

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ,
LESNÍHO A VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ

Veterinární medicína

6-7

ROČNÍK 7 (XXXV) – PRAHA, ČERVENEC 1962

CENA 20 Kčs

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ,
LESNÍHO A VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ
VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada: *akademik Vincenc Jelínek (předseda), gen. MVDr. Vladimír Chládek, člen korespondent SAV František Nižnánský, MVDr. Jiří Boháč, prof. MVDr. Richard Harnach, doc. MVDr. Jaroslav Dražan, prof. MVDr. Karel Šobra, prof. MVDr. Emanuel Král, MVDr. Ladislav Zima, MVDr. Ladislav Polák, MVDr. František Lehký, doc. MVDr. inž. Jan Vlček. Vedoucí redaktor František Němec.*

© Ústav vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 1962

Obsah — Содержание — Content — Inhalt

Příbyl E.: Prohlubováním poznatků o fyziologii a patologii rozmnožování k zvyšování plodnosti a k zábraně poruch v plodnosti u hospodářských zvířat	443
Sokolovská J. J.: Nové sovětské výzkumy na úseku oplozování hospodářských zvířat Новые советские исследования в области оплодотворения сельскохозяйственных животных Neue sowjetische Forschungen auf dem Gebiete der Befruchtung landwirtschaftlicher Nutztiere Les nouvelles recherches soviétiques quant à la fécondation des animaux domestiques	447
Döcke F.: Výzkum účinku nervového systému na dělohu u skotu Исследование влияния нервной системы на матку крупного рогатого скота Untersuchungen über den Einfluß des Nervensystems auf den Rinderuterus L'étude de l'influence du système nerveux sur la matrice des vaches	457
Lunka N., Mjasnikova J., Dimitrescu J., Slavescu E.: Výzkum některých faktorů ovlivňujících oplodnění krav po otelení Исследование некоторых факторов, оказывающих влияние на оплодотворение коров после отела Erforschung einiger die Befruchtung von Kühen nach dem Abkalben beeinflussender Faktoren	469
Bratanov K., Dikov V.: O některých imunobiologických činitelích při oplozování hospodářských zvířat О некоторых иммунобиологических факторах при оплодотворении сельскохозяйственных животных Über einige immunologische Faktoren beim Befruchtungsprozeß landwirtschaftlicher Nutztiere	479
Pitkjanen J. G.: Zvláštnosti fyziologie rozmnožování prasat Особенности физиологии размножения свиней Besonderheiten der Fortpflanzungsphysiologie bei Schweinen Les particularités de la physiologie de la reproduction des truies	487

Prohlubováním poznatků o fyziologii a patologii rozmnožování k zvyšování plodnosti a k zábraně poruch v plodnosti u hospodářských zvířat

Jedním ze základních předpokladů plánovaného zvyšování početních stavů a užitkovosti hospodářských zvířat je *p l o d n o s t*. Plodnost je jedním z činitelů, který určuje ekonomičnost chovu vůbec, tím spíše při velkovýrobních formách živočišné produkce. Na dobré plodnosti závisí zvyšování početního stavu stáda a jeho obrát, ať již v rámci pravidelné obměny či při urychleném obrátu stáda k jeho ozdravení (Tbc, BAB) nebo ke zvyšování užitkovosti.

Je proto po zásluze věnována zvláštní pozornost i po stránce vědecko-výzkumné fyziologii a patologii rozmnožovacích pochodů u hospodářských zvířat, zejména u skotu. Svědčí o tom i mezinárodní kongresy o fyziologii, patologii reprodukce a umělé inseminaci zvířat pořádané pravidelně (IV. kongres byl uspořádán v r. 1961 v Haagu) a z důležitosti šíření poznatků o těchto otázkách vyplynula i potřeba pořádat pravidelně konference v lidově demokratických státech. První taková konference byla v Sofii v r. 1959 a druhá konference byla uspořádána v září 1961 v Karlových Varech za účasti vědeckých a odborných pracovníků z SSSR, PLR, NDR, BLR, RLR, MLR a ČSSR. Tato konference podala výstižný obraz o zaměření výzkumu na otázky související se zvyšováním plodnosti u hospodářských zvířat a se zábranou poruch v plodnosti.

Odbor veterinárního lékařství ČSAZV rozhodl, aby v tomto dvojčísle Sborníku Veterinární medicína byly uveřejněny některé referáty, přednesené na konferenci v Karlových Varech zahraničními i našimi výzkumnými pracovníky.

U m ě l á i n s e m i n a c e hospodářských zvířat se osvědčila jako velmi účinný nástroj při potírání poruch v plodnosti a při zvyšování užitkovosti. Proto se v zemích s vyspělou živočišnou výrobou rychle rozšiřuje. ČSSR je dnes po Dánsku na druhém místě ve světě, pokud jde o procento uměle inseminovaného skotu. Technika umělé inseminace doznala také v poslední době značných pokroků: odběr semene, používání dokonalých extendorů (ředidel semene) a ochranných médií (protektorů), dlouhodobé uchovávání semene ve zmraženém stavu (v suchém ledu, v tekutém dusíku) dávají zcela nové perspektivy rozvoje a využívání umělé inseminace.

Další perspektivy vyplývají z teoretických objevů v biologii rozmnožování, zejména z nervové fyziologie a poznatků endokrinologie v oblasti neurohumorálních regulací reprodukčních procesů u zvířat. Ukazuje se, že využití neurohormonu hypothalamu-oxytocinu má velké vyhlídky při u. i. vzhledem k ovlivňo-

vání motility dělohy. Přidání oxytocinu do ředidla semene jako implementoru nahrazuje přirozený reflex na oxytocin, který bývá u některých zvířat nedostatečný.

Okruhy činnosti nervového a endokrinního systému se soustřeďují v hypothalamu, kde je umístěno tzv. sexuální centrum. Toto ústředí přijímá přes velký mozek podněty vnějšího prostředí a po nervových a hormonálních cestách podněty z prostředí vnitřního. Na druhé straně vycházejí z hypothalamu podněty pro mozek, hypofýzu a vegetativní nervovou soustavu, která řídí vylučování gonadotropinů a tím pohlavní činnost a dále oxytocinu, ovlivňujícího motilitu dělohy a laktaci. Ústřední nervový systém a vegetativní soustava řídí prostřednictvím systému hypothalamus-hypofýza pohlavní reflexy a prostřednictvím míšních center i stahy děložní.

Umělá inseminace prasat nabyla v poslední době na významu v souvislosti s nástupem velkovýrobních forem v produkci prasat. Úspěchy v u. i. prasat z poslední doby jsou založeny na poznatcích o zvláštностech fyziologie rozmnožování u prasat, zejména o říji a ovulaci, o vhodném termínu inseminace, o vhodných metodách odběru semene, jeho hodnocení, ředění a konzervaci i o způsobu vpravování semene do pohlavního ústrojí prasnice. Tomu odpovídá i vypracování vhodné soupravy inseminačních nástrojů a uplatňování nových plastických hmot při jejich výrobě.

Stále intenzivněji je zaměřován výzkum k otázkám spermiogeneze a využívání ukazatelů kvality semene pro posouzení plodnosti a poruch v plodnosti u plemeníků. Nové poznatky o vyvolání říje u prasníc v době laktace a při anestrii po odstavu selat a dále i synchronizace říje pro turnusové osemenování větších skupin prasníc má ve velkochovech mimořádný význam.

D i a g n o s t i k a b ř e z o s t i v rámci kontroly plodnosti a při potírání neplodnosti je zaměřena též k využívání laboratorních metod, které umožňují hromadná vyšetření ve velkochovech. I když bude potřeba dalších výzkumů k zpřesnění laboratorní diagnostiky gravidity, jsou některé metody laboratorního zjišťování březosti u skotu značně spolehlivé. Je to zejména tzv. poševní reakce, založená na registraci stahů poševní stěny po aplikaci oxytocinu (100% spolehlivost u nebřezích a 88% u březích krav a jalovic). Na změnách v chemickém složení a fyzikálních vlastnostech cervikálního hlenu u skotu za různých fází pohlavního cyklu a za gravidity je založen tzv. arborizační test (vytváření kapradinovitých formací v roztěrech hlenu za folikulární fáze), test s roztokem CuSO_4 (za gravidity stoupá s. v. hlenu, který v roztoku skalice modré o určité s. v. klesá ke dnu) a konečně i barevná reakce hlenu s roztokem NaOH (spočívající na zvýšeném obsahu mukosacharidů v cervikálním hlenu za gravidity).

Cenné poznatky byly získány o závislosti plodnosti a reprodukčních pochodů na prostředí, výživě a dědičnosti. Výživa má rozhodující vliv na plodnost. Pozorování z poslední doby u nás i z jiných zemí ukazují, že plodnost krav se snižuje se stoupající mléčnou užitkovostí, přičemž zvětšená intenzita krmení do určité míry zlepšuje plodnost u těch krav, které vykazují vysokou užitkovost. Siláž (zelená a kvalitní) má příznivý vliv na plodnost a tato skutečnost znovu pobízí k tomu, aby jakostní siláže bylo více využíváno k vyrovnávání krmné dávky po celý rok a zabráněno tak sezonním výkyvům v plodnosti v důsledku nestejněměrné výživy po stránce kvantity a kvality. Příznivý účinek siláže připravované ze zelené píce na plodnost spočívá v příznivém obsahu vitamínů, minerálních látek (Ca, P) a specifických látek (fytoestrogenů).

Pohlavní nákazy jsou zásluhou širokého uplatňování u. i. úspěšně potírány. To lze říci o trichomonádové nákaze skotu, která se udržuje ještě v oblastech přirozené plemenitby, kdy není dostatečný zdravotní dozor nad plemenníky. Dik novým poznatkům v diagnostice, léčbě i prevenci je úspěšně potírána i pohlavní vibrióza skotu, která jako enzooticky vystupující sterilita působila v mnohých zemích značné národohospodářské škody (v současné době je hlášena ve 28 zemích, ale je pravděpodobné, že pro potíže v diagnostice vibriózy není v mnohých zemích rozpoznávána).

Brucelóza beranů může být hlavní příčinou neplodnosti (až 90 %) v oblastech silně zamořených brucelózou. I tuberkulóza pohlavního ústrojí se podílí značnou měrou na neplodnosti krav.

Tak zvané nespecifické infekce pohlavního ústrojí u skotu zůstávají středem zájmu výzkumu. Výsledky těchto prací ukazují, že výskyt metritid u skotu svědčí nejen o nedostatečné hygieně při porodu a v puerperiu, ale i v nedostatečné hygieně za březosti a k odstranění těchto nedostatků je nutno se více zaměřit. Při tom se ukazuje, že ekonomická a účinná terapie puerperálních infekcí by měla zásadně vycházet z rozboru mikroflóry a její citlivosti vůči používaným léčivům, zejména antibiotikům. Tento postup bude mít stále větší uplatnění v rámci účinné léčby puerperálních infekcí a prevence sterility ve velkochovech skotu.

V pohlavním ústrojí plemeníků a v jejich semeni, získávaném odběrem (pokusy o aseptický odběr semene jsou teprve v začátcích), nacházejí se pravidelně různé mikroby. Zatím co otázka patogenní mikroflóry je otázkou dokonalé a soustavné zdravotní kontroly plemeníků a inseminačního provozu, je obsah nepatogenních mikroorganismů měřítkem úrovně hygieny v provozu inseminačních stanic a inseminace vůbec. Některé bakterie mají spermicidní účinek, závislý na jejich množství a délce působení na spermie. Je nutno při této příležitosti podotknout, že nálezy mikrobů v semeni a v pohlavním ústrojí plemeníků a plemenic jsou někdy přeceňovány a zejména bakteriologové hodnotí někdy nálezy jednostranně. V tom směru je naléhavá úzká spolupráce bakteriologa a klinika.

Prevence poruch v plodnosti, zejména u skotu, stojí v popředí boje proti sterilitě. Tak jako jsou příčiny sterility a poruch v plodnosti četné a rozmanité, musí být prevence založena široce k soustavnému vytváření podmínek pro pravidelné a nerušené rozmnožovací pochody. Prevence, má-li být účinná, musí být plynulá a předvídatelná, nemůže být nahražována nárazovými a dílčími akcemi. Její činnost a komplexnost spočívá i v kontrole dědičnosti zdraví a plodnosti, počínajíc výběrem mladých zvířat k plemenitbě s přihlédnutím ke konstitučnímu založení a k heritabilním formám poruch v plodnosti. Zajišťování vhodného prostředí a výživy je nezbytnou součástí prevence.

Prevence je syntézou poznatků o fyziologii a patologii rozmnožování a musí nezbytně vycházet z hlubokých znalostí etiologie, symptomatologie, prognózy i účinnosti terapie různých forem sterility.

Konference o biologii a patologii rozmnožování u hospodářských zvířat v Karlových Varech poskytla dobrý přehled současných poznatků na tomto úseku. Umožnila žádoucí výměnu názorů a zkušeností v řadě problémů a bezprostřední styk vědeckých pracovníků ze zúčastněných států.

Naprostá většina referátů na konferenci přednesených se zabývala aktuálními otázkami současné praxe, což ukazuje na dobré spojení výzkumu se životem.

V otázce rozmnožování hospodářských zvířat zůstává ovšem řada problémů, které bude třeba řešit, neboť mají praktickou důležitost a mohou přispět k dalšímu

zvýšení úrovně živočišné výroby. Zejména bude potřebí výzkumné práce zaměřit na výzkum biochemických pochodů v samčích pohlavních buňkách se zřetelem k jejich oplozovací schopnosti a konzervaci, výzkum oplození vajíčka a příčin odumírání zygoty (embryonální mortalita), výzkum neurohumorálního řízení pohlavní činnosti a jeho poruch, výzkum konstituce a dědičnosti ve vztahu k plodnosti aj.

Prof. dr. Emil PŘIBYL D. Sc.

vědecký redaktor dvojčísla Vet. med. o fyziologii a patologii rozmnožování

Nové sovětské výzkumy na úseku oplozování hospodářských zvířat

Новые советские исследования в области оплодотворения
сельскохозяйственных животных

Neue sowjetische Forschungen auf dem Gebiete der Befruchtung landwirtschaftlicher
Nutztiere

Les nouvelles recherches soviétiques quant à la fécondation des animaux
domestiques

I. I. SOKOLOVSKÁ

Oddělení biologie Všesvazového ústavu pro chov užitečných zvířat v Moskvě

Ú v o d

Biologové, kteří již mnohá desetiletí zkoumají proces oplozování zvířat, především z hlediska morfologie a kinematiky shromáždili v této oblasti značné množství poznatků. Méně se již zabývali fyziologickými a biochemickými procesy při oplozování. To, co je známo, týká se především dostupnějších objektů, tj. nižších živočichů (mořští ježci, ryby, obojživelníci).

K praktickému ovládnutí a řízení procesu u zvířat nestačí však pouze představit si *jak probíhá*, ale je *nezbytné znát podmínky* pro jeho uskutečňování.

V l a s t n í v ý z k u m

V referátu jsou stručně popsány za poslední tři roky výsledky výzkumů autorů a vědeckého kolektivu který vede, zaměřené tímto směrem. Možnost ovlivňovat proces oplození a vývoj působením vnějších podmínek byla prokázána především v pracích oddělení biologie rozmnožování hospodářských zvířat Všesvazového výzkumného ústavu živočišné výroby. Základní podmínkou vysoké oplozovatelnosti zdravých zvířat je rozdílné krmení plemenů i samic v jednotlivých životních obdobích pohlavně dospělých zvířat. V pokusech z posledních let byly zjištěny nové údaje, které zvětšují naše možnosti při ovlivňování procesu oplození. Společně s S. M. R o m b e m a L. N. G o r o c h o v e m jsme provedli rozbor působení sezónních faktorů na oplození podle údajů z 15 000 osemnění krav uskutečněných v 5 oblastech SSSR během řady let. Byla zjištěna pozitivní závislost oplodnitelnosti krav na ročním období, charakterizovaném dlouhou délkou dne a zastoupe-

ním zelené píce, bohaté na plnohodnotné bílkoviny, vápník a vitamíny, v krmné dávce. Naproti tomu oplozovatelnost klesala v těch ročních obdobích, kdy v krmných dávkách převládají sice výživná, ale biologicky neplnohodnotná jadrná krmiva. Čím více jadrných krmiv hospodářství spotřebovala na výrobu 1 kg mléka, tím horší byla oplozovatelnost.

Ukázalo se, že nejenom úspěchy při osemenování, ale i délka porodního období (od otelení do dalšího zabřeznutí) těsně souvisí s typem krmné dávky. Průměrně asi 30 % krav zabřezne za dva měsíce po otelení, asi 20 % za měsíc a stejný počet za tři měsíce. Tyto číslíčky jsou však různé v jednotlivých ročních obdobích v témž hospodářství, zvláště tam, kde se v otelování projevuje zřetelná sezónnost. Průměrný počet zabřeznutí u krav v prvním měsíci po otelení se zvyšuje na 50 % v období pozdního jara a v létě, ale klesá na 10. % i méně v zimních měsících. V některých letech s příznivými podmínkami počet zabřeznutí v prvním měsíci po otelení stoupá v jednotlivých hospodářstvích v pastevním období až na 72 %.

Pozornosti zasluhuje schopnost některých krav, které po dobu 4—6 let jsou rok co rok oplozovány již při první říji po otelení. Tato fakta zasluhují pozorného sledování. Zdůrazňují význam zkoumání vztahů mezi oplozovatelností, konstitucí a užitkovostí pro vypracování šlechtitelských opatření nejen z hlediska užitkovosti, ale i reprodukční schopnosti, která je v plemenitbě stejně důležitá. Byl proveden rozbor vztahů mezi obsahem vápníku v krmné dávce (gramů na den) a oplozovatelností. Zjistilo se, že v některých hospodářstvích závisí oplozovatelnost krav na množství vápníku v krmné dávce. Například při obsahu vápníku v denní krmné dávce méně než 80 g byla oplozovatelnost velmi nízká (pod 50 %). Mnohem vyšší oplozovatelnost 70 % i více (až 97 %) se projevila při velkém obsahu vápníku v krmné dávce. V jiných případech nebyla zjištěna tato přímá závislost. Například v jednom kolchoze, kde zimní i letní krmné dávky obsahovaly stejné množství vápníku (87 a 88 g), byla oplozovatelnost v létě o 27 % vyšší než v zimě (72 % proti 45 %). Další rozbor ukázaly, že v těchto, tak jako v mnohých jiných případech, je významnou příčinou poklesu oplozovatelnosti v zimě a na jaře nedostatek karoténu, důležité a obtížně nahraditelné složky zelené píce. Jestliže obsahovala denní krmná dávka méně než 450 mg % karoténu, byla oplozovatelnost nižší než 50 %. Tento rozbor ukazuje na velké a nevyužívané možnosti k urychlení reprodukce stád. Tyto možnosti lze realizovat účelným krmením.

Za využití poznatků o významu karoténu a vápníku pro reprodukci byly prozkoumány možnosti zavádění těchto látek do organismu zvířat injekcemi. V. F. Sachno prokázal značnou biologickou a ekonomickou efektivnost injekcí syntetického přípravku vitamínu A v dávce 450—500 m. j. prasnicím, zejména na jaře a v zimě. Po injekcích se značně zkrátilo období před započatím říje (z 21 na 10 dní), oplodnitelnost dospělých prasnic se zvýšila o 16 % (93 % proti 77 %) a mladých o 15 % (60 % proti 45 %). Plodnost u dospělých prasnic se zvýšila o 1,6 selete ve vrhu a u mladých o 0,9 selete. Propočty ukázaly možnost získat tímto způsobem na každých 100 prasnic navíc 96 selat; to kryje nejen náklady vynaložené na zakoupení přípravku a na práci, ale poskytuje i dostatečný ekonomický efekt. Vysoká efektivnost této metody ukazuje na to, že reprodukční schopnost u prasnic se nemůže projevovat, protože obvykle dostávají krmiva chudá na karotén.

V některých případech lze odstranit nedostatek vápníku injikováním 40 % vodného roztoku glukonátu vápníku (s kyselinou boritou). Z 58 vytrvale se přebíhajících krav zabřezlo po aplikaci tohoto přípravku 36, z toho polovina (18 krav) již při prvním osemenění. Za 1 hodinu po injekci přípravku se zvýšil obsah vápníku

v mléce o 12—29 % a stoupl dokonce i v krvi (o 0,04—0,05 %). Tento zvýšený obsah se udržoval v organismu několik hodin (12 až 30 hodin). Při oplození má zřejmě podstatný význam koncentrace vápníku v tekutinách organismu v periodě splývání gamet.

Rozvoj chemického průmyslu, zvláště výroby syntetických vitamínových a hormonálních přípravků, vytváří velké možnosti pro jejich využití ke zvyšování oplozovatelnosti a plodnosti samic hospodářských zvířat.

V současné době je zvláště důležité zaměřit se na výzkum vnitřních podmínek oplození, zejména podmínek v pohlavních cestách samic, kde probíhá pohyb spermií a proces splývání gamet.

Pokusy o zvládnutí procesu splývání gamet hospodářských zvířat mimo organismus, tj. za použití způsobů, vypracovaných pro bezobratlé živočichy, provedl koncem minulého století G r u z d ě v. Od 30 let se v nich pokračuje v SSSR (K r a s o v s k a j a aj.). V současné době se podobné pokusy konají v mnohých státech se střídavým úspěchem. Dosáhlo se sice velmi zajímavých výsledků, ale přitom jednotlivé úspěšné pokusy jsou provázeny desítkami a stovkami pokusů neúspěšných, i když bylo použito týchž metod; jinými slovy řečeno, výsledky nejsou plně reprodukovatelné. To znamená, že doposud se nedosáhlo přesných znalostí o všech nezbytných podmínkách, bez nichž nemůže dojít ke splnutí gamet. Proto je nutno všestranně a pečlivě zkoumat složení, vlastnosti a fyziologické působení a zákonnitost při změnách tekutin obsažených v pohlavních cestách samic, kde se pohybují spermie, gamety a zygoty a kde probíhá oplozování a vývoj zárodku.

Přistoupili jsme ke zkoumání chemického složení a fyzikálních vlastností tekutin v různých částech pohlavních cest samic v souvislosti se změnami jejich fyziologického stavu. Zvláštní pozornost jsme věnovali především objasnění lokalizace, změn a významu karotenoidů, vápníku, bílkovin a redukujících látek.

Výzkumům nejméně dostupná je tekutina vejcovodu. Pomocí dočasných ligatur nebo déle trvajícím katetrováním se nám u králícih vejcovodů podařilo získat dostatečné množství tekutiny k rozborům. Ukázalo se, že tekutina vejcovodu je někdy schopna hromadit vyšší koncentrace vápníku než krev (do 21 mg %). Při zkoumání rozdělení vápníku ve vaječnících, peritoneální tekutině a v pohlavních cestách ovcí (pokus S. M. R o m b e h o) za použití značeného vápníku se zjistilo, že nejméně vápníku bylo ve vaječniku — 6 impulsů za minutu, poněkud více v děloze — 9 impulsů, téměř třikrát více ve vejcovodu — 15 impulsů a ještě více v peritoneální tekutině. Radioautografickou metodou bylo zkoumáno rozdělení vápníku ve vaječniku ovce a histochemickou metodou jeho lokalizace ve vaječnících, vajíčcích ve vejcovodu a v zygotách králíc. Zjistilo se, že korová vrstva vaječniku je bohatší na vápník než dřevná; zvláště mnoho je vápníku v ovogoniích a ovocytech. Velké množství vápníku je obsaženo v těle vajíčka a v dělicích se zygotách. Mnohem méně vápníku je ve folikulárních buňkách neoplozených vajíček a v mucinovém obalu vajíčka a zygot. Tyto údaje odpovídají výše uvedeným poznatkům o významu koncentrace vápníku v organismu v okamžiku oplození. Pokusy zaměřené na výzkum rozdělení vápníku a jeho významu při procesech oplození pokračují.

Při zkoumání výsledků histochemické reakce tkání vejcovodu, vaječníků a zygot králíc na mucin a za použití značené síry (S^{35}), kterou jsme aplikovali králícih v různé době ve vztahu k ovulaci, jsme zjistili spolu s A. L. P a d u č e v o u, že síra, zavedená do organismu zvířete ve formě metionimu, cystinu nebo sulfátu, se vřazuje do vyměšujících buněk vejcovodu a do mucinového obalu zygot. To

svědčí o tom, že syntézy mucinu se účastní síra obsažená jak v organických, tak i anorganických sloučeninách. Síra se rozděluje ve vejcovodu a v mucinovém obalu podle doby zapravení přípravku (ve vztahu k ovulaci). Při aplikaci před ovulací se síra lokalizuje převážně ve vnitřních vrstvách mucinového obalu, zatím co síra aplikovaná po ovulaci ve vnějších vrstvách. To svědčí o tom, že mucinový obal vzniká z tekutiny vyměšované stěnami vejcovodu. Jestliže se obal začíná navrstvovat na zygotu před zavedením síry do organismu, neobsahují její vnitřní vrstvy síru nebo jen malé množství. Síra se zařazuje převážně do mladších zevních vrstev obalu (mucinový obal zygoty králíka je mnohovrstevný a zvětšuje se po dobu tří dnů v době pohybu zygot vejcovodem). Jestliže se obal začal navrstvovat po zavedení síry, jsou stopy této látky zjištěitelné především ve vnitřních vrstvách; jejich koncentrace se zmenšuje k obvodu. Nerovnoměrnost v rozdělení síry ukazuje na to, že v mucinovém obalu je nepatrná difuze sloučenin obsahujících síru.

