotní stav zvířete, by bylo nesprávné.

Navrhlí jsme proto dvoustranný formulář s průpisem, který na jedné straně vyplňuje vyšetřující zvěrolékař zasílající materiál laboratorní k vyšetření, na druhé straně pak jest vyspsáno posouzení preparátu.

## Diskuse

Úkolem našeho výzkumu bylo objasnit si normální poměry endometria klisen, stanovit jeho cyklické variace, aby se tím položil základ k studiu patologických změn na sliznici děložní.

Perspektivně spatřujeme hlavní výhody bioptického vyšetření tam, kde normální užívaná hrubá klinická diagnostická metoda selhává. Tedy na příklad v případech označovaných jako *endometritis catarrhalis*, nebo *endometritis chronica simplex*, kde mimo anamnestické údaje označující zvíře jako jalové, přebíhavé a pod., nenacházíme žádných, nebo jen sporných klinických projevů, kterými by se stav dal vysvětlit. Zde by potom měla biopsie hlavní úkol objasnit příčiny neplodnosti, akoncepcie, poruch průběhu cyklu a stanovit či opravit po případě diagnosu i následnou terapii.

Druhým úkolem, a to neméně závažným, je kontrola terapeutických výkonů. V mnoha případech se setkáváme s poruchami genitálního aparátu; jmenovitě se záněty sliznice děložní až hnisavými, které úporně vzdorují naší léčbě, ať chemoterapeutické či dokonce i pomocí antibiotik. Zde je potom úkolem bioptického vyšetření objasnit, proč se neseskává naše léčba s úspěchem.

Bude též nutné, aby biopsie objasnila účín některých terapeutických metod. Možnost stanovení změn na endometriu před zahájením léčby, dále během jejího působení a po případě i ukončení, osvětlí nám v některých případech vliv a pochod terapeutického zákroku, jakož i odpověď endometria, po případě jeho reversibilní proces.

Dalším vážným úkolem biopsie bude stanovit specifitu histopathologického obrazu, bioptického materiálu u některých zánětlivých změn sliznice děložní, což se hlavně týká otázky *endometritis specifica tuberkulosa* a jiné.

Aby bylo možno použít bioptické metody vyšetření endometria k řešení těchto úkolů, je nutno, aby její hodnocení bylo co nejspolehlivější. Při studiu fází cyklu normální sliznice děložní u klisen, všimli jsme si především tvaru a struktury buněk povrchového epithelu, epithelu žláz, tvaru a průběhu děložních žlázek, cévního systému, konečně diferenciacie struktury stromatu a variací histochemických reakcí.

Průběh a tvar žlázek se mění za cyklu od stadia klidu, kdy jsou úzké a téměř aluminosní s nižším homogenně se barvícím epitelem přes jejich rozrůstání a luminisaci se spirálovitě vinutým průběhem (stadium proliferace) v široce rozevřené tabuly s klikatým točitým průběhem vytvářejícím lalůčkovitou stavbu jednotlivých žlázek (stadium sekrece). Epithelie povrchové i žlázek

jsou ve stadiu sekrece nápadně vysoké, projasněné, v počátcích sekrece s jádrem puchýřkovým od base různě daleko odtlačeným subnukleární vakuolou, později basálně uloženým s plasmou nezřetelných hranic.

Stroma počíná se diferencovat v kompaktu a spongiosu již za oestru, zřetelné je rozlišení za stadia sekrece.

V regresivní fázi říjového cyklu dochází k snížení povrchového epithelu i výstelky žlázek, k snížení diferenciace stromatu, napřímení a zúžení průběhu žlázek.

Vyzkoušeli jsme prozatím jen pokusně biopsii k průkazu změn zánětlivých a hormonálně areceptních v endometriu klisen.

Histochemické bioptické metody zasluhují si větší pozornosti a důkladného zpracování. Ukázalo se, že histochemické reakce dávají jasnější a zřetelnější obraz cyklických variací než jiné histologické metody (S k j e r v e n, 1953 až 1956).

Průkaz glykogenu, který jsme prováděli Bestovým karmínem potvrdil nám tento názor svou typickou cyklickou variací, která svým kontrastním barevným obrazem opravdu jasně napomáhá diagnostice jednotlivých fází endometriálního cyklu.

## Z á v ě r

Úkolem této práce bylo objasnit metodiku, zpracování a posouzení bioptického vyšetření endometria klisny. K pokusům byly použity 4 klisny ve stáří od 3 do 14 let. V období 49 dnů byly provedeny u každého zvířete probatorní excise, k tomuto účelu zřízeným přístrojem. Průměrné mezidobí mezi jednotlivými odběry bylo 3,3 dny. Bylo tedy provedeno u každého zvířete 15 bioptických vyšetření. Při každém výkonu byly odebrány 2–3 vzorky sliznice a tyto zpracovány 4 až 8 řezy. Bylo tedy celkem za tuto dobu vyšetřeno na 600 histologických preparátů z bioptického materiálu odebraného postupně ve všech fázích oestrálního cyklu.

Histologický obraz sliznice děložní v jednotlivých fázích cyklu měl následující charakteristické znaky:

**Oestrus:** má charakter maximálních projevů proliferace a náznaky rané sekrece. Nejnápadnější působí oedem způsobený značnou vasodilatací, mohutným rozšířením lymfatických cév vytvářejících sýny. Epithel povrchový, i výstelka žlázek, je vysoký s jádry basálně uloženými, s náznaky projasnění v cytoplasmě. Řasinkových buněk je větší počet. Žlázky jsou spirálovitě vinuté a místy již dilatovány. Stroma jeví diferenciaci ve vrstvu kompaktní a spongiózní.

**Metoestrus:** obraz sekrece je charakterisován zmohtnutím vrstvy dilatovaných žlázek, nápadně vysokým epithelem sekrečně projasněným, s jádry puchýřkovými často odtlačenými od base subnukleárními vakuolami. Též buňky stromatu jsou značně větší, puchýřkových jader s volnějším obsahem chromatinu. Diferenciace vrstev je zřetelná.

**Interoestrus:** stadium regrese, jest provázáno snižováním epithelií, postupným vymizením buněk, řasinkových. Stroma ztrácí diferenciaci, buňky se zmenšují, jsou homogenně zbarveny, jejich jádra se barví temně. Totéž jest patrné i na buňkách epitheliálních. Žlázky se zúžují, napřimují, jejich celková vrstva se zmenšuje.

**Prooestrus:** je představován proliferací sliznice děložní, která je pozorovatelná převážně ve zvýšení epithelu, protahování žlázek, s dosud přímým, později vinutým průběhem. Buňky epithelu se barví dosud homogenně, jádra temně a jsou uložena basálně. Počet řasinkových buněk pozvolna vzrůstá. Prvé náznaky diferenciace stromatu.

Glykogen (barven Bestovým karmínem) byl nalezen v největší míře v povrchovém epitelu ve fázi proliferativní a regresivní, tedy v období prooestru, oestru a interoestru.

Bioptické vyšetření lze doporučit jako cenné doplnění gynekologického vyšetření pro jeho důležitost a pro snadnost provedení.

Snadnost provedení výkonu doporučuje tuto metodiku pro široké využití. Jediným bodem, který znesnadňuje praktické užití i v terénu, je nutnost laboratorního zpracování odebraných částí sliznice pro histologické vyšetření.

Navrhovaný způsob zpracování vzorků v laboratořích, kam by měl vyšetřující lékař možnost zasílat vzorky s průvodkou, usnadnil by snad tuto okolnost a probatorní excise mohla by se stát tak běžným doplněním gynekologického vyšetření, což si jistě zaslouhuje.

### Literatura

1. Barone R. - Poirier J.: La muqueuse utérine de la Jument. Revue de médecine vétérinaire. Juillet 1955 Tome CVI. — 2. Behrens H.: Die Variationsmöglichkeiten in Aufbau der Uterusschleimhaut in den einzelnen Phasen des menstruellen Zyklus. Leipzig 1953. — 3. Benesch Fr.: Lehrbuch der Tierärztlichen Geburtshilfe und Gynäkologie. Wien-Insbruck 1952. — 4. Brodauf H.: Kritische Betrachtungen zur Diagnostik der Endometritis bei der Unfruchtbarkeitsbehandlung der Stute. Archiv für experimentelle Veterinärmedizin, sv. VIII, sešit 6, 1954, str. 691. — 5. Brus D. H. J.: Biopsia uteri, Utrecht 1954. — 6. Boinley W. J. - Morgan: The Diagnosis of Vibriosis in Bulls. III. international congress on animal reproduction, Cambridge 1956. — 7. Curtis: Textbook of Gynaekology, Philadelphia 1946. — 8. Constantinescu G. K.: Beiträge zur Frage der Sterilitätsursachen bei den Stuten mit besonderer Berücksichtigung der histologischen Veränderungen des Uterus. Monatshefte für praktische Tierheilkunde, sv. 32, 1921, str. 289. — 9. Constantinescu G. K. - Clause H.: Physometra beim Pferde. Monatshefte für praktische Tierheilkunde, sv. 32, 1921, str. 317. — 10. Deelmann: Die Uterusschleimhaut, Berlin 1930. — 11. Ellenberger W.: Vergleichend anatomische Untersuchungen über die histologische Einrichtung des Uterus der Thiere. Archiv für Thierheilkunde, Berlin 1879, sv. 2-3, str. 89. — 12. Grunert E.: Die Biopsie der Uterusschleimhaut der Stute in ihrer Technik und Methodik der Bewertung der histologischen Präparate. Archiv für experimentelle Veterinärmedizin, 1955, sv. 9, sešit 3, str. 265. — 13. Hetzel H.: Die Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere, Jena 1940. — 14. Horálek F.: Konservativní léčba, Brno 1937. — 15. Horálek F.: Pathologie chorob ženských, Brno 1945. — 16. Hölschner F.: Anatomische und histologische Untersuchungen der Uterusschleimhaut des Rindes in ihren Phasen. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 1921, roč. 29, sešit 51 str. 650. — 17. Jírovec O.: Zoologická technika, Praha 1947. — 18. Martius: Lehrbuch der Gynäkologie, 1950. — 19. Meyer H. - Henke - Lubarsch: Handbuch der spez. patholog. Anat. und Hist. Weibl. Geschlechtsorgane: Uterus und Tuben. Berlin 1930. — 20. Miller J. G.: A Technique of Endometrial Biopsy in the Bovine Animal. Journal of the American Veterinary Medical Association, sv. CXIX, November 1951, No. 896. — 21. Nieberle u. Cohrs: Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere, Jena 1954. — 22. Novotný E.: Histologie, Praha 1954. — 23. Novak E.: Textbook of Gynaekology IV. Baltimore 1956. — 24. Novak E.: Gynaekology and Obstetry Pathology, III., Philadelphia 1952. — 25. Ottow B.: Biologische Anatomie der Genitalorgane, Jena 1955. — 26. Pavlica Fr.: Pathologicko-histologická



technika, Praha 1948. — 27. Příbyl E.: Veterinární porodnictví, Praha 1952. — 28. Příbyl E.: Veterinární gynekologie, Praha 1953. — 29. Řeřábek J.: Technika výzkumu živočišné buňky, Praha 1953. — 30. Seitz L. - Amreich A. J.: Biologie und Pathologie des Weibes. II. vyd. Berlin-Wien 1949-56. — 31. Skjervén Odd.: Histochemische Biopsieuntersuchungen von der Uterusschleimhaut beim normalen nichtträchtigen Rinde. Zentralblatt für Veterinärmedizin, sv. 3, seš. 4, str. 319, 1956. — 32. Stoeckel: Lehrbuch der Gynäkologie XII., Leipzig 1952. — 33. Schröder R.: Gynäkologie 3-4. Berlin 1948. — 34. Székely A. - Dózsa L.: Biopsische Untersuchungen zur Feststellung der Unfruchtbarkeitsursachen von Kühen. Acta Veterinaria Academiae scientiarum hungaricae. V., 2, Budapest 1953. — 35. Székely A. - Dózsa L.: A tehén méhnyálkahártyájának a petefészekciklussal kapcsolatos változásai. Magyar Allatorvosok Lapja, 1956, 4., str. 112. — 36. Trapl J.: Učebnice ženského lékařství, Praha 1953. — 37. Vacek T.: Srovnávací fyziologie, Brno 1947. — 38. Weibel W.: Lehrbuch der Frauenheilkunde. Berlin-Wien 1939. — 39. Winter: Über Varianten des Endometriums. Zeitschrift für Geburtshilfe und Gynäkologie, 1955, 143, str. 86, 201. — 40. Wolf J.: Mikroskopická technika optická a elektronová pro biologické účely, Praha 1954.

### Сообщение о биопсии эндометрии у кобыл

Эта работа имеет своей целью объяснить методику, обработку и оценку исследования путем биопсии эндометрии у кобыл. Для проведения опытов были использованы 4 кобылы в возрасте от 3 до 14 лет. В течение 49 дней у каждого животного были произведены пробные эксцизии при помощи сконструированного для этой цели аппарата. Средние интервалы между отдельными взятиями проб были 3,3 суток. Таким образом у каждого животного было произведено 15 исследований путем биопсии. При каждой операции брались 2—3 пробы слизистой оболочки, которая исследовалась путем приготовления от 4 до 8 препаратов. В течение всего этого периода было исследовано около 600 гистологических препаратов из материала полученного путем биопсии, которую постепенно производили у животных в течение всех фаз полового цикла.

Гистологическая картина слизистой оболочки во время отдельных фаз полового цикла имела следующие характерные признаки:

**Эструс:** имеет характер максимального проявления пролиферации и обозначает раннюю секрецию. Наиболее выделяется отёк, вызванный значительной вазодилатацией, мощным расширением лимфатических сосудов. Верхний эпителий и покров желез высокий с ядрами базально размещенными с признаками прояснения в цитоплазме. Большое количество складчатых клеток. Железы спиральной формы, местами уже расширены. Строма, разрастаясь, дифференцируется на слой компактный и спонгиозный.

**Метэструс:** картина секреции характеризуется увеличением слоя расширенных желез, резко выраженной высотой эпителий с проясненным секреторным характером, с ядрами в виде пузырей часто отсунутыми от базы субнуклеарными вакуолями. Равно и клетки струмы значительно увеличились, больше пузырчатых ядер со свободным содержанием хроматина. Дифференциация слоев выражена ясно.

**Интерэструс:** стадия регрессии, сопровождаемая снижением эпителий, постепенным исчезновением складчатых клеток. Строма теряет дифференциацию, клетки уменьшаются приобретая гомогенную окраску, их ядра принимают темный

оттенков. Также можно наблюдать на клетках эпителий. Железы сужаются, выпрямляются, их общий слой уменьшается.

**Проэструс:** характеризуется пролиферацией слизистой оболочки матки, которая наблюдается главным образом в повышении эпителии, изменением желез из до сих пор прямых — в извивающиеся. Клетки эпителий окрашены до сих пор гомогенно, ядра темные и расположены базально. Количество складчатых клеток постепенно увеличивается. Первые признаки дифференциации струмы.

Гликоген (окрашенный кармином Беста) был обнаружен в небольшом количестве в поверхностном эпителии в пролиферативной и регрессивной фазе, таким образом в фазах полового цикла проэструса, эструса и интерэструса.

Исследование путем биопсии можно рекомендовать в качестве ценного дополнения гинекологического исследования ввиду его большего значения и легкости проведения.

Легкость проведения исследования позволяет использовать эту методику в более широком масштабе.

Единственное обстоятельство, которое затрудняет практическое проведение метода на местах, это необходимость производить лабораторную обработку взятых проб слизистой оболочки для гистологического исследования.

Предполагаемый способ обработки проб в лабораториях, куда бы врач, производящий исследование, посылал пробы с сопроводительной картой, устранил бы вероятно это затруднение и производимая эксцизия могла бы стать нормальным дополнением гинекологических исследований, чего она вполне заслуживает.

### **Contribution to the Biopsy of the Endometrium of the Mare**

The task of this paper was to explain the methods and evaluation of biopsy examination of the endometrium of the mare. For the experiments four mares between the age of 3 and 14 years were used. During the period of 49 days exploratory excisions with an instrument specially set up for this purpose were carried out on each animal. The average interval between the excisions was 3.3 days. Thus each animal was subjected to 15 biopsy examinations. Each time two or three samples of the mucosa were taken and examined. Thus a total of 600 histological slides of biopsy material taken during all phases of the oestral cycle were examined.

The histological picture of the uterine mucosa during the various cycle phases showed the following characteristics:

**Oestrus:** is characterised by maximum proliferation and signs of early secretion. Most marked is oedema caused by considerable vasodilation, very considerable widening of the lymphatic vessels forming sinuses. The surface epithelium and the epithelium lining the glandulae is tall with nuclei placed at the base and the cytoplasm showing local clearing. Ciliated cells are numerous. The glandulae are spiral and in places already dilated. The stroma shows a differentiation into a layer of compacta and layer of spongiosa.

**Metoestrus:** The picture of secretion is characterised by the layer of dilated glands getting larger, by a conspicuous tall epithelium cleared as the result of secretion, with nuclei vacuolated and frequently pushed off the base by a subnuclear vacuole. Also the cells of the stroma are much bigger, their nuclei are vacuolated and contain looser chromatin. The layers are well differentiated.

**Interoestrus:** The stage of regression is accompanied by the shortening of the epithelium and by gradual disappearance of ciliated cells. The stroma loses

its differentiation, the cells grow smaller and become evenly stained, their nuclei darkly stained. The same can be observed in the cells of the epithelium. The glands become narrow and straight, the thickness of the glandular layer decreases.

**Prooestrus:** is characterised by the proliferation of the uterine mucosa, which can be observed mainly in the epithelium becoming taller and the lengthening of the glandulae from a still straight into a later tortuous course. The cells of the epithelium still stain evenly, the nuclei are dark and situated at the base. The number of ciliated cells is slowly increasing. These are the first signs of the differentiation of the stroma.

Glycogen (stained by Best's carmin) was found to be most concentrated in the surface epithelium during the phase of proliferation and regression, i. e. during the period of prooestrus, oestrus and interoestrus.

Because of its importance and its simplicity biopsy examination can be recommended as a valuable supplement to gynaecological examination.

The easiness with which this examination can be carried out makes this method recommendable for broad application. The only problem which arises in using it in general practise is the need for a laboratory where samples of mucosa can be prepared for histological examinations.

The suggested method of dealing with the samples in laboratories where the examining practitioner could send them together with the paper would perhaps facilitate the solution of the problem, and the exploitary excision could thus become a current supplement to gynaecological examinations. This would indeed be desirable.

### **Ein Beitrag zur Biopsie des Endometriums bei Stuten**

Die Aufgabe dieser Arbeit war: Die Methodik, Bearbeitung und Beurteilung der bioptischen Endometriumuntersuchung bei Stuten klarzustellen. Zu den Versuchen wurden vier Stuten im Alter von 3 bis 14 Jahren angewendet. In einem Zeitraum von 49 Tagen wurden bei jedem Tier probatorische Excisionen mittels eines zu diesem Zweck hergestellten Gerätes durchgeführt. Das durchschnittliche Intervall der einzelnen Probeentnahmen betrug 3,3 Tage. Es wurden also bei jedem Tier 15 bioptische Untersuchungen durchgeführt. Bei jeder Ausführung wurden 2—3 Schleimhautproben entnommen und von diesen 4 bis 8 Schnitte angefertigt. Im Laufe dieser Zeit wurden also etwa 600 histologische Präparate aus bioptischem, sukzessiv in allen Phasen des Oestralzyklus entnommenem Material untersucht.

Das histologische Bild der Gebärmutter Schleimhaut hatte in den einzelnen Zyklusphasen folgende charakteristische Merkmale:

**Der Oestrus:** hat einen Charakter maximaler Proliferationsäußerungen und Andeutungen zeitlicher Sekretion. Am auffallendsten erscheint das durch eine bedeutende Vasodilatation, und mächtige Erweiterung sinusbildender Lymphgefäße, verursachte Oedem. Das Oberflächenepithel und Drüsenepithel ist hoch, mit basal gelagerten Kernen, mit Andeutungen einer Klärung im Zytoplasma. Eine größere Anzahl von Flimmerzellen ist vorhanden. Die Drüsen sind spiralartig gedreht und stellenweise erweitert. Das Stroma weist eine Differenzierung in eine kompakte und spongiöse Schicht auf.

**Der Metoestrus:** das Sekretionsbild ist charakterisiert durch eine Verstärkung dilatierter Drüsen, durch auffallend hohes, durch Sekret aufgehelltes Epithel, mit blasenartigen Kernen, die von der Basis durch subnukleare Vakuolen weggedrückt zu sein pflegen. Auch die Stromazellen sind bedeutend größer, mit

blasenartigen Kernen, mit freierem Chromatininhalt. Die Differenzierung der Schichten ist deutlich.

**Der Interoestrus:** Das Regressionsstadium ist von einer Erniedrigung der Epithelien und allmählichem Verschwinden der Flimmerzellen begleitet. Das Stroma verliert die Differenzierung, die Zellen werden kleiner und sind homogen gefärbt. Ihre Kerne nehmen eine dunkle Farbe an. Dies ist auch an den Epithelialzellen bemerkbar. Die Drüsen verengen sich, werden aufgerichtet, ihre Schicht schrumpft ein.

**Der Prooestrus:** zeichnet sich durch eine Proliferation der Gebärmutter-schleimhaut aus, welche überwiegend in der Epithelerhöhung, der Verlängerung der Drüsen, die bisher aufgerichtet waren, später jedoch gewunden sind, bemerkbar ist. Die Epithelzellen färben sich bisher homogen, die Kerne sind dunkel gefärbt und basal gelagert. Die Anzahl der Flimmerzellen wächst allmählich. Es zeigen sich die ersten Andeutungen der Stromadifferenzierung.

Das Glykogen (mit Best's Karmin gefärbt) wurde in höchstem Ausmaße im Oberflächenepithel in proliferativer und regressiver Phase, demnach im Zeitabschnitt des Prooestrus, Oestrus und Interoestrus vorgefunden.

Die biotische Untersuchung kann als wertvolle Ergänzung der gynäkologischen Untersuchung, wegen ihrer Wichtigkeit und leichter Durchführung empfohlen werden. Die Leichtigkeit der Durchführung empfiehlt diese Methode für die weiteste Anwendung. Der einzige Punkt, der die praktische Anwendung auch im Terrain erschwert, ist die Notwendigkeit laboratorischer Verarbeitung der entnommenen Schleimhautteile zur histologischen Untersuchung.

Die vorgeschlagene Art der Behandlung der Proben im Laboratorium, wohin der untersuchende Arzt die Möglichkeit hätte, Proben mit Begleitschein einzusenden, würde die Sache erleichtern und die probatorische Exzision könnte somit eine übliche Ergänzung der gynäkologischen Untersuchung werden, was sie auch verdient.

## Příspěvek k diagnostice Weilovy žloutenky selat

К вопросу о диагностике инфекционной желтухи Вейля у поросят

Contribution Towards the Diagnosis of Weil's Jaundice of Piglets

Ein Beitrag zur Diagnostik der Weil'schen Ferkelgelbsucht

F. GILKA

Státní vědecký veterinární ústav, pobočka Gottwaldov, vedoucí Dr K. Prokůpek

Došlo dne 11. 9. 1956

### Úvod

V tomto příspěvku chci upozornit na enzooticky probíhající případ Weilovy žloutenky u ssajících selat, který jsme zachytili na našem ústavě.

S leptospirosou prasat jako samostatnou infekční nemocí se setkáváme v literatuře teprve v posledních dvaceti letech.

Při studiu této literatury pak najdeme četné údaje o výskytu leptospir nebo antilátek proti leptospirám. Nejčastěji je jmenována *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* a *L. mitis*. Reservoárem leptospir jsou jednak nemocní vepři nebo leptospironosiči mezi vepři a hlavně mezi potkany vepřinů.

Vepř jest rovněž zdrojem leptospir jako původců anthroponozoonosy. Tak se poukazuje, kromě již známé leptospirosní *meningitis serosa* u lidí infikovaných od prasat vylučujících *L. pomona* a *mitis*, na Weilovu žloutenku u jatečních pracovníků, jejímž původcem mohou být infikovaní vepři.

O enzootii u vepřů způsobené *L. icterohaemorrhagiae* jsou již v literatuře skromnější zmínky.