Zjistili jsme, že v průzračné bláně perivitelliního prostoru a v dělicích se zygotách nebyly ani stopy radioaktivní síry, jestliže byla síra aplikována těsně před ovulací nebo po ní. Tato skutečnost svědčí o tom, že v prvních etapách vývoje zygoty, které nejsou ještě provázeny hromaděním organické látky, jsou její požadavky uspokojovány ze zásoby anorganických a důležitějších organických sloučenin obsahujících síru, nahromaděných ovocytem ještě ve folikulu.

Pokusy s oplozením mimo organismus a histochemickou analýzou jsme prokázali velký význam hyaluronidázy při splývání gamet. Zjistili jsme lokalizaci substrátu, na nějž působí hyaluronidáza ve folikulu a v samotném vajíčku. Objevíli jsme, že hyaluronidáza spermií se neúčastní pouze rozrušení vrstvy folikulárních buněk (*corona radiata*), nakypření průzračné blány, ale i dozrávání vajíčka, přičemž napomáhá vyloučení druhého polárního tělíska po vniknutí spermie do těla vajíčka. Přitom probíhá částečná depolymerizace tenké hyaluronové sítky, která je jasně viditelná v ovogoniích a ovocytech prvního řádu. V okamžiku splývání jader reakce na hyaluronovou kyselinu znatelně slábne a zesiluje znovu teprve v blastomerech při dělení. V průzračné bláně ovocytů a ovogonií prvního řádu je kyselina hyaluronová v polymerním stavu, ale je téměř úplně depolymerizována v zygotě po oplození.

V děložní tekutině prasnic a krav byl nalezen ferment mucináza, který depolymerizuje muciny. Komplexní přípravek obsahující tento ferment působí na vazké substráty organismu, které obsahují mukoin-sírovou kyselinu (např. cervikální výměšek krav), částečně působí na složité muciny, jako je například výměšek Cowperových žláz kance a vůbec nepůsobí na substráty, jejichž vazkost závisí pouze na hyaluronové kyselině (slizký výměšek semene hřebce, mezibuněčná látka pokožky aj.). Fermentu mucinázy jsme použili prakticky při přípravě implementorů (media, obsahující fyziologicky aktivní látky podporující oplození). Media obsahující fermenty se v SSSR vyrábějí v průmyslovém měřítku ve formě suchých hoto-vých preparátů, které se používají ve stanicích umělého osemenování k ředění semene býků a beranů.

Vzhledem k velkému fyziologickému významu děložního krčku u přežvýkavců jsme se rozhodli zkoumat chemické složení a fyzikální vlastnosti obsahu krčku a jeho změn, které souvisejí se změnami fyziologického stavu krav. Při výzkumech, které jsme uskutečnili společně s kolektivem mladých vědců (L. N. G o r o c h o v, S. V. D e n i s o v a, L. P. D r o z d o v a, E. N. S m i r n o v, J. L. M a k s i m o v, V. G. S e m a k o v, V. A. K u r g a n o v), jsme zjistili zákonité změny ve složení a fyzikálních vlastnostech cervikálních výměšků. Z výsledků spektrofotometrické analýzy při použití přístroje SF-2 a z chemické analýzy za použití klasických metodik (Kjeldahl, Hagerdorn a Jensen, De-Waard aj.) jsme odvodili, že cervi-

kální výměšek obsahuje průměrně 520 mg% dusíku (od 240 do 1720 mg%), 35,8 mg% redukujících látek (od 14 do 74 mg%) včetně 27,3 mg% zkvasitelných cukrů (od 6,5 do 67 mg%) a 8–10 mg% vápníku. Specifická váha výměšku činí v průměru 1,014.

Při srovnání příslušných ukazatelů s aktuálním fyziologickým stavem krav se však ukázalo, že v koncentraci zkoumaných látek v cervikálním výměšku krav jsou velké rozdíly v obdobích říje a březosti (tab. I).

I. Fyzikálně chemická charakteristika cervikálního výměšku krav v období říje a březosti

Fyziol. krav	Fyzik. chem. ukazatele (průměr)	Koncentrace mg%				
		celk. dusíku	redukujících látek	zkvas. cukrů	vápníku	spec. váha
Nebřezí		172 (28–418)	20,9 (13,8–30,0)	15,7 (6,5–21,7)	11,6 (4–25)	1,006
Z nich v říji		126 (28–270)	16,3 (14,6–20,8)	10,9 (6,5–15,6)	8 (4,5–10,8)	1,005
Březí		746 (246–1724)	47,4 (25,174,0)	37,0 (10,5–66,8)	15,4 (7,2–37,2)	1,016
Všechny krávy bez dělení na skupiny		520 (28–1724)	35,8 (13,8–74,0)	27,3 (6,5–66,8)	10,0 (4–37,6)	1,014

Z tabulky I. je zřejmé, že u krav v říji činí koncentrace dusíku v cervikálním výměšku jednu šestinu množství u březích krav (126 mg% proti 746 mg%) a je o 29 % menší než u nebřezích krav, které však nejsou v říji (126 mg% proti 172 mg%). Koncentrace redukujících látek činí u krav v říji asi jednu třetinu množství zjistitelného u březích krav (16,3 mg% proti 47,4 mg%) a je o 20 % menší než u nebřezích krav, které neprojevují příznaky říje (16,3 mg% proti 20,9 mg%). Koncentrace zkvasitelných cukrů je u krav v říji 3,5krát menší než u březích (10,9 mg% proti 37 mg%) a o 40 % menší než u nebřezích a neříjících se krav. Pokud jde o koncentraci vápníku ve výměšku, jsou mezi skupinami krav menší rozdíly. Specifická váha cervikálního výměšku je u krav v říji mnohem menší než u březích krav (1,005 proti 1,016). Byla zjištěna zřetelná závislost specifické váhy cervikálního výměšku na koncentraci obsaženého dusíku a redukujících látek, zvláště zkvasitelných cukrů (tab. II).

II. Závislost mezi specifickou vahou cervikálního výměšku a obsahem dusíku a redukujících látek

Název látky	Koncentrace látek (mg%)	Specifická váha				
		1,001 – 1,005	1,006 – 1,010	1,011 – 1,015	1,016 – 1,020	1,021 – a výše
Dusík		153	288	538	783	957
Redukující látky		19,0	25,5	31,7	42,5	57,8
Včetně zkvasitelných cukrů		11,8	18,5	22,8	31,2	45,5

Stanovení těchto závislostí umožnilo vyslovit závěr, že změny specifické váhy cervikálního výměšku, nastávající při výměně pohlavní a mateřské dominanty (v době říje a březosti), souvisejí se změnami koncentrace bílkovin a cukrů, zatím co ostatní redukující látky a vápník nemají podstatnější vliv.

Tyto údaje nám umožnily posuzovat začátek březosti v prvních třech týdnech po osemnění podle specifické váhy cervikálního výměšku. Použití tohoto testu v hospodářstvích čtyř oblastí u několika stovek krav dalo zcela uspokojivé výsledky (v průměru 85 % správných diagnóz), ověřené rektálním vyšetřením a otelením. Speciální zkoumání příčin možných chyb (kromě metodických) při stanovení březosti v praxi ukázalo, že nebřezí krávy mohou být mylně považovány za březí, jestliže se v jejich vaječnících vyskytují persistující žlutá tělíska nebo cysty. Folikuly dozrávající ve vaječníku březích krav mohou někdy (velmi vzácně) vyvolat změny konzistence cervikálního výměšku, takže březí krávy se mohou chovat v tomto směru jako nebřezí. Tak tomu bývá zpravidla ve druhé polovině březosti, kdy již není třeba používat metod časné diagnostiky. Ve zdravých stádech je tato metoda velmi efektivní. Změny v obsahu bílkovin a cukrů v cervikálním výměšku zřejmě podmiňují i efektivnost metod stanovení březosti, která navrhl I. K a t e r i n o v v Bulharsku (zkoušky se zásadou a zkoušky na vysrážení) koagulaci albuminů. Analýza změn v obsahu dusíku, cukrů a specifické váhy cervikálního výměšku u těchto krav v těchto vzorcích během dlouhé doby ukázala, že u normálních březích krav tyto ukazatele od oplození do 236. dne březosti sice značně kolísají, ale nepřekročí mezí hodnoty charakteristické pro mucin březích krav. U některých krav se za 45–70 dní po osemnění projevil náhlý pokles koncentrace dusíku a cukru i specifické váhy; v následujících dnech byly tyto krávy znovu v říji a byly opět osemněny. V těchto případech lze odůvodněně předpokládat, že poprvé došlo k oplození a po něm k uhynutí plodu. U některých krav klesla specifická váha 16.–18. dne po osemnění na dřívější úroveň a krávy byly znovu v říji, tzn. že nebyly předtím oplozeny.

Věnovali jsme rovněž pozornost různým formám krystalizace cervikálního výměšku, které popsal P a p n i c o l a u a jiní autoři. Naše údaje potvrdily poměrně značný stupeň závislosti forem krystalizace výměšku na fyziologickém stavu krav. Například u krav v říji bylo možno vidět na vysušených nátěrech výměšku převážně krystalické útvary kapradinovitého tvaru, zatím co u březích krav bylo na větší části nátěru viditelné místo krystalů struktury složené ze silných vláken. V prvních desíti dnech březosti jsme na nátěrech zjišťovali převládání drobných větevnatých struktur. Příčiny těchto rozdílů jsme analyzovali. Vycházeli jsme z našich údajů o zákonitém zvětšování obsahu bílkovin v cervikálním výměšku po zabřeznutí. Předpokládali jsme, že změny ve formách krystalizace souvisejí se změnami v obsahu bílkovin v cervikálním mucinu. K prověření tohoto předpokladu jsme připravili umělé modely cervikálního výměšku z roztoků bílkovin (želatina, mucin Cowperových žláz kance) s chloridem sodným. Ne těchto modelech se nám podařilo prokázat, že formy krystalizace závisejí na koncentraci bílkovin v přípravku a že nesouvisejí se změnami koncentrace chloridu sodného. Volbou určitých koncentrací želatiny nebo mucinu v mediu jsme dosti přesně reprodukovali formy krystalizace, charakteristické pro cervikální výměšek nebřezích a březích krav.

Výzkum významu karoténu a karotinoidů v pohlavních cestách a vyvíjejících se organismech je doposud v začátcích. Velmi zajímavé údaje, které mohou mít širší význam, získal při studiu nižších obratlovců na katedře ichtyologie Moskevské státní university S. G. S o i n, který prokázal zřetelnou závislost stupně karotinoidní pigmentace jiker kety na stupni vývoje respiračního cévního systému na žloutko-

vém vaku vyvíjejících se zárodků. Z toho lze vyvodit předpoklad o prvořadém významu karotinoidů v respiračních procesech.

Poněkud zvláštní místo zaujímá otázka, týkající se rychlosti a způsobů pohybu spermií k místu oplození. Při pozorování speciální termostatickou průhlednou kamerou, kterou jsme přikládali na otevřenou břišní dutinu oplozovaných zvířat (králíc) jsme viděli, že zavedení semene smíšeného s tuší do děložního krčku vyvolalo pomalé rytmické pohyby celého orgánu zprava doleva a naopak a systematické smršťování a uvolňování svalstva dělohy, projevující se po celé její délce. Veškerá tekutina uvnitř dělohy, dobře viditelná stěnami v důsledku příměsi tuše, se za několik minut zcela promísila, přičemž se střídaly přísavné pohyby s odpuzujícími. Bylo jasně viditelné, že dávky semene, které již dostihly vejcovodu, se znovu částečně objevily ve střední nebo koncové poševní části dělohy a dalšími stahy se dostávaly k otvorům vejcovodů nové dávky semene. Po zavedení semene s přípravky oxytocinového účinku (syntetický oxytocin, pituitrin, R a M aj.) se značně urychlil pohyb tekutiny v děloze. Tyto pokusy znovu ukázaly, že spermie se dostávají k otvorům vejcovodů spolu s děložní tekutinou, takže vlastní pohyby spermií v děloze jsou prakticky bezvýznamné. Podle návrhu akademika V. K. Milovanova na zavádění přípravky oxytocinového účinku do ředidel semene jsme připravili implementory s přípravky oxytocinového účinku. S dobrým výsledkem je při osemenování krav (údaje z opakovaných osemenění) vyzkoušeli J. N. Gorochov a Stefkín. Zvláště dobrý výsledek byl získán při osemenování krav koncem zimy (únor), kdy u četných zvířat byly zjištěny příznaky atonie dělohy. Oplozovatelnost krav se zvýšila dvojnásobně (ze 30 na 62 %) po jednom osemenění během jedné říje.

Dobu, za kterou spermie dosáhnou místa oplození, jsme zjišťovali dvěma způsoby:

1. Dobu potřebnou k dosažení vejcovodů spermiemi jsme ohraničili podvázáním vejcovodů v různých lhůtách po osemenění a výsledky pokusu jsme odvozovali z procenta oplozených vajíček, získaných z vejcovodů za 24–48 hodin.

2. Různé části pohlavních cest samic jsme promývali solným roztokem a zjišťovali jsme počet spermií, které jsme tam nenalezli v různé době po oplození. U každé samice jsme jeden vejcovod podvazovali u děložního konce a druhý jsme nechávali volný pro kontrolu. Výsledek pokusu je uveden v tabulce III.

III. Doba, za kterou spermie dosáhnou vejcovodů

Doba, za kterou spermie dosáhnou vejcovodů (v hodinách)	Počet			
	vejcovodů	odkrytých folikulů ve vaječnících	vajíček	zygot
0,25 – 2,5	12	37	37	0
3 – 4	6	29	2	27
10–12, tj. od osemenění do ovulace	18	53	3	50
Celkem	36	119	42	77

Z tabulky III. je vidět, že po omezení doby potřebné k dosažení vejcovodů spermiemi na dvě hodiny nebylo ze 37 vajíček z podvázaných vejcovodů oplozeno

ani jedno. Při omezení této doby na 3—4 hodiny byla téměř všechna vajíčka (27 z 29) oplozena stejně jako v kontrole (bez omezení doby), kde bylo oplozeno 50 z 53 vajíček. Bylo tedy zapotřebí nejméně dvě a půl hodiny k tomu, aby dostatečný počet spermií se dostal z dělohy do vejcovodu a dosáhl nálevkovitého rozšíření vejcovodu.

Při zjišťování počtu spermií v různých částech pohlavních cest králíc v různé době po osemenění se zjistilo, že během 10 hodin dochází k postupnému poklesu počtu pohyblivých spermií v pochvě; v děložním krčku a v děloze se jejich počet málo mění. Naproti tomu ve vejcovodu lze za půl až dvě hodiny nalézt jen jednotlivé spermie; za dvě a půl až tři hodiny se jejich počet zvětšuje a v nálevkovité rozšíření vejcovodu je lze nalézt asi za 6 hodin po osemenění. Poté jejich počet ve vejcovodu začíná klesat.

Všechna tato fakta dovolují vyslovit závěr, že spermie po rychlém dosažení rourovité části dělohy nepostupují v celistvém proudu do vejcovodů, nýbrž dostávají se tam v malých dávkách v důsledku regulujícího působení tzv. žlábků dělohy. K přemísťování spermií podél vejcovodu dochází hlavně díky jejich vlastnímu pohybu; protože spermie se pohybují pomalu přímočaře, potřebují k dosažení místa oplození dosti času. Značná časová vzdálenost mezi objevením se spermií v tzv. žlábků dělohy a dosažením počátečního oddílu vejcovodu (u nálevkovité rozšíření) může být vysvětlena zvláštnostmi způsobu postupů spermií z dělohy do vejcovodu a způsobuje jejich přemísťování podél vejcovodu. V této souvislosti zaslňuje zvláštní pozornosti výzkum fyziologie tzv. děložního žlábků. U každého druhu se projevují specifické anatomické a fyziologické vlastnosti tohoto úseku pohlavních cest. Například naše pokusy o nalití solného (nebo cukerného) roztoku do vejcovodů myši dělohou byly neúspěšné, ačkoliv tekutina měla značný tlak. Děloha byla přeplněna tekutinou, neboť její objem se několikanásobně zvětšil, ale tekutina nepronikla do vejcovodů. Histologický výzkum děložního žlábků u těchto zvířat ukázal, že na tomto místě je trojkřídla chlopeň, automaticky uzavírací nebo otevírací vchod do vejcovodů. Králíce ani prasnice nemají takové anatomické přizpůsobení; přesto však u nich probíhá zřejmě fyziologické regulování postupu spermií do vejcovodů, a to doposud ne dost dobře známým způsobem.

Souhrn

1. Rozbor výsledků 15 000 osemenění krav v pěti oblastech SSSR za řadu let ukázal zákonité vztahy mezi reprodukcí a sezónními faktory a velké možnosti pro další urychlení reprodukce ovlivňováním vnějšími podmínkami.

2. Pokusy věnované studiu účinku syntetických přípravků vitamínu A, hormonů oxytocinového účinku a vápníku prokázaly vysokou efektivnost při jejich používání k urychlení reprodukce prasnic a krav.

3. Výzkumy zaměřené na studium složení, biologických a fyzikálně chemických vlastností tekutin v pohlavních cestách samic prokázaly velký význam studia vnitřních podmínek oplození a doprovodných procesů. Byly získány údaje o velkém významu sloučenin síry, vápníku, karoténu, dusíku, redukujících látek a některých fermentů při oplozování a vývoji a ukázány možnosti praktického využití těchto údajů. Je uveden experimentální rozbor příčin rozdílů ve formě krystalizace cervikálního výměšku.

Došlo dne 15. 2. 1961.

Новые советские исследования в области оплодотворения сельскохозяйственных животных

1. Анализ результатов 15 000 осеменений коров в пяти областях СССР в течение ряда лет указал на закономерные соотношения между воспроизводством и сезонными факторами и на большие возможности дальнейшего ускорения воспроизводства путем воздействия внешними условиями.

2. При опытах, посвященных изучению действия синтетических препаратов витамина А, гормонов окситоцинового действия и кальция, была доказана высокая эффективность их применения с целью ускорения воспроизводства стад свиноматок и коров.

3. Научные исследования, нацеленные на изучение состава, биологических и физико-химических свойств жидкостей в половых органах самок, доказали большое значение изучения внутренних условий оплодотворения и сопутствующих ему процессов. Далее, были получены данные о большом значении соединений серы, кальция, каротина, азота, редуцирующих веществ и некоторых ферментов при оплодотворении и развитии и указано на возможность практического использования этих данных. В конце приводится экспериментальный анализ причин различий в форме кристаллизации мазков из выделений шейки матки.

Neue sowjetische Forschungen auf dem Gebiete der Befruchtung landwirtschaftlicher Nutztiere

1. Analysen der Resultate von 15.000 Besamungen von Kühen in 5 geographischen Zonen der UdSSR im Verlaufe einer Reihe von Jahren bewiesen bestimmte Gesetzmäßigkeiten in den Beziehungen zwischen der Reproduktion und den jahreszeitlichen Faktoren, sowie große Möglichkeiten zur weiteren Steigerung des Tempos der Reproduktion durch Ausnützung des Einflusses der äußeren Bedingungen.

2. Versuche zur Klärung der Wirkung der synthetischen Präparate des A Vitamins sowie von Hormonen mit Oxytocinwirkung und von Kalzium zeigten einen hohen Effekt ihrer Anwendung zum Zwecke einer Erhöhung des Reproduktionstempos bei Sauen und Kühen.

3. Versuche zum Studium der Zusammensetzung und der biologischen, als auch physikalisch-chemischen Eigenschaften der Flüssigkeit in den Geschlechtswegen erbrachten den Beweis der großen Bedeutung des Studiums der inneren Befruchtungsbedingungen, sowie der sie begleitenden Prozesse.

Es wurden Angaben von der Wichtigkeit von Schwefel-, Kalzium, Karotin- und Stickstoffverbindungen, sowie von Reduktionsstoffen und einigen Fermenten für die Prozesse der Befruchtung und Entwicklung gewonnen und auf die Möglichkeiten der praktischen Ausbeutung dieser Erkenntnisse hingewiesen. Schließlich wurden die Ergebnisse der Untersuchungen der Unterschiede in den Formen der Kristallisation von Ausstrichen des cervikalen Sekrete behandelt.

Les nouvelles recherches soviétiques quant à la fécondation des animaux domestiques

1. L'analyse des résultats de 15.000 inseminations artificielles des vaches dans 5 régions de l'UdRSS durant quelques années a démontré des relations réglementaires entre la reproduction et les facteurs dû aux saisons et des grandes possibilités pour une accélération ultérieure de la reproduction par une modification des conditions extérieures.

2. Les expériences consacrées à l'étude des préparations du vitamine A synthétique, des hormones avec activité oxytocique et du calcium ont prouvés leur haute effectivité, si elles sont employées pour accélérer la reproduction des truies et vaches.

3. Les recherches dirigés vers l'étude de la composition et des qualités biologiques et physico-chimiques des liquides dans les voies génitales des femelles ont prouvés la grande importance des études des conditions internes de la fécondation et des procès accompagnants. On a gagné des données de la grande importance des compositions de soufre, calcium, carotène, nitrogène, des matières réduisantes et de quelques ferments pendant la fécondation et l'évolution et ont démontré les possibilités de l'application pratique de ces données. On donne l'analyse expérimentale des causes des différences de la cristallisation des frottis de la sécrétion cervicale.

Výzkum účinku nervového systému na dělohu u skotu

Исследование влияния нервной системы на матку крупного рогатого скота

Untersuchungen über den Einfluß des Nervensystems auf den Rinderuterus

L'étude de l'influence du système nerveux sur la matrice des vaches

F. DÖCKE

Ústav pro plemenářský výzkum v Dummerdoru NAZV v Berlíně

Úvod

Celé dějiny medicíny a tím také dějiny fyziologie je možno rozdělit do časových úseků, v nichž vždy dominovala určitá myšlenka nebo určitý směr výzkumu. Nyní panuje — aspoň v západní hemisféře — století hormonů. To se projevuje v počtu prací publikovaných o tomto odvětví a v dosud dosaženém pokroku. Jak významná je tato koncentrace výzkumných prací na jedné straně, tak chová v sobě i nebezpečí na straně druhé. Vzniká totiž snadno tendence, uvažovat o všech fyziologických a patologických procesech jen z tohoto jediného hlediska, čímž snadno můžeme dojít k nesprávným závěrům. Ve fyziologii jde přece vždy o komplexní děje, jichž se zúčastňuje nejen jeden tělesný systém, nýbrž velmi mnoho systémů, většinou všechny. To se týká také fyziologie rozmnožování. Zde jsou to dva velké, přesně neohraničitelné systémy, řídící společně procesy rozmnožování: endokrinní a vegetativní nervový systém. Na druhý z obou těchto systémů chtěl bych dnes upoutat vaši pozornost a to z těchto dvou důvodů:

Za prvé: Protože se vegetativní nervový systém neřadí ve svém významu pro rozmnožování za systémem hormonálním, nýbrž vedle něho, takže vyžaduje stejné pozornosti. Zatím co hormony řídí procesy rozmnožování dlouhodobě, je nervový systém určen hlavně k tomu, aby tělo přizpůsobil náhle se vyskytujícím změnám vnějšího nebo vnitřního prostředí.

Za druhé: Právě nervové procesy, které lze jen nesnadno exaktně zachycovat, dávají velmi snadno podnět k neodůvodněným úvahám a nesprávným výkladům. Proto na ně dosud někteří vědečtí pracovníci — a to lze klidně tvrdit — pohlížejí jako na nepodstatné a nevědecké. Proto je nutné právě na tomto úseku hledat pomocí exaktního výzkumu metody, které by umožnily odhalovat dosud ještě příliš málo známé vztahy mezi nervovými a ostatními funkcemi těla.

Vlastní výzkum

Zmínil jsem se již o tom, že okruhy funkcí endokrinního a nervového systému při procesech rozmnožování nelze přesně ohraničit. Nejzřetelnější se překrývají

v hypothalamu ležícím v mezimozku. Velmi podrobnými výzkumy z posledních desetiletí bylo zjištěno, že v tomto místě leží tzv. sexuální centrum. Toto nervové centrum je vodivým místem pro všechny sexuální procesy hormonální a nervové povahy. Přijímá své podněty jak z vnějšího prostředí — a to přes velký mozek — tak z prostředí vnitřního po hormonálních a nervových cestách. Na druhé straně předává podněty mozku, přednímu a zadnímu laloku hypofýzy a vegetativnímu nervovému systému, tj. reguluje vylučování gonadotropinů a tím hormonální řízení rozmnožování, vylučování oxytocinu, významného pro pohyblivost dělohy a pro laktaci a konečně řídí přes velký mozek a vegetativní nervový systém též nervové děje, projevující se u samice zvláště pokud jde o její chování v době říje a páření. Rozhodující význam hypothalamu pro sexuální procesy byl odhalen tím, že poruchy onemocnění nebo nádory v této oblasti byly zpravidla spojeny s poruchami ve sféře rozmnožování. Nejznámějšími se staly hypogonadismus a na druhé straně hypothalamická forma *pubertas praecox* u člověka, pro kterou uvádí literatura četné příklady. Dalším vodítkem byla pozorování o závislosti sexuálních cyklů četných zvířat na ročním období. Tuto skutečnost bychom mohli jen ztěžší vysvětlit, kdybychom nepohlíželi na nervový systém jako na zprostředkovatele mezi prostředím a endokrinním systémem. Za zprostředkovatele mezi hypothalamem a adeno- i neurohypofýzou považujeme dnes tzv. neurosekrety. Jsou to látky vylučované neurony hypothalamu a cestou krve nebo podél neuronových výběžků přiváděné k hypofýze. Pro oxytocin a vasopressin platí od dob výzkumů Bargmanna, Scharrer, Spatze aj. za prokázáno, že se neurosekret vytváří v *Nuclei supraoptici* a *paraventriculares hypothalami*, že se přivádí k zadnímu laloku hypofýzy před *Tractus supraoptico-hypophyseus* a že se tam ukládá jen do zásoby.

Pokud jde o spojení k přednímu laloku hypofýzy nejsou názory dosud dostatečně zdůvodněné. Pravděpodobně je neurohumorální hmota, tvořící se v oddílu hypothalamu blízkém hypofýze, přiváděna přes vrátnicový systém — tedy do velkého oběhu — k adenohypofýze, kde řídí sekreci a výdej gonadotropinů.

Účinky této neurohumorální látky je možno napodobit jak adrenalinem, tak i acetylcholinem. Proto lze předpokládat adrenergickou a cholinergickou složku. V převládání jedné z obou těchto složek spočívají snad rozdíly mezi druhy zvířat, k čemuž se ještě vrátíme.

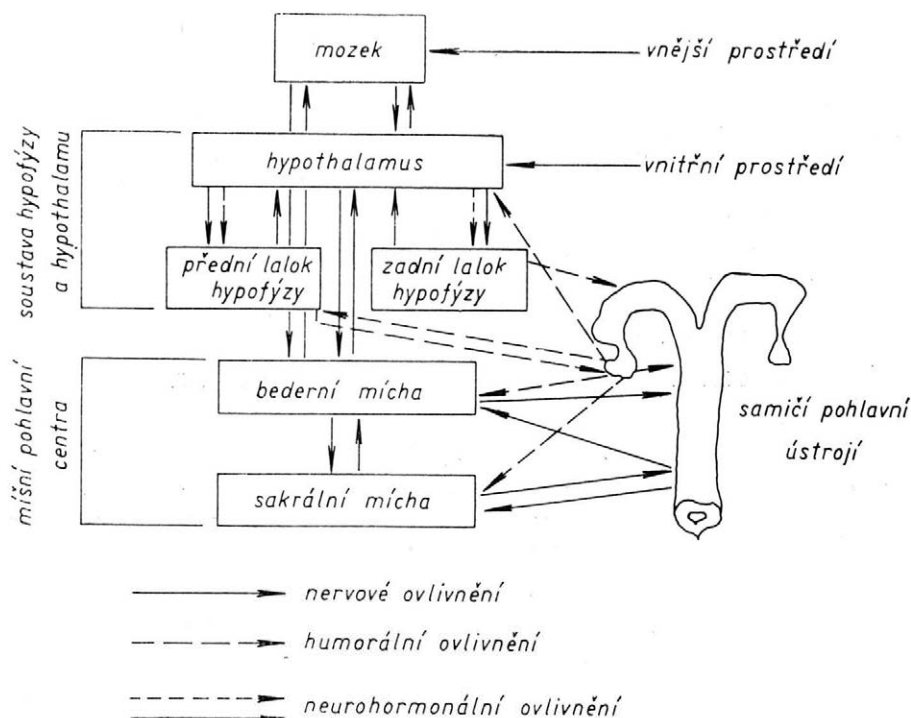
Kromě regulace vylučování oxytocinu a gonadotropinů je hypothalamus též centrem, které řídí chování se samice v říji. Clegg a jeho spolupracovníci (1958) zjistili, že po poškozeních (*laesio*) v předním hypothalamu u ovce probíhá vylučování gonadotropinů z části normálně, že však příznaky říje byly vždy tlumeny. Podobných výsledků dosáhli jiní badatelé u koček a morčat. Po rozrušení určitých míst v hypothalamu se ani injekcemi gonadotropinů nebo ovariálních hormonů nepodařilo vyvolat příznaky typické pro říji.

Nakonec se zmíníme o vztazích mezi hypothalamem a sexuálními centry ležícími v míše. Povzbuzením těchto center stimulací pohlavních orgánů lze podráždění přes malý reflexní oblouk vést přímo zpět k těmto orgánům, kde způsobují např. erekci poševníku a také stahy dělohy. Při dostatečném hromadění se tato podráždění převádějí též k hypothalamu, při jehož vzruchu pak dochází k vyloučení neurosekretů s popsánými účinky. Také u spinálních sexuálních center existuje úzké spojení k endokrinnímu systému, neboť estrogeny senzibilizují a gestageny desenzibilizují tato centra.

Dosud známé vztahy mezi hypothalamem na jedné straně a nervovými a hormonálními mechanismy, zúčastněnými na rozmnožovací činnosti samice na straně druhé, znázorníme ještě jednou schematicky (obr. 1).

Po stručném přehledu nervových mechanismů, které se zúčastňují reakcí při páření u samice, pojednám nyní o vlastních výzkumech zabývajících se vlivem nervového systému na genitální trakt samice u skotu.

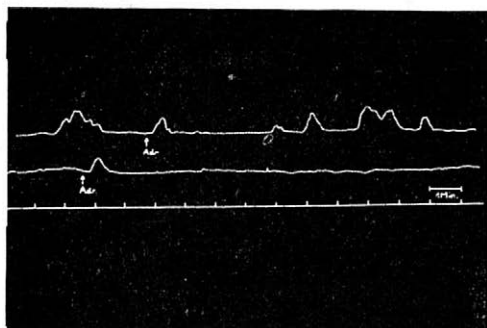
Jako kritéria reakce genitálního traktu a také celého zvířete byly použity stahy dělohy. Tyto stahy jsou řízeny jak hormonálně, tak nervově a jsou podle Schillinga (1953) „jako dílčí proces v rámci děje rozmnožování úzce závislé na obecném fyziologickém rozpoložení celého těla“.



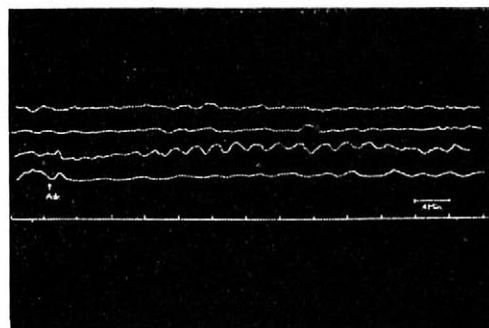
Pohyblivost dělohy u živého zvířete jsme zjišťovali pomocí malého, děložním krčkem zaváděného gumového balónku fixovaného ve výši bifurkace. V různých pokusech byly zaváděny dva balónky, aby bylo možno registrovat současně aktivitu v děložním rohu a děložním těle a určovat směr kontrakčních vln probíhajících v děloze. Balónky byly pomocí katétru a tlustostěnnou gumovou hadicí, do níž byl zapojen třicestný kohoutek a vodní manometr, spojeny s registrační páčkou kymografu. Po naplnění celého systému vodou registroval kymograf kolísání tlaku v dutině dělohy, a to v souvislé křivce. Vodivé látky vegetativního nervového systému jsou adrenalin popřípadě noradrenalin pro sympatický, nebo lépe řečeno adrenergický podíl a acetylcholin pro parasympatický, lépe řečeno cholinergický podíl. Injekcí těchto látek je tedy možné reprodukovat účinek vegetativního nervového systému.

Adrenalin, přenašeč adrenergického nervového systému, způsobuje u dělohy skotu v podstatě dvoufázovou reakci, složenou z krátké počáteční kontrakce s následující delší zábranou. Podle dosud zastávaných názorů má být tato reakce v říji

a po ní jednofázová, při čemž odpadá počáteční kontrakce a zůstává jen zábrana motility. V diestru (období mezi dvěma říjemi) má naproti tomu převládat motorický účinek adrenalinu. Ve vlastních velmi početných výzkumech jsem to však nemohl prokázat (obr. 2). I při velmi malých dávkách (150 mg i. v.), jakož i při rychlé infuzi pomocí trvale kapacího přístroje — k zamezení případné reakce na vpich kanyly — dostavila se ve všech stádiích cyklu počáteční koncentrace. Totéž se ukázalo při injekci adrenalinu skotu po kastraci a předběžné aplikaci estrogenů a progesteronu. Z toho je třeba usuzovat, že účinek adrenalinu a tím



Obr. 2.

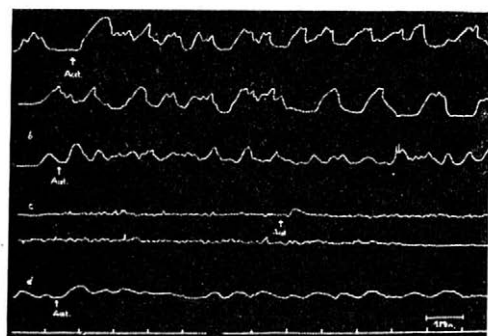


Obr. 5.

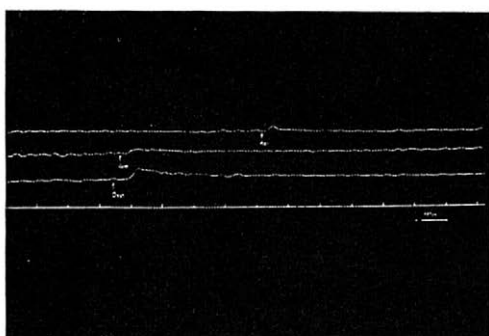
též adrenergického nervového systému na pohyblivost dělohy závisí méně na hladině ovariálních hormonů, než se dosud předpokládalo. Závisí však na jiném činiteli. Při depozici jednoho gumového balónku ve vzdálenosti asi 10 cm od děložního rohu a druhého balónku v děložním těle a registraci kolísání tlaku vyskytujících se v těchto dvou oddílech byla ve všech stádiích cyklu zjištěna zesílená aktivita v děložním rohu a tlumená pohyblivost v děložním těle (obr. 5).

Z toho lze soudit, že adrenalin nezávisle na hladině ovariálních hormonů zesiluje aktivitu v děložním rohu, avšak snižuje ji v děložním těle, takže dochází k posunu směrem od vejcovodů k děložnímu krčku. O tom později ještě pojednáme blíže.

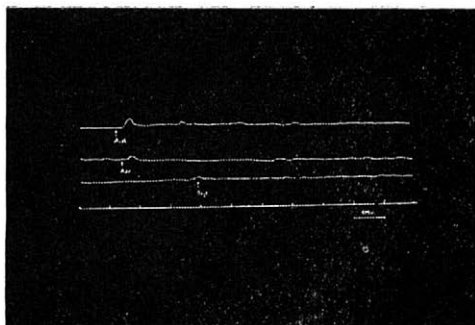
Účinek acetylcholinu na pohyblivost dělohy je ve všech fázích cyklu stimulační (obr. 6). Na počáteční zřetelné zvýšení tonu následují pozvolna se zvyšující kontrakce se zvýšenou frekvencí. Intenzita této reakce byla potud zá-



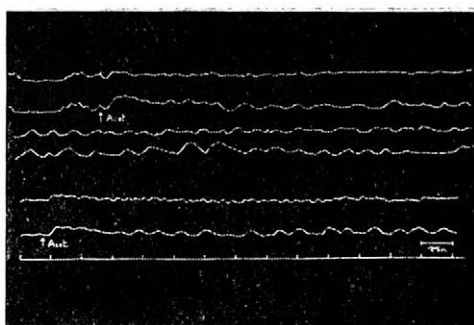
Obr. 6.



Obr. 3.



Obr. 4.

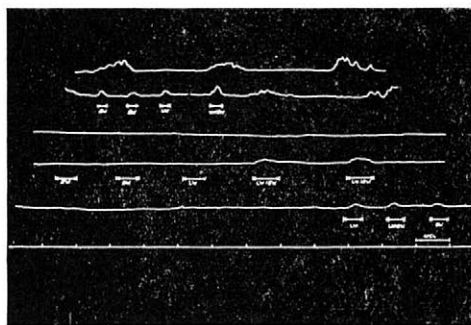


Obr. 7.

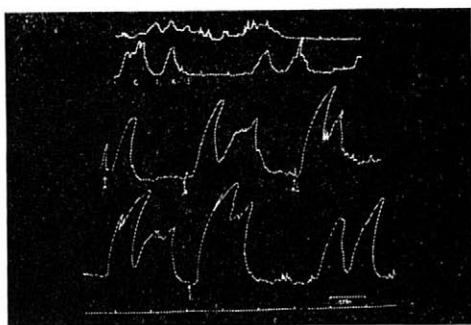
vislá na stadiu cyklu tak, že se v diestru projevila zřetelně slaběji než v proestru, estru nebo postestru. U oxytocinu naproti tomu, jehož účinek na dělohu je podobný, se ve fázi žlutého tělíska nevyskytuje žádná reakce. Také u kastrovaneho skotu po předběžné aplikaci progesteronu se acetylcholinem — na rozdíl od oxytocinu — dosahuje stimulace pohyblivosti u dělohy (obr. 3, 4). Lze tedy předpokládat, že estrogeny ve vztahu k účinku acetylcholinu vykonávají funkci přípravnou tím, že zvyšují kontraktibilitu myometriových buněk. Při použití 2 balónků se ukázalo, že účinek acetylcholinu je protichůdný účinku adrenalinu (obr. 7). Ve všech stádiích cyklu dochází k zábranám v děložním rohu a k zesílení stahů v *Corpus uteri*, takže vzniká posun od krčku směrem k vejcovodům.

K dalšímu zjištění, v jaké míře závisí účinek vegetativního systému na hladině ovariálních hormonů, bylo provedeno elektrické podráždění rozličných segmentů míchy. U skotu narkotizovaného chlorhydrátem byla do konečníku zaváděna bipolární elektroda, jaké se používá pro elektroejakulaci u býků. Nárazy proudu byly sinusovité s frekvencí 50, napětí 35 V a intenzitou 200 mA (obr. 8). V říji bylo možno způsobit kontrakce jak stimulací přední sakrální, tak též stimulací lumbální míchy. Nejsilnější reakce bylo dosaženo v případech, kdy dráždění bylo uskutečňováno v oblasti posledního lumbálního a prvního sakrálního obratle. To bylo také jediné místo, na němž bylo možno v diestru vyprovokovat kontrakci. U kastrovaneho skotu bez předběžné aplikace hormonů naproti tomu se podařilo vyvolat reakci na všech třech uvedených místech.

Z těchto výsledků lze usuzovat, že vlivem estrogenů dochází k senzibilizaci, vlivem progesteronu k desenzibilizaci spinálních sexuálních center, že však naproti



Obr. 8.



Obr. 9.

tomu vegetativní nervový systém je schopen vyprovokovat stahy dělohy též bez účasti hormonů ovariálních.

Reakce dělohy na akt páření a na umělou inseminaci byly již v roce 1952 zkoumány v a n D e m a r k - H a y s e m. Tito autoři tehdy zjistili, že oba způsoby páření způsobují přibližně stejnou stimulaci motility dělohy. Podle názoru těchto a jiných autorů je přímé vyvolání zesílených stahů podmíněno jen silnějším vylučováním oxytocinu, jež bylo prokázáno F i t z - P a t r i c k e m v r. 1957.

Výsledky vlastních předběžných pokusů ukázaly však na to, že vegetativní systém nervový není na vyvolání reakcí při páření zúčastněn jen periferiálním a centrálním předáváním podráždění pro vylučování oxytocinu, nýbrž také přímo. K řešení této otázky sledovali jsme nejdříve prostřednictvím balónkové metody ještě jednou reakce dělohy skotu na umělou inseminaci a akt páření (obr. 9). Průběh horní křivky na obrázku 9 odpovídá normální kontrakci dělohy při říji. Vzdálenost dílčích čar odpovídá časovému odstupu 1 minuty. Spodní křivka ukazuje reakci dělohy u téhož zvířete během umělé inseminace, znázorněné obchvacováním krčku ze strany konečníku (C) a následnou masáží poštěvážku (K).

Po jen několikavteřinové latenci způsobují obě podráždění zřetelně zesílenou kontrakci.

Pod uvedenými křivkami jsou uvedeny reakce dělohy téže jalovice při aktu páření. Tento akt byl rozdělen na 4 fáze:

1. Přiblížení se býka, tj. jalovice ho vidí, aniž dojde k dotyku dvojice.
2. Očichávání samičího zvířete na vnějších pohlavních orgánech.
3. Skok býka bez *inmissio penis* a
4. skok s ejakulací.

Všechny 4 fáze způsobují v porovnání s umělým osemeněním podstatně zesílenou reakci. Při kontrakci po přiblížení se býku jde o specificky nervový účinek, neboť vstup osoby nebo jiné krávy do pokusné místnosti způsobil podobnou, avšak slabší reakci jen tehdy, bylo-li pokusné zvíře býkem předběžně senzibilizováno, tj. jestliže s jeho příchodem počítalo.

Při vlastním aktu páření (E) reaguje děloha nejsilněji. Značné vzrušení myometria potrvávalo u většiny zvířat jednu až několik hodin. Je to pravděpodobně nikoli sice nezbytná, ale přece jen důležitá podmínka pro dopravu spermií do vejcovodů.

Pozornosti zasluhují krátké latenční doby mezi podrážděním a reakcí, ležící mezi 10 až 15 vteřinami a tudíž přesně se shodující s latencemi zjištěnými po aplikaci acetylcholinu a adrenalinu *i. v.* Při injekci oxytocinu *i. v.* činila latence naproti tomu zřídka méně než 25 vteřin.

Reakce při aktu páření, podstatně silnější než ty, které zjistil V a n D e m a r k - H a y s, zvláště u jalovic, jakož i skutečnost, že již pouhé přiblížení se býka působí dráždivě, dovolují usuzovat na celkem 3 mechanismy způsobující reakci dělohy:

1. Mechanickým podrážděním genitálií podmíněný, reflektorický mechanismus probíhající jen přes sexuální centrum v míše a při umělé inseminaci pravděpodobně hlavně účinný.

2. Při delší stimulaci se podráždění provádějí přes míchu k hypothalamu a podle dosavadních názorů způsobují okamžité vylučování oxytocinu ze zadního laloku hypofýzy.

Třetí mechanismus probíhá od velkého mozku, který přejímá smyslová podráždění z vnějšího prostředí, k thalamu a odtud — podle dnes platného názoru — k zadnímu laloku hypofýzy, který opětne uvolňuje oxytocin.

Námi prokázaný erotizační vliv býka je velmi pravděpodobně jednou z příčin vcelku lepších výsledků dosažených při aktu páření proti umělému osemeňování. Zejména u zvířat s oslabenou reakční způsobilostí genitálního traktu v důsledku onemocnění, nedostatkové výživy apod. nemusí snížená stimulace při inseminaci vždy postačovat k vytváření optimálních podmínek koncepce. V oblastech, kde jsou rozšířeny infekční nemoci jako *Abortus Bang* nebo *Trichomoniasis* nebo kde na podkladě nedostatkových jevů dochází k afekcím dělohy, je proto výsledek inseminace v porovnání s výsledkem aktu při páření zvláště špatný. Také příznivý vliv vyhledávacího a zkušebního býka ve stádech jalovic, o němž referoval R o m e l, je jistě z části podmíněn jeho erotizujícím vlivem.

Vycházejíce z krátkých latenčních dob pozorovaných u aktu páření zkoušeli jsme pak dále, do jaké míry se vegetativní nervový systém přímo zúčastňuje přenašení podráždění, přijatých sensoriemi na dělohu.

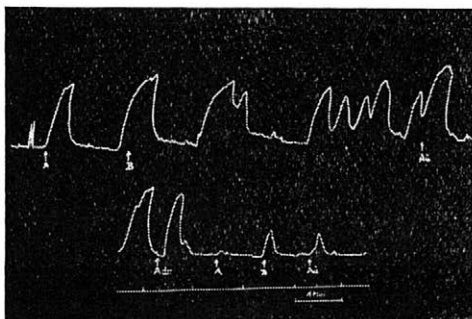
Vyvolávací účinek adrenergického nervového systému při reakcích páření nebylo možno předpokládat, protože adrenalin brzdí reakce páření u dělohy. Tuto skutečnost jsme ve shodě s výsledky Van Demark-Hayse zjistili také my (obr. 10). Křivka ukazuje, jak škodlivě musí se projevit uvolnění adrenalinu na koncepci, způsobené leknutím, strachem nebo obranou, protože se nesnižuje jen motilita, nýbrž také prokrvení genitálního traktu.

Adrenalin a noradrenalin podlamují ale také stimulační účinek oxytocinu na dělohu, takže s tímto výsledkem nebyla vyloučena účast jen oxytocinu na vyvolání kontrakcí při páření.

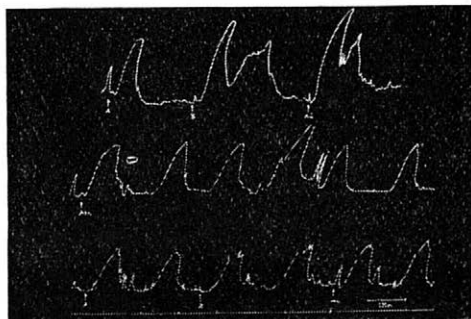
V další řadě pokusů dostaly proto říjící se zvířata před pářením atropin. Atropin nebrzdí, jak prokázaly předběžné pokusy, ani spontánní, ani oxytocinem provokované kontrakce, avšak brzdí kontrakce způsobené acetylcholinem (obr. 11).

Na obrázku 11 jsou nahoře znázorněny reakce páření až do skoku býka. Po injekci 40 mg atropinsulfátu aktivita dělohy, po jedné hodině stále ještě zesílená, trvá nezměněně dále. Spontánní kontrakce nejsou tedy ovlivňovány na rozdíl od reakcí na rozličné fáze páření. Nedochází k žádnému zvýšení motility dělohy při stimulaci býkem.

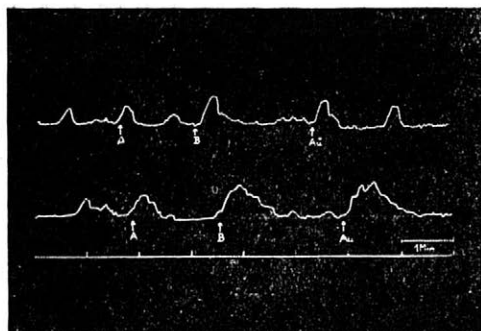
K potvrzení tohoto nálezu byl různým zvířatům před aktem páření injikován intravenózně physostigmin, který brzdí účinek acetylcholinesterázy a tím zpoma-



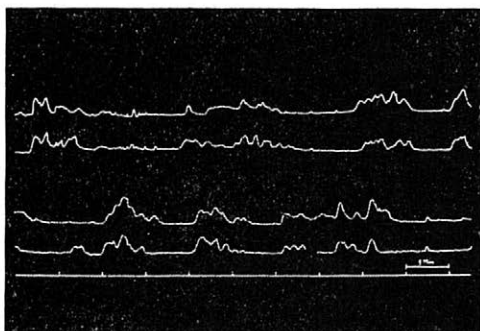
Obr. 10.



Obr. 11.



Obr. 12.



Obr. 13.

luje odbourání acetylcholinu, uvolňujícího se v průběhu nervů a na jejich zakončeních (obr. 12).

Na obrázku 12 jsou znázorněny reakce dělohy multipárního skotu v postestru, projevující se slaběji než v době říje. Po injekci 30 mg physpstigminu *i. v.* ukazuje se prodloužení jednotlivých kontrakcí, jak bylo možno očekávat při přímé účasti acetylcholinu.

Prozatímni výsledky dosažené při vyřazení sympatického centra pomocí reserpinu, ukazují na přinejmenším nezměněné, zčásti však zvýšené reakce v porovnání se zvířetem, u něhož reserpin nebyl aplikován.

Souhrnně lze učinit závěr, že je možné předpokládat dalekosáhlou přímou účast parasympatických, popř. cholinergických mechanismů na vzniku reakcí v děloze u skotu při páření. Pravděpodobně jsou ihned se objevující reakce způsobeny cholinergickými nervy dělohy, kdežto trvání zvýšené aktivity je podmíněno následným uvolněním oxytocinu.

Ve shodě s tím docházejí Pickford (1947) a Shibusawa a spol. (1955) na základě svých výsledků pokusů k názoru, že acetylcholin způsobuje přes hypothalamus sekreci oxytocinu a vasopressinu.

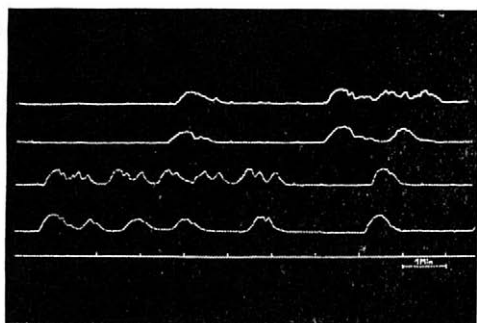
V dalších pokusech jsme zkoušeli, zda vegetativní nervový systém má vliv na směr kontrakčních vln probíhajících v děloze.

Po vpravení balónku do každého děložního rohu se zprvu ukázalo, že kontrakce při říji u skotu, na rozdíl např. od prasete, probíhají v obou děložních rozích ve stejném rytmu (obr. 13). Z toho důvodu se ukázalo nepravděpodobným, že kontrakce dělohy v době říje začínají u vejcovodů, jak se domníval Reynoldes aj.

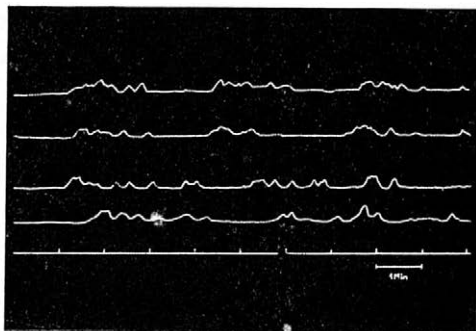
K zjištění směru kontrakčních vln byly do dělohy zaváděny za sebou velmi malé balónky a spojeny s kymografem pomocí dvoustěnné trubice (obr. 14).