Musajev, 1949, popisuje leptospirosu tohoto typu v jednom velkém chovném hospodářství. Onemocnění proběhlo akutně v květnu a v červnu. Původcem byly ikterogenní leptospiry typu M o n j a k o w. Onemocněla selata i dospělá prasata za příznaků malátnosti a vysoké horečky 41° C, trvající tři až pět dnů, a hlenovitě hnisavé konjunktivitidy. Žloutenka a hemoglobinurie nebyly zjištěny. Autor připisuje retrospektivně infekci na vrub leptospironosičům-vepřům, kteří se koupali s ostatními prasaty v rybníčku, a potkanům.

V Holandsku zjistili Weilovu chorobu u selat K l a r e n b e e k a W i n s s e r, 1937. Onemocněla čtyři třítydenní selata za příznaků ikteru kůže a sliznic. Při pitvě jediného selete, které uhynulo, byly zjištěny krváceniny v subkutis břiha, prsou a krváceniny na plicích. Ostatní selata se uzdravila a nové infekce se ve stáji neobjevily. Jedno sele bylo pozorováno a při tom bylo zjištěno, že ikterus trval několik dnů a po deseti dnech žloutenka zmizela. Leptospiry byly



v moči stále, nejvíce sedmnáctého dne od prvních příznaků a až do jednatřicátého dne, kdy bylo sele usmrceno.

V Anglii Field a Sellers (1951) píší o infekci *L. icterogenes* u selat a konstatují, že prasata jsou přirozeně vnímavá k této infekci. Žloutenka se objevila ve vrhu dvanácti selat u čtyř jednoměsíčních kusů. Již před tím jevila selata dvou- až třídní nechutenství a horečku. Tři kusy se spontánně uzdravily a jeden kus uhynul s příznaky žloutenky a krvácenin. Inkubační doba u dvou uměle infikovaných pokusných selat izolovaným kmenem byla asi čtyři dny. Potom se objevily horečky, nechutenství, malátnost. Ikterus se objevil pátého až šestého dne. Vrcholu dosáhl ikterus sedmého až osmého dne, potom klesla teplota a žloutenka zmizela. Desátého až jedenáctého dne došlo ke spontánnímu uzdravení. Přesto se ale potom objevovalo kolísání tělesné teploty.

U nás první upozornil Jelínek, 1949, na ikterogenní leptospirózu u jedné výkrmně vepřů. Průběh nemoci byl akutní za příznaků malátnosti, odmítání potravy. Zvířata ležela a jevila žloutenku kůže a sliznic. Dva vepři týž den uhynuli. Pítvou byl zjištěn ikterus, zánět žaludku a střev od změn katarálních až ke krvavým, fibrinosním i nekrotickým, zánět a degenerace jater a subpleurální krváceniny. Histologickým vyšetřením zjistil Jelínek v orgánech leptospiry.

Zima, 1951, pak tento nález potvrdil zjištěním protilátek v seru u 45 % vepřů ve jmenované výkrmně, a to při pozitivních reakcích v titru 1:1000 a výše na *L. icterohaemorrhagiae*.

## Vlastní práce

V březnu nám byla dodána k vyšetření dvě selata z jednoho JZD. Nejdříve jedno ikterické uhynulé sele. Stáří kadaveru bylo čtyřicet osm hodin. Když jsme zjistili, že se mezi selaty objevil enzootický ikterus, vyžádali jsme si ještě živé sele.

Pitevni nález u uhynulého selete: Výživný stav byl dobrý, *ikterus gravis*, integument bez změn, na srdci silná dilatace levé i pravé komory, hyperplasie červené pulpy slezinné, na játrech venosní statická hyperemie. Ledvina měla zcela zastřenou strukturu, byla prosáklá tekutinou a silně ikterická. Sliznice žaludku jevila chronický katarální zánět a v žaludku bylo požrané stelivo, močůvka a kasein. Na střevech zjištěn katarální zánět. Pathohistologickým vyšetřením ledvin byla zjištěna ložisková intersticiální *nephritis*. Bakteriologické vyšetření orgánů bylo negativní.

Dodané živé sele bylo čilé, neklidné, s přirozenou barvou hlasu a bylo silně ikterické. Teplota 39,5° C. V moči byl zjištěn bilirubin. Sele bylo usmrceno vykrvením ze srdce. Pitevni nález: *ikterus gravis* byl tak silného stupně, že se kůže a sliznice při delším stání na vzduchu obarvily pomerančově žlutě. Na srdci byla zjištěna silná dilatace obou komor, na slezině hyperplasie červené pulpy, játra měla venosní hyperemii. Ledvina byla silně ikterická, zcela zastřená struktury, okrověžluté barvy a měla až špekovitý vzhled. Byla silně prosáklá tekutinou. Na žaludeční sliznici byl chronický katarální zánět. Sliznice střevní nejevila změn.

Subserosní krváceniny nebyly zjištěny u uhynulého ani u usmrčeného selete. Bakteriologické vyšetření orgánů dalo záporný výsledek. V otiskovém preparátu z ledvin, barveném podle G i e m s y, byly zjištěny ložiskové leptospiry.

Pathohistologický nález na orgánech živého selete: (Řezy byly připraveny zmrazovací technikou a barveny HE.)

Na ledvině jde o interstitiální rozsáhlou ložiskovou *nephritis*. Změněna jest hlavně vnitřní polovina kory a dřev včetně paprsků dřevových. Nejzevnější část kory začíná u selat teprve secernovat a z větší části je v klidu. Malpighická tělíska jsou beze změn. Kanálky ledvinné jsou hydronefroticky rozšířené, epithel silně ztenčen na nízký kubický až plochý epithel, zejména v kanálkách distálních. Na sestupných raménkách H e n l e o v ý c h kliček jest epithel tak ztenčen, že připomíná endothel. Jádra epithelu ledvinných kanálků nejeví degenerativních změn. V interstitiu se vyskytuje ložiskově zánětlivá proliferativní infiltrace skládající se z lymfocytů, které převažují, buněk fymfoidních, histiocytů a buněk epitheloidních. Ložiska nemají ostrou hranici. Jen vzácně se vyskytují polynukleáry. Alterace tkáňových elementů jest slabě vyjádřena a nekrobiotické procesy nenacházíme.

Jen epithel jeví tlakovou atrofii způsobenou proliferátem a sekundárně stagnující močí.

Játra: na buňkách jaterních nejsou výrazné změny. Plasma jest světlá, mesenchymální elementy jsou pomnožené a velmi dobře patrné. Na slezině zakrývá červená pulpa bílou, buňky retikulární jsou pomnoženy. Červená dřev jest nabitá erythrocyty. Polynukleárů jest velmi málo.

Ledvina selete: Stočené kanálky hlavní se shlukem leptospir. Levaditi. Orig. foto. Pův. zvětšení  $90 \times 6,3 \times 1,6$

Почка поросенка. Главные извитые каналы с скоплением лептоспир. Левадиты

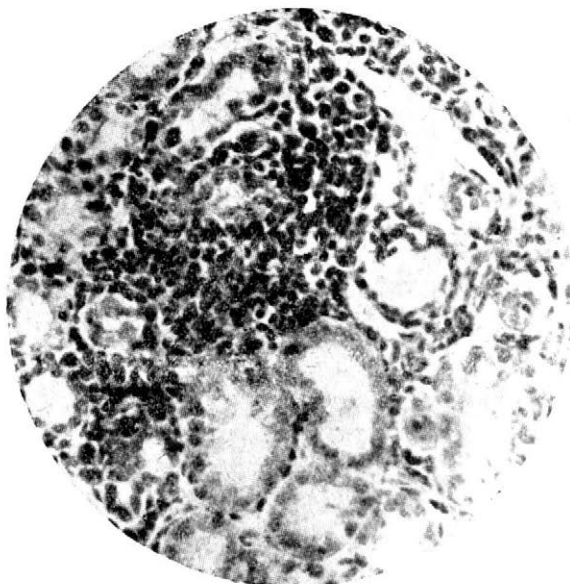
Kidney of a piglet. Contorted chief canals with a cluster of leptospirae. Levaditi. Orig. phot. Orig. magnification  $90 \times 6,3 \times 1,6$ .

Niere eines Ferkels. Verdrehte Hauptkanälchen mit Leptospirenanhäufung. Levaditi. Orig. Phot. Orig. Vergrößerung  $90 \times 6,3 \times 1,6$ .



Trabekulární aparát jest beze změn. Vcelku jeví slezina aktivaci RE elementů.

Centrální nervová soustava: Pouze ve čtverohrbolí zjištěny na několika prekapilárních cévách jemné proliferace adventitiálních a perivaskulárních gliových buněk. Alterace gangliových buněk nebyly zjištěny. Ostatní části CNS beze změn.

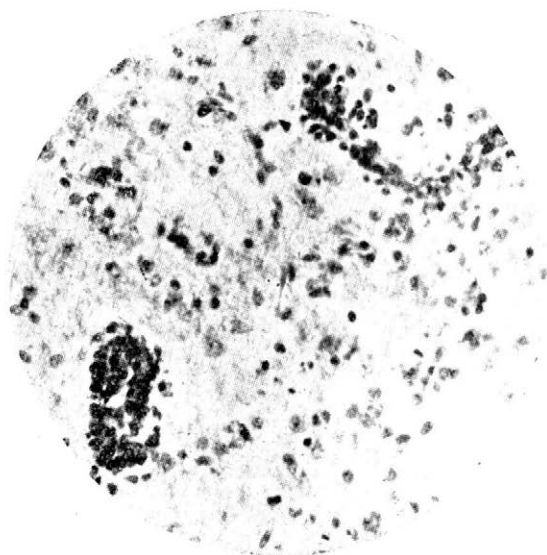


Weilova žloutenka selete. Intersticiální produktivní nefrit. Hydronefrotické rozšíření ledvinných kanálků. Pův. zvětš.  $20 \times 6,3 \times 1,6$ . Orig. foto.

Инфекционная желтуха Вейля у поросят. Антерстициальный продуктивный нефрит. Гидронефротическое расширение почечных канальцев

Weil's jaundice of piglets. Interstitial productive nephritis. Hydronephrotic dilatation of renal canals. Orig. magnification  $20 \times 6,3 \times 1,6$ . Orig. phot.

Weil'sche Ferkelgelbsucht. Interstiziale produktive Nephritis. Hydronephrotische Erweiterung der Nierenkanälchen. Orig. Vergr.  $20 \times 6,3 \times 1,6$ . Orig. Phot.



Weilova žloutenka. Rez čtverohrbolím selete. Proliferát z adventitiálních a gliových buněk kolem dvou praekapilárních cév. Proliferace endotelu kapilár. Pův. zvětš.  $20 \times 6,3 \times 1,6$ . Orig. foto.

Инфекционная желтуха Вейля. Срез четверохолмия поросенка. Проллиферат из адвентициальных и глиовых клеток около двух праекапиллярных сосудов. Проллиферация эндотелла капилляр

Weil's jaundice. A cut through corpora (brachia) quadrigemina of a piglet. The proliferate from adventitious and gliomatic cells round two praecapillary vessels. Proliferation of endothelium of capillaries. Orig. magnification  $20 \times 6,3 \times 1,6$ . Orig. phot.

Weil'sche Gelbsucht. Schnitt durch Vierhügelgegend des Ferkels. Proliferat aus Adventitial- und Gliomzellen um zwei Kapillargefäße. Prolipheration des Kapillarenendothels. Orig. Vergr.  $20 \times 6,3 \times 1,6$ . Orig. Photo.

Střevo, myokard, plíce a *gl. thyreoidea* bez pathohistologických změn.

Změněná ledvina a ostatní orgány byly preparovány metodou *Levaditih* a řezy připraveny parafinovou technikou. Játra, CNS, střevo, slezina byly prosty leptospir.

V ledvině byly zjištěny leptospiry ložiskově — v okřscích, které odpovídaly ložiskům interstitiální *nephritis*. Vyskytovaly se volně i intraepitheliálně.

Po zjištění, že jde o leptospiroso jsme zajeli do družstevní odchovny selat, kde jsme zjistili tyto okolnosti:

Tabulka výsledků serologického vyšetření (aglutinace-lysis) provedeného hygienickým ústavem, lékařská fakulta, Bratislava

Таблица результатов серологического исследования (аглютинация-лизис), произведенного институтом гигиены медицинского факультета в Братиславе

Table of results of serological examination (agglutination-lysis) made by Institute of Hygiene, Medical Faculty, Bratislava

Tabelle der Ergebnisse serologischer Untersuchungen (Agglutination-Lysis), ausgeführt am Hygienischen Institut der medizinischen Fakultät in Bratislava

| Sele č.    | <i>L. icterohaemorrhagiae</i> -Lebe | <i>L. Grippotyphosa</i> -Turnia | <i>L. sejro</i> | <i>L. sorex</i> Jahná | <i>L. pomona</i> -Šimon | <i>L. canicola</i> -canis 7 | <i>L. australis</i> A -<br>„Tež Blava“ | <i>L. mitis</i> S-31 | <i>L. Ballum</i> bílá myš | <i>L. batavia</i> Moldava | <i>L. salinen</i> | <i>L. autumnalis</i> -Rachmat | <i>L. ict.</i> - Petrik | <i>L. gty</i> Cricetus | <i>L. Poi</i> | <i>L. canicola</i> -<br>Utrecht |
|------------|-------------------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------------|----------------------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------|-------------------------------|-------------------------|------------------------|---------------|---------------------------------|
| 1.         | 3200                                | 100                             | —               | 200                   | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 6400                    | 1000                   | —             | —                               |
| 2. negat.  | —                                   | —                               | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | —                       | —                      | —             | —                               |
| 3.         | 1600                                | 200                             | —               | 100                   | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | 200                           | 12800                   | —                      | 100           | —                               |
| 4. negat.  | —                                   | —                               | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | —                       | —                      | ±             | —                               |
| 5.         | 1600                                | 1600                            | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 12800                   | 200                    | —             | —                               |
| 6. negat.  | —                                   | —                               | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | —                       | ±                      | —             | —                               |
| 7.         | 1600                                | 400                             | —               | —                     | —                       | 200                         | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 12800                   | —                      | —             | 100                             |
| 8.         | 800                                 | —                               | —               | —                     | —                       | 200                         | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | —                       | —                      | —             | ±                               |
| 9.         | 12800                               | 800                             | —               | —                     | —                       | ±                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 25000                   | 200                    | —             | —                               |
| 10. negat. | —                                   | —                               | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | —                       | —                      | —             | —                               |
| 11.        | 800                                 | 200                             | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 6400                    | —                      | —             | —                               |
| 12.        | 800                                 | 400                             | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 6400                    | —                      | —             | —                               |
| 13.        | 6400                                | 400                             | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 12800                   | —                      | —             | —                               |
| 14.        | 800                                 | 400                             | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 6400                    | —                      | —             | —                               |
| 15.        | 6400                                | 1600                            | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 6400                    | 200                    | —             | —                               |
| 16.        | 200                                 | —                               | —               | —                     | —                       | 200                         | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 12800                   | —                      | —             | —                               |
| 17.        | 3200                                | 1600                            | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 25000                   | —                      | —             | —                               |
| 18.        | 800                                 | —                               | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 6400                    | —                      | —             | —                               |
| 19. negat. | —                                   | —                               | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | —                       | —                      | —             | —                               |
| 20. negat. | —                                   | —                               | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | —                       | —                      | —             | —                               |
| 21.        | 1600                                | 100                             | —               | —                     | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 12800                   | 100                    | —             | —                               |
| 22.        | 1600                                | 100                             | —               | 100                   | —                       | —                           | —                                      | —                    | —                         | —                         | —                 | —                             | 12800                   | 100                    | —             | —                               |
|            |                                     |                                 |                 | ±                     |                         |                             |                                        |                      |                           |                           |                   |                               |                         | ±                      |               |                                 |

Čtyři vrhy selat i s matkami byly umístěny v adaptovaném bývalém kravíně, který byl suchý a temný. Podle výpovědi se zde vyskytuje velké množství potkanů, kteří běhají po kotcích.

V březnu onemocněla tři selata z jednoho vrhu o počtu osmi kusů, za příznaků těžkého ikteru. Stáří selat bylo čtrnáct dní. Selata uhynula, ačkoliv až do exitu ssála a byla čilá. Pouze jedno sele bylo malátné, mělo průjem, avšak ssálo. Za týden od počátku enzootie onemocnělo dalších deset selat ze dvou vrhů o počtu čtrnácti kusů, opět na těžkou žloutenku. Stáří selat bylo jednadvacet dní. Z těchto selat dva kusy uhynuly a jedno bylo dodáno na vyšetření. Z těchto kusů jsme obdrželi živé sele. Za čtrnáct dní od vzplanutí infekce onemocněla tři selata z dalšího, již čtvrtého vrhu o deseti selatech. Celkem onemocnělo klinicky šestnáct selat ze čtyř vrhů a pět kusů uhynulo. Zbylá selata se spontánně uzdravila. Uvedená fakta byla zjištěna za měsíc po enzootii. Selata již byla pohromadě a nebylo možno zjistit, které žloutenku překonalo a které nikoliv.

U dvaceti dvou selat jsme odebrali krev intrakardiální punkcí. Poněvadž t. č. nemáme leptospirologickou laboratoř, vyšetřovala sera laboratoř při odd. patologické morfologie Veterinárního ústavu ČSAZV v Brně a hygienický ústav lékařské fakulty Komenského university.

Brněnská laboratoř použila kmene *L. icterohaemorrhagiae* získaného v terénu a zjistila vysoké titry a to u pěti ser 1 : 10.000, u tří ser 1 : 20.000 a u tří ser 1 : 40.000.

Bratislavská laboratoř použila k reakcím několika kmenů leptospir. Výsledky těchto šetření uvádíme ve zvláštní tabulce, z níž je patrné i vzájemné přesahování aglutinability těchto kmenů. Negativní výsledky až do titru 1 : 100 se vzájemně kryjí.

Provedené reakce aglutinačně lytické prokázaly souhlasně, že jde o *Leptospiru icterohaemorrhagiae*.

## Diskuse

Vyšetření potvrdila, že jde o Weilovu žloutenku u selat, která proběhla jako enzootie ve čtyřech vrzích selat. Onemocnění mělo subakutní až chronický průběh, což potvrdil i pitevní nález u dvou selat a nález leptospir pouze v ledvinách a pathohistologický nález interstitiální proliferativní *nephritis*. To odpovídá i zkušenostem, že při akutních leptospirosách se najdou leptospiry v játrech a ostatních parenchymatosech orgánech, při chronických jen v ledvinách. Ačkoliv uhynulo pět selat, mělo onemocnění mírný klinický průběh a zvířata se spontánně uzdravila. Positivní serologické reakce jevila rovněž selata, která klinicky neonemocněla. Prasnice zůstaly klinicky zdravé.

Weilovou žloutenkou onemocní hlavně třítýdenní až měsíční selata, která již přijímají potravu, olizují stájové předměty a pijí močůvku. Přicházejí tak do styku s infikovanou potkaní a prasečí močí. Onemocnění většinou končí u selat spontánním uzdravením. Bylo by zajímavé sledovat, jak dlouho prasata vylučují leptospiry močí a zda jsou leptospiry schopné infekce. Názor o infekci lidí od prasat *L. icterogenes* snad bude mít oprávnění.



Že nejde o vzácný výskyt Weilovy žloutenky u selat, svědčí skutečnost, že jsme zachytili po tomto případě další enzootii z jiného hospodářství se stejným klinickým, pathologickým a pozitivním serologickým nálezem.

## Z á v ě r

Byla popsána enzootie Weilovy žloutenky u jednadvaceti selat ze čtyř vrhů. Weilova choroba byla prokázána nálezem leptospir v ledvinách jednoho selete a serologickým vyšetřením krve dvaceti dvou selat, z nichž šestnáct bylo pozitivních na *L. icterohaemorrhagiae*. Z šestnácti klinicky onemocnělých selat uhynulo pět selat, ostatní se uzdravila, aniž byla léčena.

U dvou pitvaných selat byla hlavním nálezem kromě ikteru ložisková proliferativní *nephritis*.

Nakonec děkujeme ústavům, které nám pomohly zjistit enzootii Weilovy žloutenky za ochotnou spolupráci.

## L iteratura

V. Jelínek: Nález leptospir u vepřů. Rovnost 1949. — Jírovec - Petrů: Encyklopedie praktického lékaře - heslo leptospirosy. 1956. — Field a Sellers: Leptospirosis icterohaemorrhagiae infection in piglets. Veterinary Record 1951, str. 78. — Klarenbeek i Winsser: Ein Fall von spontaner Weilscher Krankheit bei Ferkeln. Deutsche tierärztliche Wochenschrift. 1937, str. 434. — Musajev: Leptospiroza prasat. Veterinarija 1949, č. 8, str. 23. — Zima L.: Leptospirosis icterogenes suis. Spisy Vysoké školy veterinární, str. 245. 1951.

### К вопросу о диагностике инфекционной желтухи Вейля у поросят

Автор описал энзоотию инфекционной желтухи Вейля у двадцати одного поросенка четырех опоросов. Болезнь Вейля была установлена обнаружением лептоспир в почках одного поросенка и путем серологического исследования крови 22-х поросят, из которых шестнадцать были положительными на *L. icterohaemorrhagiae*. Из шестнадцати клинически наблюдаемых поросят погибло пять поросят, остальные выздоровели без лечения.

У двух поросят, подвергнутых вскрытию, кроме желтухи был обнаружен главным образом очаговый пролиферативный нефрит.

### Contribution Towards the Diagnosis of Weil's Jaundice of Piglets

A description was made of the enzootic of Weil's jaundice in 21 piglets from four litters. Weil's Disease was shown by findings of leptospirae in the kidneys of one piglet and a serological examination of the blood of 22 piglets, of which 16 showed

positive results for *L. icterohaemorrhagiae*. Of the 16 clinically ill piglets, five died and the others recovered without treatment.

The chief finding in two dissections of piglets was, in addition to focal icterus, proliferative nephritis.

### **Ein Beitrag zur Diagnostik der Weil'schen Ferkelgelbsucht**

In der vorliegenden Arbeit wird die Enzootie der Weil'schen Gelbsucht bei 21 Ferkeln aus vier Würfen beschrieben. Die Weil'sche Krankheit wurde durch den Leptospirenbefund in den Nieren eines Ferkels und durch serologische Blutuntersuchung bei 22 Ferkeln, von welchen 16 positiv auf *L. icterohaemorrhagiae* reagierten, bewiesen. Von sechzehn klinisch erkrankten Ferkeln starben fünf Ferkel, die übrigen genasen ohne Behandlung.

Bei zwei seziierten Ferkeln war der Hauptbefund außer Ikterus eine herdartige proliferative Nephritis.

## Vplyv antibiotík a sulfonamidov na fertilitu spermy býkov

Влияние антибиотиков и сульфонамидов на способность спермы быков  
к оплодотворению

Effect of Antibiotics and Sulfanilamids on the Fertility of Bulls' Sperm

Einfluß der Antibiotiken und Sulfonamiden auf die Fertilität des Bullensperma

Dr. Ján SAKALA,

Vývojové stredisko štátnych plemenárskych staníc, Brno, Hroznová 2

Došlo dne 17. IX. 1956

### Úvod

Sterilita hospodárskych zvierat, vyjadrená poruchou reprodukčnej činnosti samcov a samíc, spôsobuje národnému hospodárstvu veľké škody. V sérii príčin, ktoré vyvolávajú poruchy koncepcie a placentácie, zaujímajú veľmi vážne miesto primárne a sekundárne nešpecifické pohlavné infekcie, ktoré sú doprovdzvané nálezom zmiešanej bakteriálnej flóry, ktorej najčastejšími zástupcami sú: streptokokky, diplokokky, *Bac. pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, baktérie zo skupiny *Coli*, korynebaktérie, pliesne a iné . . . Otázka ich patogenity a vyvolávania sterility cestou lokálnych ochorení pohlavných ústrojov samcov a samíc, nie je ešte uspokojivo zodpovedená. Uvedené mikroorganizmy, i keď snáď nevyvolávajú na pohlavných orgánoch klinické príznaky ochorenia, musíme napriek tomu považovať za fakultatívne patogenných mikróbov, ktoré za podmienok nehygienického pripúšťania a zníženej hygieny inseminačnej práce vyvolávajú nešpecifické pohlavné ochorenia, poruchy koncepcie a zníženie biologickej hodnoty spermy býkov.

Otázka vzťahu fakultatívne patogenných mikróbov k sterilitě sa stala aktuálnou po ich zistení v prepuciálnom vaku, močovej rúre, sperme a event. vo vyšších oddieloch pohlavného aparátu býkov. Odhládnuv od nevyriešenej otázky ich patogennej afinity k tkáňam pohlavných orgánov, musíme ich nález v sperme hodnotiť negatívne, zvlášť v prípadoch ich veľkého výskytu. V dôsledku ich prebývania v niektorých častiach pohlavných ústrojov býkov, predovšetkým v prepuciálnom vaku a prednej časti uretry, stávajú sa tieto sústavnou súčiastkou ejakulátov. Spermie sú veľmi citlivé živé buňky a zachovanie ich biologickej hodnoty v syntetickom prostredí je viazané na jeho kvalitu. Živé mikroorganizmy, ktoré sa pri odbere spermy alebo behom ďalšej manipulácii s ňou dostávajú do ejakulátov, zachovávajú a často zvyšujú svoju výmenu látkovú. Pri tom vylučujú toxíny a iné produkty výmeny látkovej, ktoré podľa

druhu a množstva rýchle alebo pomalšie poškodzujú fertilitu a vitalitu spermií. Nebezpečie ich pôsobenia je tým väčšie, že technológia spermy vyžaduje uchovávanie spermií v žltko-citrátovom prostredí, ktoré je zároveň veľmi dobrou živnou pôdou pre pathogenné i nopathogenné mikróby. Mnoho druhov mikróbov ani pri teplote 2—5° C, pri ktorej sa sperma konzervuje, neznižuje svoje životné pochody, ale škodlivými produktami metabolizmu otravuje životné-syntetické prostredie spermií po celú dobu konzervovania spermy. Z tohoto hľadiska je treba hodnotiť prítomnosť i typicky nopathogenných mikróbov v sperme býkov.

Antibiotiká našli veľké uplatnenie aj pri tejto forme sterility. Pridávanie antibiotík do spermy býkov má veľký význam ako prostriedok zvyšujúci ich oplodzovaciu schopnosť. Účinok antibiotík aj v tomto prípade ide prostredníctvom ich špecifického baktericidného a bakteriostatického účinku.

### Súčasný stav otázky

O zvýšenie fertility spermy býkov cestou zníženia množstva mikróbov v sperme, pôsobením antibiotík, sa pokúsilo mnoho autorov. Ich údaje sa však podstatne rozchádzajú.

Almqvist (3) porovnával účinok niektorých antibiotík na fertilitu spermy býkov a prišiel k záveru, že kombinácia penicilínu, streptomycínu a sulfanilamidu podstatne zvyšujú oplodzovaciu schopnosť spermií. Samostatne použité jednotlivé antibiotiká sa neosvedčujú tak dobre, ako ich kombinácie (Meyers-Almqvist, 9). Z ich práce vyplýva, že polymyxín a chloromycetín pôsobi silne baktericidne, ale zároveň, i keď v malej miere, je toxický i pre spermie. Aureomycín pridaný k riedenej sperme v množstve 12,5—25 mg %, neobmedzuje vitalitu spermií, ale zato energicky potláča rast baktérií. Bratton a Dumé (4) doporučujú kombináciu 500 m. j. penicilínu, 500 gama streptomycínu a 0,004 g sulfasuccidínu na 1 ml žltko-citrátového riedidla. Foote a Bratton (6) použili do spermy antibiotiká so širším antibakteriálnym spektrom úspešne. Polymyxín A, B, C, D považujú za účinnejší ako STM. Niektoré kmene *Escherichia Coli*, *Aerobacter aerogenes* a *Pseudomonas aeruginosa* odolávajú STM, sú však účinne potláčané polymyxínom. Aureomycín pôsobí, podľa ich oznámenia, v sperme na gram + i neg. druhy a na niektoré vírusy. Autori zistili, že polymyxín má veľkú šírku spermicidného účinku. Za optimálnu dávku považujú 5—6,25 mg %, lebo táto dávka má výborný baktericidný účinok, pri tom však spermiami neškodný. Aureomycín v dávke 500 gama na 1 ml riedenej spermy považujú nielen za baktericidný, ale zároveň aj spermicidný. V množstve 100 gama na 1 ml riedidla sa úplne znížil jeho toxický účinok na spermie pri zachovaní dostatočného baktericidného účinku. Easterbrooks (5) poukazuje na skutočnosť, že pridávaním vhodných antibiotík do spermy je možno zabrániť prenosu niektorých pripúšťacích infekcií (*Br. ab. B.*, *Vibriosis* a iné...). Podľa jeho údajov aj PN v množstve pod 1000 m. j. na 1 ml riedidla zvyšuje fertilitu spermií a v množstve 1000 m. j. a viac na 1 ml riedenej spermy má na spermie toxický účinok. Doporučuje jeho kombináciu so sulfanilamidom, ktorý má činiť 0,3 % koncentráciu riedenej spermy. Pridaním STM rozširuje sa antibakteriálne spektrum. Uvádza, že plodnosť spermy sa zvýšila až o 22—27 %. U býkov s normálnou fertilitou sa však táto nezvýšila. Addlex a Rasbetch (1) poukazujú na to, že 1500 mikrogramov

STM na 1 ml riedidla zvýšilo oplodzovacu schopnosť spermy tým, že došlo k značnému potlačeniu mikroorganizmov, znižujúcich biologickú hodnotu spermií. Potlačenie rastu mikróbov v sperme sa prejavilo aj znížením embryonálnej mortality zygot (Foote-Bratton, 7).

Albertsen (2) však vyslovuje opačné názory a uvádza to, že účinok antibiotík v žltkovom prostredí, bohatom na fosfolipidy a pri 5° C teplote, pri ktorej sa obyčajne sperma uchováva, je nepatrný. Najintenzívnejší antibakteriálny účinok pozoroval u STM a TM (teramycínu). Väčší bol na *Corynebact. pyogenes* a *Vibrio foetus* než na *Br. ab. b. B.* Je toho názoru, že zvýšenie plodnosti spermy býkov po pridaní antibiotík je výrazom špatnej techniky schladzovania, lebo antibakteriálny účinok antibiotík rastie úmerne so zvyšovaním teploty prostredia, v ktorom pôsobia. Uzatvára, že vaječný žltok a nízka teplota prakticky úplne potláčajú bakteriálny účinok STM na *Coryn. pyogenes*, *Br. ab. b. B.* a *vibrio foetus*. Willet a Larson (11) dosiahli v priemere iba o 2 % vyššiu plodnosť po STM + PN riedidlom riedenej sperme. Hendrig a Joling (8) dosiahli ešte horšie výsledky. Po pokusných vzorkoch ejakulátov riedených STM + PN riedidlom bola iba o 1,4 % lepšia brezosť, ako u skupine kontrolnej. Väčší rozdiel v prospech STM + PN bol u kráv prebiehajúcich sa ako u plemien prvý raz inseminovaných (+ 4,3 %). Uzatvárajú, že ich výsledky nie sú dostatočne významné a že fertilná schopnosť spermy aj po pridaní antibiotík zostáva na pôvodnej výške.

## Metodika

K pokusu bola použitá sperma býkov s veľmi nízkou plodnosťou. V prvej časti pokusov bola experimentálne stanovená optimálna dávka STH, PN a sulfadimidinu do riedenej spermy. Vychádzali sme z literárnych údajov. Vplyv koncentrácie antibiotík bol sledovaný skúškou rezistencie spermií v určitých časových intervaloch úchovy. Ako kontrola slúžili vzorky tých istých ejakulátov, rozriedených riedidlom bez antibiotík a v tom istom pomere, ako vzorky pokusné. Po stanovení vhodnej koncentrácie antibiotík a sulfadimidinu sme prišli k takémuto spracovávaniu spermy: Ten istý ejakulát býka bol po kvalitatívnom zhodnotení rozdelený na dve polovice. Jedna polovica bola rozriedená riedidlom s antibiotikami a druhá za tých istých podmienok riedidlom bez antibiotík. Tým opatrením bola vylúčená diferenciacia podmienená individuálnou fertilitou jednotlivých ejakulátov. Pokusné i kontrolné vzorky toho istého ejakulátu boli používané tým istým inseminačným technikom a v tom istom obvode, takže podmienky pokusu boli vyrovnané.

Pridávanie antibiotík bolo použité v týchto kombináciach:

1. *Streptomycin* — *Calcium chloride* B. P. Glaxo. Na 1 ml riedidla bolo pridávané 1000 gama STM.
2. *Streptomycinum sulfuricum* — sov. výroby v kombinácii s prokain-penicilínom pre veterinárne účely. Na 1 ml riedidla bolo pridávané 500 gama STM a 500 m. j. PN.
3. *Streptomycinum sulfuricum* — sov. — 500 gama na 1 ml riedidla.  
Prokain penicilin — 500 m. j. na 1 ml riedidla.  
Sulfadimidin — 0,2 % cel. koncentrácie.



4. Streptomycin — československej výroby, určený pre veterinárne účele, v množstve 850 gama na 1 ml riedidla v kombinácii so sulfadimidinom, alebo alesténom v celkovej koncentrácii 0,2 %.

5. Streptomycin — ČSR — vet. — 500 gama na 1 ml riedidla.

Prokain penicilin — 500 m. j. na 1 ml riedidla.

Alestén — 0,2 % cel. koncentrácie.

Vplyv týchto kombinácií bol sledovaný in vitro, bakteriologickým rozborom kontrolných a pokusných vzorkov a in vivo — vyjadrený percentom zabrezávania. Bakteriologické rozborov previedol Dr. Salajka zo Štátneho vedeckého veterinárneho ústavu v Gottwaldove.

## Výsledky

Optimálna koncentrácia antibiotík bola stanovená experimentálne a za optimum bolo považované to maximálne množstvo, ktoré nevykazovalo spermicidného účinku. Za týmto účelom bolo prevedené systematické vyšetrovanie 113 vzorkov spermy s takým dávkovaním antibiotík, aké doporučuje literatúra. Výsledky ukázali, že bolo treba znížiť dávku alesténu, resp. sulfadimidinu z doporučovanej 0,3 % koncentrácie na 0,2 %. Pracováno bolo podľa zásady delenia ejakulátov na dve polovičky — pokusné a kontrolné.

Na základe prevedených laboratórnych pokusov bolo ustáleno, že vyššie uvedené dávky antibiotík a sulfamidinu, r. alesténu, nie sú škodlivé pre sper-

Tab. 1. Vplyv antibiotík na rezistenciu spermy behom úchovy

Табл. 1. Влияние антибиотиков на устойчивость спермы во время хранения

Table 1. Effect of antibiotics on resistance of sperm during storage

Tab. 1. Einfluß der Antibiotiken auf die Resistenz des Samens während der Konservierung.

| Počet vyš. vzork.                                                        | Pr. r.<br>pred<br>zrie-<br>den. | Priem. r. za<br>24 hod. |       | Priem. r. za<br>48 hod. |       | Priem. r. za<br>96 hod. |       | Priem. r. za<br>120 hod. |       |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-------------------------|-------|-------------------------|-------|-------------------------|-------|--------------------------|-------|
|                                                                          |                                 | s ant.                  | bez   | s ant.                  | bez   | s ant.                  | bez   | s ant.                   | bez   |
| 15 vz. 1000 gama<br>ang. STM na 1 ml r.                                  | 87500                           | 72500                   | 77500 | 57500                   | 62500 | 32500                   | 32500 | 27500                    | 27500 |
| 69 vz. 500 gama STM<br>500 m. j. PN<br>0,2 % sulfd. na 1 ml r.           | 52500                           | 52500                   | 52500 | 72500                   | 60000 | 47500                   | 37500 | 22500                    | 17500 |
| 5 vz. 500 gama STM—<br>ČSR 500 m. j. PN<br>0,3 % alestén<br>na 1 ml rie. | 32500                           | 27500                   | 35500 | 25500                   | 27500 | 12500                   | 12500 | 7500                     | 12500 |
| 24 vz. 500 gama STM<br>ČSR 500 m. j. PN<br>0,2 % alestén na 1 ml r.      | 18500                           | 22500                   | 22500 | 17500                   | 17500 | 7500                    | 7500  | 5000                     | 5000  |

mie, lebo ani v jednom prípade nedošlo k signifikantnému zníženiu rezistencie spermií u pokusných vzorkov tých istých ejakulátov. Výnimku tvorí skupina, kde bol použitý anglický STM. Aj tieto diferencie nie sú však presvedčivé, čo sa ukázalo behom ďalšej úchovy (96–120 hodín). V druhej skupine pokusov bola rezistencia značne zvýšená u pokusných vzorkov. Je pravdepodobné, že zvýšenie rezistencie je vyjadrením baktericidného účinku pridaných antibiotík a sulfadimidinu. Ich pôsobením došlo pravdepodobne k potlačeniu mikroorganizmov a tým k zníženiu spermicidného účinku toxínov a produktov výmeny látkovej mikróbov.

Pri bakteriologickom rozbere výplaškov a výterov z prepuciálnych vakov a ejakulátov býkov boli vypestované vo veľkom množstve tieto zárodky: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgarie*, *Micrococcus albus*, gramnegatívne tyčinky z čeladi *Enterobacteriaceae*, grampozitívne haemolitické streptokoky a diplokoky, gram + korynebaktérie, *Streptococcus brevis*, *albus*, *flavus*, *Micrococcus citreus*, *Aspergillus*, aktynomycety, *Mucor* a *Clostridium*. Zmiešaný nález týchto mikroorganizmov vo veľkom množstve považujeme za hlavnú príčinu nízkej plodnosti pokusných býkov.

Antibakteriálny vplyv pridaných antibiotík bol in vitro sledovaný tak, že jednotlivé ejakuláty, rozdelené do dvoch častí a rozriedené normálnym a antibiotickým riedidlom za úplne rovnakých podmienok, boli po úchove 24 a 48 hodín podrobené kvalitatívnemu a kvantitatívnemu bakteriologickému rozboru. V uvedených časových intervaloch boli robené bakteriologické rozbor pokusných i kontrolných vzorkov. Výsledky ukázali, že horeuvedená bakteriálna flóra je kombináciou STM, PN a sulfadimidinu, resp. alesténu, účinne potláčaná. Markantný útlm rastu baktérií v pokusných vzorkoch je treba pripísať pôsobeniu antibiotík a nie chladu. Bakteriologický rozbor vzorkov pokusných a kontrolných, uchovávaných v rovnakých tepelných pomeroch po dobu 72 hodín jasne ukazuje, že ide o špecifický antibakteriálny vplyv antibiotík a nie chladu.

U 2 vzorkov spermy, riedených riedidlom bez antibiotík, bola stúpajúca tendencia zvyšovania počtu baktérií. Podobné u pokusných vzorkov nebolo po-

Tab. 2. Vplyv antibiotík na mikroflóru spermy, pozorovaný in vitro

Табл. 2. Влияние антибиотиков на микрофлору спермы, наблюдаемое in vitro

Table 2. Effect of antibiotics on microflora of sperm observed in vitro

Tab. 2. Einfluß der Antibiotiken auf die Mikroflora des Samens, beobachtet in vitro

|                                         | Počet vyšetrených vzorkov |              |
|-----------------------------------------|---------------------------|--------------|
|                                         | s antib.                  | bez antib.   |
| Kvantitatívny stav baktérii vzorkov:    | 64                        | 64           |
| Nezmenené množstvo po 48 hodinách:      | u 12 vzorkov              | u 39 vzorkov |
| Zmenšené množstvo po 48 hodinách:       | u 23 vzorkov              | u 22 vzorkov |
| Počet sterilných vzorkov po 48 hodinách | 29                        | 3            |

zorované ani v jednom prípade. Názorným príkladom antibakteriálneho účinku antibiotík v sperme je osud mikróba *Pseudomonas aeruginosa*. Je to typický mikrób, odolávajúci chladu, ktorý i pri teplote  $2-5^{\circ}\text{C}$ , teda pri teplote, pri ktorej vzorky boli uchovávané, sa množí. U všetkých 27 kontrolných vzorkov, u ktorých bol vypestovaný do 24 hodín po zpracovaní spermy, bol v ďalších 24–48 hodinách v každom prípade znovu vypestovaný. Ani v jednom prípade nedošlo k jeho potlačeniu. Avšak z 27 vzorkov pokusných u 12 už nemohol byť vypestovaný a u ostatných jeho množstvo bolo podstatne zmenšené.

Vplyv antibiotík na plodnosť spermatu v terénnych podmienkach bol hodnotený podľa:

1. jednotlivých ich kombinácií, pri čom bol diferencovaný:
  - a) podľa plemenníc prvýkrát inseminovaných a
  - b) podľa plemenníc, ktoré sa už prebiehali.
2. Podľa doby konzervovania použitej spermy, a to opäť podľa ukazovateľov z bodu 1.
3. Podľa jednotlivých skupín plemenníkov, ktoré boli stanovené podľa ich plodnosti:
  - a) do 40 % plodnosti po prvej inseminácii,
  - b) do 50 % plodnosti po prvej inseminácii,
  - c) do 60 % plodnosti po prvej inseminácii a
  - d) nad 60 % plodnosti po prvej inseminácii.

## 1

Pracovalo sa s býkmi, ktoré z horeuvedených príčin vykazovali podstatne zníženú plodnosť. Ani pridanie antibiotík nebolo v stave zvýšiť ich plodnosť na priemernú výšku, i keď ju podstatne zlepšili.

V tabuľke č. 3 sú uvedené výsledky plodnosti spermy býkov v závislosti na rôznych kombináciách antibiotík a sulfonamidov. Z tohoto rozboru vyplýva, že najvhodnejšia kombinácia je použitie streptomycínu v dávke 500 gama na 1 ml riedidla v kombinácii 500 m. j. prokain-penicilínu so súčasným pridaním sulfadimidinu alebo alesténu, v celkovej koncentrácii 0,2 %. Pri hodnotení plemenníc prvýkrát inseminovaných sa táto kombinácia prejavila najvhodnejšou. Pri nej je koeficient plodnosti vyjadrený číslom 1,73–1,82, kým u kontrolnej spermy sa tento zvýšil na 2,04–2,10. Zlepšenie koeficientu plodnosti o 0,28 až 0,31 je jasným výrazom priaznivého účinku antibiotického komponentu riedidla. Pri použití samotného STM + PN alebo samotného STM sa koeficient plodnosti zvyšuje až na 1,9. Posledná pokusná skupina, v ktorej bol použitý STM ČSR výroby pre veterinárne účely a alestén, nevykázala žiadnu diferenciu výsledkov. Je treba však podotknúť, že i kontrolné sperma malo zvýšenú plodnosť. Výsledky plodnosti pokusnej a kontrolnej spermy u plemenníc, ktoré sa už prebiehali, sa zdajú byť, podľa druhu antibiotík, opačné. Koeficient plodnosti je u pokusných vzorkov o 0,12–0,59 nižší ako u kontrolnej spermy.

Vplyv antibiotického riedidla sa prejavil priaznivejšie u plemenníc prvýkrát inseminovaných o 6,3 % v brežosti, kdežto u plemenníc-prebiehaliiek sa brežosť zvýšila iba o 3,9 %. Rozdiel zvýšenej plodnosti u prvýkrát inseminovaných plemenníc, vyjadrený 2,4 % v ich prospech, je na veľkom počte materiálu signifikantný. Z toho je možno urobiť záver, že zvýšenie plodnosti ide cestou antibakteriálneho účinku antibiotík v sperme a nie cestou zlepšovania prostredia

Tab. 3. Vplyv rôznych kombinácií antibiotík na plodnosť spermy býkov

Табл. 3. Влияние различных комбинаций антибиотиков на плодовитость спермы быков

Table 3. Effect of various combinations of antibiotics on fertility of sperm of bulls

Tab. 3. Einfluß der verschiedenen Kombinationen der Antibiotiken auf die Fertilität des Bullensamens

| Kombinácia antibiotík                                                            | Plemennice prvýkrát inseminované |            |       |           |            |       |         | Plemennice - prebiehalky |            |       |           |            |       |         | Koefficient plodnosti |      |         |             |      |         |
|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|------------|-------|-----------|------------|-------|---------|--------------------------|------------|-------|-----------|------------|-------|---------|-----------------------|------|---------|-------------|------|---------|
|                                                                                  | s antibiot.                      |            |       | bez       |            |       |         | s antibiot.              |            |       | bez       |            |       |         | 1 × ins.              |      | rozdiel | prebiehalky |      | rozdiel |
|                                                                                  | poč. ins.                        | z to- ho + | % br. | poč. ins. | z to- ho + | % br. | rozdiel | poč. ins.                | z to- ho + | % br. | poč. ins. | z to- ho + | % br. | rozdiel | s an- tib.            | bez  |         | s an- tib.  | bez  |         |
| STM sov. 500 m. j.<br>PN – prok. 500 m. j.<br>Sulfadim. 0,2 %<br>na 1 ml riedid. | 958                              | 525        | 54,8  | 1336      | 634        | 47,4  | +7,4    | 783                      | 334        | 42,7  | 1036      | 415        | 40,0  | +2,65   | 1,82                  | 2,10 | +0,28   | 2,34        | 2,50 | +0,16   |
| STM sov. 500 m. j.<br>PN – prokain 500 m. j.<br>na 1 ml riedid.                  | 467                              | 246        | 52,6  | 579       | 283        | 48,9  | +3,7    | 443                      | 232        | 52,4  | 661       | 298        | 45,1  | +7,3    | 1,90                  | 2,04 | +0,14   | 1,90        | 2,21 | +0,31   |
| STM ang. 1000 gama<br>na 1 ml ried.                                              | 892                              | 495        | 55,5  | 1623      | 785        | 48,3  | +7,2    | 807                      | 356        | 44,1  | 1684      | 703        | 41,8  | +3,3    | 1,80                  | 2,07 | +0,27   | 2,27        | 2,39 | +0,12   |
| STM ČSR – 500 gama<br>PN prok. 500 m. j.<br>Alestén 0,2 % na 1 ml ried.          | 325                              | 188        | 57,8  | 651       | 310        | 47,6  | +10,2   | 318                      | 161        | 50,6  | 409       | 159        | 38,9  | +11,7   | 1,73                  | 2,10 | +0,37   | 1,97        | 2,56 | +0,59   |
| STM ČSR – 500 gama<br>Sulfad. a alestén 0,2 %                                    | 281                              | 149        | 53,0  | 421       | 225        | 53,4  | –0,4    | 334                      | 151        | 45,2  | 492       | 225        | 45,7  | –0,5    | 1,88                  | 1,87 | –0,01   | 2,21        | 2,19 | –0,02   |

v kanálku krčku maternice, resp. v samotnej maternice. Koeficient plodnosti u prvýkrát inseminovaných plemenníc robí 1,82 po sperme spracovanej antibiotickým riedidlom a 2,06 po sperme bez antibiotík. U plemenníc-prebiehaliek sa zvyšuje koeficient oplodenia z 2,17 po sperme s antibiotikami na 2,38 po sperme bez antibiotík.

## 2

Diferenciálne hodnotenie pokusnej a kontrolnej spermy v závislosti na dobe konzervovania.

Tento rozbor bol robený u menšieho počtu ejakulátov pokusných býkov a sperma, podľa zásady delenia ejakulátov, bolo používané do 36 a do 60 hodín od odberu. Vplyv doby konzervovania vyplýva z priloženej tabuľky č. 6. U oboch skupín spermy, pokusnej a kontrolnej, bola plodnosť vyššia medzi 48 a 60 hodinou konzervovania, čo vyplýva z rozdielnosti koeficientov plodnosti, ktorý je 1,93 a 2,33 pre sperma do 36 hodín konzervované a 1,82 a 2,32 pre sperma konzervované do 60 hodín. U plemenníc-prebiehaliek je tento rozdiel ešte výraznejší.

Pri diferencovaní výsledkov, v závislosti na antibiotikách vidíme, že dobou úchovy sa zvyšuje ich účinok u plemenníc prvýkrát inseminovaných. V prvý deň úchovy sa zvýšila plodnosť u prvýkrát inseminovaných plemenníc o 8,9 % a na druhý deň až o 11,8 %, u prebiehaliek o 4 % v prvý a o 3,1 % v druhý deň konzervovania, v porovnaní so spermou bez antibiotického komponentu.