Křivka na obr. 14 znázorňuje tímto způsobem zaznamenané kontrakce dělohy březí jalovice. Horní dvojice křivek pochází vždy od balónku, umístěném ve vzdálenosti asi 10 cm od děložního rohu, spodní křivka byla získána od druhého ve světlosti děložního těla fixovaného balónku. Je třeba si všimnout, že se kontrakce v děložním těle dostávají poněkud dříve než v děložním rohu. Kontrakční vlny probíhají tedy v době říje směrem zezadu dopředu a mohou tudíž podpořit dopravu spermatu k vejcovodu. Vintana a spol. (1956/57), kteří zaváděli za sebou tři balónky, docházejí k stejnému výsledku.

V postestru byl obraz poněkud jiný (obr. 15). Z části probíhaly kontrakce z kaudální oblasti směrem ke kraniální, částečně ale z kraniální ke kaudální oblasti



Obr. 14.



Obr. 15.

Byla-li registrace provedena 3 dny po říji, byl směr kontrakce již jen k děložnímu krčku. To znamená, že nyní byl dán předpoklad pro dopravu vajíčka z vejcovodu do dělohy. Tato tendence trvala po období diestru až k proestru, s přerušením při fázi iregulárních popř. chybících kontrakcí (obr. 16). Zřetelně vidíme, že kontrakce začínají v děložním rohu, kde jsou také silnější a probíhají směrem ke krčku.

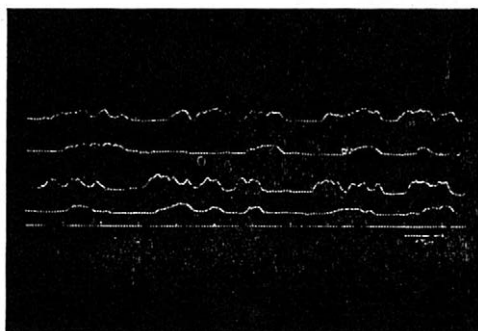
Souhrnně lze říci, že motilita dělohy směřuje jen v době říje a částečně v postestru k vejcovodům, jinak je nepravidelného zaměření nebo směřuje k děložnímu krčku.

Dále bylo nutno zjistit, kteří činitelé mohou způsobit změny směru kontrakčních vln, které mají tak podstatný význam pro oplodnění, popř. implantaci vajíčka.

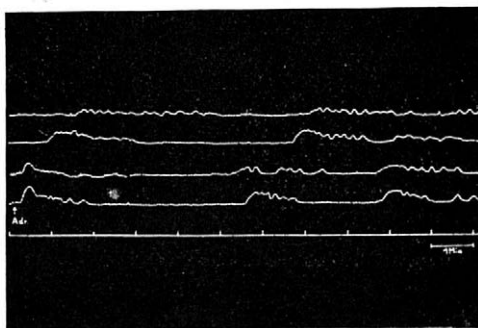
Protože se období po říji (metestrus) ukázalo jako nejlabilnější fáze, prováděli jsme naše výzkumy nejdříve v této fázi cyklu. (něm. zv. Nachbrunst).

Injekcí adrenalinu (obr. 17) se podařilo obrátit směr kontrakční vlny. V horní křivce na obr. 17 probíhá kontrakce ve směru zezadu dopředu, po injekci naproti tomu směrem odpředu dozadu. Protože však adrenalin, jak jsme již ukázali, současně zesiluje aktivitu v děložním rohu, zatímco ji v děložním těle snižuje, musí být nějaké látky, nacházející se v děloze, dopravovány směrem k děložnímu krčku. To platí též pro říji, neboť i v tomto stadiu způsobil adrenalin zvrát směr kontrakce. V důsledku vysoké kontrakční frekvence nebylo po aplikaci acetylcholinu možno tak exaktně zjistit průběh kontrakčních vln (obr. 18).

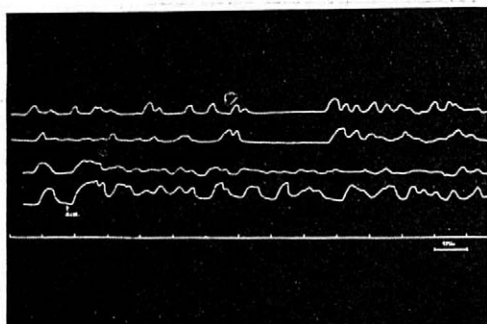
Protože ale aktivita v děložním rohu se zřetelně brzdí, zatímco v děložním těle se zesiluje, musí vznikat posun dopředu, jak jej zaznamenáváme v říji.



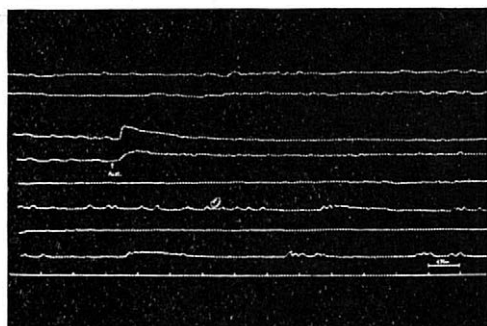
Obr. 16.



Obr. 17.



Obr. 18.



Obr. 19.

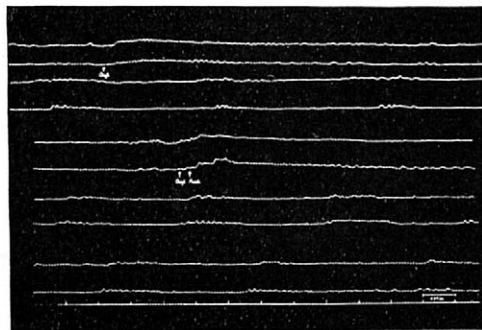
V proestru byly poměry zvláště odlišné. Zde se opakovanými injekcemi poměrně vysokých dávek acetylcholinu nepodařilo způsobit průběh kontrakce směrem zezadu dopředu. Stejně neúspěšné byly pokusy s oxytocinem.

Podářilo se dosáhnout jen zesílení kontrakcí v oblasti děložního těla. Směr kontrakční vlny zůstal však nezměněný. Příčinu tohoto jevu nebylo možno zjistit.

V četných předběžných pokusech se ukázalo, že injekcí estrogenu je sice možno vyprovokovat u kastrovaných jalovic motilitu dělohy, avšak že forma kontrakcí nikterak neodpovídala typickým kontrakcím v době říje, přestože zvířata vykazovala příznaky výrazné říje. Děloha se nepravidelně stahovala a mezi kontrakcemi se nevyskytovaly typické klidové přestávky.

Na obr. 19 nahoře znázorňujeme takovou pomocí dvou balónků zaznamenanou křivku u jalovice kastované již před delší dobou. Ve spodní křivce je znázorněna reakce téže dělohy na injekci acetylcholinu. Zatímco v děložním rohu dochází k úplné zábraně, dostavují se v zadním oddílu dělohy po přechodném zvýšení tonu kontrakce charakteristické pro říji. Jejich malé amplitudy lze vysvětlit tím, že zvíře bylo kastováno již před několika měsíci a že tím od té doby chyběl stimulující vliv estrogenu na svalové buňky. V důsledku toho se ztrácela schopnost kontrakce.

Oxytocin (obr. 20) způsobil kontrakce nejen v děložním těle, ale také v děložním rohu, připomínající říji. Tyto kontrakce ovšem začínaly spíše vpředu než vzadu, takže ani tím nebylo dosaženo úplné shody s dělohou v říji. Teprve současná injekce oxytocinu a acetylcholinu pak způsobila, že probíhaly malé, ale typické kontrakční vlny od děložního krčku k špičce děložního rohu, takže tímto způsobem bylo poprvé možno napodobit motilitu dělohy u říjící se jalovice.



Obr. 20.

Oxytocin se podle výsledků Orthnerových (1953) a kol. vylučuje po celou dobu trvání cyklu ve stejném množství. Proto k tomu musí přistoupit pokud možno vysoká hladina acetylcholinu, aby byly vytvořeny předpoklady pro příznivou motilitu dělohy v říji.

Z toho je možno — abychom se tedy vrátili k výchozímu bodu našich úvah — dále dedukovat, že u skotu převažuje se vši pravděpodobností cholinergická složka při neurohumorální sekreci hypothalamu. To potvrzují výzkumy Hanselovy a Trimbergerovy (1951), jimž se podařilo blokovat u skotu ovulaci atropinem. Z toho vyplývá, že u skotu pokud možno vysoký tonus parasympatiky působí povzbudivě na koncepci, protože vytváří pro ni příznivé předpoklady stimulací motility dělohy, podpořením prokrvení dělohy a povzbuzením ovulace. Každá stimulace adrenergického nervového systému v době páření naproti tomu se musí projevit jako škodlivá, protože se tím brzdí motilita, snižuje prokrvení genitálního traktu a zpomaluje ovulace.

To jsou hlediska, jimž je třeba přisuzovat zvýšený význam právě dnes při stoupající používání umělé inseminace.

Souhrn

Metodou balonkového kymografia jsme vyšetřovali vliv vegetativní nervové soustavy na kontraktilitu dělohy u krávy. Dosáhli jsme těchto výsledků:

1. Intravenózně podaný adrenalin vyvolá ve všech fázích cyklu dvoufázovou reakci, pozůstávající v počáteční kontrakci s následovnou inhibicí. V rozích dělohy převládá motorický, v těle dělohy inhibiční účinek. Směr kontrakčních vln probíhajících v říji a krátce po ní od krčku k vejcovodům lze adrenalinem obrátit.

2. Acetylcholin dráždí aktivitu dělohy v estru silněji než v diestru a v těle dělohy silněji než v rozích dělohy.

3. Připouštění vyvolává ve všech fázích, zejména u jalovic, podstatně silnější kontrakce dělohy než umělé osemenění.

4. Na vyvolání těchto reakcí mají cholinergické mechanismy přímou účast.

5. Zároveň podaným oxytocinem a acetylcholinem se podaří vyvolat u kastrovaného a estrogenem předem ošetřeného skotu typickou říjovou kontraktilitu dělohy.

Došlo dne 15. 2. 1962

Literatura

1. Clegg M. T., Santolucito J. A., Smith J. D. a Ganong W. F.: *Endocrinology* 62, 790, 1958. — 2. Fitzpatrick R. J.: In: *The Neurohypophysis* (H. Heller), London 57. — 3. Hansel W. a Trimberger G. W.: *J. Anim. Sc.* 10, 719, 1951. — 4. Orhner H.: In: *Die Sexualität des Menschen* (H. Giese) Stuttgart 1953. — 5. Pickford M.: *J. Physiol.*, 106, 264, 1947. — 6. Reynolds S. R. M.: *Physiology of the Uterus*. New York 1949. — 7. Schilling E.: *Ztschr. Tierzüchtg. Züchtgesbiol.* 61, 159, 1953. — 8. Shibusawa K., Saite S., Fukuda M., Koibuchi E., Kawai T. a Aymamoto T.: *Endocrin. Japon.*, 2, 313, 1955. — 9. Van Demark N. L. a Hays R. L.: *Amer. J. Physiol.* 170, 518, 1952. — 10. Vintan A., Moldovan M., Seiciu F. a Chitescu St.: *Anlucrar. Stintis. Inst. Agron. Arad*, s. 291, 1956/57.

Исследование влияния нервной системы на матку крупного рогатого скота

При помощи метода балонной кимографии нами изучалось влияние вегетативной нервной системы на сокращение матки у коров. Были получены следующие результаты:

1. Интравенозно введенный адреналин во всех фазах цикла вызывает двухфазную реакцию, заключающуюся в начальной контракции с последующей ингибицией. В рогax

матки преобладает моторическое, в теле матки — ингибиционное действие. Направление сократительных волн, наблюдаемых во время охоты и вскоре после нее от шейки матки к яйцеводам, можно изменить при помощи адреналина.

2. Ацетилхолин раздражает активность матки в период эструм сильнее, чем в период диэструм, а в теле матки сильнее, чем в ее рогах.

3. Случка во всех фазах вызывает, особенно у телок, по существу более сильную сократительную реакцию по сравнению с искусственным осеменением.

4. На вызов этой реакции непосредственно действуют холинэргические механизмы.

5. Одновременно в результате подачи окситоцина и ацетилхолина у кастрированного крупного рогатого скота, заранее обработанного эстрогеном, можно вызвать типическую случайную сократительность матки.

Untersuchungen über den Einfluß des Nervensystems auf den Rinderuterus

Mittels der Ballon-Kymographenmethode wurden Untersuchungen durchgeführt über den Einfluß des vegetativen Nervensystems auf die Uteruskontraktilität beim Rind. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1. I. v. verabreichtes Adrenalin ruft in allen Zyklusstadien eine zweiphasige Reaktion hervor, die in einer Anfangskontraktion mit nachfolgender Hemmung besteht. In den Cornua uteri überwiegt der motorische, im Corpus uteri der hemmende Effekt. Die Richtung der im Östrus und im frühen Postöstrus von der Cervix zu den Tuben laufenden Kontraktionswellen läßt sich durch Adrenalin umkehren.

2. Acetylcholin stimuliert die Uterusaktivität im Östrus stärker als im Diöstrus und im Uteruskörper stärker als in den Uterushörnern.

3. Der Deckakt in allen seinen Phasen ruft, besonders bei Färsen, wesentlich stärkere Uterusreaktionen hervor als die künstliche Besamung.

4. An der Auslösung dieser Reaktionen sind cholinergische Mechanismen unmittelbar beteiligt.

5. Durch gleichzeitige Verabreichung von Oxytocin und Acetylcholin gelingt es, beim kastrierten, mit Östrogen vorbehandelten Rind eine typische Brunstkontraktilität des Uterus zu provozieren.

L'étude de l'influence du système nerveux sur la matrice des vaches

Nous avons étudié par la méthode du kymographion avec ballon l'influence du système nerveux végétatif sur la contractilité de l'utérus des vaches. Nous avons atteint les résultats suivants:

1. L'adrénaline appliqué intraveineusement provoque dans chaque phase du cycle une réaction en deux phases, consistante d'une contraction initiale avec une inhibition conséquente. Dans les coins de l'utérus l'effet moteur est prévalent, dans le fond de l'utérus l'effet inhibiteur. La direction des ondes de la contraction pendant le rut et peu après, du col vers les oviductes, peut être renversée par l'adrénaline.

2. L'acétylcholine provoque l'activité de l'utérus pendant le rut plus hautement que pendant le dioestrus et dans le fond de l'utérus plus intensivement que dans les coins.

3. Le service provoque dans chaque phase, spécialement chez les génisses, des contractions sensiblement plus fortes que l'insemination artificielle.

4. Les mécanismes cholinergiques ont une influence directe sur l'évocation de ces réactions.

5. On peut réussir de provoquer une contractilité du rut typique de l'utérus chez une vache castrée et auparavant traitée avec oestrogène, par une application simultanée d'oxytocine et acétylcholine.

Výzkum některých faktorů ovlivňujících oplodnění krav po otelení

Исследование некоторых факторов, оказывающих влияние
на оплодотворение коров после отела

Erforschung einiger die Befruchtung von Kühen nach dem Abkalben beeinflussender Faktoren

N. LUNKA, I. MJASNIKOVA, J. DIMITRESCU, E. SLAVESCU
Výzkumný ústav pro chov zvířat, Bukurešť

Ú v o d

Otázka boje proti neplodnosti a o zvýšení plodnosti krav je v současné době jedním z nejhlavnějších úkolů chovu skotu.

V souvislosti s touto závažnou otázkou jsme se rozhodli provést prošetření řady faktorů, ovlivňujících oplodnění krav po otelení. K objasnění tohoto problému jsme vyšetřovali:

- objevení prvních příznaků říje po otelení,
- oplodnění krav v závislosti na době připouštění po otelení,
- počet připuštění nezbytných k oplodnění,
- vliv dojivosti na oplodnění,
- vliv věku na oplodnění.

Souběžně jsme zkoumali délku doby, uplynulé po otelení, kdy je možno považovat krávu za neplodnou (jalovou).

Bibliografický přehled

V Rumunsku nebyl dosud prováděn výzkum zabřeznutí krav po otelení, ani výzkum faktorů, které zabřeznutí ovlivňují.

O těchto faktorech máme k dispozici jen bibliografická fakta ze zahraniční literatury.

Tak např. I. F i s t j a g (1) doporučuje připuštění krávy v období snížené dojivosti při první nebo druhé říji, krávy s vysokou dojivostí za 2—3 měsíce po otelení. N. L u n k a doporučuje připouštění po uplynutí 2 nebo 3 měsíců po otelení, kdy je možno dosáhnout vysokého procenta oplodnění. Jak jsme ukázali, zakládají se tato do určitého stupně analogická doporučení na některých údajích z literatury odborné podle stupně specializace v některých cizích státech.

V této literatuře fyziologická norma oplodnění značně kolísá. A. P. S t u d e n c o v (3) tvrdí, že u krav první říje začíná 19.—25. den po otelení a v té době mají být krávy připuštěny a oplodněny. Krávy, které v této krátké době nezabřezly, se považují za neplodné vzhledem k poruchám funkcí pohlavních orgánů.

S. I. Š t e j m a n (4) ukazuje neodpodstatněnost názorů těch, kteří tvrdí, že není-li kráva při první říji po otelení oplodněna, nezabřezne. Jeho názor potvrzují krávy — rekordistky „Nitka“, „Schema“, „Lenivá“, „Blangodata“ a jiné, připuštěné při třetí a čtvrté říji, které všechny zabřezly.

A. V. O z e r o v tvrdí, že při připouštění v prvním nebo druhém období říje po otelení mohou krávy nahradit své organické ztráty během březosti a takové připuštění současně prodlužuje období tvorby mléka.

S. K. D a v i d o v tvrdí, že nejpriznivějším obdobím pro oplodnění krav je 60. až 80. den po otelení.

A. V. B e z c h l e b n o v (5, 6) doporučuje na základě mnohých pozorování v různých sovchozech připouštět krávy s dojivostí od 3000 do 4000 litrů mléka 60. den po otelení, krávy s ještě vyšší dojivostí za 60—80 dní po otelení.

L e s c h (NDR) zjistil, že nejlepším obdobím pro připuštění krav je 10—12 týdnů po otelení.

S c h e l n e r doporučuje oplození krav teprve ve třetí říji po otelení a ukazuje, že krávy zabřezlé hned při první říji, mají slabá a neduživá telata.

J. S c h a n d l (MLR) (7) se přiklání k názoru využívat prvního období říje, vyjímaje krávy-rekordistky.

H e r m a n a P a r s d a l e (USA) doporučují připouštění krav za 60 až 75 dní po otelení, A s a d e l v e druhém období říje a H o f s t a d za 60 dní po otelení. V a n D e m a r k a S a l s b u r y ukazují, že připouštění v 1.—20. dnu po otelení dává 35 % zabřeznutí, při připuštění po 20. dni po otelení procento oplodnění postupně stoupá a dosahuje 57 % v době od 100 do 120 dní a pak zase postupně klesá (8).

O l d s a spolupracovníci, N o r t e n a jiní tvrdí, že nejlepší dobou pro připuštění po otelení je 40. den, u některých krav 30 dní.

G. G e o r g i j e v (9) doporučuje pro starší krávy, stejně jako pro krávy s dojivostí 5000 l mléka, 45. den po otelení jako nejlepší.

Z odborné literatury, velmi bohaté na data a doporučení, je vidět, že v názorech jsou značné rozpory, pokud se týkají nejlepší doby pro připuštění po otelení. Domníváme se, že to závisí jak na plemeni skotu, tak i na podmínkách chovu skotu v různých státech, kde je tato otázka předmětem výzkumu.

Přihlížeje k těmto úvahám, rozhodli jsme se provést šetření též v našem státě u hlavních plemen skotu, abychom zjistili období připuštění dojníc po otelení.

N a š e š e t ř e n í

Z k o u m a n ý m a t e r i á l

Prošetřovali jsme 405 dojníc po 589 oteleních. Různě staré dojnice byly z těchto plemen: simentálské, švýcarské, červené a šedé stepní plemeno a byly chovány na různých pokusných stanicích živočišné výroby: Slobozija, Popeuc a Pales, na státních stacích Peršinary a Ryšnov a v kolchozní farmě Palazu Mare.

Vybrali jsme dvojice v dobrých chovných podmínkách, krmené podle předepsaných krmných norem.

Krávy byly v dobrém zdravotním stavu.

Pracovní metody

Soupis zpráv pro základní evidence, data otelení, připuštění, množství nadojeného mléka, funkce štítné žlázy zjišťována při jednom nebo více oteleních nebo laktacích.

Kontroly délky doby březosti u krav, zařazených do šetření, byly prověřeny a zpracovány pro každý případ zvlášť.

Získané výsledky a jejich rozbor

a) *Období prvních příznaků říje po otelení.* Vzhledem k tomu, že se připouští podle objevení se příznaků říje po otelení, provedli jsme průzkum období, kdy se objevují první příznaky říje. Při rozboru dat prvního pohlavního cyklu jsme zjistili, že se příznaky říje objevují průměrně kolem 36. dne po otelení, s kolísáním od 12–14 dní. Při dalším vyšetřování délky pohlavního cyklu jsme zjistili, že trvá průměrně 20–21 den s odchylkami od 8 do 21 dnů. Naše šetření ukázalo, že doba dostavení se říje a délky pohlavního cyklu se u jedné a téže krávy po každém otelení mění. Ze získaných dat rovněž není zřejmá souvislost mezi dojívností a objevením se prvních příznaků říje po otelení. Uvádím jako příklad krávy Balalajku a Butterfly, obě dvě simentálského plemene, chované na pokusné stanici pro živočišnou výrobu v Popeuci, s dojívností 2600 l mléka a 4200 l mléka, u kterých se objevily první příznaky říje 22. a 28. den. Kráva Drobija z téže stanice, šedého stepního plemene, s dojívností 2335 l mléka, měla první příznaky říje 23. den po otelení. U krávy Aluny, šedého stepního plemene, která nadojila jen 809 l mléka, se říje objevila teprve 60. den po otelení.

Z výše uvedených dat vyplývá, že projevy příznaků první říje po otelení se u většiny neobjevují v intervalu od 21. do 28. dne po otelení, jak někteří autoři tvrdí.

Bylo rovněž zjištěno, že dojívnost v předchozí laktaci neovlivňuje podstatně dobu objevení se příznaků první říje po otelení, ani délku pohlavního cyklu.

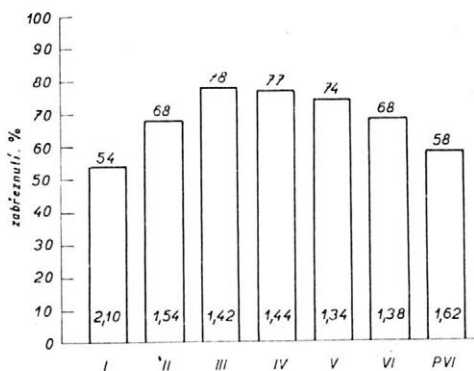
b) *Procento zabřeznutí v souvislosti s dobou připuštění po otelení.*

V grafu 1 je uvedeno procento zabřeznutí ve vztahu k době připuštění po otelení.

Vyčíslili jsme procentuální oplodnění podle měsíce připuštění a závislost oplodnění na skutečnosti, že doba objevení se prvních příznaků říje a délka pohlavního cyklu je u různých zvířat různá. Mimo to uvádění dat připuštění v měsících a ne podle pohlavního cyklu umožňuje zjistit přesné údaje o optimální době připuštění po otelení.

Proto jsme zkoumali oplodnění počínajíc prvním měsícem do šestého měsíce po otelení, kdy lze předpokládat normální oplodnění s výjimkou případů poruch činnosti pohlavního ústrojí.

Z analýzy těchto dat je patrné, že procento oplodnění v poměru k počtu krav, připuštěných v prvním měsíci po otelení, je 54 %; procento pak progresivně stoupá do třetího měsíce, kdy dosahuje 78 % a pak zase pomalu klesá až do šestého měsíce, kdy se rovná procentu v druhém měsíci (68 %).



Obr. 1.

Analýza výše uvedených dat ukazuje, že schopnost reprodukce dat po otelení se postupně obnovuje a je podmíněna involucí pohlavních orgánů. Předpokládáme, že tato obnova reprodukční schopnosti trvá u některých krav déle než jak bylo v pracích některých odborníků uvedeno. I když se říše u některých krav projevuje v prvním měsíci po otelení (7,5 %), zdá se, že není dokonalá, poněvadž připouštění v tomto období má jen 54 % oplodnění.

Naše údaje souhlasí s údaji amerických autorů Patricka a Hermana (1953).

Počínajíc sedmým měsícem procento oplodnění prudce klesá až k poruchám rozplodovacích funkcí.

c) *Počet připuštění nutných k oplodnění jedné dojnice.* Aby bylo možno vyloučit vliv sterilních býků na plodnost krav, provedli jsme kontrolu spermatu býků-plemeníků, používaných na prošetřovaných výzkumných stanicích živočišné výroby. V úvahu přicházely jen krávy, připuštěné k plemeníkům se spermatem dobré jakosti. Při stanovení počtu připuštění potřebných k oplodnění krávy v různých měsících po otelení jsme zjistili, že v prvním měsíci bylo třeba 2,10 připuštění a počínaje druhým měsícem do šestého měsíce, počet připuštění klesal a po uplynutí šesti měsíců zase mírně stoupal. Vysvětluje se to postupným vyrovnáním ztrát organismu po otelení, obnovením nervové hormonální rovnováhy a výskytem plných pohlavních cyklů.

d) *Procentuální rozdělení otelení v závislosti na plemeni a době oplodnění po otelení.* Ve výše uvedené tabulce č. 1 a grafu 2 je uveden vývoj procentuálního poměru oplodnění u krav různých plemen v závislosti na měsíci připuštění po otelení.