Tab. 4. Celkový vplyv antibiotík na fertilitu spermy býkov

Табл. 4. Общее влияние антибиотиков на плодovitость спермы быков

Table 4. Overall effect of antibiotics on fertility of sperm of bulls

Tab. 4. Gesamteinfluß der Antibiotiken auf die Fertilität des Bullensamens

| Sperma    | S antibiotikami |             |         | Bez antibiotik |             |         |           | Koeficient plodnosti |           |         |
|-----------|-----------------|-------------|---------|----------------|-------------|---------|-----------|----------------------|-----------|---------|
|           | počet ins.      | počet teln. | % brez. | počet ins.     | počet teln. | % brez. | rozdiel % | s antb.              | bez antb. | rozdiel |
| I. insem. | 2923            | 1603        | 54,8    | 4610           | 2237        | 48,5    | +6,3      | 1,82                 | 2,06      | 0,24    |
| Prebieh   | 2685            | 1234        | 45,9    | 4282           | 1800        | 42,0    | +3,9      | 2,17                 | 2,38      | 0,21    |
| Spolu     | 5608            | 2837        | 50,6    | 8892           | 4037        | 45,4    | +5,2      | 1,97                 | 2,20      | 0,23    |

Tab. 5. Koeficient plodnosti v závislosti na sperme s pridaním alebo bez antibiotík

Табл. 5. Коэффициент плодovitости в зависимости от спермы с прибавлением антибиотиков или без них

Table 5. Coefficient of fertility in relation to sperm with or without antibiotics

Tab. 5. Der Befruchtungskoeffizient im Zusammenhange auf das Sperma mit der oder ohne Zufügung der Antibiotiken

| Sperma      | S antibiot. | Bez antibiot. | Rozdiel |
|-------------|-------------|---------------|---------|
| I. insemin. | 1,82        | 2,06          | 0,24    |
| Prebiehalky | 2,17        | 2,38          | 0,21    |
| Rozdiel     | 0,35        | 0,21          | —       |



Tab. 6. Diferenciálne zhodnotenie pokusnej a kontrolnej spermy v závislosti na dobe konzervovania

Табл. 6. Дифференциальная оценка опытной и контрольной спермы в зависимости от времени сохранения

Table 6. Differential evaluation of experimental and control sperm in relation to time of conservation

Tab. 6. Die Differenzialbewertung des Versuchs- und Kontrollspermas abhängig von der Konservierungszeit

| Doba konzerv. v hod.  | Sperma s pridaním antibiotík |             |         |                |                          |             |         |                |
|-----------------------|------------------------------|-------------|---------|----------------|--------------------------|-------------|---------|----------------|
|                       | Plemennice 1 × inseminované  |             |         |                | Plemennice - prebiehalky |             |         |                |
|                       | počet insem.                 | počet brez. | % brez. | koefic. plodn. | počet insem.             | počet brez. | % brez. | koefic. plodn. |
| do 36 hod.            | 170                          | 88          | 51,8    | 1,93           | 155                      | 81          | 42,5    | 2,35           |
| do 60 hod.            | 215                          | 118         | 54,9    | 1,82           | 201                      | 91          | 45,3    | 2,20           |
| Rozdiel               |                              |             | 3,1     | 0,11           |                          |             | 2,8     | 0,15           |
| Sperma bez antibiotík |                              |             |         |                |                          |             |         |                |
| do 36 hod.            | 224                          | 96          | 42,9    | 2,33           | 213                      | 82          | 38,5    | 2,59           |
| do 60 hod.            | 350                          | 151         | 43,1    | 2,32           | 308                      | 130         | 42,2    | 2,36           |
| Rozdiel               |                              |             | 0,2     | 0,01           |                          |             | 3,7     | 0,23           |

### 3

## Zhodnotenie jednotlivých skupín býkov podľa ich plodnosti po prvej inseminácii

V tejto časti je pojednané o vplyve antibiotík na fertilitu spermy býkov, rozdelených do skupín podľa ich plodnosti dosiahnutej po sperme bez antibiotík, v období pokusu.

Za najvhodnejšie kritérium hodnotenia vplyvu antibiotík na fertilitu spermy považujeme plodnosť, dosiahnutú u plemenníc, prvýkrát inseminovaných. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že so stúpajúcou plodnosťou býkov, znižuje sa účinok antibiotík. Keď je plodnosť plemenníkov po sperme bez pridania antibiotík nad 55 %, antibiotický komponent v riedidle sa stáva neúčinný a pri plodnosti 60 % je už čiastočne škodlivý. Zvyšovaním plodnosti ejakulátov nad 55–60 % sa začína prejavovať aj čiastočne nepriaznivý vplyv antibiotík na spermie. Zaujímavé sú výsledky u plemenníc-prebiehalek. Sperma bez antibiotík, tých istých skupín plemenníkov, zostavených podľa plodnosti po prvej inseminácii, má podstatne nižšiu plodnosť u prebiehalek, čo je aj, vzhľadom ku charakteru plemenníc, pochopiteľné. Podobne je aj nižšia účinnosť antibiotík v sperme použitej u prebiehalek. Zaujímavé je však to, že účinok antibiotík, vyjadrený zvyšovaním plodnosti, sa úmerne zvyšuje so zvyšovaním plodnosti býkov až do skupiny býkov so 60 % plodnosťou, kedy sa už prejavuje zostupná tendencia účinku.

Tab. 7. Vplyv antibiotík na fertilitu spermy býkov podľa ich plodnosti

Табл. 7. Влияние антибиотиков на плодовитость спермы быков в зависимости от степени их плодовитости

Table 7. Effect of antibiotics on fertility of bulls according to bulls' fertility

Tab. 7. Einfluß der Antibiotiken auf die Fertilität des Bullenspermas abhängig von ihrer Fruchtbarkeit

| Skupiny<br>býkov podľa<br>plodnosti | Plemenice prvýkrát inseminované |                 |           |                    |                 |           |              | Plemenice — prebiehalky |                 |           |               |                 |           |              | Celkom        |                 |           |               |                 |           |              |
|-------------------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------|--------------------|-----------------|-----------|--------------|-------------------------|-----------------|-----------|---------------|-----------------|-----------|--------------|---------------|-----------------|-----------|---------------|-----------------|-----------|--------------|
|                                     | s antib.                        |                 |           | bez antb.          |                 |           | roz-<br>diel | s antib.                |                 |           | bez ant.      |                 |           | roz-<br>diel | s antib.      |                 |           | bez ant.      |                 |           | roz-<br>diel |
|                                     | po-<br>čet<br>ins.              | po-<br>čet<br>+ | %<br>brz. | po-<br>čet<br>ins. | po-<br>čet<br>+ | %<br>brz. |              | počet<br>ins.           | po-<br>čet<br>+ | %<br>brz. | počet<br>ins. | po-<br>čet<br>+ | %<br>brz. |              | počet<br>ins. | po-<br>čet<br>+ | %<br>brz. | počet<br>ins. | po-<br>čet<br>+ | %<br>brz. |              |
| do 40 %                             | 598                             | 271             | 45,3      | 958                | 313             | 32,7      | 12,6         | 521                     | 216             | 41,5      | 971           | 369             | 38,0      | 3,5          | 1119          | 487             | 43,5      | 1929          | 682             | 35,4      | 8,1          |
| do 50 %                             | 832                             | 432             | 51,9      | 1342               | 602             | 44,8      | 7,1          | 742                     | 325             | 43,8      | 1268          | 542             | 42,7      | 1,1          | 1574          | 757             | 48,1      | 2610          | 1144            | 43,8      | 4,3          |
| do 55 %                             | 762                             | 431             | 56,6      | 1250               | 666             | 53,3      | 3,3          | 711                     | 336             | 47,3      | 1214          | 525             | 43,3      | 4,0          | 1473          | 767             | 52,1      | 2464          | 1191            | 48,3      | 3,8          |
| do 60 %                             | 328                             | 183             | 55,8      | 548                | 314             | 57,3      | -1,5         | 398                     | 218             | 54,8      | 514           | 222             | 43,2      | 11,6         | 726           | 401             | 55,2      | 1062          | 536             | 50,5      | 4,7          |
| nad 60 %                            | 348                             | 209             | 60,0      | 504                | 329             | 65,3      | -5,3         | 372                     | 165             | 44,4      | 578           | 270             | 46,7      | -2,3         | 720           | 374             | 51,9      | 1082          | 599             | 55,4      | -3,5         |

Znížovanie účinku antibiotík v spermu býkov so zvyšujúcou sa plodnosťou je treba hľadať v tomto vysvetlení:

Zvýšenie plodnosti máloplodných býkov je jasným dôkazom toho, že príčinou nízkej fertility v tomto prípade sú toxíny a produkty metabolismu mikroorganizmov. Antibiotiká úspešne odstraňujú škodlivý vplyv mikróbov na spermu behom jej úchovy i keď čiastočne samy škodlivo ovplyvňujú spermie. Ich pôsobením sa však odstraňuje o mnoho väčší škodlivý činiteľ pôsobiaci na spermie ako je ich vlastný negatívny vplyv na spermie. Preto ejakuláty s nízkou plodnosťou nedosahujú ani po pridaní antibiotík vyššiu plodnosť ako 55–60 %. Antibiotiká sú vstave zlikvidovať alebo aspoň podstatne znížiť mikrobiálne príčiny podmieňujúce nízku plodnosť ejakulátov, stávajú sa však samy príčinou toho, že sperma s ich prísadou nemôže dosiahnuť plodnosť nad 60 %. U ejakulátov s dobrou plodnosťou, nad 60 %, antibiotiká neodstraňujú žiadného škodlivého činiteľa, ale prejavuje sa iba ich mierne nepriaznivý vplyv na spermie.

## Záver

V predloženej práci sme sa zaoberali štúdiom vplyvu antibiotík a sulfonamidov na fertilitu spermy býkov. Ako riedidlo spermy bolo používané 3,8 % koncentrácia citranu sodného s  $\frac{1}{4}$  množstvom žltka vaječného. Ako antibakteriálny komponent riedidla bol použitý streptomycín, penicilín a alestén, resp. sulfadimidin. Vplyv pridávaných antibiotík bol hodnotený in vitro podľa kvantitatívnych bakteriologických rozborov pokusných a kontrolných vzorkov, uchovávaných po dobu 48–72 hodín pri 2–4° C. Zásada práce v celom pokusu bola, delenie toho istého ejakulátu na dve polovičky — pokusné vzorky a kontrolné. Hlavným kritériom hodnotenia vplyvu antibiotík bolo dosiahnutie breživosti po prvej inseminácii, diagnostikovanej rektálnou metódou. Podľa dosiahnutých výsledkov je možno urobiť tento záver:

STM, PN a alestén, resp. sulfadimidin, pridané do zriedovača, majú antibakteriálny účinok aj pri schladení spermy na 2–4° C a účinne potláčajú rast a rozmnožovanie mikróbov v sperme. Najvhodnejšia je kombinácia STM + PN po 500 gama, resp. m. j. na 1 ml riedidla s 0,2 % koncentráciou alesténu, alebo sulfadimidinu. U 2923 prvýkrát inseminovaných plemenníc spermou tých istých býkov, spracovanou antibiotickým riedidlom, bola po prvej inseminácii dosiahnutá 54,8 % breživosť, kým u 4610 prvýkrát inseminovaných plemenníc spermou tých istých býkov (druhá polovica tých istých ejakulátov), avšak bez antibiotík, činila 48,5 %. U prebiehaliel bolo zabrezávanie po antibiotickej sperme len o 3,9 % vyššie. Pokusné i kontrolné sperma malo v 48. až 60. hodine konzervovania o 0,2 až 3,7 % vyššiu plodnosť ako v prvý deň konzervovania (t. j. od 24. do 48. hodiny). Rozbor plodnosti spermy s antibiotikami a bez, podľa plodnosti býkov, dosiahnutej po sperme bez antibiotík ukázal, že zvyšovaním plodnosti býkov sa znižuje účinok antibiotík. Pridávanie antibiotík k sperme býkov s plodnosťou do 55 % zvyšuje ich fertilitu, ale u býkov s 60 % breživosťou a vyššou sa antibiotiká stávajú príčinou znižovania ich plodnosti. Kombinácia STM + PN + alestén, resp. sulfadimidin, účinne odstraňujú, alebo aspoň znižujú mikrobiálne príčiny nízkej plodnosti býkov, stávajú sa však samy príčinou znižovania fertility vysokoplodných býkov (nad 60 %).

1. Adlex H. C. - Rasbech N. O. Nordisch Vet. med. č. 4, str. 397-407, 1952.
- 2. Albertson B. E. 1952, Referát na vet. kongrese v Štokholmu. — 3. Almquist J. O. 1951, J. Daire Scienc., č. 8, str. 819-822. — 4. Bratton R. W. - Dumi H. O. Laboratory of Animal Breeding and Artificial Insemination Department of animal Hausbandry, Cornell University, Routine Lab. Procedure, č. 5-10, 1949-50. — 5. Easterbrooks H. L. 1950, Fertility and Sterility, str. 430-443. — 6. Foote R. H. - Bratton R. W. 1950, J. Daire Sc. 8-11, str. 530-543, 842-846. — 7. Foote R. H. - Bratton R. W. 1952, č. 3, str. 261-265. J. Daire Sc. — 8. Hendrikse J. - Joling K. F. Vplyv STM a PN na fertilitu zriedenej spermy, 1952, Referát na vet. kongrese v Štokholmu. — 9. Myers R. M. - Almquist J. O. 1951, J. Dairy Sc. 10, str. 322. — 10. Ulner W. - Clausnitzer E. Ber. und Münch. tierärzt. Wchs. 1955, str. 313-315. — 11. Willet E. L. - Larson G. L. 1952, J. Dairy Sc. 10, str. 899-905.

### Влияние антибиотиков и сульфонамидов на способность спермы быков к оплодотворению

В предлагаемой работе автор занимается изучением влияния антибиотиков и сульфонамидов на способность спермы быков к оплодотворению. В качестве разбавителя применялся цитрат натрия в концентрации 3,8 % с  $\frac{1}{4}$  количества яичного желтка. В качестве антибиотического компонента разбавителя были использованы стрептомицин, пенициллин и алестен, а также сульфадимидин. Влияние прибавляемых к сперме антибиотиков оценивалось *in vitro* по квантитативным бактериологическим анализам опытных и контрольных образцов, сохраняемых в течение 48—72 часов при температуре 2—4 °C. Основой нашего метода работы было разделение каждого известного эякулята на две половины, т. е. на опытный и контрольный образец. Самым важным критерием оценки влияния антибиотиков являлось достижение беременности после первого осеменения, диагностированной ректальным методом. Согласно достигнутым результатам можно сделать следующий вывод:

Стрептомицин, пенициллин и алестен, а также сульфадимидин, прибавленные к разбавителю спермы, оказывают антибактериологическое действие и при охлаждении спермы до 2—4 °C и эффективно подавляют рост и размножение микроорганизмов в сперме. Самая подходящая комбинация — Стрептомицин-пенициллин — по 500 гамма или международных единиц на 1 мл разбавителя с 0,2 % концентрацией алестена или сульфадимидина 2923 коров после первого осеменения спермой, разбавленной антибиотическим разбавителем, забеременение достигало 54,8 %, в то время как у 4610 коров после первого осеменения спермой тех самых быков (контрольный образец), но без антибиотиков, составляло только 48,5 %. У коров с перегулом после антибиотической спермы беременность была только на 3,9 % выше. Опытная и контрольная сперма в течение 48—60 часов сохранения имела на 0,2—3,7 % более высокую способность к оплодотворению, чем в первом дне (т. е. от 24 до 48 часов). Анализ способности спермы к оплодотворению с антибиотиками и без них по сравнению с плодовитостью быков, достигнутой при осеменении спермой без антибиотиков показал, что с повышением плодовитости быков снижается действие антибиотиков. Прибавление антибиотиков к сперме быков с плодовитостью до 55 % повышает ее способность к оплодотворению, но у быков с 60 % плодовитости и большей антибиотики снижают их плодовитость. Комбина-

ции стрептомицина + пенициллина + алектена или сульфадимидина эффективно устраняют или по крайней мере снижают микробные причины низкой плодовитости быков, однако, сами являются причиной снижения способности спермы к оплодотворению у высокоплодовитых быков (выше 60 %).

### **Effect of Antibiotics and Sulfanilamids on the Fertility of Bulls' Sperm**

We have analyzed in this article the effect of antibiotics and sulfanilamids on the fertility of bulls' sperm. To dilute the sperm we used a 3.8 concentration of sodium citrate with one-fourth the amount of egg yolk. The anti-bacterial component of the diluting solution was streptomycin, penicillin and alesten or a sulfanilamid. The effect of the antibiotics was evaluated *in vitro* by quantitative bacteriological analyses of experimental and control samples held for a period of 48 to 72 hours at a temperature of 2 to 4° C. The principle used in the experiment was to divide each ejaculation into two halves — an experimental sample and a control. The chief criterion of the evaluation of the effect of antibiotics was the achieving of pregnancy after the first insemination, diagnosed by the rectal method. The following conclusion can be made on the basis of the results achieved:

Streptomycin, penicillin and alesten or sulfanilamid added to the dilution solution have an anti-bacterial effect even when the sperm is cooled to 2 to 4° C, and effectively suppresses the growth and multiplication of microbes in the sperm. The best combination is streptomycin and penicillin, each 500 international units per ml. of dilution solution, with a 0.2 % concentration of alesten or sulfanilamid. In the 2923 cases of first insemination of breed cows with the sperm of bulls processed with an antibiotic dilution there was 54.8 % pregnancy, whereas for the 4,610 first inseminations of breed cows with the sperm of the same bulls (the other half of the same ejaculations), without antibiotics, pregnancy was 48.5 %. For the bulling of which was overdue the pregnancy with antibiotic sperm was only 3.9 % higher. Both the experimental and control sperm had 0.2 to 3.7 % higher fertility in the 48th to 60th hour of conservation than in the first day (that is, 24 to 48 hours). An analysis of the fertility of the sperm with and without antibiotics showed that the higher the fertility of the bulls the less the effect of the antibiotics. Adding antibiotics to the sperm of bulls with a fertility up to 55 % increases their fertility but with bulls having a 60 % and higher fertility the antibiotics became a cause of decrease in fertility. A combination of streptomycin, penicillin with alesten or sulfanilamid effectively eliminates or at least decreases the microbial causes for lower fertility of bulls, but are themselves the cause of a decrease in fertility of the high fertility (over 60 %) bulls.

### **Einfluß der Antibiotiken und Sulfonamiden auf die Fertilität des Bullensperma**

In der vorgelegten Arbeit haben wir uns mit dem Studium des Einflusses der Antibiotiken und Sulfonamiden auf die Fertilität des Bullenspermas beschäftigt. Als die Sperma verdünnungsflüssigkeit haben wir 3,8 % des konzentrierten Zitrat-Natriums mit  $\frac{1}{4}$  Menge des Eidotters benützt. Die antibakteriologische Komponenten der Verdünnungsflüssigkeit bildeten Streptomycin, Penicillin und Alesten, resp. Sulfadimidin. Der Einfluß der zugefügten Antibiotiken war *in vitro* nach den quantitativen und qualitativen bakteriologischen Untersuchungen der Versuch- und Kontrollmustern, die auf die Dauer von 48 bis 72 Stunden bei 2—4° C aufbewahrt wurden, bewertet. Die Teilung jedes einzelnen Ejakulats auf zwei gleiche Versuch- und Kon-



trollmengen wurde in dem ganzen Versuche als ein Grundsatz verfolgt. Als Hauptkriterium der Bewertung des Einflusses der Antibiotiken war die Erzielung der Trächtigkeit nach der erstmaligen Besamung, die durch die Rektalmethode diagnostiziert werden konnte. Nach den erzielten Ergebnissen können wir die folgenden Schlußfolgerungen schließen:

Die zu den Verdünnungsflüssigkeiten zugefügten Antibiotiken, wie Streptomycin, Penicillin und Alesten, resp. Sulfadimidin üben eine antibakterielle Wirkung auch bei Abkühlung des Spermas bei 2—4° C aus und unterdrücken wirksam das Wachstum und Vermehrung der Mikroben im Sperma. Als wirksamste hat sich die Kombination vom Streptomycin und Penicillin je 500 Gamma, resp. I. E. auf 1 ml der Verdünnungsflüssigkeit mit 0.2 % Konzentration des Alestens oder des Sulfadimidins gezeigt. Bei 2923 Kühen wurde nach der erstmaligen Besamung mit dem Sperma des irgendwelchen bestimmten Bullens, welches vorher mit der antibiotischen Verdünnungsflüssigkeit bearbeitet wurde, 54,8 % der Trächtigkeit erzielt, indem bei 4610 Kühen, die mit dem Sperma (der zweiten Hälfte desselben Ejakulaten) jedoch ohne den Antibiotiken besamt wurden, betrug die Trächtigkeit nur 48,5 %. Bei umrindenden Kühen war die Trächtigkeit nach der Besamung mit dem antibiotischen Sperma nur um 3,9 % höher. Das Versuch- und Kontrollsperma hatte bei einer Konservierung von 48 bis 60 Stunden um 0,2—3,7 % höhere Fruchtbarkeit als in dem ersten Tage der Konservierung (von 24 bis 48 Stunden). Eine Analyse der Fruchtbarkeit des Spermas mit den Antibiotiken und ohne diesen hat, gemessen an der Fruchtbarkeit der Bullen, die nach dem Sperma ohne Antibiotiken erzielt wurde, erwiesen, daß die Erhöhung der Fruchtbarkeit der Bullen, die Wirkung der Antibiotiken herabsetzt. Eine Zufügung von Antibiotiken zu einem Bullensperma mit einer Fruchtbarkeit bis 55 % erhöht dieselbe, aber im Gegenteile bei dem Bullen mit 60 % Fruchtbarkeit und höher, beursachen die Antibiotiken eine Herabsetzung der Fruchtbarkeit. Eine Kombination von Streptomycin + Penicillin + Alesten, resp. Sulfadimidin beseitigt wirksam oder wenigstens herabsetzt die mikrobiellen Ursachen der niedrigen Fruchtbarkeit der Bullen oder pflegt oft allein eine Ursache der Herabsetzung der Fruchtbarkeit sehr fruchtbaren Bullen (über 60 %) zu sein.

## Konservace spermatu býka hlubokým mražením

Консервирование спермы быка глубоким замораживанием

Conservation of Seminal Fluid of Bulls by Deep Freezing

Konservierung von Bullensperma mittels Tiefkühlung

Luboš HOLÝ

*Z porodnicko-gynekologické kliniky veterinární fakulty VŠZ v Brně, přednosta prof.*

*Dr E. Přibyl*

Došlo dne 27. 9. 1956

### Úvod

Studiem biologie semene bylo brzy zjištěno, že jedním z nejdůležitějších faktorů pro uchování jeho životnosti a schopnosti oplození je teplota, která může fertilitu ovlivnit příznivě nebo nepříznivě. Pozvolným snižováním teploty lze dosáhnout t. zv. chladové — umělé anabiosy spermií, která umožňuje přežití značnému počtu spermií po několik dní, zatím co semeno, ponechané v teplotě kolem  $37^{\circ}\text{C}$ , ztrácí schopnost oplození po několika hodinách.

Objevením umělé anabiosy není však problém dlouhodobého uchovávání spermatu zcela uzavřen. Poněvadž při použití běžně konzervovaného semene po 4 dnech klesá procento obřeznutí, snaží se mnozí badatelé prodloužit dobu konzervace přidáváním různých směsí pufrů, žloutku a glukosy. Tak docílil Dimitropoulos vysokého procenta obřeznutí se semenem, konzervovaným 6 dní.

Za předpokladu, že i při teplotě  $+5^{\circ}\text{C}$  dochází k metabolismu spermií a množení vniknuvších bakterií, které tvoří spermicidní látky, přidávají se ke zředovačům určité dávky sulfonamidů a antibiotik za účelem zničení veškeré mikrobiální flory, která vnikne do semene i za největší opatrnosti a čistoty při odběru a ředění. Semeno ošetřené tímto způsobem má ještě po 9–10 dnech 25 % progresivního pohybu (P ö l k i n g, E b b e s k o t t e a j.). I zde je nutno dbáti opatrnosti, poněvadž spermie jsou k vyšším koncentracím sulfonamidů a antibiotik dosti citlivé.

Biologie již dávno poznala, že některé druhy semen rostlin, drobných živočichů a bakterií ve vyschlém stavu snesou i teploty značně nízké, a že si uchovávají své funkce i tehdy, jsou-li rozmrazeny z teplot  $-190$  a  $-270^{\circ}\text{C}$  (S m i r n o v).

K šedesátinám prof. Dr E. Přibyla.

Možnost využití tohoto poznatku byla studována i v umělé inseminaci, poněvadž se dalo předpokládat, že se tím omezí veškerý projev života spermií a sperma se uchová po dlouhou dobu.

## Přehled literatury

Davenport (cit. podle Letarda a Szumovského) pozoroval již v roce 1897 oživení spermií po rozmražení z  $-17^{\circ}\text{C}$ .

Jahnel v r. 1938 a Shettles v r. 1940 (cit. podle Pareze a von Aha) poznali, že jistá část lidských spermií je schopna ve vlastní plasmě přežít zmražení v tuhé kyselině uhličitě, kapalném vzduchu a heliu.

Andrlík v roce 1949 zjistil, že semeno zředěné žloutkem a citrátem (náhodou ponechané v autě za třeskuté zimy po tři dny), zmrzlo a vykazovalo po pomalém rozmražení v teplotě laboratoře u jistého procenta spermií progresivní pohyb.

Luyet a spolupracovníci v roce 1940 (cit. podle Pareze, Smirnova a j.) na základě svých pokusů se zmrazováním živočišných a rostlinných buněk vyslovil domněnku a morfního ztuhnutí protoplasmu za nízkých teplot. Podle této hypotézy dochází velmi rychlým zchlazením k vytvoření jen drobných krystalků vody v protoplasmě, které ji svou velikostí nerozruší, zatím co při pomalém zchlazování dochází k vytvoření velkých krystalů, které protoplasmu poruší. Rychlým zchlazením se tedy přeskochí rychle zona krystalisace, takže k vytvoření velkých krystalů není dostatek času. Obdobný proces v opačném směru se odehrává i při rozmrazování, které probíhá rovněž rychle v lázni  $40^{\circ}\text{C}$  teplé. Zmrazovati se má objem co nejmenší, aby se zmrazovaný objekt rychle prochlادil. Nebezpečná teplotní zona, kdy jsou buňky poškozovány, je od  $-5$  až do  $-43^{\circ}\text{C}$ .

Na základě těchto pokusů obdržel Smirnov u králíků až 40 % reviviscence spermií a až 100 % plodnosti. Semeno konservoval 32 dní. Od 19 ovcí, osemeněných semenem, uchovaným při  $-79^{\circ}$  a v  $-190^{\circ}\text{C}$ , získal 11 jehňat. Blíže údaje o technickém provedení neuvádí.

Poněvadž voda a její krystalisace hraje v zmrazovacím procesu hlavní roli, snažili se někteří badatelé snížit množství vody v protoplasmě vkládáním buněk do hypertonických roztoků cukrů. Schaffner (cit. podle Smirnova) přidával k semeni ptáků a žab roztok levulosey.

Při zmrazovacím procesu nejen, že vznikají krystalky ledu, které mechanicky narušují protoplasmu, ale zároveň se zvyšuje koncentrace elektrolytů, která může být v teplotách pod nulou značná a Lovelock (cit. podle Letarda a Szumovského) myslí, že to nejsou mechanické vlivy, které spermie zabíjejí, ale vysoká koncentrace elektrolytů v plasmě.

Rostand v roce 1946 (cit. podle Letarda, Szumovského a Blackshawa) pozoroval, že vysoké procento spermií žab, zmražených na  $-4$  až  $-6^{\circ}\text{C}$  v 10 až 15% roztoku glycerolu může přežít 10 až 20 dní.

Poznatek, že glycerol zvyšuje procento oživení spermií po rozmražení spermatu, dal pokusům s hlubokým chlazením semene nový směr, v němž prvních úspěchů dosáhli Smith, Polge a Parkes v roce 1949, kteří používali 15–20 % koncentrace glycerolu v Ringerově roztoku a dosáhli u ptáčího semene vysokého procenta oživení (cit. podle Pareza, Letarda, Szumovského a Blackshawa). Později Smith a Polge přidávali glycerol ke spermiím býka a dosáhli rovněž značného procenta oživení.

Přídavek glycerolu k semeni, určenému k hlubokému chlazení, byl postupně co do koncentrace detailně propracován (Polge, Rowson, Miller, Vandemark, Emmens, Blackshaw, Stewart, de Groot, Senegačnik a j.). Mechanismus jeho účinku je však stále otázkou nedořešenou.

Rostand, Parkes (cit. podle von Aha), Senegačnik, Leidl a j. se domnívají, že glycerol, přidaný k semeni, působí dehydratačně.

Lovelock (cit. podle Blackshawa) předpokládá, že glycerol, proniknuvši do buněk, účinkuje jako nárazník proti vysoké koncentraci solí, která vzniká při  $-15$  až  $-40^{\circ}\text{C}$ .

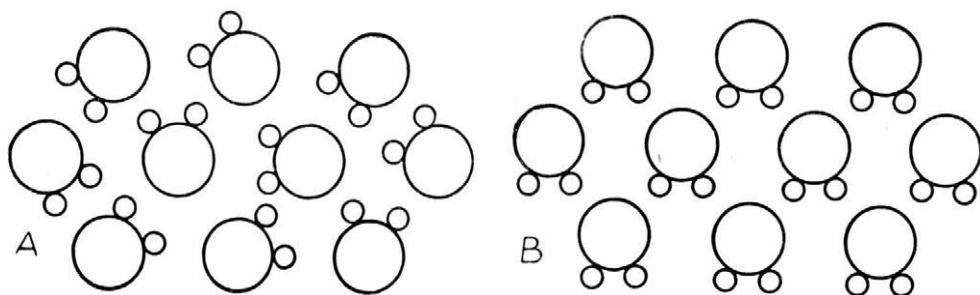
Smith a spolupracovníci se domnívají, že v glycerolovaném semeni se mění rychlost tvorby i typ krystalů (cit. podle Letarda a Szumovského).

Podrobnějším studiem mechanismu působení glycerolu při zchlazování semene se zabýval de Groot, který popisuje fyziologii účinku takto:

V protoplasmě rozeznáváme dva druhy vody. Jedna část — voda volná — je voda neuspořádaná, takže její molekuly jsou v plasmě nepravidelně uspořádané (viz obr. 1). Teprve při krystalisaci dochází k jejich uspořádání a soustředění okolo krystalizačního centra.

Druhá voda — voda polarisovaná — má molekuly v plasmě polárně uspořádané v jednom směru (viz obr. 1). Tato voda má již určitý typ, charakteristický pro krystalek ledu. Jestliže polarisovaná voda mrzne, zůstává její molekula in situ, takže nedochází ke změnám prostorovým.

Vnikne-li molekula glycerolu do buňky, je obdána molekulami volné vody, kterou usměrní na stranu vody polarisované. Tato theorie je budována na předpokladu, že glycerol vniká do buňky. Nebylo-li by tomu tak, došlo by v důsledku hypertonického prostředí k deformitám hlavičky spermie. Glycerolová molekula, kolem níž je plášť volné vody, je zmrazena bez prostorových změn a



Obr. 1. A. Představa molekul volné vody v protoplasmě. — B. Představa molekul vody polarisované v krystalku ledu a glycerolových obalech. — Podle de Groota nakreslil Dr E. Kudělka

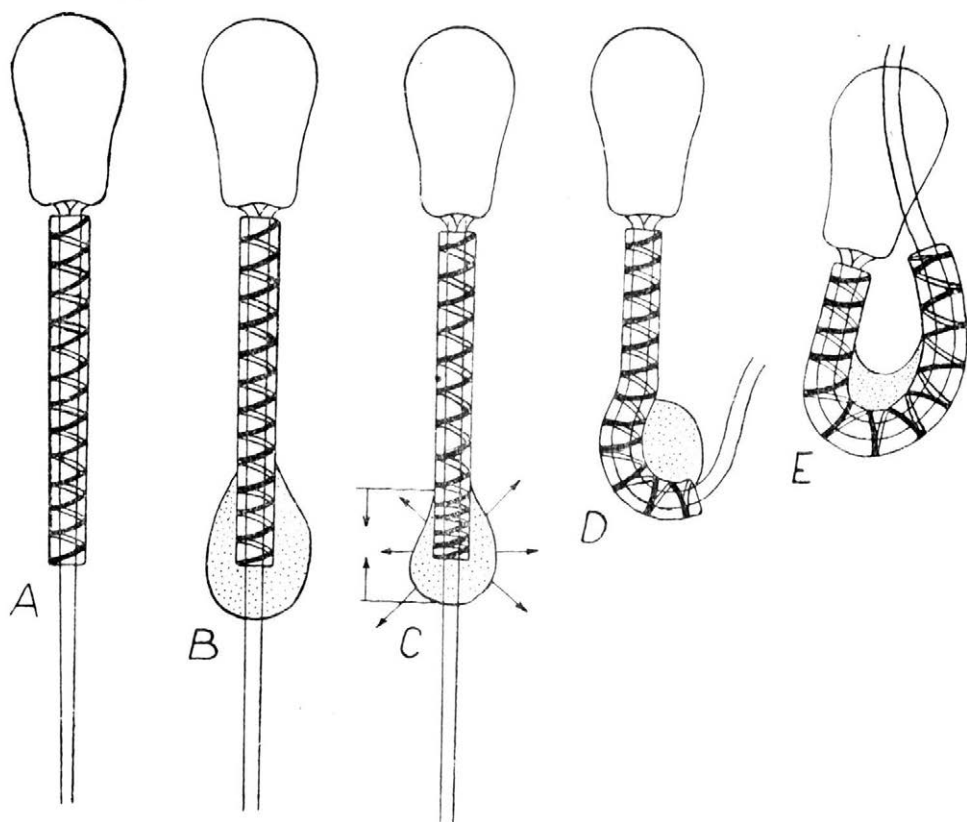
Рис. 1. А. Изображение молекул свободной воды в протоплазме. — В. Изображение молекул воды поляризованной в кристалле льда и глицероловых оболочках. По де Грооту зарисовал д-р Куделка

Illus. 1. A. Presentation of molecules of free water in protoplasm. — B. Presentation of molecules of polarized water in ice crystal and glycerolized wrapping. Sketched by Dr E. Kudělka according to De Groot

Abb. 1. A. Darstellung freier Wassermoleküle im Protoplasma. B. Darstellung der im Eiskristall und in Glycerolhüllen polarisierten Wassermoleküle. Nach de Groot, gezeichnet von Dr E. Kudělka

rozdělena v protoplasmě v malých množstvích na více místech. Podobnou možnost udává i Senegačnik.

Reviviscence spermií však velmi závisí na koncentraci glycerolu v semeni, ředěném žloutkem a citrátem. Z původních 15 % a vyšších koncentrací se dnes osvědčuje množství, nepřesahující 10 % (Polge, Rowson, Emmens, Blackshaw, de Groot, von Ah, Parež, Letard, Szumovski, Miller, Vandemark, Senegačnik, Wishart, Henderson, Macpherson, Jakobsen, Madden, Dunn, Hafs, Hendrikse, de Groot, Jansen, Bruce). Těmito autory je doporučován rozsah koncentrace glycerolu od 5 do 10 %.



Obr. 2. A. Normální spermie. — B. Spermie s protoplasmatickou kapkou. — C. Osmotické působení glycerolu. — D. Zvrácený ocásek spermie. — E. Dozadu se pohybující spermie. — Podle de Groota nakreslil Dr E. Kudělka

Fig. 2. A. Нормальный сперматозоид — B. Сперматозоид с каплей протоплазмы — C. Осмотическое действие глицерола — D. Обращенный в другую сторону хвостик сперматозоида — E. Сперматозоид движущийся назад. По де Грооту зарисовал д-р Кудёлка

Illus. 2. A. Ordinary sperm. — B. Sperm with protoplasm drop. — C. Osmotic effect of glycerol. — D. Curled tail of sperm. — E. Sperm moving backwards. Sketched by Dr. E. Kudělka according to De Groot

Abb. 2. A. Normale Spermien. — B. Spermien mit einem protoplasmatischen Tropfen. — C. Osmotische Wirkung des Glycerols. — D. Zurück gebogener Spermien Schwanz. — E. Rückwärts sich bewegende Spermien. Nach de Groot, gezeichnet von Dr. E. Kudělka



Přidávání glycerolového ředidla se musí dít velmi opatrně a za určitých teplot, aby se náhle neměnily osmotické poměry a nevznikl osmotický šok (viz obr. 2). Většinou je doporučováno přidávat toto ředidlo po kapkách a za mírného míchání při teplotách od  $+5$  až do  $+15^{\circ}\text{C}$ . Přidá-li se glycerolový pufr za teploty vyšší než  $+15^{\circ}\text{C}$ , klesá procento oživení spermií (Polge, Rowson, Blackshaw). Je třeba zdůraznit, že přidáme-li glycerol k semeni rychle, lze na některých spermích pozorovati změnu tvaru v tom směru, že se ocásky spermií ve středu prohnou nebo úplně zvrátí a spermie se pohybují buď dozadu nebo do kruhu (de Groot, Senegačnik). Tento jev lze pozorovati hlavně u těch spermií, na jejichž střední části je protoplasmatická kapka (de Groot — viz obr. 2).

Ze zprávy Jakobsena se však dovídáme, že nebylo zaznamenáno rozdílu v tom, zda je glycerolové ředidlo přidáváno při teplotě  $+4^{\circ}\text{C}$  rychle nebo pomalu, ale naopak autor dosáhl po inseminaci zmraženým semenem, k němuž byl přidán glycerolový pufr rychle, 66 % březosti a se semenem, k němuž byl přidán glycerolový zředovač pomalu, jen 61 % koncepce.

Vaječný žloutek, glycerol a některé cukry (glukosa, fruktosa, arabinosa) jsou velmi důležití činitelé, kteří se považují v mrazicím procesu za nezbytné pro dosažení vysokého procenta oživení a oplození.

Příznivý vliv žloutku při konservaci semene je znám již řadu let a je rovněž nezbytný při hlubokém chlazení. Kampschmidt, Mayer a Blackshaw prokázali, že lipoprotein a lecitin mají tentýž účinek. V posledních pokusech Blackshaw poukazuje na zřejmou převahu vaječného žloutku nad 4 % lipoproteinem, 1 % lecitem a mlékem, kterého se dnes v různých formách rovněž k hlubokému chlazení používá (Blackshaw, Szumovskí, Markovic, Cano, Graham a spolupracovníci).

Přidání vaječného žloutku, glycerolu a některých cukrů nestačí samo k dosažení vysokého procenta reviviscence. Otázka je komplikovanější ze strany přípravy semene před zmražením a velmi důležitá při snižování teploty a rozmražení.

## Postup při zmrazování semene

Po běžném makroskopickém, mikroskopickém vyšetření a odhadu semene se sperma ředí ředidlem, které obsahuje čerstvý vaječný žloutek a citrát sodný běžné koncentrace v poměru 1 : 1, 1 : 1,5, 1 : 4, 1 : 6,5. Směs žloutku a citrátu se k semeni přidá v poměru 1 : 5, 10, 15 a 20 i více (Polge, Parež, von Ah, Bruce a j.), takže konečné zředění je 1 : 10, 20, 30, 40 a více. Blackshaw používá k tomuto prvnímu ředění směsi 80 dílů 3% citrátu sodného a 20 dílů 0,1 M fosfátu sodného o  $\text{pH}$  7. K této směsi rovněž přidává stejný díl vaječného žloutku. Po tomto úkonu, který se provádí za teploty 25 až  $30^{\circ}\text{C}$ , se zředěné semeno nechává pomalu zchlazovat na  $+5^{\circ}\text{C}$ . V  $+5^{\circ}\text{C}$  se sperma udržuje po 5 až 6 hodin.

Současně vychladíme na stejnou teplotu ( $+5^{\circ}\text{C}$ ) směs glycerolového pufru, který se obvykle připravuje bez žloutku, a to buď:

A. 1. obvyklý roztok citrátu sodného, k němuž se přidá 20 % glycerolu (Polge, Parež, Letard, Szumovskí, Senegačnik, Madden, Bruce, Henderson, Macpharson).

2. Čtyři díly 3,92 % citrátu sodného a jeden díl glycerolu (Wishart).
3. Zředovač obsahující 15 % glycerolu a 2,5 % arabinosy v citrátovém prostředí obvyklé koncentrace (Blackshaw).
4. 84 dílů 3,6 % citrátu sodného a 16 dílů glycerolu (Jakobsen).

B. Se žloutkem:

- |                       |       |
|-----------------------|-------|
| 1. 3,5 % citrát sodný | 65 ml |
| vaječný žloutek       | 15 ml |
| glycerol              | 20 ml |

2. 14 % glycerolu, 20 % vaječného žloutku v 2,32 % prostředí citrátu sodného (Dunn, Hafs).

Tento druhý zředovač, který obsahuje glycerol, se přidává k dříve zředěnému a po 5–6 hodin vychlazenému semeni za stálého mírného míchání v časovém období do 20 minut. Parez prodloužil přidávání glycerolového pufru až na 20 minut a zkrátil tak období equilibrace na 2 až 3 hodiny. Při tomto úkonu je však dobré vystříhati se teplotních výkyvů, které mohou vésti k nezdaru. Glycerolový pufr přidáváme stejným dílem, takže konečná koncentrace glycerolu je v semeni poloviční. Po konečném zředění následuje znovu mikroskopické vyšetření na motilitu, semeno se rozdělí do ampulek, celofánových tub (Jakobsen) nebo do 2 ml zkumavek, uzavře se parafinovou zátkou a znovu vloží do  $+5^{\circ}\text{C}$  lázně na 12–18, 20 hodin i déle. Toto období je doba *equilibrace*, která je potřebná k vyrovnaní osmotických poměrů a vniknutí glycerolu do spermií.

Equilibrační období a jeho vliv na ožítí zmrazeného semene je studováno mnoha výzkumníky, a proto rovněž nacházíme různé hodnoty. Mnozí používají času 18 až 20 hodin (přes noc), jiní toto období zkracují — Parez na 2–3 hodiny. Blackshaw, Emmens, Martin získali stejné výsledky i bez *equilibrace*, použili-li glycerolu s arabinosou (konečná koncentrace glycerolu 7,5 % a arabinosy 1,25 %). Jiní považují za vhodnou *equilibrační* dobu 6 hodin (Dunn, Hafs).

Tímto způsobem ošetřené semeno je připraveno k hlubokému chlazení. Chlazení je nutno regulovat tak, aby teplota do  $-15^{\circ}\text{C}$  nepřekročila při klesání  $2^{\circ}\text{C/min}$ . Polge doporučuje zchlazování o  $0,5$  až  $2^{\circ}\text{C/min}$ . Senegačnik snižuje teplotu do  $-15^{\circ}\text{C}$  o  $0,5^{\circ}\text{C/min}$ , pak zchlazování urychlí. Stejně postupuje Bruce. Parez reguluje klesání teploty tak,

|                            |                          |                                     |
|----------------------------|--------------------------|-------------------------------------|
| že od $+5^{\circ}\text{C}$ | do $0^{\circ}\text{C}$   | klesá o $1^{\circ}\text{C/min}$ .   |
| od $0^{\circ}\text{C}$     | do $-10^{\circ}\text{C}$ | klesá o $0,5^{\circ}\text{C/min}$ . |
| od $-10^{\circ}\text{C}$   | do $-13^{\circ}\text{C}$ | klesá o $1^{\circ}\text{C/min}$ .   |
| od $-13^{\circ}\text{C}$   | do $-30^{\circ}\text{C}$ | klesá o $6^{\circ}\text{C/min}$ .   |
| od $-30^{\circ}\text{C}$   | do $-45^{\circ}\text{C}$ | klesá o $3^{\circ}\text{C/min}$ .   |

Po dosažení této teploty chladí rychle. Henderson a Macpherson snižují teplotu tak, aby s  $+5^{\circ}\text{C}$  na  $-10^{\circ}\text{C}$  poklesla za 30 minut, s  $-10^{\circ}\text{C}$  na  $-15^{\circ}\text{C}$  za 5 minut a s  $-15^{\circ}\text{C}$  na  $-79^{\circ}\text{C}$  za 25 minut. Jakobsen při pomalém chlazení popisuje pokles teploty o  $\frac{1}{2}$  až  $1^{\circ}\text{C/min}$  s  $+4^{\circ}\text{C}$  na  $-10^{\circ}\text{C}$ , o  $2^{\circ}\text{C/min}$  s  $-10$  na  $-15^{\circ}\text{C}$  a o  $5-6^{\circ}\text{C/min}$  až k dosažení  $-79^{\circ}\text{C}$ . Madden doporučuje pokles teploty do  $-10^{\circ}\text{C}$  o  $0,5^{\circ}\text{C/min}$  a od  $-10^{\circ}\text{C}$  o  $3^{\circ}\text{C/min}$  až k dosažení  $-79^{\circ}\text{C}$ . Doba zchlazování trvá tedy od  $+5^{\circ}\text{C}$  do  $-15^{\circ}\text{C}$  25 až 35 minut a celkové zchlazení 45 až 60 minut.

Zchlazení je možno provést dvojím způsobem: A. pomocí alkoholu (metylalkohol, absolutní alkohol) a suchého ledu (tuhý  $\text{CO}_2$ ) v thermo-láhvi postupným přidáváním suchého ledu, B. v nádobkách s automatickou regulací teploty.

V thermo-láhvi provedeme zchlazení tak, že tyto částečně naplníme alkoholem o stejné teplotě, jaká je v equilibrační lázni semene, t. j.  $+5^\circ \text{C}$ . Po ustálení  $+5^\circ \text{C}$  teploty vložíme zkumavky (ampulky) do alkoholu a přidáváme kousky suchého ledu  $\text{CO}_2$ . Přidávání kousků suchého ledu  $\text{CO}_2$  se řídí podle klesání teploměru. Tímto způsobem nedosáhneme pravidelnosti snižování teploty, poněvadž neodhadneme přesně množství ledu, potřebného k snížení teploty o určitý stupeň. Podle Hendrikseho, de Groota a Jansena je však lépe používat tohoto způsobu chlazení, neboť se tak dosáhne vyššího procenta oživení i oplození.

Pravidelného postupného zchlazení lze dosáhnouti, použije-li se nádoby s automatickou regulací teploty. Tato nádoba má v mezích různých koncentrovaných roztoků glycerolu 20 a 40 % (de Groot, Wishart), které mají různé body tuhnutí (viz obr. 3 a 4). Nastupující krystalizační teplota brzdí příliš rychlé ochlazování. Po vykrystalisování glycerolových roztoků klesá teplota rychleji, a to o 3 až  $5^\circ \text{C/min.}$

Nádoby jsou vyrobeny z polyvinylchloridů, pouze nejvnitřnější nádoba, v níž je alkohol se vzorky semene, je z aluminia. K použití se připraví tak, že se mezistěny naplní glycerolovými roztoky a aluminiová nádoba alkoholem. Takto připravená kombinovaná nádoba se postaví do  $+5^\circ \text{C}$  teploty k prochlazení. Po docílení  $+5^\circ \text{C}$  teploty se přesunou vzorky semene z equilibrační lázně do aluminiové nádoby. Vložením shora popsaného aparátu do melanže kousků suchého ledu ( $\text{CO}_2$ ) a alkoholu počíná zmrazování a teplota počíná klesat o 0,5 až  $2^\circ \text{C/min.}$ , podle toho, jak hluboko se zasune nádoba do mrazící směsi. Glycerolové roztoky začínají tuhnout v rozmezích od  $-5^\circ \text{C}$  do  $-15^\circ \text{C}$ , takže právě v těchto, pro semeno nebezpečných zónách, je pokles pomalý a do tohoto procesu není třeba zasahovat. Po dosažení  $-79^\circ \text{C}$  se ampulky přemístí do směsi suchého ledu  $\text{CO}_2$  a alkoholu k delšímu uchování. Délka uchování může býti značně dlouhá — měsíce i roky, ovšem je třeba neustále střežiti teplotu, aby nedocházelo k výkyvům přes  $-60^\circ \text{C}$ , poněvadž se takto snižuje procento oživení spermií a tím i jejich fertilita. Teplotu udržujeme občasným přidáním suchého ledu  $\text{CO}_2$ .

Ochlazování semene se tedy neprovádí rychle, ale naopak velmi pomalu. Provede-li se ochlazení rychle, je procento oživení spermií jen velmi nepatrné a tyto jsou bez progresivního pohybu. V poslední zprávě Jakobse na se však dovídáme, že autor nezjistil rozdílu v procentu oplození po inseminaci semenem zmrazeným rychle nebo pomalu.