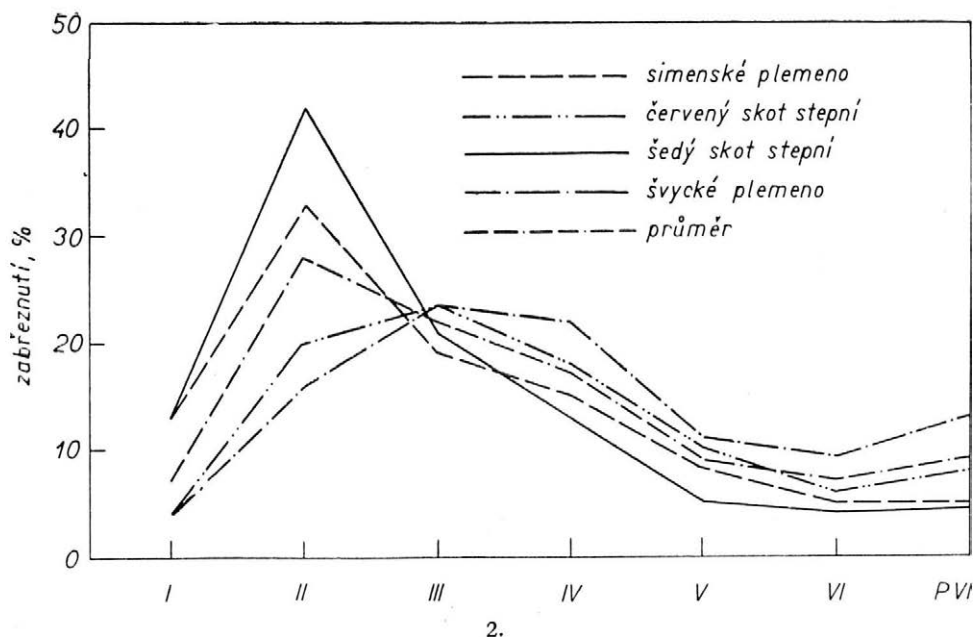
I.

Plemeno	1	2	3	4	5	6	Více než 7 mės.	Počet otelení celkem
Sedmihradské strakaté	11,1	35,9	19,8	15,9	9,4	5,0	4,8	127
Švýcarské	4,4	17,6	23,0	22,4	11,9	8,2	12,2	174
Červené stepní	4,4	19,5	23,4	29,3	11,0	5,6	7,0	103
Šedé stepní	10,5	42,3	20,2	13,4	6,6	3,8	4,2	185
Průměr	7,5	28,3	21,6	22,7	9,7	5,7	7,0	589

Je vidět, že u strakatého skotu sedmihradského plemene ze 127 otelení připadá na oplodnění v prvním měsíci po otelení 11,1 %, maximální oplodnění je ve druhém měsíci (33,9 %) a pak procento postupně klesá.

U švýcarského plemene ze 174 otelení připadá na oplodnění v prvním měsíci 4,4 %, pak procento stoupá až do maxima ve třetím měsíci — 23 % — a pak pomalu klesá až do šestého měsíce.

U červeného stepního skotu ze 103 otelení je zjištěných oplodnění v prvním měsíci po otelení 4,1 %, pak procento prudce stoupá a dosahuje maxima (29,3 %) ve čtvrtém měsíci, načež v následujících měsících stejně prudce klesá. Maximální procento oplodnění ve čtvrtém měsíci u tohoto plemene bylo pravděpodobně způsobeno i malým počtem připuštění, podmínkami chovu a připouštění krav na dané pokusné stanici pro živočišnou výrobu.



2.

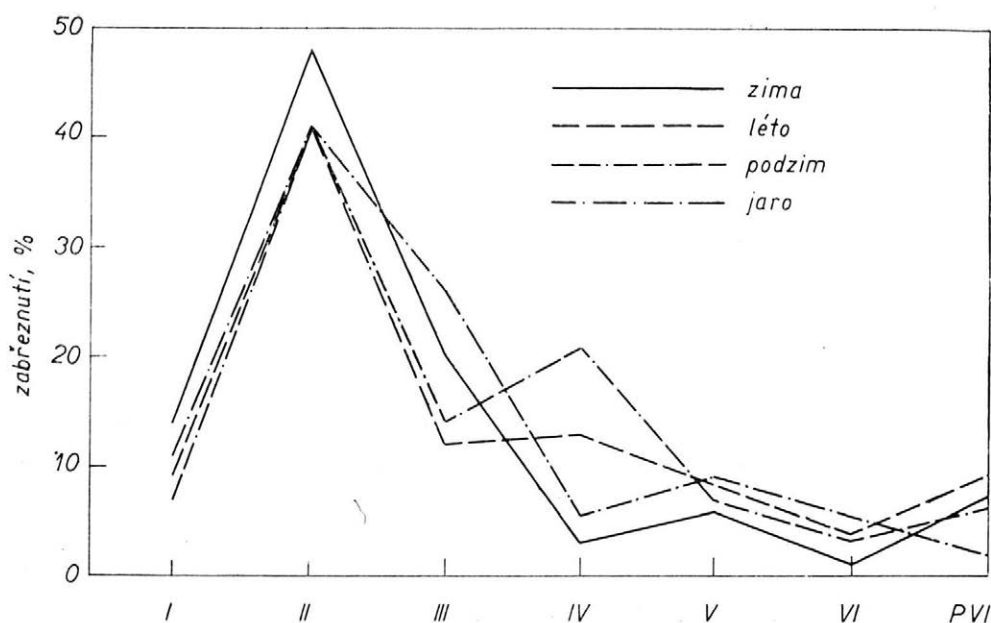
U šedého stepního skotu ze 185 přípuštění připadá na první měsíc po otelení 10,5 % oplodnění, maxima dosahuje procento ve druhém měsíci (42,3 %) a pak v následujících měsících prudce klesá. Téměř polovina oplodnění u krav šedého stepního plemene je tedy z druhého měsíce po otelení, což je důkazem toho, že v důsledku silnější konstituce a nižší dojivosti tohoto plemene přichází organismus a zvláště rodidla těchto krav rychleji do normálního stavu, který je podmínkou způsobilosti k novému oplodnění.

Z průměrných hodnot získaných z výzkumu krav těchto čtyř plemen vyplývá, že po přípuštění v prvním měsíci po otelení zabřezlo jen 7,5 % krav, kdežto většina krav zabřezla ve druhém, třetím a čtvrtém měsíci (28,3 %, 21,6 %, 22,7 %) a pak procento oplodnění klesá.

Z diagramu dále vyplývá, že po 6 měsících procento oplodněných krav mírně stoupá v důsledku léčení neplodnosti některých dojníc.

Analýzou výše uvedených dat docházíme k závěru, že k dosažení co největšího počtu oplodnění je nutno krávy ušlechtilých plemen, krávy ze třídy elitní a krávy rekordistky připouštět ve 3. a 4. měsíci po otelení a některé dojnice s nízkou dojivostí připouštět ve druhém, dokonce i v prvním měsíci po otelení. Tímto způsobem se nízká dojivost v laktaci vyrovnává častějším otelením a tím se také zvýší celková produkce mléka na jednu dojnici.

e) *Vliv ročního období na oplodnění krav.* Při studiu vlivu ročních období na oplodnění krav jednotlivých plemen (graf 3) jsme zjistili, že u všech plemen se dosahuje maximálního procenta oplodnění ve druhém, třetím a čtvrtém měsíci po otelení a to zcela nezávisle na ročním období. Při výpočtu průměrného oplodnění u jednotlivých plemen v závislosti na ročním období jsme zjistili v zimních měsících přípuštění nejvyšší procenta oplodnění (34,8 %), potom při jarním přípuštění (32,3 %). V létě a na podzim procento oplodnění poněkud klesá (26,4 %, 25,6 %). Vyšší procento oplodnění v zimě a na jaře je způsobeno rezervami živých látek nahromaděných v organismu v podzimním období a blahodárným pů-



3.

sobením slunečních paprsků na nervovou a hormonální činnost v těchto ročních obdobích. Vysoké teploty v horkých ročních obdobích působí celkem negativně na neurohormonální systém, který ovlivňuje funkci pohlavních orgánů.

f) *Vliv dojivosti na plodnost krav.* Při průzkumu vztahu plodnosti a dojivosti u krav těchto čtyř plemen skotu jsme zjistili následující fakta (graf 4):

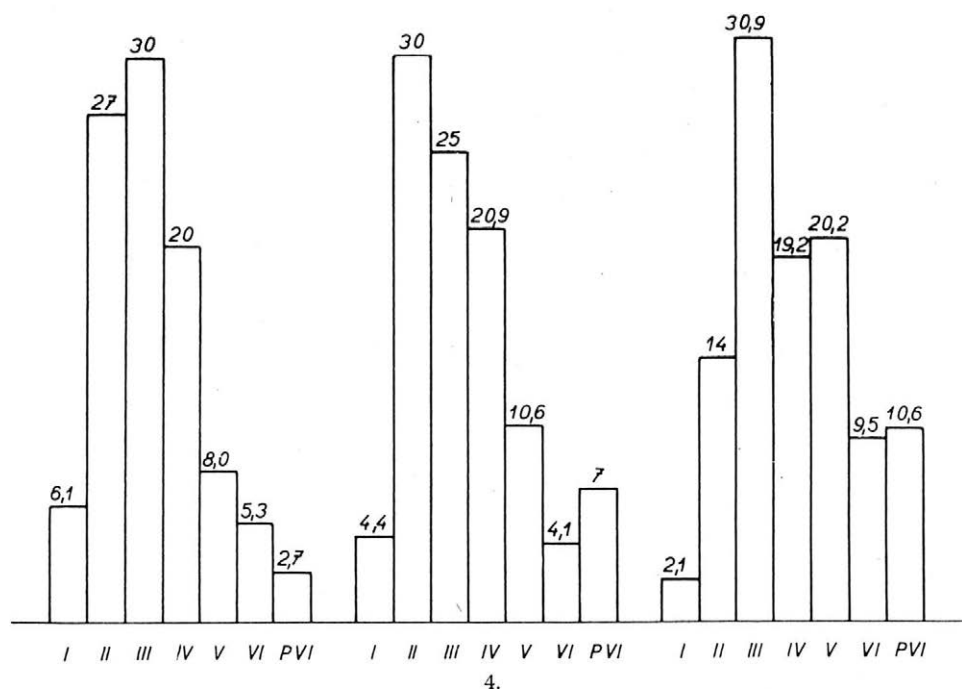
U krav s nízkou dojivostí činí průměrné procento oplodnění v prvním měsíci po otelení 6,1 %, stoupá pak ve druhém a třetím měsíci (27 % a 30 %) a mírně klesá ve čtvrtém měsíci a dále pak se prudce snižuje.

U krav se střední dojivostí činí průměrné procento oplodnění v prvním měsíci po otelení 4,4 %, ve druhém měsíci prudce stoupá (30 %), ve třetím a ve čtvrtém měsíci pomalu klesá (23 % a 2P,9 %). V dalších měsících procento oplodnění klesá značně rychle.

U krav ze tříd vysoké dojivosti je procento oplodnění v prvních dvou měsících po otelení nízké (2,1 % — případně 7,4 %), ve třetím měsíci pak prudce stoupá (30,9 %) v následujících měsících klesá. Z toho plyne, že nejvyššího oplodnění se dosahuje u krav s nízkou a střední dojivostí ve druhém měsíci po otelení (30 %) a u krav s vysokou dojivostí — ve třetím měsíci (30,9 %), což se vysvětluje potřebou delšího období k vyrovnání ztrát organismu po předchozí březosti a laktaci a z toho vyplývající potřebou delšího údobí pro obnovení fyziologických podmínek, jež jsou předpokladem nového plodnění.

Bylo zjištěno, že u šedého stepního plemene s nízkou dojivostí se dosahuje nejvyššího procenta oplodnění (42 % — 30 %) ve druhém měsíci po otelení a to nezávisle na ročním období připouštění.

Časně oplodnění krav s vysokou dojivostí, tj. v prvním neb ve druhém měsíci po otelení, má za následek snížení dojivosti v laktaci dané březosti. Jako příklad uvádíme krávy „Malinu“ a „Bunedininjance“, obě z chovu strakatého sedmihradského plemene z pokusné stanice chovatelské v Popeuci. Zabřezly 59. a 43. den (po otelení) a nadojily v předchozí laktaci 5097 kg a 4871 kg mléka



a po tomto časném oplodnění — bez ohledu na stejné podmínky krmení a ustájení — jejich dojivost klesla na 2935 kg a 3905 kg.

Období klidu mléčné žlázy vytváří podmínky ke zvýšení dojivosti v následující laktaci, jak už u nás zjistil J. Fišťák. Co se týče vlivu období klidu mléčné žlázy na plodnost, naše data neprokazují žádnou zjevnou souvislost.

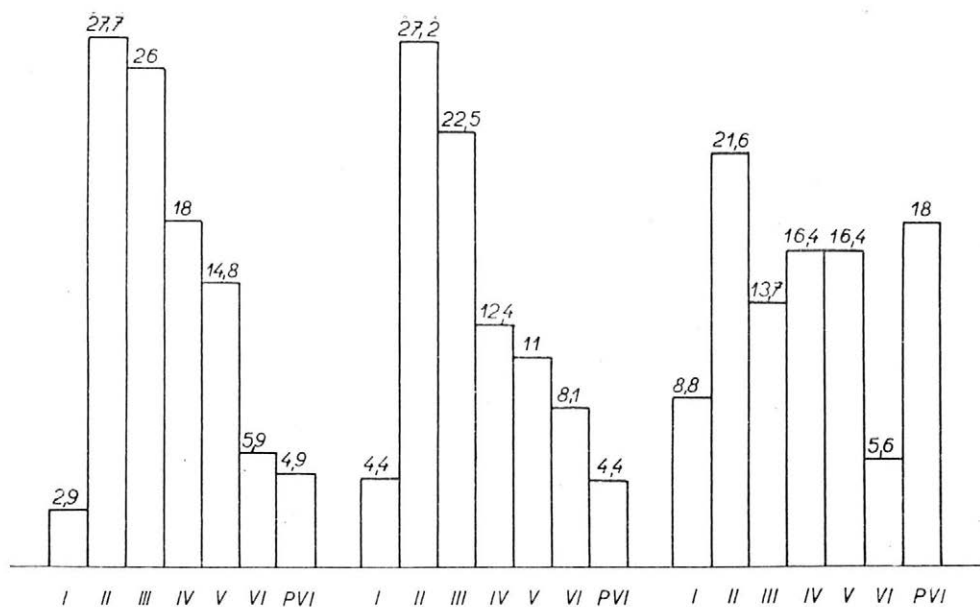
g) *Vliv věku na plodnost.* Pokud jde o vliv věku na procento oplodnění v jednotlivých měsících po otelení bylo zjištěno, že mladé krávy do 5 let (do třetí laktace) dosahují vysokého procenta oplodnění ve druhém a třetím měsíci po otelení a že je tomu tak i u dospělých krav (5–10 let starých). U starých krav (nad 10 let) je zaznamenáno různé procento oplodnění v jednotlivých měsících po otelení (viz diagram 5).

U dobře vyvinutých prvnicek bylo zjištěno vysoké procento oplodnění ve druhém měsíci po otelení, kdy většina jich zabřezla hned po prvním připuštění.

Doba po otelení, kdy je možno považovat krávu za jalovou. Považujeme tuto otázku — o které se názory autorů dodnes velmi různí — pro boj proti neplodnosti a pro boj o zvýšení plodnosti krav za velmi významnou, vyvodili jsme z našich šetření následující:

Na základě dat o vývoji procenta oplodnění v jednotlivých měsících po otelení a podle závislosti oplodnění na ročním období, věku a dojivosti krav je zřejmé, že vyjímaje šedé stepní plemeno, u kterého se dosahuje největšího procenta oplodnění ve druhém měsíci po otelení, se u ostatních plemen, která jsme prošetřovali, toto procento začíná zvyšovat ve druhém měsíci, udržuje se na výši ve třetím a ve čtvrtém měsíci po otelení a poněkud klesá v pátém a šestém měsíci (viz graf 1).

Způsobilost zdravých krav s normálními porody k reprodukci se začíná tedy obnovovat v prvním měsíci po otelení tak, že u většiny krav dosahuje z hlediska



5.

plodnosti normálního stavu ve druhém měsíci a taková se udržuje až do pátého a šestého měsíce a to podle podmínek ustájení, krmení a dojivosti jednotlivých krav.

Období, po jehož uplynutí se má kráva považovat za jalovou, kolísá a závisí na plemeni, podmínkách chovu a dojivosti.

Krávy šedého stepního plemene a krávy jiných plemen s nízkou dojivostí je možno považovat za jalové, když se u nich během tří měsíců po otelení neprojeví říje, anebo i když se říje projeví, nezabřežnou po připuštění k průkazně plodnému býku.

Krávy ušlechtilých plemen a ze tříd s vysokou dojivostí můžeme považovat za neplodné teprve po uplynutí 5—6 měsíců po otelení. V tomto období mohou jejich organismy vyrovnat ztráty vzniklé v době březosti a během předchozí laktace a reprodukční funkce mohou být obnoveny.

Souhrn

1. První období říje začíná průměrně 36. den po otelení a kolísá mezi 12. až 44. dnem. Průměrná délka pohlavního cyklu je 20—21 dní s výkyvem od 8 do 28 dnů.

2. Maximální procento oplodnění je ve třetím měsíci po otelení (78 %), pak postupně klesá až do šestého měsíce.

3. Z procentuálního rozdělení oplodnění podle plemene a měsíce oplodnění vyplývá praktický závěr, že k dosažení vysokého procenta oplodnění je nutno u krav ušlechtilých plemen s vysokou dojivostí využít k připuštění říje ve třetím a ve čtvrtém měsíci po otelení a u krav stejného plemene, ale s nižší dojivostí, využít říje ve druhém měsíci po otelení. Krávy šedého stepního plemene se připouštějí při říji ve druhém měsíci, někdy dokonce v prvním měsíci po otelení.

U prvnicek se hlavně využívá říje ve druhém měsíci po otelení, kdy se dosahuje nejvyššího procenta zabřeznutí.

5. Krávy ze třídy elita a rekordistky ušlechtilých plemen je možno považovat za neplodné po uplynutí průměrně 5–6 měsíců, nejsou-li březí. U krav šedého stepního plemene se toto období snižuje na 3 měsíce.

Literatura

Исследование некоторых факторов, оказывающих влияние на оплодотворение коров после отела

2. Максимальный процент оплодотворения в третьем месяце после отела (78 %) потом постепенно понижается вплоть до шестого месяца.

У первотелок охота используется во втором месяце после отела; в этот период достигается максимальный процент оплодотворения.

4. Раннее оплодотворение во втором месяце после отела ведет у коров с высокой удойностью к понижению удойности в последующий лактационный период.

5. Коров класса элита и рекордисток улучшенных пород можно считать бесплодными по истечении в среднем 5—6 месяцев, если они, конечно, не стельны. У коров серой степной породы этот период сокращается до 3 месяцев.

Erforschung einiger die Befruchtung von Kühen nach dem Abkalben beeinflussender Faktoren

2. Der höchste Prozentsatz von Befruchtungen entfällt auf den dritten Monat nach dem Kalben (78 %), wonach er fortlaufend bis zum sechsten Monat abfällt.

3. Auf Grund der Aufteilung des Prozentsatzes der Befruchtungen nach den verschiedenen Rassen und Zulassungsmonaten kann man die praktische Schlußfolgerung ableiten, daß zur Erzielung eines hohen Befruchtungsprozentsatzes bei Kühen veredelter Rassen mit hoher Milchleistung die Brunst im dritten und vierten Monat nach dem Kalben zur Zulassung ausgenützt werden soll, während Kühe der gleichen Rasse, aber mit niedrigerer Milchleistung, im zweiten Monat nach dem Kalben zugelassen werden sollen. Kühe der grauen Steppenvieh rasse werden in der im zweiten Monat nach dem Kalben auftretenden Brunst zugelassen, manchmal sogar bereits im ersten Monat.

Bei Erstlingskühen wird hauptsächlich die im zweiten Monat sich einstellende Brunst ansgenützt, wobei der höchste Prozentsatz von Befruchtungen festgestellt wurde.

4. Eine frühzeitige Befruchtung von Kühen mit hohen Milchleistungen bereits im ersten Monat nach dem Kalben hat eine Senkung der Milchleistung in der nachfolgenden Laktation zur Folge.

5. Kühe der Klasse Elite und Rekordkühe können nach Ablauf von durchschnittlich 5-6 Monaten nach dem Kalben, falls zugelassen und nicht trächtig, als unfruchtbar bezeichnet werden. Bei Kühen des grauen Steppenviehs wird dieser Termin auf 3 Monate herabgesetzt.

O některých imunobiologických činitelích při oplozování hospodářských zvířat

O некоторых иммунобиологических факторах при оплодотворении сельскохозяйственных животных

Über einige immunologische Faktoren beim Befruchtungsprozeß landwirtschaftlicher Nutztiere

K. BRATANOV a V. DIKOV

Ústřední výzkumný ústav biologie a patologie rozmnožování hospodářských zvířat v Sofii, ředitel: prof. dr. K. Bratanov

Úvod

Zkoumání imunobiologické etiologie neplodnosti hospodářských zvířat a s tím spojeného opakovaného připouštění má velký význam. Výzkumy zaměřené tímto směrem objasňují úlohu a působení některých imunobiologických činitelů při oplozovacím procesu. Kromě toho mají tyto výzkumy také praktický význam. Otázka zvýšení procenta zabřeznutí a snížení výskytu opakování říje u krav je jedním z hlavních problémů při oplozování.

Úloha spermo-antilátek při nezdařeném oplození je již dávno známa (Mečnikov a Landštejner 1899). Tyto otázky zkoumalo ještě mnoho jiných autorů. Naše zkoumání (Bratanov, Gerov, Todorov 1949) dokázala přítomnost normálních spermo-antilátek v krevním séru a v děložním a poševním výměšku a to jak u starších hospodářských zvířat, která již měla mláďata, tak u zvířat ještě nezabřezlých a nerodících. Při těchto zkoumáních bylo stanoveno, že spermolátky nejen že se mohou tvořit, nýbrž že i jejich titr se zvětšuje po aplikaci spermatu do samičího organismu.

Zkoumání v tomto směru provedli ještě Villson (1954) u člověka, Alfonso a Perez (1958) u klisny, krávy a králice a Bratanov a Dikov (1959) u krávy.

Pro vyjasnění některých momentů imunobiologických jevů při oplození byly v novější době značným přínosem práce Šergina (1956), Rümkeho a Helinga (1959) a Lindhala (1956). Jejich zásluhou je především zjištění spermoantiglutinů a průkaz spermo-antilátek.

Imunologická podmíněnost neplodnosti je však stále ještě nedostatečně prozkoumána. Výzkumy jsou zaměřeny především na hledání spermo-antilátek v samičím organismu. Tak Bezchlebov (1934) zjistil, že v době říje vyvo-

lává děložní a poševní výměšek krávy slabou aglutinací spermatozoidů býka. Tento výměšek odebraný u krávy v období mezi říjí nebo od březí krávy aglutinuje tyto spermatozoidy jasněji.

Vlastní práce

Systematický výzkum tvorby, obsahu, působení a typu spermo-antiláték u stejného druhu zvířete i u stejného organismu, jakož i u různých druhů zvířat a u člověka jsme v dostupné literatuře nenalezli. V této práci zkoumáme následující otázky:

1. Otázku možnosti tvoření a místa tvoření spermo-antiláték v organismu krávy a možnost jejich nejsnazšího a nejpresnějšího zjištění. V případě jejich zjištění je třeba nalézt diagnostický titr pro spermioaglutininy v organismu krav proti spermatozoidům býků, kterými nebyly oplodněny. Zároveň je třeba zjistit může-li tento titr sloužit jako ukazatel kvantity a kvality spermoaglutininů, za jejichž přítomnosti nemůže dojít k oplození a zda by mohl sloužit jako orientační metoda k určení, kterého býka může být použito k opakovanému osemenění krav, které poprvé nezabřezly bez dokazatelných klinických příčin.

2. Otázku tvoření a specifčnosti heterospermoaglutininů, získaných imunizací králíků spermatozoidy býka. S ohledem na zjištění některých zákonitostí v imunologickém procesu oplození se zkoumají některé antigenní vztahy mezi spermatozoidy a erytrocyty zvířete, jehož spermatozoidy byly použity k imunizaci.

3. Na třetím místě otázka komplement vázajících spermo-antiláték, které vznikly imunizací heterologickými spermatozoidy. O tomto druhu spermo-antiláték údaje v literatuře téměř chybějí.

Pro vyřešení prvního úkolu byly spermo-antilátky hledány v biologické tekutině dvou skupin krav:

a) První skupina 48 krav s opakující se říjí. Tuto skupinu tvořilo 8 podskupin s různým počtem krav, které nezabřezly a u kterých se říje několikrát opakovala. Tyto krávy byly osemenovány spermatem býka, určeného pro tuto podskupinu. Zjistitelné klinické příznaky pohlavních nemocí v těchto případech chyběly.

b) Druhá skupina 42 krav byla tvořena 7 podskupinami s různým počtem krav. Tyto krávy byly oplozeny hned poprvé spermatem býků, kteří neoplodnili krávy z první skupiny.

Hlavním úkolem při těchto zkoumáních bylo stanovit, vyskytuje-li se v organismu a na jakém místě nejvyšší koncentrace spermoaglutininů. Za tímto účelem byla provedena zkoumání krevního séra, slin, oestrálního výměšku a mléka krav z obou skupin. Pro vyloučení evt. vlivu některých enzymů a jiných faktorů, které by mohly mít vliv na aglutinaci, bylo krevní sérum předběžně inaktivováno při 56° po dobu 30 minut. Sliny a mléko se inaktivovaly vařením do 100° a děložní výměšek byl zkoumán při zahřátí i bez něho.