Rozmrazování se provádí v lázni 35 až  $40^\circ \text{C}$  teplé po několik minut (6 až 10), tedy rychle. Rozmrazení v  $5^\circ \text{C}$  lázni se používalo hlavně proto, aby bylo lze tohoto spermatu upotřebit k další běžné konservaci nebo k inseminaci. V nedávných pokusech Blackshaw zjistil, že procento oživení je vyšší, roztává-li semeno při teplotě  $+40^\circ \text{C}$ .

Rozmražené semeno lze udržeti schopné oplození kratší dobu, než semeno konservované běžným způsobem. Podle Pareza a Wisharta lze znovu zchlazené semeno na  $+4^\circ \text{C}$  upotřebit do 24 hodin a von Ah udává, že je použitelné do 36 až 48 hodin po zmrazení.

Údaje o procentu oživení značně kolísají. Pravdou je, že část spermií při tomto procesu hyne (Emmens, Martin) a podle literárních zpráv lze

dosáhnout nejvýše 70 až 80 % oživení. P a r e z po rozmrazení obdržel ve svých pokusech 2 ejakuláty mrtvé, v 8 ejakulátech oživilo 40 % spermií, ve 14 ejakulátech 50 % spermií, ve 12 60 % a v 5 oživilo 70 % spermií. D u n n a H a f s uvádí, že v semeni rozmraženém ihned po zmrazení oživilo 43,5 % spermií a v spermatu, rozmraženém až po 6 měsících oživilo jen 37 % spermií. Rovněž H e n d r i k s e, de G r o o t, J a n s e n a M a d d e n udávají, že zmrzlé semeno, rozmražené po delší době, vykazuje nižší procento oživení i oplodnění. Procento oživení je značně závislé na správném postupu při zmrazování a je nutno připomenout, že k zmrazování je vhodné semeno jen asi 80 % býků (v o n A h) a že i ejakuláty jednotlivých býků vyžadují specifické podmínky, to znamená, že je třeba pro každého býka experimentálně vyhledat nejlepší koncentrace a optimální zchlazovací postup (W i s h a r t, P a r e z, S e n e g a č - n i k, M a d d e n, H e n d r i k s e, de G r o o t a J a n s e n). Je rovněž pozoruhodné, že semeno výborných kvalit může po rozmrazení vykazovat horší výsledky, než semeno průměrné nebo podprůměrné (P a r e z, S e n e g a č - n i k, W i s h a r t).

Procento oplodnění po inseminaci hluboce chlazeným semenem dosahuje značné výše. P o l g e udává 79 %, P a r e z 58,2 až 61 %, D u n n 77 %, S e n e g a č n i k 81 %. Inseminační stanice v H a m p s h i r e dosáhla po inseminaci zmraženým semenem u 12.000 krav koncepce v 60,6 %, což je podle jejích statistiky jen o tři až sedm % nižší, než při inseminaci semenem konzervovaným běžným způsobem. E m m e n s a M a r t i n uvádějí v předběžném sdělení výsledky inseminace zmraženým semenem u 1014 krav, které byly rozděleny do tří skupin. Skupinu A osemenili semenem, jež bylo konzervováno běžným způsobem po 48 hodin. Výsledek obřeznutí byl 73 %. Skupinu B osemenili spermatem, zředěným glycerolem a arabinosou, equilibrovaným a zmraženým s výsledkem obřeznutí 78 %. Ve skupině C použili semene rovněž zředěného glycerolem a arabinosou, které bylo zmrazeno bez equilibrace a výsledek obřeznutí 72 %. Ve Waterloo v Kanadě, kde se používá k inseminaci výhradně mraženého semene, bylo po první inseminaci dosaženo u 47.007 krav koncepce v 64,6 %. Ve druhé skupině 1974 krav obřezlo po první inseminaci 68,2 % (H e n d e r s o n, M a c p h e r s o n, S n y d e r). V M a d d e n o v ě pokusu na 30.785 kravách koncipovalo po první inseminaci 60 % krav.

V zemích, kde se prakticky používá k inseminaci hluboce chlazeného semene, se doprava takového spermatu na místo inseminace děje tak, že se buď sperma ve stanici rozmrazí a znovu zchladí na  $+4^{\circ}\text{C}$  až  $+5^{\circ}\text{C}$  a pak je s ním nakládáno obvyklým způsobem, nebo se přímo dopravuje v tuhém ledu  $\text{CO}_2$  a rozmrazuje se těsně před použitím.

V těch zemích (Anglie, Francie, Austrálie, USA), kde se zmrazovaného semene používá ve větším měřítku, sperma zchlazují a udržují při nízké teplotě pomocí složitých aparatur (W i s h a r t).

Hluboké chlazení semene nabývá v umělé inseminaci stále většího významu, poněvadž:

a) lze touto metodou konservovat semeno po značně dlouhou dobu dosud neurčenou (podle některých autorů 3 roky), ne však méně než jeden rok, aniž by zvlášť utrpěla schopnost oplodnění,

b) pomocí tohoto způsobu konzervace lze značně z hospodárnit provoz na stanici, zaručit pravidelný odběr a vyhnouti se přetěžování plemeníků,

c) je možno nashromáždit zásoby spermatu pro období, kdy je sezónní připouštění, nebo pro období, kdy je část plemeníků vyřazena z provozu pro

jakékoliv onemocnění, takže provádění plynulé inseminace nebude přímo závislé na stavu a počtu dárců semene,

d) ejakuláty mladých, dosud nevyzkoušených býků bude možno zmrazit, a teprve po vyzkoušení jejich dědičných vlastností dobré plemeníky zařadit do provozu a špatné vyřadit,

e) naskýtá se příležitost snadné internacionální a interkontinentální výměny semene pro osvěžení krve,

f) pro budoucnost jsou vyhlídky, že hluboce zchladené semeno na dlouho přežije dárce, což je u býků chovatelsky vysoce cenných velmi závažné.

## Vlastní pokusy

Abychom se seznámili s metodou hlubokého chlazení spermatu, provedli jsme na naší klinice několik orientačních pokusů.

K odběru semene bylo použito dvou klinických býků, od nichž bylo získáno celkem 8 ejakulátů. Bezprostředně po odběru bylo semeno makroskopicky i mikroskopicky vyšetřeno, určeno *pH* a ihned ředěno citrátem sodným 3,8 % s čerstvým vaječným žloutkem (1 : 1), buďto v poměru 1 : 1 nebo 1 : 4, 8, 10.

Po prvním zředění bylo semeno znovu mikroskopicky vyšetřeno, vloženo ve zkumavkách do 30° C lázně a s ní do chladničky k vychlazení. Po pozvolném zchlazení na +5 až +7° C (podle výkonu chladničky) bylo semeno ponecháno při této teplotě po několik hodin (3 až 5) a pak přidán stejně vychlazený glycerolový zředovač. Snažili jsme se při přidávání glycerolu zamezit kolísání teploty. Glycerolový pufr byl přidáván velmi pomalu (po 10 až 45 minut) ve stejném poměru s již dříve zředěným semenem a sice tohoto složení:

a) 20% glycerolový roztok v 3,8 % citrátu sodném.

b) roztok citrátu sodného 3,8 %, k němuž bylo přimícháno 15 % glycerolu a 2,5 % arabinosy.

Ve vzorku semene, k němuž se přidal zředovač *a*, byla tedy konečná koncentrace glycerolu 10 % a ve vzorku, k němuž se přidával zředovač *b*, bylo glycerolu 7,5 % a arabinosy 1,25 %.

Po přidání glycerolového pufru byly vzorky semen, obsahující zředovač *a* podrobeny equilibraci od 4 do 23 hodin a vzorky, které obsahovaly zředovač *b* byly buď zmrazeny ihned nebo rovněž vloženy do equilibrační lázně +5 až +7° C teplé. Po equilibračním období bylo semeno rozděleno do 1–2 ml zkumavek (pokud možno rovněž bez kolísání teploty), zkumavky uzavřeny parafinovanými zátkami a bylo započato se zchlazováním.

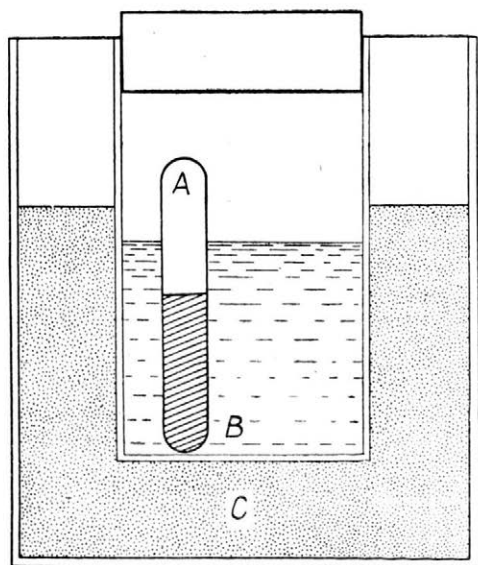
Zchlazování bylo prováděno v thermoláhvi zcela naplněné alkoholem, vychlazeným na stejnou teplotu, jako vzorky semene. Zkumavky se zředěným spermatem byly vloženy do alkoholu a podle klesání teploměru přidávány kousky suchého ledu  $\text{CO}_2$ .

Pokles teploty do –15° C probíhal průměrně o 0,6° C/min., takže k ochlazení na –15° C došlo v jednotlivých pokusech za 30 až 45 minut. Po přidání kousků suchého ledu  $\text{CO}_2$  neklesala teplota pravidelně. Pokles do –15° C nepřesahoval však 1,2° C/min.

Od –15° C byla teplota snižována 1–3° C/min. a celý zmrazovací proces v našich pokusech probíhal po 61 až 74 minut.



Použili jsme rovněž i nádoby s automatickou regulací teploty (viz obr. 4), v jejichž mezistěnách byl 20 a 40 % roztok glycerolu. Klesání teploty v nejvnitřnější aluminiové nádobě nepřekročilo do  $-22^{\circ}\text{C}$   $1,2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Od  $-22^{\circ}\text{C}$  klesala teplota cca o  $2,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . a od  $-45^{\circ}\text{C}$  o  $3-4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Upustili jsme však od tohoto způsobu chlazení pro větší spotřebu suchého ledu  $\text{CO}_2$ .

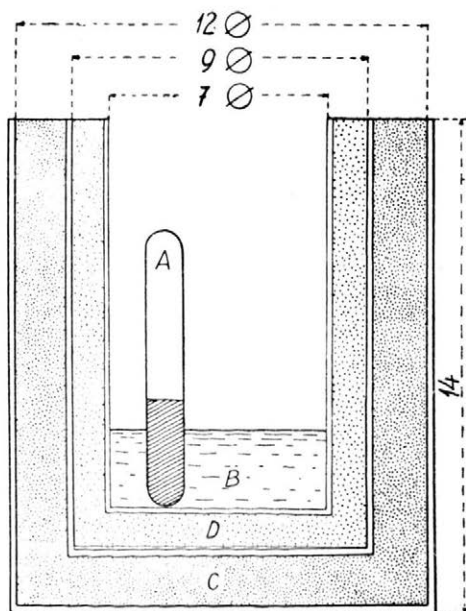


Obr. 3. Průřez nádoby s automatickou regulací teploty, jak ji používají v Anglii. — A. Ampulka se zředěným semenem. — B. Alkohol. — C. 20% roztok glycerolu. — Nakreslil Dr. E. Kudělka

Рис. 3. Профиль резервуара с автоматическим регулированием температуры, который применяется в Великобритании. — А. Ампула с разбавленной спермой. — В. спирт. — С. 20 % раствор глицерола. Рисунок д-ра Куделки

Illus. 3. Cross-section of vessel with automatic regulation of temperature as used in England. — A. Ampule with diluted semen. — B. Alcohol. — C. 20% solution of glycerol. Sketched by Dr. E. Kudělka

Abb. 3. Durchschnitt eines Gefäßes mit automatischer Temperaturregulierung, welches in England verwendet wird. — A. Ampulle mit verdünntem Samen. — B. Alkohol. — C. Eine 20% Glycerollösung. Gezeichnet von Dr. E. Kudělka



Obr. 4. Průřez kombinované nádoby s automatickou regulací teploty podle de Groota. — A. Ampulka se zředěným semenem. — B. Alkohol. — C. 40% roztok glycerolu. — D. 20% roztok glycerolu. — Nakreslil Dr. E. Kudělka

Рис. 4. Профиль комбинированного резервуара с автоматическим регулированием температуры по де Грооту. — А. Ампула с разбавленной спермой. — В. спирт. — С. 40 % раствор глицерола. — D. 20 % раствор глицерола. Рисунок д-ра Куделки

Illus. 4. Cross-section of combined vessel with automatic regulation of temperature according to De Groot. — A. Ampule with diluted semen. — B. Alcohol. — C. 40% solution of glycerol. — D. 20% solution of glycerol. — Sketched by Dr. E. Kudělka

Abb. 4. Durchschnitt eines kombinierten Gefäßes mit automatischer Temperaturregulierung, nach de Groot. — A. Ampulle mit verdünntem Samen. — B. Alkohol. — C. Eine 40% Glycerollösung. — D. Eine 20% Glycerollösung. — Gezeichnet von Dr. E. Kudělka

Vzorky semen byly rozmrazovány v 40° C teplé vodě za 15 minut až 15 hodin po skončení zmrazovacího procesu.

Výsledky našich orientačních pokusů jsou uvedeny v tabulce.

V pokusu č. 1 a č. 4 b a d oživilo jen málo nebo žádné spermie. Příčinu tohoto nezdaru si vysvětlujeme tím, že při druhém ředění, equilibrační periodě a rozdělení semene do malých zkumavek docházelo ke značnějšímu kolísání teploty ve spermatu. V pokuse 4b, d bylo semeno ponecháno v mrazicí lázni

Tab. 1. Přehled výsledků zmrazování semene býka Juna a Broka

Табл. 1. Обзор результатов замораживания спермы быков Юна и Брока

Table 1. Summary of results of freezing seminal fluid of bulls Una and Broka

Tab. 1. Übersicht der Ergebnisse bei der Samengefrierung der Bullen Jun und Brok

| Pokus číslo | Býk  | pH spermatu | Hustota spermatu | Konečný stupeň zředění | Obsah glycerolu v ‰   | Doba equilibrace v hod. | Doba zmražení při -79°C | % oživení |
|-------------|------|-------------|------------------|------------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|-----------|
| a           | Juno | 6,4         | D                | 1:4                    | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 0                       | 60 min.                 | 4         |
| 1. b        | Brok | 6,9         | SD               | 1:4                    | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 0                       | 90 min.                 | 5         |
| c           | Brok | 6,9         | SD               | 1:4                    | 10                    | 15                      | 90 min.                 | 5         |
| a           | Juno | 6,6         | D                | 1:4                    | 10                    | 5                       | 30 min.                 | 30        |
| b           | Juno | 6,6         | D                | 1:4                    | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 0                       | 60 min.                 | 40        |
| 2. c        | Brok | 6,7         | SD               | 1:4                    | 10                    | 5                       | 45 min.                 | 55        |
| d           | Brok | 6,7         | SD               | 1:4                    | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 0                       | 30 min.                 | 40        |
| e           | Brok | 6,7         | SD               | 1:4                    | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 18                      | 60 min.                 | 50        |
| a           | Juno | 6,4         | D                | 1:16                   | 10                    | 0                       | 30 min.                 | 3         |
| b           | Juno | 6,4         | D                | 1:16                   | 10                    | 6                       | 40 min.                 | 20        |
| c           | Juno | 6,4         | D                | 1:16                   | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 0                       | 45 min.                 | 4         |
| 3. d        | Juno | 6,4         | D                | 1:16                   | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 6                       | 45 min.                 | 25        |
| e           | Brok | 6,6         | SD               | 1:8                    | 10                    | 3                       | 15 min.                 | 30        |
| f           | Brok | 6,6         | SD               | 1:8                    | 10                    | 23                      | 50 min.                 | 50        |
| g           | Brok | 6,6         | SD               | 1:8                    | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 0                       | 30 min.                 | 30        |
| a           | Juno | 6,5         | D                | 1:20                   | 10                    | 4                       | 35 min.                 | 10        |
| b           | Juno | 6,5         | D                | 1:20                   | 10                    | 14                      | 15 hod.                 | 0         |
| c           | Juno | 6,5         | D                | 1:20                   | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 0                       | 35 min.                 | 10        |
| 4. d        | Juno | 6,5         | D                | 1:20                   | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 14                      | 15 hod.                 | 0         |
| e           | Brok | 6,8         | SD               | 1:20                   | 10                    | 4                       | 45 min.                 | 40        |
| f           | Brok | 6,8         | SD               | 1:20                   | 10                    | 4                       | 15 min.                 | 40        |
| g           | Brok | 6,8         | SD               | 1:20                   | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 0                       | 50 min.                 | 30        |
| h           | Brok | 6,8         | SD               | 1:20                   | 7,5 a 1,25‰ arabinosy | 0                       | 55 min.                 | 30        |

přes noc. V důsledku vypaření se tuhého ledu  $\text{CO}_2$  došlo v thermoláhvi k zvýšení teploty na  $-50^\circ \text{C}$ , a to je rovněž příčina usmrcení všech spermií.

Mohli jsme konstatovat rozdíly v procentu oživení u semen dvou použitých býků. Ačkoliv semeno býka Juna bylo výborné kvality (přes 1.000.000 spermií v *ccm*), vykazovalo po rozmrazení menší část oživnuvších spermií, než stejným způsobem ošetřené semeno býka Broka, které bylo horší kvality (v *ccm* 750.0000 spermií). Toto semeno mělo po rozmrazení značně vyšší procento reviviscence.

Viděli jsme dále, že semeno, k němuž byl přidán glycerol s arabinosou a jež bylo ihned zmrazeno, vykazovalo průměrně nižší procento oživnuvších spermií, než stejně zpracované semeno, jemuž byla ponechána možnost equilibraace 6—18 hodin.

V rozmraženém spermatu jsme zjistili, že při mikroskopické prohlídce nna-cházíme velmi málo spermií s oscilačním pohybem. Vidíme tedy v preparátu většinou jen dvojí druh spermií: spermie bez pohybu nebo spermie s čilým progresivním pohybem.

Velkou důležitost má udržování stejné teploty při druhém ředění a rooz-dílení semene do malých zkumavek. Vystoupila-li teplota při tomto procesu přřes  $+8^\circ \text{C}$ , bylo procento oživení po rozmrazení horší, než u takového spermatu, s nímž bylo pracováno opatrněji.

Naše pokusy byly konány jen v malém měřítku hlavně pro seznámení s se technikou hlubokého chlazení a byly poněkud omezeny nedostatkem suchého ledu  $\text{CO}_2$ .

## Rozbor výsledků

Provedli jsme několik orientačních pokusů s hlubokým chlazením semene pomocí alkoholu a suchého ledu  $\text{CO}_2$ . Zpracování semene před zmrazením a snížování teplot jsme prováděli podle údajů v literatuře uvedených.

Podle našich výsledků s ejakuláty dvou býků můžeme podpořit tvrzení P a r e z o v o, S e n e g a č n i k o v o, W i s h a r t o v o a d e G r o o t o v o, že ejakulát každého býka, i když je zpracován stejným způsobem, nevykazuje i po rozmrazení stejné procento oživení.

Zjistili jsme rovněž, že ve všech našich pokusech husté semeno býka Junna, vykazovalo nižší procento oživení, než semeno středně husté, pocházející od býka Broka. Toto pozorování je shodné s údaji P a r e z o v ý m i a W i s h a a r t o v ý m i.

Semeno, zředěné zředovačem podle B l a c k s h a w a (konečná koncentrace glycerolu 7,5 % a arabinosy 1,25 %) a zmrazené bez equilibrační doby, oživilo po rozmrazení v nižším procentu, než stejně zředěné semeno, jemuž byla počkvnuta equilibrační doba. Po použití glycerolu v koncentraci 10 % a equilibrační době 5 hodin, dosáhli jsme v našich pokusech nejvyššího procenta oživení, t. j. 55 %.

Značné snížení procenta reviviscence jsme viděli u semene, při jehož drtutřím ředění, equilibrační periodě nebo v mrazicí lázni došlo ke značnějšímu kolísání teploty (pokus č. 1 a č. 4 b a d).

V kontrolách vzorků glycerinovaného semene, které bylo uchováváno p při teplotě  $+5$  až  $+7^\circ \text{C}$  po 48 hodin, jsme neviděli značnějšího úbytku pohyblivosti spermií.

## Závěr

V práci je podán přehled dosažitelné literatury o historii hlubokého chlazení, účinku glycerolu, technice zchlazování i výsledcích in vitro i in vivo.

Je uveden postup a výsledky zchlazování 23 vzorků semen dvou klinických býků.

Semen o býka Juna, ačkoliv lepší kvality a zpracováno stejným způsobem jako semen o býka Broka, vykazovalo po zmrazení menší procento oživení ve všech pokusech.

Semen o, zchlazované bez equilibrace, vykazovalo menší procento oživení, než semen o, které bylo ponecháno v  $+5$  až  $+7^{\circ}\text{C}$  lázni po 4 až 23 hodin.

V mikroskopickém preparátu, zhotoveném po rozmrazení, byly nalézány jen dva druhy spermií: spermie čile a progresivně se pohybující a spermie bez pohybu. Oscilační pohyb buď úplně chyběl, nebo byl u nepatrného počtu spermií.

Větší kolísání teploty při druhém ředění a rozdělení semene do zkumavek (přes  $+8^{\circ}\text{C}$ ) nebo v zmrazovací směsi ovlivňuje nepříznivě procento oživení.

## Literatura

1. Ah von J.: Das Tiefgefrieren von Sperma, eine neue Methode zur Samenkonservierung für die künstliche Besamung. Schweizer Archiv für Tierheilkunde, No 8. 1955. — 2. Andrlík J.: Ústní sdělení. — 3. Blackshaw A. W.: The effect of equilibration and the addition of various sugars on the revival of spermatozoa from  $-79^{\circ}\text{C}$ . The Australian Veterinary Journal, No. 5. 1955. — 4. Blackshaw A. W., Beattie H. E.: The preservation of Trichomonas Foetus at  $-79^{\circ}\text{C}$ . The Australian Veterinary Journal, No 8. 1955. — 5. Blackshaw A. W.: Factors affecting the revival of bull and ram spermatozoa after freezing to  $-79^{\circ}\text{C}$ . The Australian Veterinary Journal, No 9. 1955. — 6. Dimitropoulos E.: Valeur comparative de quelques dilueurs du sperme du taureau en vue de prolonger sa conservation et d'améliorer son pouvoir fécondant. Annales de Med. Vet., No 5. 1954. — 7. Dunn H. O., Hafs C.: A study of variation in the numbers of live sperm surviving freezing and six months storage at  $-79^{\circ}\text{C}$ . III. International Congress on Animal Reproduction, Cambridge, 1956. — 8. Ebbeskotte W.: Terramycin, Aureomycin, Polymyxin, Streptomycin, Solu-Supronal und verschiedene Penicilline als keimhemmende Zusätze, zur Eidotter-, Spermasol-, Verdünnungsflüssigkeit für Bullensperma. Disertační práce, Hannover 1955. — 9. Emmens C. W., Blackshaw A. W.: The fertility of frozen ram and bull semen. The Australian Veterinary Journal, No 3. 1955. — 10. Emmens C. W., Martin I.: The controlled introduction of deep-freeze techniques into artificial insemination. III. International Congress on Animal Reproduction, Cambridge 1956. — 11. Groot de B.: Die Physiologie des Tiefgefrierens bei Bullensamen. Fortpflanzung, Zuchtthygiene und Haustierbesamung No 2. 1956. — 12. Henderson J. A., Macpherson J. W., Snyder R. G.: The use of frozen semen in routine insemination of Cattle. III. International Congress on Animal Reproduction, Cambridge 1956. — 13. Hendrikse J., Groot de B., Jansen P.: A theory, the practical use and estimation of deep frozen semen. III. International Congress on Animal Reproduction, Cambridge 1956. — 14. Holt A. F.: The effect of glycerolisation of bull semen on fertility. Ref. z Berliner und Münchener Tierärztlicher Wochenschrift. No 4. 1954.