Jako test sloužila ve všech případech suspenze býčích spermatozoidů, získaných od příslušných býků, kterým byly krávy přiděleny. Suspenze byla získána odstředováním spermatu po dobu 10 min. při 500—1000 obrátkách. Získaný sediment se při trojnásobném odstředění promýval fyziologickým roztokem.

Tímto způsobem byla odstraněna možnost účasti na reakci spermoautoaglu-

tininů, které se někdy nacházejí v samčím organismu, fixovány na povrchu spermatozoidů. Zároveň se odstranily ze samčího organismu spermoaglutininy, které jsou podle některých autorů obsaženy ve spermální plasmě (Lindhal 1956). Jedna kapka takto získaného sedimentu byla rozpuštěna v 1,5 ml fyziologického roztoku a získána suspenze, která sloužila při reakcích jako antigen. Séra jsme ředili ve fyziologickém roztoku geometrickou řadou ve zkumavkách až do 1 : 512.

Aby bylo vyloučeno působení některých činitelů, kteří vyvolávají chemospermoaglutinaci, byly jak zředěná séra, tak i spermální suspenze zkoumány a seřazeny podle koncentrace vodíkových iontů (pH 6,8). Pro kontrolu byla v jedné zkumavce ponechána čistá suspenze spermatozoidů. Stojan se zkumavkami byl umístěn do termostatu při 37° na dobu 1 hod.

Stejným způsobem jsme postupovali při použití ostatních biologických tektin: slin, mléka a výměšků z dělohy řijících se krav.

Vyčíslování výsledků se provádělo dvěma způsoby:

1. Makroskopické vyčíslení reakcí — zkumavka byla prohlédnuta a byl určen stupeň vyjasnění roztoku a vytvoření aglutinátu. Objeví-li se aglutináty, je reakce kladná. Poslední zkumavka, ve které byla zjištěna aglutinace určuje titer séra. Intenzita aglutinace se určuje čtyřstupňovou metodou (+, ++, +++, +++++).

2. Mikroskopické vyčíslení reakcí. Pasteurovou pipetou se odebere ze dna zkumavky malá kapka, která se pozoruje ve visuté kapce. Zkoumá se životaschopnost a pohyblivost spermatozoidů a tvorba aglutinátů.

Při mikroskopickém zkoumání visuté kapky, které se provádí při pokojové teplotě, se stanoví aglutinaci podle charakteristického obrazu, kdy spermatozoidy mají hlavičky přitisknuty k sobě a ocásky zůstávají volné a pohyblivé. V těchto případech jde o hvězdicovou (rozetovou) aglutinaci (kapitoaglutinaci). V některých případech tvořily spermatozoidy kompaktní slitou hmotu (masová aglutinace).

Makroskopické i mikroskopické vyčíslení reakcí bylo provedeno u obou skupin krav. Kromě toho krávy, které nebyly oplodněny určitými býky a naopak zabřezly u býků jiných, byly podrobeny srovnávacímu zkoumání pro stanovení spermoaglutinačního titru v jejich krevním séru vzhledem ke spermatozoidům obou býků.

Výsledky spermoaglutinační zkoušky u 48 nezabřezlých krav, osemeňovaných 2—6krát 8 býky dokazují, že u většiny krav s opakující se řijí je spermoaglutinace pozorována ve vzorcích v celém pořadí zředění do 1 : 512. Je tedy titer krevního séra nezabřezávajících krav asi 512.

Aglutinační reakce u zabřezlých 42 krav byla provedena se spermatem 7 plemenků, se kterými krávy zabřezly. U 4 reakcí byly zkoušky prováděny zároveň s kravami, které od těchto býků nezabřezly.

Při srovnání výsledků u dvou skupin krav bylo zjištěno, že spermoaglutinační reakce probíhá různým způsobem. Titraglutinační zkoušky jsme u zabřezlých krav určili v hranicích od 8 do 16.

Při rozboru získaných výsledků byla zjištěna určitá závislost mezi stářím krav a počtem porodů na jedné straně, výskytem spermoaglutininů na straně druhé. U starších krav s několika porody byl titer poměrně vyšší.

Pro vyřešení druhého úkolu jsme použili 20 králíků. Osm z nich snášelo imunizaci velmi dobře. Výsledky zkoumání aglutinační reakce normálních a imunních králíků sér na spermatozoidy dvou býků „S“ a „Gavroš“ na sklíčku jsou uvedeny v tab. I.

I.

Číslo králíka	Před imunizací		7 dní po imunizaci						Max. titr
	zředěno	nezředěno	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	
5	—	++	++	±	±	—	—	—	20
7	±	++	±	+	—	—	—	—	20
8	—	++	++	±	±	—	—	—	20
10	—	+++	±	—	—	—	—	—	20
12	—	++	++	±	+	—	—	—	40
18	+++	+++	+	±	—	—	—	—	10
19	±	+++	±	++	+	±	—	—	40
22	±	++	+	+	±	—	—	—	20

Jak je vidět z údajů v tabulce, jen v jednom z králíčích sér (č. 18) jsou obsaženy normální spermoaglutininy.

V důsledku imunizace se však objevily imunní heterospermoaglutininy v sérech všech zkoumaných králíků. Titr imunních spermoaglutininů byl poměrně nízký: u 1 králíka je 10, u pěti 20 a u dvou 40.

To dokazuje, že aplikace spermatozoidů jiného druhu do organismu králíků vyvolává tvorbu specifických heterospermoaglutininů.

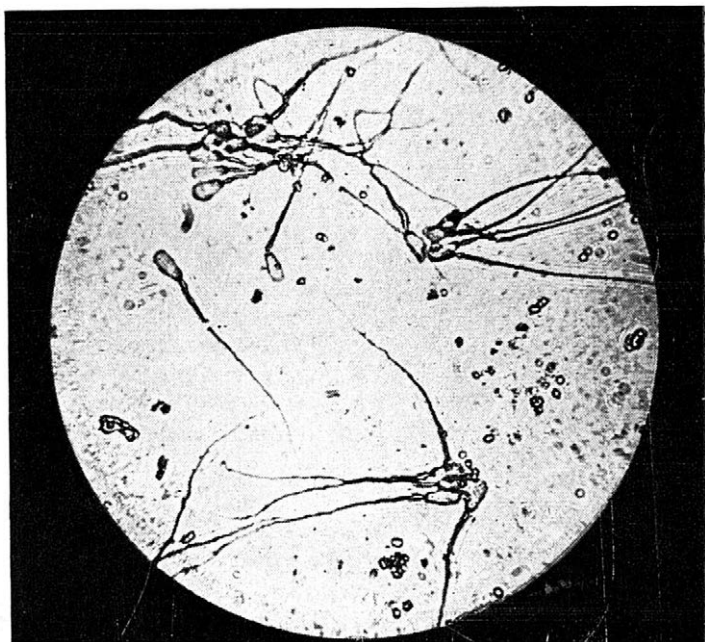
Vytvoření heterospermoaglutininů v organismu králíka po aplikaci býčích spermatozoidů dokazuje, že třebaže tyto dva druhy zvířat jsou systematicky od sebe značně vzdáleny, vytváří organismus jednoho z nich (králíka) specifické imunní látky. Toto zjištění je velmi důležité pro osvětlení některých momentů mezidruhového křížení a pro úplné objasnění problémů srovnávací sérospematologie.

Pro vysvětlení, zda jsou ve spermatozoidech a erytrocytech býka obsaženy obecné antigény, byla provedena zkouška na aglutinaci (pomocí zkumavek) vůči erytrocytům pleménika „S“. Bylo použito normální a imunní sérum osmi pokusných králíků, o kterém bylo již známo, že obsahuje spermoaglutininy. Pracovali jsme se séry zředěnými geometrickou řadou. Naším cílem bylo zachycení erythroaglutininů, které se projeví v důsledku zonálního fenomenu. Při tomto zkoumání séra nebyly ani u jednoho z králíků (jak před imunizací, tak i po imunizaci spermatozoidy býka) zjištěny erythroaglutininy v ředění 1 : 32.

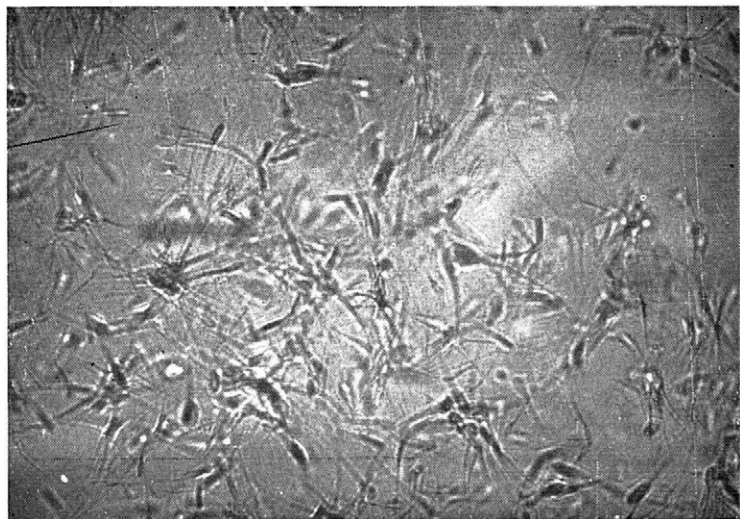
Abychom zjistili, jsou-li v imunním králíčím séru obsaženy skryté spermoaglutininy a rovněž abychom zesílili aglutinační působení spermoaglutininů s nízkým titrem, provedli jsme zkoumání nepřímou Coombsovou metodou u spermatozoidů býka, senzibilizovaných králíčím antispermatozoidním sérem (získaným imunizací spermatozoidy býka). Výsledek však byl záporný.

Práce na třetím základním úkolu byla prováděna s ohledem na zvláštnosti různých druhů spermo-antilát: spermoaglutininy, spermoprecitipiny, spermolyziny, komplement vázající spermo-antilátky atd. Popis komplement vázajících spermo-antilát je nutný, protože v literatuře téměř chybí údaje o tomto druhu spermo-antilát.

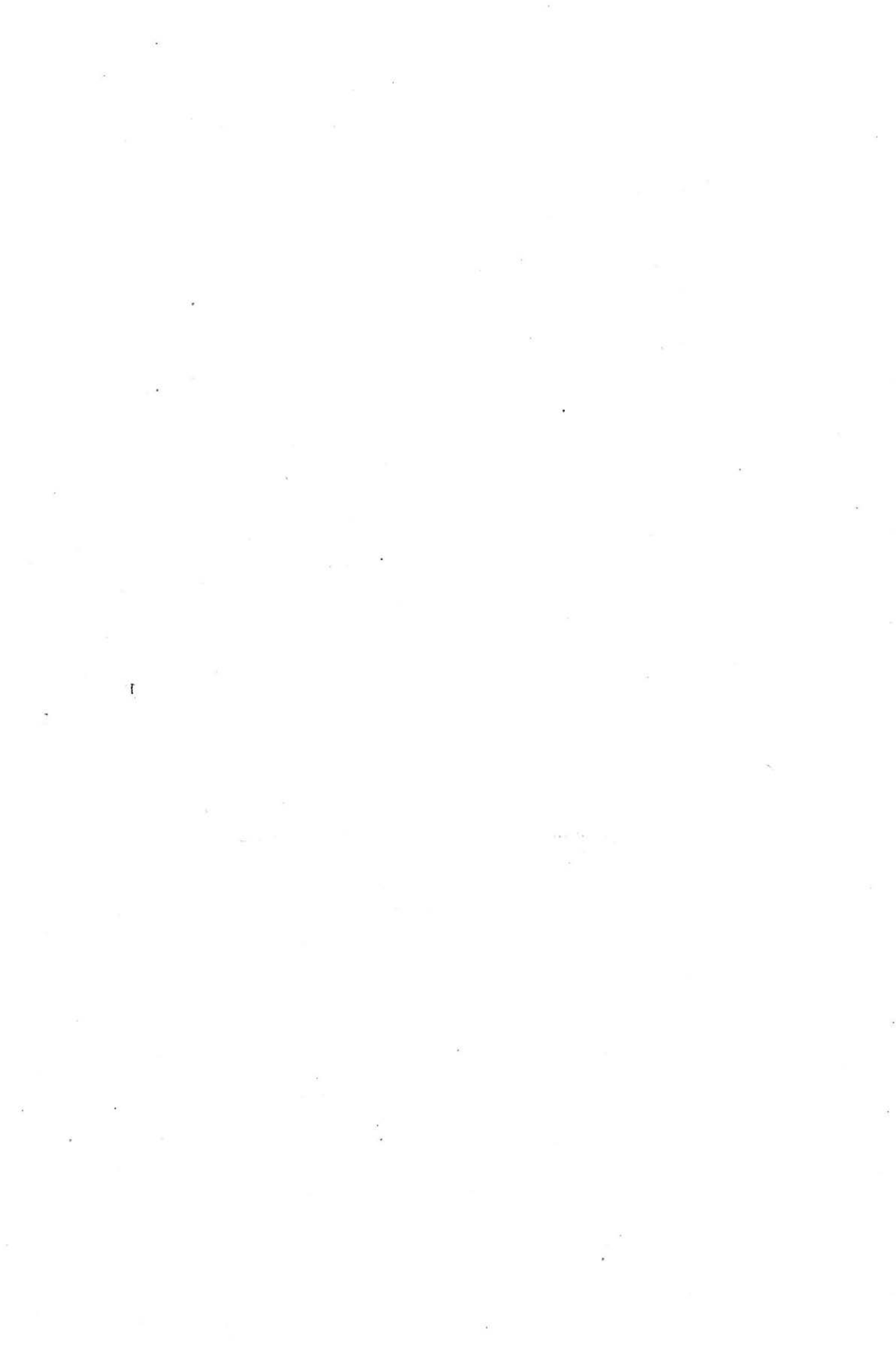
Pro získání antispermatozoidního séra bylo použito 20 králíků, 3 ovcí a 3 koz. (Metodika je podrobně popsána ve společné práci R. P o p i v a n o v a a V. B a l -



Obr. 1.



Obr. 2.



č a n o v a — Izvěšťa n. In-ta po biologia i patologia na rozmnožavaneto, t. III, 1952.)

V séru ani jednoho z 20 králíků nebyla před imunizací zjištěna přítomnost komplement vázajících antilátek proti spermatozoidům býka.

První komplement vázající spermo-antilátky byly zjištěny za 7 dní po prvé sérii injekcí, a to jen u 1 králíka s poměrně nízkým titrem (1 : 4). Sedm dní po druhé sérii byly však komplement vázající spermo-antilátky zjištěny v krevním séru všech 20 králíků. Přitom byl jejich titr značně vysoký (od 1024 do 2048). Čtrnáctý den po druhé sérii tento titr klesl (od 512 do 1024) a 21. dne se snížil ještě více (od 128 do 512). Po dobu 5 týdnů zůstaly titry na téže úrovni (od 128 do 256), s tendencí postupného snižování, takže 150. dně činily 16 až 32.

Zkoumání u koz ukázalo, že v krevním séru jedné z nich jsou obsaženy komplement vázající spermo-antilátky s nízkým titrem (titr 8) ještě před imunizací. Po imunizaci nepřevýšil titr u všech 3 koz 64.

V krevním séru ovcí nemohl být zjištěn výskyt komplement vázajících spermo-antilátek před imunizací. Po imunizaci však i v tomto případě, tak jako u koz, nepřesáhl jejich titr 64.

Posouzení získaných výsledků

Získané výsledky dokazují především, že v organismu krav se vytvářejí protilátky proti býčím spermatozoidům.

První závěr, který můžeme udělat je, že ve všech případech, u zabřezlých i nezabřezlých krav, byla zjištěna kladná reakce na spermoaglutinaci. Krávy, které zabřeznou, mají obvykle titr od 8 do 32, kdežto nezabřezávající nad 5.2.

Je třeba připustit, že v organismu zabřezávajících krav nemohou spermoaglutininy projevit svůj účinek při imobilizaci spermatozoidů a v důsledku toho ani při zábraně oplodnění pravděpodobně z těchto příčin:

a) Při nízké koncentraci spermoaglutininů v krevním séru, které je nejcitlivějším biologickým prostředím a pravděpodobně ve srovnání s jinými biologickými tekutinami v organismu obsahuje spermoaglutininy v největší koncentraci, nemohou se spermoaglutininy dostat ve větším množství do pohlavních orgánů samice v době říje a nemohou také vyvolat aglutinaci spermatozoidů.

b) Jestliže se spermoaglutininy dostanou do pohlavních orgánů, není aglutinační síla oestrálního výměšku pro nízký titr schopna vyvolat aglutinaci spermatozoidů.

c) Třetí předpoklad pro eliminaci působení spermoaglutininů v organismu krav je založen na známých výzkumech Lindahlových, podle něhož se v pohlavních orgánech samice a zvláště ve výměšku děložního krčku nacházejí spermoantiglutininy, které zabraňují aglutinaci spermatozoidů.

Při našich pokusech byla zjištěna specifická individuální citlivost reakce krevního séra u některých krav na spermatozoidy určitých býků. Tato individuální citlivost na určité organismy u dvou chovných zvířat (samce a samice), může vysvětlit případy neoplození krav, připuštěných nebo osemeňovaných bezvýsledně mnohokrát týměž býkem, aniž by zde byla jiná příčina.

Při zkoumání imunních heterospermoantilátek bylo zjištěno, že v důsledku imunizace králíků býčími spermatozoidy se v jejich krevním séru vytvářejí spermoaglutininy. V séru těchto králíků však nebyly zjištěny aglutininy proti erytrocytům býka, jehož spermatozoidy byly použity jako antigen při imunizaci.

Imunizace králíků, ovcí a koz heterologickými spermatozoidy (býka) působí rozvoj komplement vázajících heterospermoantilátek, jejichž titr dosahuje u králíků až 2048 a u ovcí a koz až 64. Před imunizací nebyly heterospermo-antilátky v séru zvířat přítomny. Výjimku tvořila jedna z koz, u které byly tyto protilátky zjištěny v titru 8. Titr komplement vázajících spermo-antilátek (jenž má své maximum mezi 6. a 10. dnem po poslední injekci) se rychle snižuje. Na nízké úrovni (16–32) zůstává však delší dobu — více než 5 měsíců po skončení imunizace.

U zajíců byla reakce vazby komplementu citlivější než aglutinační reakce a také specifitější.

Naše výsledky kladou mnoho nových úkolů v souvislosti s vyjasněním řady otázek, spojených s imunobiologií oplození. Především je třeba obšírnějšího zkoumání srovnávací sérospermatologie u jednotlivých druhů zvířat. Stanovení sérologické jednoty a rozdílů mezi jednotlivými druhy, jakož i úlohy heteroantilátek, izo-antilátek a auto-antilátek, osvětlí proces oplození z nových hledisek.

Velmi důležitou otázkou je prozkoumání cest spermoimunizace jak samičího, tak i samčího organismu.

Velmi zajímavá je také otázka, zda se při ředění a uchovávání spermatu nevytvářejí podmínky pro imunizační reakce při setkání spermatozoidu s vajíčkem, při implantaci zygoty aj.

Tyto otázky jsou předmětem našich dalších výzkumníků.

S o u h r n

1. V organismu krav se zjišťují spermoizoaglutininy. Nejsnadněji a nej přesněji mohou být zjištěny v krevním séru. Jejich titr vzhledem ke spermatozoidům býků, kterými krávy nebyly oplodněny, je 1 : 512 a vzhledem ke spermatozoidům býků, kterými byly hned poprvé oplodněny, je ve většině případů 1 : 32. Velký rozdíl v obou titrech umožňuje použít této zkoušky ke zjištění imunobiologické příčiny neplodnosti, jestliže jiné příčiny chybějí.

2. Z 20 králíků byly jen u jednoho zjištěny přirozené spermoaglutininy proti spermatozoidům býka a ani u jednoho komplement vázajícího spermoantilátky. Vytvářejí se však po imunizaci.

3. Jak před imunizací, tak i po ní, nebyly v séru pokusných králíků zjištěny aglutininy proti erytrocytům býka.

4. Nepřímý test podle Coombsa provedený se zředěnými imunními králíčími antispermatozoidními séry, dává záporný výsledek.

5. Reakce vazby komplementu je citlivější a specifitější než spermoaglutinační zkouška.

Došlo dne 15. 2. 1962

L i t e r a t u r a

1. Beschlebnov A. V., 1934: Veterinarija, KN. 10. — 2. Beschlebnov A. V., 1952: Jalovost krup. rog. skota i borba s nej, Selchozgiz. — 3. Bratanov K., K. Gerov a T. Todorov, 1949/50: God. SSA „G. D.“. — 4. Bratanov K., V. Dikov, 1960: Probleme actuale de Biologie, Bucarest. — 5. Bratanov K., V. Dikov, 1959: Nauč. trud. po rozv. iz. o semen. Tom I. — 6. Bratanov K., V. Dikov, 1960: Dokladi BAN, T. 13, N. 5. — 7. Mečnikov I. I., 1951: Voprosy

immun. Izd. AN SSSR. — 8. Michilov I., 1915: Arch. vet. nauk, KN. 11. — 9. Rabov A., 1937: M. CH., uč. zad. Kazansk. vet. I. T. 48,2. — 10. Tušnov M. P., 1928: Problemy spermotoksinov i lizatov. — 11. Alfonso C. G., F. Perez, 1959: An. Inst. Vet., Madrid, IX. — 12. Bonadonna T., 1953: Manuale di tecnica della Fecondazione Artificiale degli animali, Milano. — 13. Bratanov K., R. Popivanov, V. Valtchanov a V. Dikov, 1961: Compte rendus de l'Académie Bulgare des sciences, No. 1. — 14. Landsteiner, 1899: CBI. F. Bant., 25. I. — 15. Leslie, 1901: C. R. de l'Acad. de Sc., 133. — 16. Lindahl E., 1956: III. Internat. Congr. on animal reproduction, Physiology, Cambridge. — 17. Rümke Ph., Hellinga G., 1959: Amer. Jour. Clin. Pathol., Vol. 32, No 4. — 19. Willson L., 1954: Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 85, 4, 652-655.

О некоторых иммунобиологических факторах при оплодотворении сельскохозяйственных животных

1. В организме коров устанавливаются спермоизоагглютинины. Легче и точнее всего они могут быть определены в сыворотке крови. Их титр по отношению к сперматозоидам быков, которыми коровы не были оплодотворены, равнялся 1:512, а по отношению к сперматозоидам быков, которыми коровы были оплодотворены с первого раза, в большинстве случаев составлял 1:32. Большая разность в обоих титрах дает возможность эти испытания использовать для установления иммунобиологических причин бесплодия при отсутствии других причин.

2. Из 20 кроликов только у одного были установлены естественные спермоагглютинины против сперматозондов быка, и ни у одного из них не было комплемента, связывающего спермоантитела. Однако, они образуются после иммунизации.

3. Как до иммунизации, так и после нее в сыворотке подопытных кроликов не были установлены агглютинины против эритроцитов быка.

4. Косвенный тест согласно Кумбсу, проведенный с разбавленными иммунными антисперматозондными сыворотками кроликов, дает отрицательный результат.

5. Реакция связывания комплементов более чувствительна и более специфична по сравнению со спермоагглютинирующим испытанием.

Über einige immunologische Faktoren beim Befruchtungsprozeß landwirtschaftlicher Nutztiere

Es ist festgestellt worden, welche Rolle die Spermoisoagglutinine im Kuhorganismus nach der Befruchtung spielen. Zu diesem Zweck untersuchte man 48 Kühe mit der wiederholender Brunst und 42 Kühe, die auf den ersten Schlag befruchtet wurden, in bezug auf Spermien von 15 Bullen.

Der Spermoagglutinationstiter der unbefruchtet gebliebenen Kühe war 1:512, bei den befruchteten Kühen hingegen 1:8 bis 1:3,2 in Bezug auf die Spermien der in Betracht kommenden Bullen.

Von 20 untersuchten Kaninchen fand man nur bei einem Tier im Blutserum normale Agglutinine in bezug auf die Bullenspermien. Komplementbindende Spermioantikörper fand man bei keinem einzigen Kaninchen. Als Folge der Immunisierung kam es jedoch zur Bildung von Spermioantikörpern bei allen Kaninchen.

Der Spermioagglutinationstiter reicht bis zu 121 und der Titer der komplementbindenden Spermioantikörper bis 2.048. In diesen Seren fand man weder vor noch nach der Immunisierung Agglutinine in bezug auf die Erythrocyten desjenigen Bullen, mit dessen Spermien die Immunisierung durchgeführt wurde.

Der indirekte Coombs-test mit verdünnten immunen Antispermienseren hatte negative Ergebnisse.

Zvláštnosti fyziologie rozmnožování prasat

Особенности физиологии размножения свиней

Besonderheiten der Fortpflanzungsphysiologie bei Schweinen

Les particularités de la physiologie de la reproduction des truies

J. G. PITKJANĚN

*Puškinská vědeckovýzkumná laboratoř pro studium rozmnožování hospodářských
zvířat v Leningradě*

Ú v o d

Zdokonalení techniky rozmnožování a současně zdokonalení metod zvyšování oplodnění a plodnosti prasat vůbec nutně vyžaduje rozšíření dosavadních znalostí o fyziologii pohlavních orgánů prasat.

V předkládaném sdělení uvádíme data o období pohlavní dospělosti, říji, ovulaci, pohybu a postupu vaječných buněk a spermatozoidů, o zrání vaječných buněk, o oplodnění a raných stádiích embryonálního vývoje podle doby a metody připuštění a oplodnění (osemenění).

Vlastní práce

I. Říje prasat u nejvíce rozšířeného velkého bílého plemene trvá 2 až 3 dny, průměrně 56 hodin. U mladých prasnic bývá tato doba obvykle kratší, nepřesahuje 2 dny, věkem se však prodlužuje. Říje u berkširských a velkých černých prasat je průměrně o 0,5 (12 hodin) delší než u velkých bílých prasat. Za 18–24 hodin říje dosahuje vrcholu, kdy se zvlášť ostře projevuje pohlavní dominanta. Ve srovnání s ostatními druhy hospodářských zvířat se tzv. reflex nehybnosti projevuje u prasat zvlášť výrazně a trvá dlouho. Technické osemenění nenaráží proto na žádné překážky a není třeba stavět zvláštní fixační stání.

Studium ovulace bylo prováděno asi na 600 prasnicích. Aby se zjistila doba ovulace, byl stanoven počátek ovulace (s přesností až 3 hodin) a pak byla v různém časovém odstupu provedena laparotomie a zkoumán stav vaječníků. Bylo zjištěno, že u malé části prasnic (17 %) začíná ovulace 16–21 hodin po začátku říje. Za 31 hodin po začátku říje ovuluje 30–46 % prasnic. U většiny prasnic dochází k ovulaci za 32–39 hodin od začátku říje. Doba, kdy folikuly praskají, není u žádné prasnice delší než 1–3 hodiny. Je to možno dedukovat ze stavu vaječníků prasnice krátce před ovulací a v okamžiku ovulace. Obvykle všechny

folikuly (kromě jednoho nebo dvou) jsou podle povrchu stejného histologického složení. U několika prasníček se při pozorování zdařilo zachytit moment ovulace, kdy část folikulů již praskla. Folikuly, jež dosud nepraskly, byly ve stadiu plné zralosti a byly připraveny k ovulaci. Při opakovaném zkoumání těchto prasníček (za dvě, tři hodiny), byly už prasklé všechny folikuly. Někdy zase jeden nebo dva folikuly v okamžiku ovulace neprasknou. Přesto však na základě dalších pozorování jejich histologického složení a jejich dalšího osudu soudíme, že tyto folikuly v daném pohlavním cyklu neovulují, tzn. že je zde třeba mluvit o neúplné a ne o prodloužené (dlouhé) ovulaci určité části prasnic.

Styk prasnic s kanci, připuštění a zvláště dvojskok, urychluje dozrávání a uvolňování vaječných buněk. Nejúčinnější v tomto směru je připouštění na začátku říje. Na ovulaci pravděpodobně do určité míry působí i umělé osemenění. Při technické inseminaci 20 prasnic během 24 hodin počínaje začátkem říje a při následujícím sledování 10 prasnic z nich po 28–31 hodině od začátku říje, byly ovulace zjištěny u 30 % prasnic (7 prasnic nemělo ovulaci). U 10 ostatních prasnic, vyšetřovaných 32–35 hodin po začátku říje, byly ovulace zaznamenány u 80 % (2 prasnice bez ovulace). U nepřipuštěných prasnic v tuto dobu ovuluje přibližně asi 58 %.

Na základě těchto dat se doporučuje připouštět a zvláště technicky inseminovat prasnice 24–30 hodin po začátku říje. V tom případě bude většina prasnic osemněna několik hodin před uvolněním vaječných buněk. Při dostatečně přesném zjištění začátku říje (zkouška kancem — prubířem za 6 hodin), je třeba oplodnit prasnice 24 hodiny po objevení se říje, přičemž pro jednu říji stačí jednorázové osemenění. V provozních podmínkách s méně přesným (interval 12 hodin) stanovením říje, je třeba provést inseminaci dříve, nejpozději za 18 hodin po objevení se říje u prasnic. Osemenění opakované za 10–12 hodin zvyšuje v tomto případě procento oplodnění.

II. Pohyb spermatozoidů v děloze jsme sledovali fistulovou metodou. K tomu účelu jsme při operaci, provedené za několik dní po skončení říje, zavedli do děložních rohů prasnice v místě, kde přecházejí ve vejcovody, gumové hadice, které jsme vyvedli řezem v břišní stěně mezi posledním a předposledním párem struků. Před začátkem následující říje byly prasnice zcela připraveny k provedení pokusu — byly připouštěny nebo technicky inseminovány a byl sledován výtok z fistulí.

Počet spermatozoidů ve vejcovodech byl zjištěn po amputaci vejcovodů při laparotomii. Každý vejcovod byl rozříznut na tři části, promyt fyziologickým roztokem a pak byl počítán v Gornevově komoře stanoven počet spermatozoidů v 1 mm^3 a násobením se stanovil počet spermatozoidů v celkovém množství kapaliny, kterou se proplachovaly jednotlivé části vejcovodu.

Šetření prokázalo, že se sperma v rozích dělohy prasnice pohybuje poměrně velmi rychle, po 10–20 minutách po začátku připuštění přichází do horní části rohů dělohy. Díky rytmickým nasávacím pohybům děložních svalů, pohybuje se sperma v děloze, v důsledku toho sperma z fistule nevytéká nepřetržitým proudem, ale periodicky po 1–2 minutách. K těmto kontrakcím dělohy dochází jen v období říje a kontrakce jsou nejsilnější v době jejího vyvrcholení: na začátku a na konci říje se střídají s vypuzujícími pohyby (ochabování svalstva). Spermatozoidy pronikají do vejcovodu za 1–2 hodiny po připuštění, přičemž větší část (desítky a stovky tisíc) přechází do dolní čtvrtiny vejcovodu. Ve středním oddílu vejcovodu se najdou stovky, v horním oddílu — desítky spermatozoidů.

Rychlost pohybu spermií v děloze prasnice a doby, kdy spermatozoidy proniknou do vejcovodu, zcela závisí na periodě říje, kdy je provedeno oplodnění a na

metodě připuštění. Při dvojskoku se spermatozoidy pohybují rychleji než při jednom připuštění. Nejrychleji se sperma pohybuje při připuštění ve vrcholu říje, tj. 18 až 24 hodiny po začátku říje. Tento rozdíl se však projevuje v minutách a nemůže ovlivnit výsledky osemenění. Rychlost pohybu spermatozoidů neovlivňuje oplodnění. Podstatnější je rozdíl v počtu spermatozoidů, které se dostanou do rohů dělohy a do vejcovodů v různých dobách říje a při různých způsobech páření.

Při připuštění na začátku a koncem říje přichází do horní části rohů dělohy a do vejcovodů mnohem méně spermatu než při připuštění za vyvrcholení říje. Funkcionální asymetrie děložních rohů je nejzřetelnější na začátku a ke konci říje.

Speciální výzkum byl věnován sledování počtu a stavu spermatozoidů ve vejcovodech na začátku oplodnění při různých metodách technické inseminace.

Prasnice byly technicky inseminovány různou dávkou spermatu a spermatem skladovaným mimo organismus různě dlouhou dobu. Prasnicím jedné skupiny bylo vpraveno čerstvé sperma v dávce 5 miliard spermatozoidů (obvyklá dávka), prasnicím druhé skupiny 500 mil. (mikrodávka), prasnice třetí skupiny byly inseminovány spermatem skladovaným 24 hodiny, prasnice čtvrté skupiny — spermatem skladovaným plně tři dny mimo organismus.

Za 1,5 hodiny po inseminaci čerstvým spermatem nebyly ve vejcovodech žádné spermatozoidy. Za 2 hodiny po inseminaci byly přezkoušeny vejcovody dvou prasnic. U obou skupin byly v dolní čtvrtině vejcovodu zjištěny tisíce, ve střední části stovky spermatozoidů. Například u prasnice č. 60, inseminované dávkou 3 miliard spermatozoidů, bylo v dolní části vejcovodů 3560, ve střední části 240 spermatozoidů. U prasnice č. 24, inseminované dávkou 12 miliard spermatozoidů, bylo v dolní části vejcovodu nalezeno 83440, ve střední 320 spermatozoidů. Za 6 hodin bylo přezkoušeno 8 prasnic první skupiny. U všech úspěšně inseminovaných prasnic (beze ztrát spermatu při osemenění) byly ve vejcovodech napočítány desítky a stovky tisíců spermatozoidů). Tak u prasnice, inseminované dávkou 5 miliard spermatozoidů (prasnice č. 264) v ředidle obsahujícím mléko, bylo ve vejcovodech napočteno 396 136 spermatozoidů. U prasnic č. 10 a 13 při použití stejné dávky spermií v mléčném ředidle bylo shledáno 133 198 a 52 912 spermatozoidů. Za 6 hodin po osemenění byly z dělohy vymývány pohyblivé spermie (až 80 % aktivita). Při technickém zavádění spermatu pronikají tedy spermatozoidy poněkud pomaleji do vejcovodů, ale přece jen v dostatečném množství.

Ze 6 prasnic, sledovaných v téže době po osemenění mikrodávkou, byl u dvou prasnic ve vejcovodech zjištěn značný počet spermatozoidů — 13 804 a 1068 — kdežto u ostatních prasnic se buď nenašly žádné anebo jen ojedinělé spermie. Z toho plyne, že při inseminaci prasnic dávkou 0,3—0,5 miliard spermatozoidů proniká k místu oplodnění menší počet než při oplodnění plnou dávkou. Přesto však v optimálních podmínkách může i při inseminaci mikrodávkou spermií proniknout do vejcovodů značný jejich počet.

Inseminace skladovaným spermatem se prováděla tak, že každá prasnice byla osemeněna dávkou 5 mld progresivně se pohybujících spermatozoidů. Při snižující se jakosti spermatu vlivem uchovávání, celkový počet zavedených spermatozoidů, včetně nepohyblivých a kmitavě pohyblivých — byl velký, zvláště při použití spermatu skladovaného 3 dny. Při zkoumání po 24 hodin skladovaného spermatu u jedné z pěti vyšetřovaných prasnic nebyly 6 hodin po oplodnění nalezeny žádné spermatozoidy, u dvou jich bylo mnoho (25 574 a 3951) a u dvou praset jich bylo jen málo (134 a 46). Při inseminaci spermatem tři dny starým byly nalezeny spermatozoidy u všech tří pokusných prasnic (od 402 do 4354). Z toho plyne, že při inseminaci prasnic skladovaným spermatem proniká do vej-

covodů značně menší množství spermatozoidů než při oplodnění čerstvým spermatem. Je zřejmé, že při posunu spermatu z dělohy do vejcovodů hraje velkou úlohu aktivita spermatozoidů. Pohyblivé, živé spermatozoidy byly zde nalezeny v pohlavních cestách v menším počtu a pohybovaly se namnoze pomaleji než u prasnic inseminovaných čerstvým spermatem. Při inseminaci spermatem 3 dny starým značně vzrostla fagocytóza spermatozoidů leukocyty. Počet fagocytovaných spermatozoidů se zvýšil na 30–40 %.

Spermatozoidy pronikají k místu oplodnění postupně. Čím delší doba uplyne od připuštění, tím větší je počet spermatozoidů ve vejcovodech. Za sedm až sedmáct hodin zde napočteme stovky tisíců spermatozoidů. Asi za 23–30 hodin po připuštění počet spermatozoidů ve vejcovodech začíná klesat.

III. Je známo, že *proces oplodnění* hospodářských zvířat je dosud jen velmi nedostatečně prozkoumán. Prvopočáteční teorie o oplodnění se opírala o výzkum bezobratlých. V posledních letech se v tomto směru podrobněji zkoumá králík.

Cytologický obraz a charakter oplodnění u velkých hospodářských zvířat nebyl dosud sledován. V našem výzkumu se této otázce věnuje speciální pozornost. (Zájemci se mohou seznámit s albem našich materiálů týkajících se procesu oplodnění u krav, prasat a u králíků.) Vaječné buňky prasat měří v průměru $165 \pm 0,8$ μ m a jejich plazma je proti plazmě ostatních zvířat hrubozrnější. Vaječná buňka prasete obsahuje látku podobnou tuku, která se osmiem černě extrahuje lihem nebo směsí lihu a éteru. Folikulární vaječná buňka má velké puchýřovité jádro s jadérkem. Po celé řadě přeměn chromatinové hmoty, při nichž jadérko nehraje nejposlednější úlohu, za 18 až 19 hodin po začátku říje, dochází ve vaječniku k prvnímu dělení zrající vaječné buňky. Po ovulaci se na povrchu buňky objeví první pólové tělísko, vaječná buňka je v metafázi druhého dělení. Druhé dělení zrající vaječné buňky se dovšuje při procesu oplodnění, když sperma pronikne do ooplazmy. K začátkům oplodnění dochází obvykle ve středním oddílu vejcovodu, poněvadž jeho horní polovinou vaječná buňka postupuje velmi rychle. Vaječné buňky se posunují díky stahům vaječníků.

Oplodňování vaječných buněk u prasnice se zúčastňuje velký počet spermatozoidů. V průsvitné bláně vaječných buněk jsou nesčetné spermatozoidy. Spermatozoidy se snaží touto blánou proniknout již hodinu po připuštění. V začátcích oplodnění je v průsvitné bláně malý počet spermií. Postupně se jich nahromadí velký počet — až 200 spermatozoidů — v rovině největšího průměru vajíčka. Blána je poseta hlavičkami spermií. Spermatozoidy vnikají do ooplazmy za 3 až 4 hodiny po připuštění nebo inseminaci. Spermatozoidy pronikají do ooplazmy neporušené, tj. i s ocasní protoplasmickou částí. Ve vajíčku se spermatozoid otočí o 180° , praskne, vakuolizuje se a mění v semenný pronukleus. Pronukley nacházíme ve vajíčku za 6 hodin po oplodnění. Podle struktury se rozlišují na ženské, v nichž jsou zřetelně vidět chromatinové útvary a na mužské pronukley s jemnou strukturou. V blízkosti mužského pronuklea je delší dobu vidět bičík. Do ooplazmy vnikne obvykle jeden spermatozoid a jsou tam 2 pronukley. Našli jsme u prasnice i 2 spermatozoidy proniknuvší do ooplazmy a konstatovali jsme pak jejich přeměnu na 2 pronukley, tj. našli jsme vaječné buňky s třemi pronukley. Osud takových vaječných buněk není jasný. Pronukley vznikají na různých pólech buňky, jejich rozměry jsou zpočátku malé; postupně pronukley rostou a pohybují se směrem do středu vajíčka, až se vzájemně dotýkají. Zdá se, že vaječná buňka se poměrně dlouhou dobu nachází ve stadiu vzájemného dotyku pronukleů, poněvadž jsme vzájemně se dotýkající pronukley ve vajíčku našli za 13 hodin po spáření, kdežto první dělení vaječné buňky probíhá po 20–24 hodinách. V tuto dobu se vaječné buňky nacházejí v dolní třetině vejcovodu.

Vajíčko prasnice se dělí mnohem pomaleji než je tomu u druhých hospodářských zvířat. Za 48 hodin po ovulaci nebo průměrně za 72 hodiny od začátku říje, ve stadiu 4–8 blastomer, sestupuje vajíčko do dělohy.

Obraz oplodnění se podstatně mění podle doby a metody připouštění či osemenování. Při připouštění se na začátku nacházejí v průsvitné bláně vaječných buněk a v zárodku jen jednotlivé spermatozoidy. Jindy se při osemenění v této době vývoj oplodněných buněk zpomaluje nebo se zastavuje vůbec.

V takových případech se za 48 až 52 hodin po připouštění či osemenění prasnice vymývají z vejcovodu a z dělohy nedělící se vaječné buňky ve stadiu dvou pronukleů. Zjišťuje se nepravidelné rozdělení ooplazmy na „blastomery“ značně různé velikosti. Obvykle bývají 1–2 velké a mnoho (10–12) malých blastomer na jednom z pólů vajíčka. L-2 spermatozoidy, které se při připouštění v této době nacházejí v průsvitné bláně, jsou zřejmě nezpůsobilé k plnohodnotnému oplodnění a zajištění normálního vývoje zárodku. Při připouštění na začátku a ke konci říje se v důsledku silně se projevující funkcionální asymetrie dělohy nacházejí v jedné polovině pohlavního traktu dělí se zárodky, avšak ve druhé polovině jen neoplozené vaječné buňky; 3 pronukleje se ve vaječné buňce častěji nacházejí při připouštění prasnice po ovulaci, blízko konce říje. Po připouštění za 48 hodin od začátku ovulace je možno zjišťovat masové pronikání spermatozoidů průsvitnou blanou do ooplazmy.

V jednotlivých vaječných buňkách u prasnic, připuštěných ke konci říje, napočteme po 60 spermatozoidů v ooplazmě. Ale hlavičky spermatozoidů jsou pyknotické, kolem nich se vytvářejí vakuoly a některé přijímají strukturu buněčných jader. Při připouštění koncem říje se dělení zárodků v prvním vývojovém stadiu urychluje, avšak později je vývoj zřetelně narušen. Výsledkem je, že k 26. dni březosti prasnice nacházíme velký rozdíl mezi počtem prasklých folikulů a počtem vyvíjejících se zárodků, poněvadž část zárodků se rozpadá a mizí.

Při dvojskoku proniká do vaječných buněk značně větší počet spermatotoidů než při jednom skoku, dělení se urychluje.

Prošetřili jsme též výsledky různých metod technické inseminace. Při vyšetřování 28 prasnic byly 48 hodin po inseminaci plnou dávkou (5–10 mlrd) spermatozoidů nalezeny dělí se zárodky u 24–36 % těchto zvířat. Zárodky byly ve stadiu od dvou do osmi blastomer. V jejich průsvitné bláně bylo zjištěno průměrně 52 spermatozoidů (od 12 do 140 v rovině velkého průměru vajíčka). Při technické inseminaci plnou dávkou spermií probíhá tedy proces oplodnění normálně.

Při inseminaci 13 prasnic mikrodávkou spermatu byly zárodky s počínajícím vývojem nalezeny u 9 (69 %) prasnic. U tří z nich jsme v průsvitné bláně napočítali 13 až 61 spermatozoidů v jednom zorném poli mikroskopu; u ostatních prasnic 1–5 spermií. U dvou prasnic se jednotlivé zárodky rozdělily na různé velké blastomery. V optimálních podmínkách při inseminaci mikrodávkou je možné normální oplodnění i vývoj zárodků. V současné době je třeba experimentálně zjistit podmínky, kdy inseminace mikrodávkou dává nejlepší výsledky. T. N. Pliško (1960) nedávno uveřejnil zprávu o úspěšném osemenění 24 prasnic dávkami 0,3–0,5 mlrd spermatozoidů. Zajímavé jsou pokusy Strettmanna, Selfa a Smitha (1959) i pokusy provedené pod vedením V. K. Milovanova (1961), svědčící o rychlé dopravě malých množství spermatu k vejcovodům a o zvýšení oplodnění při použití mikrodávek, zavede-li se v okamžiku oplodnění prasnicím oxytocin.

Jak už bylo poznamenáno, při inseminaci spermatem 1 den (24 hodin) uskladněným, proniká do vejcovodů méně spermatozoí. Přesto se získají stejně

dobré výsledky oplodnění jako při osemenění čerstvým spermatem. V našem pokusu byly u všech 9 inseminovaných prasnic za 48 hodin nalezeny normálně se vyvíjející zárodky, v průsvitné bláně u části zárodků se napočítalo přibližně sto spermatozoidů. V malém pokusu při inseminaci 10 prasnic jeden den starým spermatem v glykokolovém ředidle jsme dosáhli stoprocentního oplodnění a 100 % vrhů od všech inseminovaných prasnic. Aspirant A. A. Šubín získal v naší laboratoři do dnešního dne asi 100 vrhů od prasnic inseminovaných spermatem, přechovávaným 24 hodin v mléčném ředidle, v ředidle dvojuhlíčitánovém a citrátovém při teplotě 15–20 nebo 5–7°. Prasnice byly jednorázově inseminovány dávkou 5 miliard živých, pohyblivých spermií 24 hodiny po začátku říje. Oplodnění prasnic bylo ve všech skupinách prakticky stejné — kolem 80 %. Plodnost prasnic byla 10,1–13 selat, váha selete 1,1–1,4 kg. Sperma kanců může být tímto způsobem uskladněno pro dopravu během jednoho dne (24 hodin).

Při využití spermatu, skladovaného 3 dny v mléčném dvojuhlíčitánovém a glykokolovém ředidle, byly nalezeny zárodky ve stadiu dělení jen u 50 % sledovaných prasnic (u 4 z 8). U ostatních 4 prasnic byly nalezeny nedělicí se vaječné buňky nebo buňky nepravidelně se dělicí, v bláně některých těchto buněk se nacházely ojedinělé spermatozoidy, jejichž životnost byla viditelně malá, nedostačující k normálnímu oplodnění. Snížené výsledky při použití spermatu skladovaného po 3 dny, svědčí o nutnosti rychlého nalezení prostředí, vhodného pro uchovávání spermatu kance. Je známo, že v současné době vědecké ústavy mnoha zemí pracují na rozřešení tohoto problému.

V naší laboratoři se zkoumá prostředí s přidavkem kyseliny borité. Kyselina boritá posiluje nárazový účinek prostředí a má určitou baktericidní schopnost, takže životnost spermatozoidů v prostředí s kyselinou boritou je značně vyšší.

Mnohem déle se rovněž udržuje vysoká aktivita spermií při uskladnění husté frakce spermatu. Proto považujeme za účelné získávat sperma ve frakcích. Řídké frakce spermatu se použijí k inseminaci prasnic ihned po odběru spermatu a husté frakce se zředí a použijí pro přepravu nebo pro inseminaci v následujících dnech.

A. A. Šubín vyzkoušel na malém počtu (15) prasnic sperma 3 dny přechovávané a dosáhl u prasnic 80 % oplodnění.

V současné době provádí Šubín pokusy s inseminací 200 prasnic uskladněným a přepracovaným spermatem. Výsledky tohoto pokusu nám pomohou sestavit konečná doporučení.

S o u h r n

Ovulace u prasnic nastává v průměru za 32 hodin po začátku říje a trvá nejvýše 1–3 hodiny. Proces ovulace je stimulován pářením. Ovulaci poněkud urychluje umělé osemenování. Při umělém vpravení semene je zvláště důležité zachovávat lhůtu osemenování. Doporučuje se osemenovat za 24 hodin po začátku říje, krátce před ovulací.

Sperma se pohybuje v děloze stahováním svalstva děložních stěn, takže za 10–15 minut po spáření se dostává k děložním rohům. Asi za hodinu se spermie objevují ve vejcovodech. Po dvojím spáření se spermie dostávají do vejcovodů rychleji a ve větším množství než při jednom spáření, při umělém osemenění pomaleji a v menším počtu, zvláště při použití mikrodávek uchovávaného spermatu.

Stavba, dozrávání, oplozování vaječných buněk a první stadia vývoje embryí byly důkladně prozkoumány. Oplození u prasnic je polyspermické. Dozrávání vajíčka se dokončuje po zavedení spermií do ooplazmy. Dělení zárodků u prasnic

je pomalejší než u ostatních druhů hospodářských zvířat. Povaha oplození a dělení podstatně závisí na lhůtách a způsobech osemenění. Při umělém zavedení spermatu je v průzračné bláně vaječných buněk méně spermatozoidů než při přirozeném připouštění. Avšak při osemenění čerstvým spermatem a spermatem uchovávaným do 24 hodin v žlutkovém a mléčném ředidle, nejsou pozorovány odchylky ve vývoji embryí, oplozovací schopnost je asi 80 %, plodnost se nesnižuje.

Došlo dne 15. 2. 1962

Особенности физиологии размножения свиней

Овуляция у свиноматок происходит в среднем через 32 часа от начала охоты и продолжается не более 1—3 часов. Процесс овуляции стимулируется спариванием. Несколько ускоряет овуляцию искусственное осеменение. При искусственном введении семени особенно важно соблюдение сроков осеменения. Рекомендуется осеменение через сутки от начала охоты — незадолго перед овуляцией.

Сперма продвигается в матке сокращениями мускулатуры ее стенок и через 10—15 минут после случки попадает к вершине рогов матки. Примерно через час сперматозонды обнаруживаются в яйцеводах. При двойном спаривании сперматозонды попадают в яйцеводы быстрее и в большем числе, чем при однократном покрытии, при искусственном осеменении медленнее и в меньшем числе, особенно при использовании микродоз консервированной спермы.

Детально изучалось строение, созревание, оплодотворение яйцеклеток и первые стадии развития зародышей свиней. Оплодотворение у свиней полиспермно. Созревание яйцеклеток завершается после введения спермий в овоплазму. Дробление зародышей у свиней замедлено по сравнению с другими видами сельскохозяйственных животных. Характер оплодотворения и дробления существенно зависит от сроков и методов осеменения. При искусственном введении спермы в прозрачной оболочке яйцеклеток насчитывается меньше сперматозоидов, чем при случке. Однако при осеменении свежей спермой и сохраненной до 24 часов в желточных и молочном разбавителях отклонений в развитии зародышей не обнаруживается, оплодотворяемость составляет около 80 %, плодовитость не снижается.

Besonderheiten der Fortpflanzungsphysiologie bei Schweinen

Die Ovulation bei Sauen beginnt durchschnittlich nach 32 Stunden vom Beginn der Brunst und dauert höchstens 1—3 Stunden. Der Ovulationsprozeß wird durch die Paarung stimuliert. Die Ovulation wird etwas beschleunigt durch die künstliche Besamung. Bei der künstlichen Einführung des Samens ist besonders wichtig die Einhaltung der richtigen Besamungszeit. Es empfiehlt sich, 24 Stunden nach Beginn der Brunst, kurz vor der Ovulation zu besamen.

Das Sperma bewegt sich im Uterus durch Kontraktionen der Uterusmuskulatur, sodaß es 10—15 Minuten nach Paarung zu den Uterushörnern gelangt. Etwa nach einer Stunde erscheinen die Spermien in den Eileitern. Nach doppelter Paarung gelangen die Spermien in die Eileiter rascher und in größerer Menge als bei einfacher Paarung, bei künstlicher Besamung hingegen langsamer und in geringerer Zahl, besonders bei Anwendung von Mikrogaben des konservierten Spermas.