— 15. Jakobsen K. F.: Some deep-freezing methods of bull semen and their influence on fertility results. III. International Congress on Animal Reproduction, Cambridge 1956. — 16. Künstler W.: Über die Abhängigkeit des Besamungserfolges vom Alter des Samens, vom Zeitpunkt den Brunstsymptomen und vom Alter der besamten Tiere. Disertační práce, Giessen 1954. — 17. Langer J.: Porodnictví a umělá inseminace hospodářských zvířat. Učební texty, Praha 1956. — 18. Leidl W.: Experiments in freeze-drying of bull semen. III. International Congress on Animal Reproduction, Cambridge 1956. — 19. Letard E., Szumowski P.: Conservation du sperme aux basses températures. Recueil de Med. Vet., No 9. 1954. — 20. Madden D. H.: An analysis of results obtained with frozen (bovine) semen. III. International Congress on Animal Reproduction, Cambridge 1956. — 21. Miller W. J., Vandemark N. L.: The influence of glycerol level, variations temperature aspect and certain other factors on the survival of bull spermatozoa at sub zero temperatures. Journal Dairy Sc., No 1. 1954. — 22. Nagle J. R., Thornton J. M.: Some recent developments in artificial insemination. (Preservation of semen at low temperatures.) Irish Veterinary Journal, No 6, 1952. — 23. Polge C., Rowson L.: Longterm storage of bull semen frozen at very low temperatures ( $-79^{\circ}\text{C}$ ). Referát z II. Internat. Congr. of Physiol. and Pathol. of Anim. Reprod., Copenhagen 1952. — 24. Perez M.: Contribution à l'étude de l'insemination artificielle (Conservation de la semence à très basses températures). Disertační práce, Alfort 1953. — 25. Polge C.: The storage of bull semen at low temperatures. The Veter. Record, No 35. 1953. — 26. Pölking F.: Die Lebenderhaltung des Bullenspermas in Reagenzglas bei Zusätzen von Streptomycin, Aquacillin, Polymyxin, und Solu-Supronal zur Eidotter-Verdünnungsflüssigkeit. Disertační práce, Hannover 1955. — 27. Příbyl E.: Umělá inseminace hospodářských zvířat. Učební texty, Praha 1952. — 28. Příbyl E.: Referát z III. mezinárodního sjezdu o rozmnožování zvířat v Cambridge. Veterinářství 1956. — 29. Rowson L.: Storage of bull semen at  $-79^{\circ}\text{C}$  and fertility results for to 12 months. Referát z Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift, No 4. 1954. — 30. Rowson L.: The storage of bull semen at low temperature. The Veter. Record, No 35. 1953. — 31. Senegačnik J.: O dubokom smrzanju sperme. Veterinarski arhiv, No 9-10. 1955. — 32. Smith A., Polge C.: Storage of bull semen at low temperatures. Referát z Wiener Tierärztliche Monatsschrift, No 5. 1951. — 33. Smirnov I. V.: Glubokoje ochlaždenije semeni sel'skochozjajstvennyh životnyh. Žurnal obščej biologii, No 3. 1950. — 34. Stevart D. L.: Storage of bull sperma at low temperatures. The Veter. Record, No 4. 1951. — 35. Stower S.: The storage of bull semen at low temperature. The Veter. Record, No 35, 1953. — 36. Szumowski P., Markovic B., Cano A.: Le lait écrémé en poudre pour la dilution et la congélation du sperme de Béliér. Recueil de Med. Vet., No 2. 1956. — 37. White I. G., Blackshaw A. W., Emmens C. W.: Metabolic and motility studies relating to the low temperature storage of ram and bull spermatozoa. The Australian Veterinary Journal, No 4. 1954. — 38. Wishart P. S.: Recent advances in artificial insemination. The Australian Veterinary Journal, No 2. 1956. — 39. Yoynier L. P.: The elimination of Trichomonas foetus from infected samens by storage in the presence of glycerol. Veterinary Record, 66, 47, 727-730.

### Консервирование спермы быка глубоким замораживанием

В работе автор дает обзор доступной литературы по истории глубокого охлаждения, действия глицерола, техники охлаждения и о результатах *in vitro* и *in vivo*.

В работе описан процесс и результаты охлаждения 23-х образцов спермы двух быков, находившихся под клиническим наблюдением.



Сперма быка Юна хотя и была лучшего качества и была обработана одинаковым способом как и сперма быка Брока, но при всех экспериментах после замораживания дала более низкий процент оживления.

Сперма, охлаждаемая без эквilibрации, обнаружила более низкий процент оживления, нежели сперма, которая была оставлена в ванне от  $+5$  до  $+7^{\circ}\text{C}$  в течение 4—23 часов.

В микроскопическом препарате, приготовленном после размораживания, были обнаружены только два вида сперматозоидов: сперматозоиды прогрессивное подвижное и сперматозоиды неподвижные. Осцилляционные движения или совершенно отсутствовали или же наблюдались у незначительного количества сперматозоидов.

Более значительное колебание температуры при втором разбавлении и распределении спермы в пробирке (при более чем  $+8^{\circ}\text{C}$ ) или в замораживаемой смеси оказывает неблагоприятное влияние на процент оживления.

### **Conservation of Seminal Fluid of Bulls by Deep Freezing**

The study gives a survey of the available literature on the history of deep freezing, the effect of glycerol, the technique of freezing and the results in vitro and in vivo.

The procedure and results of freezing 23 specimens of semen of two clinical bulls are given.

The semen of the bull Yun, although of better quality and processed by the same method as the semen of the Bull Brok, showed less vitality after freezing in all the experiments.

Semen that was frozen without equilibration had a lower percentage of vitality than did semen that was allowed to rest in a  $+5$  to  $+7^{\circ}\text{C}$  bath for 4 to 23 hours.

Only two kinds of sperm were found in the microscope preparation made after freezing: active sperm becoming progressively mobile and sperm having no motion. Either the oscillation movement was completely lacking or was present in a negligible number of sperm.

Any great fluctuation of temperature in the second dilution and division of the semen into the test tubes (over  $+8^{\circ}\text{C}$ ) or in the freezing mixture has an unfavourable effect on the percentage of vitality.

### **Konservierung von Bullensperma mittels Tiefkühlung**

In der Arbeit ist eine Übersicht der erreichbaren Literatur über die Geschichte der Tiefkühlung, über den Einfluß von Glycerol, die Kühltechnik und über die Ergebnisse in vitro und in vivo wiedergegeben.

Es wird der Vorgang und die Ergebnisse der Kühlung von 23 Samenproben zweier Bullen angeführt.

Der Samen des Bullen Jun, obzwar besserer Qualität und derselben Behandlung unterworfen, wie der Samen des Bullen Brok, wies nach Gefrierung in allen Versuchen eine kleinere Prozentzahl der Belebung auf.

Der ohne Equilibrierung gekühlte Samen wies eine kleinere Prozentzahl der Belebung auf, als der in einem  $+5$  bis  $+7^{\circ}\text{C}$  warmen Bad 4 bis 23 Stunden hindurch belassener Samen.

In einem nach dem Auftauen gefertigten mikroskopischen Präparat wurden nur zwei Spermienarten vorgefunden: regsame und sich progressiv bewegende Spermien und Spermien ohne Bewegung. Die Oszillationsbewegung fehlte entweder überhaupt, oder wurde nur bei einer geringen Spermienanzahl vorgefunden.

Größere Temperaturschwankungen bei der zweiten Verdünnung und beim Verteilen des Samens in Probiergläser (über  $+8^{\circ}\text{C}$ ), oder in der Kühlmischung, beeinflussten ungünstig das Belebungsprozent

## Průkaz protilátek při virové enzootické bronchopneumonii (chřipce) prasat hemaglutinačně inhibiční reakcí

Доказательство образования антител при вирусной энзоотической бронхопневмонии (гриппе) свиней гемагглютинационно-ингибиционной реакцией

Demonstrating Antibodies in Virus Enzootic Bronchial Pneumonia of Pigs with Haemo-agglutination - Inhibition Reaction

Beweis der Antikörper bei virusartiger enzootischer Bronchopneumonie der Schweine (Schweinegrippe) mittels Haemagglutinations-Inhibitionsreaktion

MVDr Otakar CHVÁTAL

Z ústavu mikrobiologie a imunologie Veterinární fakulty VŠZ v Brně, přednosta  
prof. Dr R. Harnach

Došlo dne 20. 9. 1956

### Úvod

Podobně jako humánní medicína zahrnovala a ještě zahrnuje pod pojem chřipky řadu klinicky si podobných chorob, označuje i veterinární medicína pod pojmem „chřipky“ čili enzootické bronchopneumonie prasat více onemocnění, postihujících celý sice organism, avšak hlavně dychadla; je proto velmi žádoucí přesnější rozlišení vlastní virové enzootické bronchopneumonie (EBr) od ostatních onemocnění plic, čili nespecifických „chřípek“.

Dříve byla přisuzována hlavně skupině hemofilních bakterií s výrazným pneumotropním charakterem a pasteurelám převážná role v patogenesi této choroby. Vedle čistých afekcí virových hrají skutečně význačnou úlohu také bakteriální superinfekce, zvláště ve vleklých stádiích infekce, kdy oslabený organismus hyne zpravidla na druhotnou infekci bakteriální, když virus obvykle již opustil organismus (Pokorný, Křivinka, Hubík, Andrejev).

Shope v roce 1931 prokázal, že původcem „chřipky“ vepřů je pneumotropní virus. Akutní chřipka, jež se objevovala za podzimních epizootií od roku 1918, byla tím identifikována jako virová. Brzy nato se podařilo Angličanům Smithovi, Andrewsovi a Laidlawovi izolovat na fretkách také virus lidské chřipky.

Většina kmenů viru lidské chřipky patří původně do skupiny viru influenzy A; od r. 1942 se tento vyskytuje vzácněji a převahu mají u nás kmeny viru influenzy B a C. S výjimkou antigenní skladby, v níž jsou tyto tři typy úplně odlišné, není v jejich patogenitě podstatného rozdílu.

V r. 1951 isolovali v Anglii Gulrajani, Beveridge a Betts (9), virus chronické pneumonie selat, který neaglutinuje červené krvinky, nemnoží se v kuřecím embryu a je přenosný jen na prase; tento virus pneumonie vyvolává vleklé onemocnění za úbytku na váze, jež probíhá inaparentně. Tuto virovou pneumonii chronické povahy nepokládají autoři za totožnou s chřipkou prasat.

Kmeny shodné s 4 chřipkovými kmeny izolovanými kolektivem brněnským (Harnach, Hubík, Chvátal, 12, 12a) byly izolovány košickými spolupracovníky (Sokol, Vasil a spol.).

V r. 1954 a 1955 isofoval Čupík (5) a Pokorný 2 virové (VK a L-III) kmeny pneumonie prasat jako nový etiologický činitel při inf. onemocněních dychadel, kultivačně a serologicky odlišné od chřipky prasat; označují je za virus pneumonie prasat. Vyvolává pomalu tvorbu protilátek a jeví se dlouho v nízkém titru; samy kmeny mají slabou patogenitu a jsou snadno neutralisovány specifickým antiserem.

Dále zjistili u nás Boháč a Láznicka při EBr také Borrelomycety, které pokládají za etiologický faktor při infekčním zánětu seros a onemocnění podobného chřipce prasat. Také Menšík a Černý isofovali kmeny viru chřipkového s hemaglutinačními vlastnostmi.

Tato složitost etiologických činitelů jest jistě méně příznivou pro vlastní výzkum serologický, neboť nutí předpokládat, že není jednoty ani ve kvalitě specifických protilátek.

Náš výzkum se zaměřil tudíž na průkaz protilátek inhibujících hemaglutinaci za přítomnosti 4 chřipkových antigenů domácích a 1 antigenu Shopeova.

## Vlastní výzkum

Náš serologický výzkum, uložený mně prof. dr. R. Harnachem jako součást ústavního výzkumu o chřipce u prasat, sledoval průkaz inhibičních protilátek protichřipkových za použití reakce inhibice hemaglutinace. Jako antigeny sloužilo celkem 5 kmenů, z nich 4 domácí a 1 Shopeův. Sám výzkum je analogický tomu, který v r. 1953 provedl a uveřejnil D. Slonim a K. Doubek (23) při výzkumu chřipky dětí, a D. Blaškovič, který referoval na I. virologické konferenci ve Smolenicích (1955) o stavu protilátek v lidské populaci od r. 1918 s ohledem na typ A a od r. 1942 na prevládající typy B a C.

Nešlo tudíž o určení dynamiky protilátek, ale o aktuální stav protilátek, který lze zjistit u porážených zvířat, a to jednak klinicky zdravých (orientačně), jednak u prasat s příznaky onemocnění dýchacího ústrojí.

**Materiál.** Reakce s inhibicí hemaglutinace (HIT) byly provedeny napřed s 860 sery zdravých prasat Masného průmyslu v Brně, zpravidla 120–200 kg ž. v. Dalšíh 96 zkoušek bylo provedeno se sery 88 prasat stížených onemocněním dýchacích cest a se sery 1 prasete po umělé infekci chřipkovým virem č. 42 (celkem 8 zkoušek v průběhu infekce). Většina zkoušek byla provedena v období od února do května 1950.

## Metodika práce

Krev byla získávána z prasat při vykrvení na jatkách. Z této bylo odstředěním (5 min. při 1200 obrátkách) isofováno serum, které jsme uchovávali při  $-5$  až  $-10^{\circ}\text{C}$ . Serum pak bylo po 30 min. inaktivováno při  $56^{\circ}\text{C}$ . K reakci bylo ředěno v poměru 1 : 16 až 1 : 1024, u některých až 1 : 8192.

K vlastní zkoušce bylo užíváno dávky 0,5 ml zkoušeného sera, zředěného v poměru 1 : 4 do zkumavky č. 1 a po promíchání s 0,5 ml ze směsi s krvinkami přeneseno 0,5 ml do zkumavky č. 2 a tak postupně až do zkumavky č. 7. Tím bylo získáno ředění od 1 : 16 do 1 : 1024. Do každé směsi se nakape 0,5 ml virové suspence, protřepe a ponechá při teplotě laboratoře, načež se za 90 min. odčítají výsledky.

**Chřipkový virus.** Jako antigenu k HIT jsme užívali celkem 5 virových kmenů EBr, a to 4 domácí kmeny č. 42, č. 47, č. 54 a č. 55 a 1 kmen Shopeův (označený S) z americké akutní influenzy prasat. Viry jsme užívali v aktivní alantoidní tekutině pro každou reakci v čerstvém zředění a po novém vytitrování, vždy se 4 hemaglutinačními jednotkami. Alantoidní tekutina s virem jest postupně ředěna od 1 : 16 do 1 : 8192. K tomuto stoupajícímu ředění se přidává 0,5 ml červených slepičíchrvinek v 0,5 % suspensi a po 15 min. se posoudí reakce.

Krvinky jsou k reakci vesměs slepičí v 0,5 % suspensi.

**Fysiologický roztok** jest ustavován nárazníkovým fosfátovým roztokem na  $\text{pH} = 7,1-7,2$ .

Všechna ředění ser se po smíšení ponechávají při teplotě laboratoře 90 min., načež se posuzují reakce.

Při každé reakci jsme prováděli kontrolu antigenu (antigen + krvinky), kontrolurvinek (krvinky + fysiол. roztok) a kontrolu sera (serum + krvinky k průkazu, zda samo neaglutinuje krvinky).

## Vlastní zkoušky

Výzkum s HIT na enzootickou bronchopneumonii (chřipku) prasat jsme rozdělili na 2 části a připojili výzkum o stoupajících protilátkách u prasete, uměle infikovaného chřipkovým kmenem č. 42. První část zahrnuje HIT s 860 vzorky ser z prasat klinicky zdravých. Druhá část sledovala stav inhibičních protilátek proti chřipce prasat u prasat klinicky stížených anebo podezřelých z onemocnění EBr.

Pokusy se sery zdravých prasat měly prokázat obsah inhibičních protilátek, k jichž tvorbě může dojít po styku prasete s chřipkovým virem, který může vyvolat i jen latentní onemocnění inaparentní; předpokládá se reakce ve vytvoření inhibičních protilátek obdobně, jako je prokazovali Slonim a Doubek.

Výzkum se sery prasat nemocných nebo podezřelých z EBr sledoval hlavně počet ser s obsahem inhibičních protilátek a jich títů. Dále bylo naším úkolem zjistit způsoblost antigenů k průkazu protilátek a konečně ukázat, zda a v jakém měřítku se tak uplatní i kmen Shopeův.

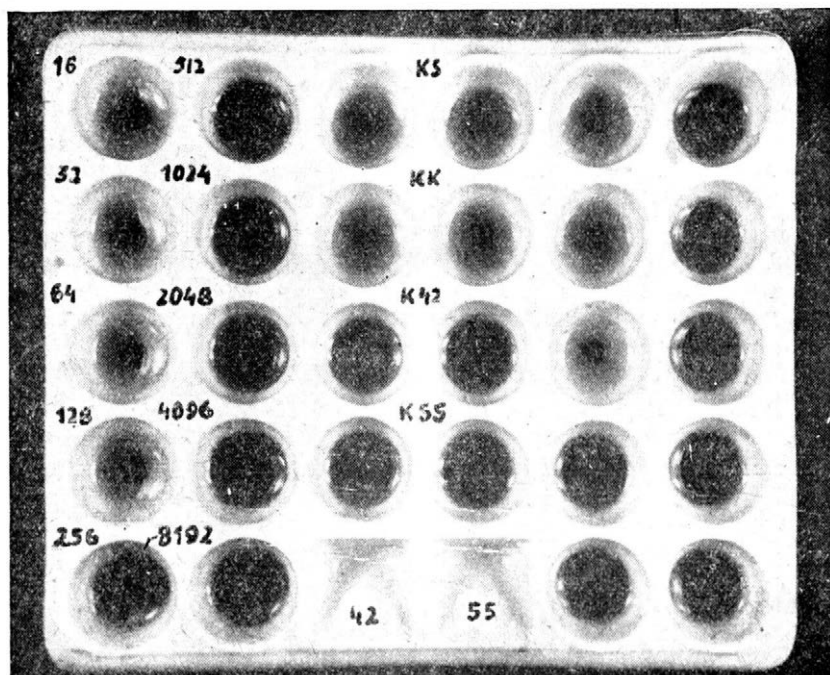
### Inhibice hemaglutinace se sery zdravých prasat

Výsledek serologických reakcí HIT s 860 sery zdravých prasat, provedených způsobem popsaným v „metodice práce“ jednotlivě s každým vyšetřovaným serem, ukazuje tabulka č. I.

Souhrn výsledků v této tabulce prokazuje, že ani v jednom případě se nedařilo prokázat ani v nejnižším titru (16) a se žádným z 5 antigenů kladnou inhibici hemaglutinace.

Vzhledem ke správným výsledkům se serem notoricky protichřipkovým z prasete po umělé chřipkové infekci („filtrátová chřipka“) a se serem noto-





**Пříklad inhibičně-hemaglutinační reakce na porcelánové ploténce se serem z nemocného vepře**

Было použито антигенů č. 42 a č. 55.

V levé polovině ploténky je titr protilátek (inhibice - hemaglutinace) s antigenem č. 42 128.

V pravé polovině dosahují protilátky s antigenem č. 55 titru 64.

Vysvětlivky: Postupné zředění v pom. 1:16 až 1:8192 vyšetřovaného sera jest ve dvou krajních (I, II. a V., VI.) řadách. Kontroly v prostředních dvou řadách.

KS = kontroly sera

KK = kontroly krvinek (inhibice hemaglutinace)

K 42 = kontroly antigenů č. 42

K 55 = kontroly antigenů č. 55.

**Случай ингибиционной реакции гемагглютинации на фарфоровой пластинке с сывороткой больной свиньи**

Были применены антигены №№ 42 и 55. В левой половине пластинки антитела (ингибция — агглютинация) с антигеном № 42 достигают титра 128.

В правой половине антитела с антигеном № 55 достигают титра 64. Объяснительные примечания:

Постепенное разбавление 1:16 до 1:8192 исследуемой сыворотки в двух крайних (I—II и V—VI) рядах. Контроль в средних двух рядах.

**Example of inhibition-haemoagglutination reaction on a porcelain plate with serum from a diseased pig**

Antigens No. 42 and 55 were used. In the left half of the plate is the titrate (128) of antibodies (inhibition-haemoagglutination) with antigen No. 42.

In right half the antibodies are 64 with antigen No. 55.

Notes: Gradual dilution in the ratio 1:16 to 1:8192 of the sera studied, in the two edge rows (I, II and V, VI). Control in the two middle rows.

Tab. 1. Výsledky vyšetření ser 860 prasat (č. 1—860) bez klinických příznaků chřipkových, pocházejících vesměs z jatek

Табл. 1. Результаты исследования 860 свиней (№№ 1—860) без клинических гриппозных признаков, поступивших исключительно из боен

Table 1. Results of examination of 860 pigs (Nos. 1—860), all from slaughter-houses, without clinical symptoms of influenza

Tab. 1. Untersuchungsergebnisse bei 860 Schweinen (No 1—860), ohne klinische Grippe-merkmale, sämtlich aus dem Schlachthaus

| Sera<br>čís.                                                                                                                     | Původ                                                                     | HIT<br>s chřipko-<br>vými anti-<br>geny | Zředění ser, výsledek HIT |    |    |     |     |     |      | Kontroly |   |   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------|----|----|-----|-----|-----|------|----------|---|---|
|                                                                                                                                  |                                                                           |                                         | 16                        | 32 | 64 | 128 | 256 | 512 | 1024 | A        | S | K |
| 1 až<br>200<br>(z 15. 2.)                                                                                                        | Masný<br>průmysl<br>B.                                                    | S                                       | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 42                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 47                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 54                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 55                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 201 až<br>400<br>(z 15. 3.<br>až 18. 4.)                                                                                         | Zdravé<br>pokusné<br>pokusné                                              | S                                       | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 42                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 47                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 54                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 55                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 401 až<br>700<br>(z 25. — 27. 4.)                                                                                                | pokusné                                                                   | S                                       | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 42                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 47                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 54                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 55                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 701 až<br>860<br>(ze 16. —<br>19. 5.)                                                                                            | pokusné                                                                   | S                                       | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 42                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 47                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 54                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 55                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| č. 10—A<br>kontrola<br>s notoricky<br>normálním<br>serem zdravého<br>prasete                                                     | Zdravé<br>pokusné<br>prase<br>ústavní                                     | S                                       | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 42                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 47                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 54                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 55                                      | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| č. 10—P<br>kontrola<br>se serem<br>notoricky<br>chřipkovým<br>z prasete<br>za 10 dní<br>po infekci<br>chřipkovým<br>kmenem č. 42 | Ústavní prase<br>za 10 dní<br>po umělé<br>infekci kmenem<br>chřipky č. 42 | S                                       | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 42                                      | +                         | +  | +  | +   | +   | +   | +    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 47                                      | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 54                                      | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                                                                                                  |                                                                           | 55                                      | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |

Značky kontrol:

A = antigen+krvinky S = serum+krvinky K = fyziologický roztok+krvinky

#### Beispiel einer inhibitorischen Haemagglutinationsreaktion auf einer Porzellanplatte mit dem Serum von einem kranken Schwein.

Es wurden Antigene Nr. 42 und Nr. 55 verwendet. In der linken Plattenhälfte befindet sich der Titer der Gegenstoffe (Inhibition-Haemagglutination) mit Antigen Nr. 42 (128).

In der rechten Hälfte erreichen die Gegenstoffe mit Antigen Nr. 55 den Titer 64.

Erläuterungen: Die fortschreitende Verdünnung im Verhältnis 1:16 bis 1:8192 des untersuchten Serums ist in den zwei Randreihen (I. II. und V. VI.) angeführt. Die Kontrollen in den beiden Mittelreihen.

ricky normálním z téhož prasete před zahájením pokusů plyne, že reakce byly správné, že je lze hodnotit jako specifické a že tudíž nešlo v žádném případě o organismus, který byl ovlivněn stykem s chřipkovým virem, aglutinujícím slepičí krvinky a antigenně se shodujícím s kmeny ČSR nebo s kmenem Shopeovým. Výsledky s 96 reakcemi se sery zvířat nemocných nebo podezřelých z EBr jsou znázorněny v tabulce č. II.

Zde jsme předpokládali, že získáme analogické nálezy, jaké získal S l o n i m a Doubek, jakož i akademik Blaškovič při vyšetřování ser. Podle zkušebností prvních 2 autorů jest titr HI ve výši 64 a bezpečně titr 128 ukazatelem, že

Tab. 2. Výsledky vyšetření hemaglutinačně inhibičních reakcí ser prasat nemocných nebo podezřelých z chřipky

Табл. 2. Результаты исследования гемагглютинационно-ингибиционной реакцией сыворотки свиней больных или подозрительных по гриппу

Table 2. Results of examination of serum of pigs ill or suspected of being ill with influenza, using the haemo-agglutination-inhibition reaction

Tab. 2. Untersuchungsergebnisse mittels Haemagglutinations-Inhibitionsreaktion der Sera von kranken oder grippeverdächtigen Schweinen

| Sera čís. | Původ                                    | HI<br>s chřipko-<br>vými<br>antigeny | Zředění ser, výsledky HIT |    |    |     |     |     |      | Kontroly |   |   |
|-----------|------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|----|----|-----|-----|-----|------|----------|---|---|
|           |                                          |                                      | 16                        | 32 | 64 | 128 | 256 | 512 | 1024 | A        | S | K |
| 1         | Sera č. 1—10<br>jsou z jatek<br>z Ml. B. | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 42                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 47                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | +   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 54                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 55                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 2         |                                          | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 42                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 47                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 54                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 55                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 3         |                                          | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 42                                   | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 47                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 54                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 55                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 4         |                                          | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 42                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 47                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 54                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 55                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 5         |                                          | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 42                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 47                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 54                                   | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 55                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 6         |                                          | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 42                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 47                                   | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 54                                   | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 55                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | —   | —    | +        | + | + |
| 7         |                                          | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 42                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 47                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 54                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|           |                                          | 55                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |

| Sera čís.                                          | Původ                                                          | HI<br>s chřipko-<br>vými<br>antigeny | Zředění ser, výsledky HIT |    |    |     |     |     |      | Kontroly |   |   |
|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|----|----|-----|-----|-----|------|----------|---|---|
|                                                    |                                                                |                                      | 16                        | 32 | 64 | 128 | 256 | 512 | 1024 | A        | S | K |
| 8                                                  |                                                                | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 42                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 47                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 54                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 9                                                  |                                                                | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 42                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 47                                   | +                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 54                                   | +                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 10                                                 |                                                                | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 42                                   | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 47                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 54                                   | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | —   | —    | +        | + | + |
| 11                                                 | Sera č. 11 a 12<br>jsou z jatek<br>v K.                        | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 42                                   | +                         | +  | +  | ±   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 47                                   | ±                         | +  | +  | +   | +   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 54                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 12                                                 |                                                                | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 42                                   | +                         | +  | +  | ±   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 47                                   | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 54                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 13                                                 | Masný<br>průmysl<br>Brno                                       | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 42                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 47                                   | +                         | ±  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 54                                   | +                         | ±  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 14<br>kontrola<br>notoricky<br>zdravého<br>prasete | Serum<br>zdravého<br>prasete před<br>pokusem                   | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 42                                   | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 47                                   | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 54                                   | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 15                                                 | Totéž prase                                                    | S                                    | +                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 16                                                 | za 10, 14                                                      | 42                                   | +                         | +  | +  | +   | +   | +   | ±    | +        | + | + |
| 17                                                 | a 17 dní                                                       | 47                                   | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| kontrola sera<br>z not. chřipko-<br>vého prasete   | po infekci<br>kmenem 42                                        | 54                                   | +                         | +  | +  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | +                         | +  | +  | +   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 18                                                 | Totéž prase                                                    | S                                    | ±                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| kontrola                                           | za 20 dní<br>po infekci<br>kmenem č. 42                        | 42                                   | +                         | +  | +  | +   | ±   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 47                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 54                                   | +                         | +  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | +                         | ±  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 19 až 95                                           | Sera prasat<br>s podezřelými<br>příznaky<br>pneumo-<br>nickými | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 42                                   | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 47                                   | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 54                                   | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
| 96                                                 | Serum<br>podezřelého<br>vepře<br>z jatek v T.                  | S                                    | —                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 42                                   | +                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 47                                   | ±                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 54                                   | +                         | —  | —  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |
|                                                    |                                                                | 55                                   | +                         | +  | ±  | —   | —   | —   | —    | +        | + | + |

organismus dítěte s tímto titrem přišel do kontaktu s chřipkovým virem. Ukazuje, že 18 ser chřipkových prasat reagovalo s jedním nebo více antigeny alespoň v titru 64, pouze č. 96 mělo výsledek v této výši neurčitý, a dalších 76 zkoušek nedalo reakci žádnou.

Proto při správných reakcích kontrol hodnotíme dosažené výsledky jako specifické.

### **Hodnocení výsledků HIT**

Naše vyšetření 860 ser prasat zdravých a 96 ser prasat nemocných, kontrolních a podezřelých z onemocnění chřipkového, která projevovala různé stupně klinického onemocnění dychadel anebo při pitvě ukazovala příznaky pneumonie nebo katarů, nemělo poskytnout přehled o výskytu chřipky prasat; úkolem tohoto vyšetřování bylo spíše orientačně si učinit pohled do poměrů o výskytu a o průkaznosti specifických protilátek, schopných zábrany hemaglutinace se specifickými chřipkovými antigeny, a to se Shopeovým kmenem a s domácími 4 kmeny, které stejně hemaglutinují jako kmen Shopeův a také v jiných znacích (množení se v kuřecím embryu) mají s ním značnou podobnost.

1. Podle výsledků hemaglutinačně-inhibiční reakce se sery 860 zdravých jatečných prasat se nám nezdařilo ani u jednoho prasete prokázat inhibující protilátky vůči našim kmenům a kmenu Shopeově, a to ani v nejnižším zředění 1 : 16.

Z výsledků lze usuzovat, že tato prasata nepřišla do styku s chřipkovou infekcí, případně že nedošlo k tak zřetelné infekci, která by zanechala specifické protilátky, anebo, že šlo o infekci počáteční.

Současné prováděné reakce se serem uměle infikovaného prasete kmenem č. 42, které před infekcí nedalo ani ve zředění 1 : 16 zábranu hemaglutinace, ukázaly za 10–17 dní pozitivní inhibici o titru 520 (dubiosní 1024) a tím byla prokázána — vedle kontrolních reakcí s antigenem, serem, krvinkami a fyziologickým roztokem — že šlo vesměs o specifické reakce a celkem spolehlivou průkaznost protilátek.

2. Vyšetřením 96 ser z 91 prasete s různými příznaky plicního onemocnění, prokazaného anebo podezřelého z chřipkové afekce (a 1 zdravé kontroly), jsme prokázali, jak ukazuje tabulka č. II., že 16 ser obsahovalo různé vysoké HI titry s jednotlivými chřipkovými antigeny, které projevovaly různý titr; z nemocných prasat se u 72 nezdařilo prokázat specifické inhibiční protilátky vůbec, což lze vysvětlit jednak snad počátečním onemocněním, jednak infekcemi bakteriálními, jednak možná i virovými, kde však neměl virus vlastností hemaglutinačních.

Ze 16 ser s inhibičními protilátkami bylo možno bezpečně prokázat pomocí HIT infekce virem chřipky, a to všemi 4 domácími kmeny chřipkovými. Titry hraniční nejsou zcela bezpečně prokázány a jistě mají dynamiku, která se projeví během infekce.

Vezmeme-li pro srovnání zkušenost Slonimovu a Doubkovu u dětí (1953), lze zde titr 64 a určitě titr 128 posuzovat jako ukazatele kontaktu organismu dítěte s chřipkovým virem. Patrně jsou obdobné poměry u selat a běhounů. V našich případech pozitivních reakcí bylo dosaženo titru 512 jen u prasete uměle infikovaného chřipkovým kmenem č. 42, a to za 10–17 dní po infekci, když před infekcí a za 3 dny po infekci neukazovalo jeho serum ještě



žádný titr protilátek HI. Totéž serum dávalo s kmenem č. 47 a č. 55 kladnou reakci HI o 1 číslo nižší, t. j. 128, s kmenem č. 54 o 2 čísla nižší (t. j. titr 64), s kmenem Shopeovým — titr 16. V jiné závislosti se projevovaly titry s ostatními kmeny, z nichž poměrně nejvíce případů specifických protilátek prokázal antigen kmene č. 47, zatímco HI titry s antigeny č. 42, č. 55 a č. 54 byly poněkud nižší i u kladných ser.

Překvapením pro nás bylo, že reakce HI s kmenem Shopeovým vyzněly — až na 3 případy kladné a 1 dubiosní o titru 16 — vesměs negativně, takže se jeví tento kmen antigenně zřetelně odlišný od našich kmenů domácích.

Celkem bylo dosaženo v jednotlivých reakcích ser kladných reakcí o titru:

|     |                       |    |        |
|-----|-----------------------|----|--------|
| 512 | 3krát (pokusné zvíře) | 64 | 32krát |
| 256 | 13krát                | 32 | 18krát |
| 128 | 14krát                | 16 | 15krát |

Vzhledem k bezpečným kontrolám pokládáme výsledky za věrohodné a průkazné. Tyto svědčí o tom, že velmi značný počet vyšetřených případů jednak nebyl původu chřipkového v závislosti na virech u nás prokázaných, resp. že šlo asi o onemocnění cest dýchacích jednak bakteriálními afekcemi, jednak virovou infekcí typu bez vlastností hemaglutinujících, případně o afekce počáteční nebo jiné etiologie, na př. verminosní, které se ovšem těmito reakcemi neprokazují.

Předpokládám, že tato hemaglutinačně inhibiční metoda intravitální i post-mortální diagnostiky EBr se stane i v diagnostice chřipky prasat velmi průkaznou; je nutné prohloubit ještě metodiku spolehlivého odstraňování inhibitorů sera, kontrolu s vazbou komplementu a osvojit si běžně rutinní postup pracovní.

## Z á v ě r

Hemaglutinačně inhibiční reakcí se nám u 860 ser z jatečních prasat, poražených na jatcích a neprokazujících žádné příznaky onemocnění enzootickou bronchopneumonií (chřipkou) prasat, ani v jednom případě nezdařilo prokázat inhibiční protilátky za použití domácích 4 kmenů chřipkových (č. 42, č. 47, č. 54 a č. 55) a kmene Shopeova.

Naproti tomu se nám zdařilo prokázat z 96 ser, pocházejících z 88 prasat s příznaky různého stupně onemocnění cest dýchacích, s patho-anatomickými změnami, anebo podezřením z EBr, že 16 ser, t. j. 18 % (z toho 2 z pokusně chřipkou infikovaného prasete) obsahovalo protilátky, prokazatelné HIT o titru od 16 do 512, nejčastěji 128—256. Podle výšky titrů usuzujeme, že prasata byla stížena EBr nebo přišla s virem alespoň do kontaktu. Nejvyšší titr 512 zjištěn jen u prasete za 10 dní po pokusné infekci chřipkovým virem č. 42. Vzhledem k výsledkům kontrol jsou reakce průkazné.

Předpokládáme, že u zbývajících ser, u nichž nebyly zjištěny chřipkové protilátky, šlo buď o počáteční infekce virem, nebo virem jiné antigenní struktury a dokonce bez hemaglutinačních vlastností, případně o infekce bakteriální, anebo jiná onemocnění (verminosní) plic.

Nejvíce případů průkazu protilátek a v poměrně nejvyšších titrech jsme dosáhli za použití chřipkového antigenu kmene č. 47, při čemž reakce dalšími 3 domácími kmeny chřipky dávaly výsledky méně výrazné a s kmenem Shopeovým nebylo průkazných reakcí vůbec.

1. Andrejev: Infekcionnyje bolezni svinej. (Moskva 1948, str. 142.) — 2. Beach J. R., D. V. M., Berkley, California: The Application of the Haemo-agglutination-Inhibition Test in the Diagnosis of Avian Pneumoencephalitis (Newcastle Disease.) (Jour. American Veterinary Medical Association, Febr. 1948, Vol. CXII., 85.) — 3. Beveridge W. I. B., Betts A. O.: Virus pneumonia of Pigs. Proceedings Part. I., Stockholm 1953. (Nord. Vet. Congr.) — 4. Blaškovič D. a Ráthová V.: Hladiny protilátok proti vírusu chřipky A, A<sub>1</sub>, B, C a vírusu chřipky prasiec (Shope 15) u obyvateľstva bratislavského kraja. Súhrny referátov z I. celošt. konferencie virológov, Smolenice 1955. — 5. Čupík J.: Isolace viru pneumonie prasat a pokus o průkaz jeho etiologické souvislosti s touto chorobou. Sborník Českosl. akademie zemědělských věd, Veter. medicína, 1956, č. 3, 197-208. — 6. Demko V.: Ploténková metoda haemaglutinace chřipkového viru. (Čas. lék. českých, roč. LXXXIX. 13. leden 1950.) — 7. Dinter, Weitere Untersuchungen über die enzootische Virus-pneumonie der Schweine. Proceedings, Part. I., XV., Nord. Vet. Congr., Stockholm 1953. — 8. Gallia F.: Výskyt protilátek viru chřipky typu A a B v postepidemických lidských serech. (Čas. lék. českých, roč. LXXXVI., č. 20, str. 581.) — 9. Gulrajani F. S., Beveridge W. I. B.: Studies on Respiratory diseases of Pigs (J. Comp. Path., 1951, v. 61, 118). — 10. Hallauer: Über Haemagglutination durch Virusarten. (Bull. der Sw. s. Rad. d. Men. Wiss. 1947/48, 3, 81.) — 11. Harnach R.: Naše virologické výzkumy o chřipce vepřů a Kloboukově obrně. (Zpráva v Polské Akademii Umiejetności, Krakov, červen 1950, uveřejněno v „Medycynę Weterynar.“ Varšava - Lublin, 1950, 11/653-656.) — 12. Harnach - Hubík: Die antigene Dynamik von Phenol-Adsorbat-Vakzinen bei der Ferkelgrippe. (Referát na Mezinár. sjezdu mikrobiologů v Budapešti, leden 1952, Sjezdový sborník.) — 12a. Harnach R., Hubík R., Chváta O.: Isolace chřipkových virů v ČSR. (Čas. čs. veterinářů, č. 13, r. 1950.) — 13. Hjärre, Dinter, Bakos: Vergleichende Untersuchung über eine influenzähnliche Schweinekrankheit in Schweden und Shopes Schweineinfluenza. Nord. Vet. Med. 1952, 4, 1025-1045. — 14. Hubík R.: Mikroflora při chřipce vepřů. Ref. na V. sjezdu čs. mikrobiol., Ostrava 1949. Isolace a studie domácích virů chřipky vepřů. (Spisy VŠ Vet. 1952/159.) — 15. Hirst G. K.: Jour. Exp. Med. 78, 407, 1943. Hirst G. K.: Jour. Exp. Med. 75:49, 1942. — 16. Kaplan M., FAO Washington D. C.: „Medycyna Weterynaryjna“, Laboratorium VI. roč. IV. Luty 1949, Nr. 2, str. 145. — 17. Koen J. S.: Amer. Jour. Vet. Med., Sept. 1919, Vol. 14, No 9. — 18. Lewis P. A. and Shope R. E.: Journ. Exp. Med. 1931, Vol. liv. p. 373. — 19. Macek K.: Chřipka domácích zvířat. (Čas. čs. veterinářů 1947, č. 9—10, str. 209.) — 20. Pokorný V.: Náklady vepřového bravu. (Čas. čs. veterinářů, II. č. 1, str. 2.) — 21. Salk J. E.: Journal Imunol., 49:87, 1944. — 22. Shope R. E.: Jour. Exp. Med., 1931, Vol. liv., p. 349-373. — 23. Šíma O.: Srovnávací studie histopathologických změn mozkomíšních při nakažlivé obrně a chřipce vepřů (Inaug. disert. 1950.) — 24. Sokol, Neubert, Tirčo a Vasil: Praktická hodnota některých metod koncentrace viru chřipky ošpaných. Sborník Čs. akad. zem. věd, Veterinární medicína 1956, 3, 189-196.

**Доказательство образования антител при вирусной энзоотической бронхопневмонии (гриппе) свиней гемагглютинационно-ингибиционной реакцией**

Путем гемагглютинационно-ингибиционной реакции у 860 серумов убойных поросят, забитых на бойне и не имевших каких либо признаков заболевания энзоотической бронхопневмонией (гриппом), не удалось ни в одном случае обнаружить

у свиней ингибиционные антитела при применении 4 местных гриппозных штаммов (№№ 42, 47, 54, 55) и штамма Шоупа.

В противоположность этому автору удалось обнаружить у 96 сывороток, взятых от 88 свиней с признаками различной степени заболевания дыхательных путей, с патолого-анатомическими изменениями или подозрительных по Э. Б., что 16 сывороток, т. е. 18 % (из них 2 от свиньи инфицированной в опытным порядке гриппом) содержали антитела, достоверно НТ с титром от 16 до 512, чаще всего 128-256. На основании высоты титров автор полагает, что свиньи имели энзоотическую бронхопневмонию или же по крайней мере пришли в соприкосновение с вирусом. Самый высокий титр 512 был обнаружен только у свиньи через 10 дней после экспериментальной инфекции вирусом гриппа № 42. Учитывая результаты контроля — реакции достоверны.

Предполагаем, что у оставшихся сывороток, у которых не были обнаружены антитела гриппа, либо имелась первоначальная инфекция вирусом или вирус принадлежал к другой антигенной структуре и даже с гемагглютинационными свойствами, в некоторых случаях имелась бактериальная инфекция или же другие заболевания (верминозные) легких.

Наибольшее количество случаев обнаружения антител при сравнительно самых высоких титрах было достигнуто при использовании гриппозного антигена штамма № 47, при чем реакция с дальнейшими 3 местными штаммами гриппа дали менее характерные результаты, а реакции со штаммом Шоупа вообще не были достоверны.

#### **Demonstrating Antibodies in Virus Enzoitic Bronchial Pneumonia of Pigs with Haemo-agglutination - Inhibition Reaction**

Using the haemo-agglutination-inhibition reaction on 860 sera taken from slaughter-house pigs, showing no symptoms of being ill with enzoitic bronchial pneumonia (influenza) of pigs, we did not succeed in any case in demonstrating inhibitional antibodies when using four domestic influenza virus strains (Nos. 42, 47, 54 and 55) and the Shope strain.

On the other hand, when using 96 serums from 88 pigs with symptoms of different degrees of illness of the respiratory passages, with pathological-anatomical changes or with a suspicion of EBr, we succeeded in demonstrating that 16 sera or 18 percent (of which two had been experimentally infected with influenza) contained antibodies, a demonstrable HIT with a titration of from 16 to 512, most often 128—256. According to the level of titration we judge that the pigs were affected with EBr or at least came in contact with the virus. The highest titration of 512 was found only in one pig 10 days after an experimental infection with influenza virus No. 42. In view of the results of check-ups, the reactions were demonstrable.

We assume that in the remaining sera where no influenza antibodies were found, it was a case either of initial virus infection or a virus with another antigenic structure or even haemo-agglutination properties, or perhaps bacterial infection or other lung disease (perhaps verminous).

The greatest number of cases of antibodies and relatively highest titrations were reached by using the influenza antigene strain No. 47, while the reaction with the three other domestic strains of influenza gave less striking results and there was no demonstrable reaction at all with the Shope strain.

## **Beweis der Antikörper bei virusartiger enzootischer Bronchopneumonie der Schweine (Schweinegrippe) mittels Haemagglutinations-Inhibitionsreaktion**

Bei 860 Seren von Schlachtschweinen, die keine Merkmale der enzootischen Bronchopneumonie (Schweinegrippe) aufwiesen, gelang es uns nicht, in einem einzigen Falle mittels Haemagglutinations-Inhibitionsreaktion unter Anwendung 4 einheimischer Grippestämme (No 42, 47, 54, und 55) und des Shopestammes Inhibitions-Antikörper nachzuweisen.

Dagegen gelang es uns aus 96 Seren, die von 88 Schweinen mit Anzeichen einer Erkrankung der Atemwege verschiedenen Grades, mit patho-anatomischen Veränderungen, oder mit Verdacht auf enzootische Bronchopneumonie stammten, daß 16 Sera d. h. 18 % (davon 2 von einem versuchsweise mit Grippe angesteckten Schwein) Antikörper enthielten, mit einem nachweisbaren HIT von einem Titer von 16 bis 512, meistens 128—256. Nach der Titerhöhe erkennen wir, daß Schweine durch enzootische Bronchopneumonie betroffen worden waren, oder daß sie wenigstens mit dem Virus in Kontakt kamen. Der höchste Titer 512 wurde nur bei einem Schwein 10 Tagen nach einer Versuchsinfektion mit dem Grippevirus No 42 festgestellt. Mit Rücksicht auf die Kontrollergebnisse sind die Reaktionen nachweisbar.

Wir nehmen an, daß es sich bei den übrigen Seren, bei denen keine Grippe-Antikörper festgestellt wurden, entweder um eine Anfangsinfektion mittels Virus, oder mittels eines anderen Virus abweichender antigener Struktur und sogar Haemagglutinationseigenschaften, evtl. um bakterielle Infektionen, oder andere (verminöse) Lungenkrankheiten handelte.

Die meisten Fälle der Nachweise von Antikörpern in verhältnismäßig höchsten Titern erreichten wir bei Anwendung des Grippe-Antigenstammes No 47, wobei die Reaktionen mit weiteren drei einheimischen Grippestämmen weniger ausgeprägte Resultate aufwiesen. Der Shope-Stamm wies überhaupt keine nachweisbaren Reaktionen auf.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| K. Prokůpek: Epizootická studie jihomoravského antraxového okrsku<br>Эпизоотическое изучение южноморавского района, пораженного сибир-<br>ской язвой<br>Epizootic Study of South Moravian Anthrax District<br>Epizootische Studie des südmährischen Milzbrandgebietes . . . . .                                                         | 1  |
| Z. Vězník: Příspěvek k biopsii endometria u klisny<br>Сообщение о биопсии эндометрии у кобыл<br>Contribution to the Biopsy of the Endometrium of the Mare<br>Ein Beitrag zur Biopsie des Endometrium bei Stuten . . . . .                                                                                                               | 17 |
| F. Gilka: Příspěvek k diagnostice Weilovy žloutenky selat<br>К вопросу о диагностике инфекционной желтухи Вейля у поросят<br>Contribution Towards the Diagnostic of Weil's Jaundice of Piglets<br>Ein Beitrag zur Diagnostik der Weil'schen Ferkelgelbsucht . . . . .                                                                   | 47 |
| J. Sakala: Vplyv antibiotik a sulfonamidov na fertilitu spermy bykov<br>Влияние антибиотиков и сульфонамидов на способность спермы быков<br>к оплодотворению<br>Effect of Antibiotics and Sulfanilamids on the Fertility of Bulls'Sperm<br>Einfluß der Antibiotiken und Sulfonamiden auf die Fertilität des Bullen-<br>sperma . . . . . | 55 |
| Holý L.: Konservace spermatu býka hlubokým mražením<br>Консервирование спермы быка глубоким замораживанием<br>Conservation of Seminal Fluid of Bulls by Deep Freezing<br>Konservierung von Bullensperma mittels Tiefkühlung . . . . .                                                                                                   | 69 |



Československá akademie zemědělských věd upozorňuje čtenáře  
na některé ze svých publikací, které vydala v loňském roce:

**VĚDECKÉ PRÁCE VÝZKUMNÉHO ÚSTAVU KRMIVÁŘSKÉHO**

Publikace je souborem předních statí pracovníků Výzkumného ústavu krmivářského v Brně. Uveřejněné studie pojednávají o nových poznatcích vědy a výzkumu týkajících se krmivářství. Jednotlivé kapitoly, jako na příklad: Krmná hodnota žitňáku hřebenatého a vojtěškových směsek, Inventarisace luk a pastvin v ČSR, Jetel zvrácený — perspektivní pícnina pro ČSR a jiné, jsou cenným přínosem pro naši zemědělskou praxi.

Cena kart. výt. Kčs 61,80.

**DYK, NAŠE RYBY**

Tato kniha zabývá se v textové části životem ryb vůbec, hovoří o zásadních podmínkách pro chov ryb v našich řekách a rybnících, seznamuje čtenáře s anatomií a pathologií různých odrůd ryb. Kniha je doplněna četnými perokresbami a barevnými ilustracemi Ing. S. Dykové.

339 str., váz. výt. cena Kčs 48,50.

Objednávky zašlete přímo na adresu:

**ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD**

administrace časopisů

Praha XII, Slezská 7.