Der Aufbau, die Reifung, die Befruchtung der Eizellen und die ersten Stadien der embryonalen Entwicklung wurden gründlich durchforscht. Die Befruchtung der Sau ist polyspermisch. Die Reifung der Eier findet ihren Abschluß nach Einführung der Spermien in das Ooplasma. Die embryonale Teilung verläuft bei Sauen langsamer als bei den anderen Haustierarten. Der Charakter der Befruchtung und der Teilung hängt grundsätzlich von dem Termin und der Art der Besamung ab. Bei künstlicher Einführung des Samens findet man in der durchscheinenden Eihülle weniger Spermatozoide als bei natürlicher Paarung. Aber bei der Besamung mit frischem Sperma und mit Sperma, das 24 Stunden in einer Verdünnungsflüssigkeit mit Milch und Dotter aufbewahrt war, sind keine Abweichungen in der Entwicklung der Embryonen zu beobachten, die Konzeptionsfähigkeit beträgt etwa 80 % und die Fruchtbarkeit ist nicht erniedrigt.

Les particularités de la physiologie de la reproduction des truies

L'ovulation chez les truies s'effectue en moyenne 34 heures après le début de rut et dure au plus 1—3 heures. Le processus de l'ovulation est stimulé par la cohabitation, l'insemination artificielle accélère un peu l'ovulation. En appliquant artificiellement le sperme il est particulièrement important de respecter le terme de l'insemination. On recommande d'inseminer 24 heures après le début de rut, peu avant l'ovulation.

Le sperme se meut dans l'utérus par contraction de la musculature des parois utérines, ainsi que 10-15 minutes après cohabitation il arrive aux coins utérines. A peu près après 1 heure les spermatozoïdes se trouvent dans les oviductes. Après cohabitation répétée les spermatozoïdes arrivent dans les oviductes plus rapidement et en une quantité supérieure qu'après une seule cohabitation, après l'insemination artificielle plus lentement et en moindre quantité, spécialement en usant des microdoses du sperme conservé.

La morphologie, le mûrissement et la fécondation des cellules ovaires et les états de développement des embryons ont été étudiés à fond. La fécondation des truies est polyspermique. Le mûrissement des ovules se termine après la pénétration des spermatozoïdes dans l'ovoplasme. La division cellulaire chez les embryons porcins est plus lente que chez les autres espèces des animaux domestiques. Le caractère de la fécondation et division dépend essentiellement des termes et méthodes d'insemination. Après insemination artificielle on a dans la tunique pellucide des cellules ovaires une moindre quantité des spermatozoïdes qu'après une cohabitation naturelle. Mais en usant un sperme frais et un sperme conservé pendant 24 heures en milieu rarefiant du jaune d'oeuf et lait, on n'observe aucune anomalie du développement des embryons. La faculté de la fécondation se rapporte à peu près à 80 %; la fécondité n'est pas amoindrie.

Príspevky ke studiu zředování a konzervace semene kanců

Работы по изучению разбавления и консервации семени хряков

Beiträge zum Studium der Verdünnung und Konservierung von Ebersamen

T. FEREDYAN, I. FEREDYAN a E. SLAVESCU

Výzkumný ústav živočišné výroby a Ústřední stanice pro umělé osemeňování,
Bukurešť

Úvod

Technickým osemeňováním, jako způsobem urychleného zlepšení vlastností zvířat, se začínají zabývat již i pracovníci v chovu prasat, kde se umělé osemeňování též zavádí do praxe. Úspěch používání tohoto způsobu závisí však hlavně na důkladných znalostech pohlavní fyziologie plemenných prasnic a na možnostech uchování pohlavních buněk plemenných kanců *in vitro*.

První údaje o konzervačních látkách uveřejnil Milovanov a jeho spolupracovníci (9), kteří k ředění použili glukózy s přídavkem síranu sodného, síranu draselného, tartrátu (vinanu), cukru a peptonu a přitom zjistili, že nízká koncentrace elektrolytů a vysoká koncentrace neelektrolytů má příznivý vliv na konzervování semene kanců.

Zajímavá jsou též pozorování Ita a jeho spolupracovníků (6), kteří se zabývali semenem, uchovávaným v nerozředěném stavu. V daném případě se u spermatozoidů rychle snižuje intenzita pohybů, ale pohyblivost semene přeoxydovaného třepáním při teplotě 47–38° C se opět ve značné míře zvyšuje. Tento jev se shoduje s anabiózou, popsanou Milovanovem a Chabibulinem 1933.

Aby byla získána účinnější prostředí pro konzervování semene kanců, provádějí se nyní pokusy s různými směsmi látek, které podle používaných tlumičových (puřových) roztoků lze rozdělit na tyto skupiny:

- prostředí se síranovým puřem
- prostředí s fosforečnanovým puřem
- prostředí s bikarbonátovým puřem

V některých případech byly zkoumány konzervační látky bez solí, které obsahovaly jen glukózu a vaječný žloutek nebo ředidla, která se skládala jen z vaječného žloutku a glykokolu.

Obecně se k těmto vodným roztokům přidával vaječný žloutek anebo odstředěné mléko, které v nich vytvářejí biologické prostředí.

Pokud jde o teplotu, při které se má uchovávat rozředěné semeno, někteří autoři (1, 2, 6 a 10) doporučují teplotu 15–20° C. V posledních letech bylo do-

saženo dobrých výsledků s uchováváním semene při teplotě 7–8° C (7, 8 a 9), při teplotě 4–8° C (11 a 12) a dokonce i při 0° C (5). Pokusně bylo též zkoumáno zmrazování semene při teplotě –79° C (12).

Vlastní výzkum

Metodika a použitý materiál

V našich pokusech jsme použili semene dvou plemenných kanců, jednoho ve stáří dvou let rumunského bílého masného plemene a druhého ve stáří 4 let plemene Bazna. Semeno jsme odebrali pomocí umělé pochvy (13).

Okamžitě po odebrání semene jsme určili poměr tekuté želatinové části, barvu a vůni. Mikroskopicky (zvětšeno 180–300×) jsme určili pohyblivost spermatozoidů podle živých spermatozoidů pohybujících se vpřed. Zápis jsme prováděli podle desetinné soustavy. Při určování energie pohybu jsme je dělili na: energické, umírněné a agonické. Koncentraci semene v jednotce obsahu jsme určovali sečtením spermatozoidů a používali jsme přitom pipetu Potena pro bílé krvinky a kameru Toma.

Koncentraci vodíkových iontů v semeni (pH) jsme určovali potenciometrem se skleněnými elektrodami.

Semeno jsme zpracovali a ředili při teplotě 30–31° C, kterou jsme zajistili vodní lázní. Semeno jsme ředili v poměru 1 : 4–1 : 6, přičemž na 1 ml rozředěného semene připadalo přibližně 60–70 miliónů spermatozoidů.

Semeno jsme konzervovali v sterilních skleněných zkumavkách, zazátkovaných korkovými zátkami, vložených do izotermické skříně nebo do chladničky s teplotou 4–0° C.

Koeficient zchlazování (K) jsme vypočítali podle údajů, získaných měřeními

I. Složení a vlastnosti ředidel

Složení ředidla	A	B	C	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
vaječný žloutek ml	3,0	30,0	25,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
glukóza g	5,0	—	4,0	—	—	1,2	—	1,2	2,4	—	1,2
natriumcitrát g	0,47	—	—	—	0,56	—	1,12	0,56	—	1,8	1,12
natriumbikarbonát g	—	—	0,2	—	—	—	—	—	—	—	—
glykokol g	—	2,6	—	2,5	2,24	1,68	1,68	1,18	1,18	1,12	1,12
kyselina citrónová g	0,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
destilovaná voda ml	100	70	75	100	100	100	100	100	100	100	100
teplota uchovávání °C	4–0	4–0	4–0	4–0	4–0	4–0	4–0	4–0	4–0	4–0	4–0
průměrná hodnota pH	6,5	6,2	8,0	6,1	7,5	6,2	7,7	7,4	6,1	7,9	7,7

teploty v jednohodinových intervalech do dosáhnutí konzervovací teploty, podle něj jsme také nakreslili křivku zchlazování rozředěného kančího semene.

U konzervovaného semene jsme každých 24 hodin analyzovali činnost spermatozoidů a vypočítávali jsme absolutní ukazatele vitality (a) podle vzorce uváděného Milovanovem (9).

Abychom získali nejúčinnější ředidlo, opakovali jsme pokusy třikrát:

Za prvé jsme prováděli srovnávací pokusy, v nichž jsme používali semeno z jednoho a téhož ejakulátu; k ředění jsme použili těchto ředidel semene kanců používaných v zahraničí:

- A. Ředidlo z vaječného žloutku, glukózy a síranu sodného, neutralizovaného kyselinou citrónovou (11).
- B. Ředidlo z vaječného žloutku a glykoku (2, 13 a 12).
- C. Ředidlo z vaječného žloutku a bikarbonátu sodného (2, 3, 4 a 12).
- D. Ředidlo z vaječného žloutku a citranu sodného (1, 3, 12 a 13).
- E. Ředidlo z vaječného žloutku a fosforečnanu (2, 3 a 12).
- F. Ředidlo z odstředěného mléka (2 a 4).
- G. Ředidlo z vaječného žloutku a glukózy (7, 2 a 12).

Za druhé jsme pokusně zkoumali vliv zchlazování ředidel A, B, C, kterými bylo dosaženo nejlepších výsledků, různými teplotami (viz. tab. I).

Za třetí jsme podle výsledků, získaných při druhém zjišťování pokusně použili nové ředidlo zhotovené z glukózy, glykoku, síranu sodného a vaječného žloutku (viz tab. I).

Protože jsme věděli, že kryoskopický bod se u semene kanců pohybuje v rozmezí od 0,59° C do 0,63° C (10 a 11), stanovili jsme izotonickou koncentraci komponentů ředidla takto: 6 % glukózy ($C_6H_{12}O_6$), 2,5 % glykoku ($H_2N - CH_2COOH$) a 2,8 % citranu sodného ($C_6H_5O_7 Na_3 + H_2O$), v průběhu pokusu jsme totiž upustili od přidávání síranu sodného do ředidla.

Abychom mohli zjistit nejlepší podmínky pro konzervování, používali jsme izotonické koncentrace v intervalech tvořících 20 % těchto komponentů v původně

použitých k udržení vitality spermií kance

IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI
5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
2,4	3,6	—	1,2	2,4	3,6	4,8	—	1,2	2,4	3,6	4,8	6
0,56	—	2,2	1,8	1,12	0,56	—	2,8	2,2	1,8	1,12	0,56	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,12	1,12	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
4-0	4-0	4-0	4-0	4-0	4-0	4-0	4-0	4-0	4-0	4-0	4-0	4-0
7,5	6,1	8,0	8,0	7,5	7,4	6,1	8,0	8,0	8,0	8,0	7,8	6,2

zamýšleném ředidle (glukóza, glykokol a síran sodný) a při každém pokusu jsme proto použili 21 variant. K 100 ml vodného roztoku jsme vždy přidali 5 ml slepičího vaječného žloutku. V areálu nejlepších ukazatelů vitality (přes 70) jsme v zájmu přesnějšího určení komponentů tohoto ředidla provedli pokusy s různými směsmi glukózy a glykokolu.

Dosažené výsledky a jejich hodnocení

Z výsledků pokusů, dosažených při zkoumání těchto sedmi ředidel (A, B, C, D, E, F, G) a z údajů v některých prostudovaných vědeckých pracích (11 a 12) vyplývá, že prostředí, jehož součástí tvořila glukóza, glykokol a vaječný žloutek uchovalo větší vitalitu a energii pohybu spermatozoidů než prostředí obsahující alkalické komponenty. Je to zřejmé i z údajů druhé série pokusů, v nichž jsou porovnávány hodnoty ředidel se síranem sodným jako puřem a kyselinou citrónovou (A), ředidla s puřem bikarbonátu sodného (C) a ředidla bez solí, obsahujícího glykokol a vaječný žloutek (B) s hodnotou vypracovaného ředidla (On), které bylo připraveno z glukózy, glykokolu a vaječného žloutku.

Z toho vyplývá, že ředidlo A dobře uchovává vitalitu a energii pohybu spermatozoidů při teplotě $4^{\circ} - 0^{\circ} \text{C}$ po dobu dvou dnů. Konzervační prostředí B uchovává dobrou energii pohybu v průběhu 3 dnů, zatím co průměrní kvalitativní ukazatelé ředidla C, kterého se používalo za stejných podmínek, byli horší než ukazatelé ředidla A a B. Z uvedeného vyplývá dále zcela zřejmý pozitivní vliv glykokolu přidávaného do ředidla, pravděpodobně proto, že hraje úlohu tlumiče, neutralizující kyseliny a zásady, aniž mění koncentraci vodíkových iontů.

Tento poznatek nás podnítil k tomu, abychom studovali možnosti získání ředidla obsahujícího optimální množství těchto dvou komponentů (glukózy a glykokolu) a zajišťujícího maximální vitalitu semene.

Rozborem izotonické koncentrace těchto 21 variant ředidel, uvedených v tabulce I jsme došli k závěru, že nejlepší výsledky byly dosaženy při vyloučení síranu sodného a zmenšení původně stanoveného množství glykokolu a glukózy.

Snížením pH a současným snížením obsahu citranu sodného jsme dosáhli zvýšení ukazatelů životnosti (přes 70) u ředidel, která byla připravena z 3,6 g glukózy a 1,12 g glykokolu ($S_a = 78$) nebo 4,8 g glukózy a 0,56 g glykokolu ($S_a = 79$).

Z ukazatelů pohybové energie a pohyblivosti spermatozoidů vyplývá, že u prvních osmi variant ředidel se 70% pohyblivost uchovává po dobu až 48 hodin, zatím co energické pohyby se uchovávají průměrně po dobu 36 hodin. Obdobně je tomu i u variant XI, XII, XIII, XIV, XVI, XVIII, XIX, XX a XXI. Malá pohyblivost a nízká energie pohybu je vyvolána zřejmě citranem sodným, který tvořil v různém poměru součást ředidla.

V ředidle VI. (bez citranu sodného) je pohyblivost a energie pohybu spermií menší než v ředidle IX, které obsahovalo malé množství citranu sodného (0,56 %). Pravděpodobně v tomto případě měl příznivý vliv poměrně menší podíl glykokolu a větší podíl glukózy než v ředidle č. VI, které obsahovalo menší množství glukózy a větší množství glykokolu.

Co se týče vitality, jež není spojena s dobrou pohyblivostí a energií pohybu, lze dosažené výsledky vysvětlit prodloužením života spermatozoidů (agonické pohyby a 50% pohyblivost), které se lépe uchovaly v ředidle VI než v ředidle IX.

V ředidle X a XV (s nejlepšími ukazateli) si spermie uchovaly 70% pohyblivost průměrně po dobu 48 hodin při současném dobrém uchování energie pohybů (60 a 72 hodin). Je zřejmé, že areály uchování životnosti jsou největší

u těchto dvou ředidel, přičemž 50 % pohyblivost si spermie uchovávají nejdéle v ředidle XV (108 hodin).

Ke zpřesnění optimálního množství uvedených dvou komponentů (glukózy a glykokolu) byly pokusně zkoumány tyto kvantitativní poměry: 4,8 g glukózy a 0,5 g glykokolu na 100 ml vody; 4,5 g glukózy a 0,6 g glykokolu; 4,2 g glukózy a 0,7 g glykokolu; 3,9 g glukózy a 0,8 g glykokolu a 3,6 g glukózy a 0,9 g glykokolu.

Nejlepších výsledků lze dosáhnout poměrem 4,5 % glukózy a 0,6 % glykokolu, při které se uchovála největší vitalita spermatozoidů ($S_a = 80$).

Aby se zkontrolovalo nejvhodnější množství vaječného žloutku přidávaného do ředidla, byly provedeny pokusy, v nichž se žloutek přidával k uvedenému syntetickému prostředí v poměru 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 20 a 30 ml. Nejvyšší ukazatele životnosti spermií byly dosaženy při přidání 5 ml ($S_a = 79$), 6 ml ($S_a = 70$) a 7 ml ($S_a = 78$) žloutku. Podle výsledků pokusů byl určen tento objemový poměr složek konzervujícího prostředí:

- a) izotonického roztoku glukózy 88,235 %
- b) izotonického roztoku glykokolu 11,675 %

K tomuto roztoku se přidává 5–7 ml slepičího žloutku a získává se konzervační prostředí tohoto složení:

Dvakrát destilovaná voda	1000 ml
Dehydrovaná glukóza	45 g
Glykokol	6 g
Vaječný žloutek	50–70 ml

V našich pokusech jsme se snažili zjistit též nejvhodnější způsoby zchlazování ke konzervování semene při 4° – 0° C, jednak abychom mohli zpomalit metabolismus spermatozoidů a odstranit bakteriální rozklad semenné kapaliny a jednak, abychom usnadnili uchování této teploty ve výrobních podmínkách.

Metoda používaná při zchlazování zředěného semene býků nebo beranů je pro semeno kanců nevhodná, protože kančí spermie hynou dříve než teplota klesne na 0° C.

Nejvhodnější křivka zchlazování byla zjištěna podle veličin stanovených pro nezředěné býčí semeno a pro zředěné semeno kančí (11). Semeno rozředěné v tomto prostředí musí dosáhnout teploty 4° C za 5 hodin po odběru a teploty 0° C za 10–12 hodin po odběru.

Souhrn

Z našich pokusů provedených k zjištění možností konzervování semene kance v syntetickém prostředí vyplývá, že:

1. se podařilo získat konzervační prostředek složený z glukózy (4,5 %), glykokolu (0,6 %) a slepičího vaječného žloutku (5–7 ml);
2. semeno kance zředěné v tomto prostředí uchoválo svou oplozovací schopnost po dobu tří dnů, přičemž byly získány absolutní ukazatele životnosti v rozmezí od 70 do 80;
3. použitím způsobu zchlazování 10 až 12 hodin po odběru se podařilo snížit teplotu konzervování zředěného semene na 0° C.

Došlo dne 15. 2. 1962

Literatura

1. Aamdal J., Hogset L.: Artificial insemination in swine. J. Am. Vet. Med. Ass. 131, 59, 1957. — 2. Du Mesnil du Buisson F.: Conservation du sperme de verrat après dilution et maintien de son pouvoir fécondant. Annales Zootechn. 5, 195, 1956. — 3. Du Mesnil du Buisson F.: Données expérimentales sur l'insemination naturelle et artificielle de la truie, Proc. III Int. Cong. Animal Reprod. Section 3, 62, 1956. — 4. Dziuk P. J.: Dilution and storage of semen. J. Animal Sci., 17, 3, 548, 1958. — 5. Feredyan T., Slavescu E.: Eecoltarea si aprecierea spermei la vier. Sesiunea referate ICZ, 1957. — 6. Ito S., Niwa T., Kudo A., Mizuho A.: Studies on A. I. in pigs. I. Observation the semen and its storage. Res. Bull. Zootechn. Exper. Sta. (Chiba) 1948. Anim. Bried. (abstr.) 19, 757, 1931. — 7. Kalev G.: Unele aspecte in problema insamintarilor artificiale la porcine. Conferinta tinuta la ICZ, Bucuresti, octombrie 1958. — 8. Kozenko T. M., Smirnov I. V.: Inkustvennoe osemenenie svinei. Životnovodstvo, 10, 1958. — 9. Milovanov V. K., Selivanova O. I.: Razbaviteli dlja spermi seliskochozajstvennyh životnyh. Problemy životn. 2, 1932. — 10. Milovanov V. K.: Osnovy iskustvennogo osemenenia. S. H. G. I. Z., 1934. — 11. Milovanov V. K., Sokolovskaja I. I.: Syntetičeskiye sredi razbavljenja semeni hreaca i metody jevo sobranenia. Životnovodstvo, 2, 1957. — 12. Polge C.: Artificial insemination in pigs. Vet. Rec., 68, 62, 1956. — 13. Roy A.: Storage of boar and stallion spermatozoa in glycine egg yolk medium. Vet. Rec. 67, 330, 1955.

Работы по изучению разбавления и консервации семени хряков

Из наших опытов, проведенных с целью установления возможности консервирования семени хряка в синтетической среде, вытекает, что:

1. удалось получить консервирующее средство, состоящее из глюкозы (4,5 %), гликокола (0,6 %) и куриного желтка (5—7 мл).

2. Семя хряка, разведенное в этой среде, сохранило свою оплодотворяющую способность в течение трех дней, причем были найдены абсолютные показатели жизнеспособности в размере от 70 до 80.

30. При применении метода охлаждения в течение 10—12 часов после взятия семени удалось понизить температуру консервирования разбавленного семени до 0° C.

Beiträge zum Studium der Verdünnung und Konservierung von Ebersamen

Aus unseren Versuchen mit der Konservierung von Ebersamen in synthetischen Milieus läßt sich folgendes ableiten:

1. Es gelang die Gewinnung eines aus Glukose (4,5 %), Glykokoll (0,6 %) und Eidotter (5—7 ml) bestehenden Konservierungsmittels.

2. Der in diesem Milieu verdünnte Ebersamen bewehrte eine Befruchtungsfähigkeit drei Tage lang, wobei absolute Vitalitäts-Kennziffern in den Grenzen von 70 bis 80 gewonnen wurden.

3. Durch 10—12 stündige Kühlung nach der Entnahme gelang es, die Konservierungstemperatur des verdünnten Samens auf 0° C herabzusetzen.

O vlivu některých gum a plastických hmot na životnost spermií kance

О влиянии некоторых видов резины и пластических масс
на жизнеспособность сперматозоидов хряка

Der Einfluß von Gummiarten und plastischer Stoffe auf die Vitalität
der Eberspermien

L'influence de quelques sortes caoutchouc et matières plastiques sur la vitalité des
spermatozoïdes du verrat

MVDr. J. KOZUMPLÍK

Porodnicko-gynekologická katedra veterinární fakulty VŠZ v Brně, vedoucí prof.
dr. E. Přibyl, D. Sc.

Úvod

Jednou z podmínek pro úspěšnou inseminaci hospodářských zvířat, je uchování oplozovací schopnosti spermií, držených po kratší nebo delší dobu mimo organismus.

Řada činitelů, kteří působí nepříznivě na vitalitu a snižují oplozovací schopnost spermií uchovávaných v různých podmínkách, je široká a zahrnuje mimo jiné změny v teplotě, působení viditelného světla, krátkovlnného záření, atmosférického tlaku, koncentraci vodíkových iontů a řadu farmakologicky účinných látek (Langer — 1960, Eibl — 1959, Polák — 1961, Přibyl — 1950, Bratánov — 1958 aj.).

Rozsáhlá literatura o aktivaci a inhibici spermií sahá až k Leeuwenhoekeovým pozorováním, avšak zvláště velký počet studií o působení změn prostředí na motilitu a životnost spermií se vyskytl v 19. století. V této době popsala řada autorů vliv působení některých jedů, dále mléka, moči, vaginálních a cervikálních sekretů, mědi, olova, rtuťových solí a jiných látek, na spermie. Byla zjištěna výrazná spermicidní schopnost povrchově účinkujících činidel a těžkých kovů, jako fenylrtuťového acetátu, který ničí spermie již v koncentraci 0,001 % a také různých chinonů, jako toluchinonu, butylchinonu a jiných (Mann — 1954).

Není bez zajímavosti, že četné látky, mající výrazný farmakologický účinek na celkový organismus, jako jsou např. alkaloidy, působí *in vitro* na spermie jen málo, nebo vůbec ne. Spermie jsou také nápadně rezistentní vůči ethanolu. Tak Ivanov již v r. 1913 pozoroval dobrou motilitu psích spermií, ke kterým přidal

2–5 % ethanolu a podařilo se mu získat živé a normální potomstvo zvířete, inseminovaného semenem smíšeným s 10 % ethanolem.

Naproti tomu různé kondenzační produkty tukových alkoholů a četná jiná jontová a nejontová detergentia účinkující, jak se zdá, přímo na složky tak zvaného lipidního pouzdra spermií, které v důsledku toho ztrácejí motilitu a fruktolytické schopnosti (M a n n — 1954).

V poslední době, s rozvojem výroby a použitím umělých hmot, je možno pozorovat práce, které hodnotí vliv plastických hmot na životnost spermií přeživších (D i k o v, Z a g o r s k i — 1960) a s rozšiřováním inseminace prasat, se v literatuře objevují také práce, pojednávající o vlivu některých hmot na vitalitu spermií kance (P l y š k o — 1961).

Také na naší klinice jsme přistoupili k prověření vlivu některých hmot, používaných u inseminační aparatury, na životnost spermií kance. Pobídkou k této práci nám byly poměrně velké neúspěchy při prvních pokusech o hromadnou inseminaci, když ze 145 inseminovaných prasníc zabřezlo 24, což je 16,5 %.

Vlastní práce

V našich pokusech jsme sledovali jednak vliv některých druhů gumových (transfúzních) hadiček, používaných u inseminační aparatury, jednak vliv některých umělých hmot, na motilitu spermií kance. Při práci jsme postupovali takto:

Ejakulát kance byl po přecezení přes sterilní gázu makroskopicky a mikroskopicky posouzen a rozdělen po 2 ml do sterilních zkumavek. Do každé zkumavky pak byla vložena asi 1 cm dlouhá trubička ze zkoumaného materiálu. Trubičky byly předem jednotlivě sterilizovány po 10 min. varem a po propláchnutí roztokem, používaným k dořezování semene (glukózo-solný roztok), byly teprve použity k pokusu. Zkumavky se semenem a prověřovaným materiálem byly po dobu pozorování v lázni, kde teplota kolísala od 35 do 40° C.

Posuzování pohyblivosti bylo prováděno nejdříve v 15 min. intervalech a pak v hodinových. Za kontrolu sloužilo semeno, které nebylo ve styku se zkoumaným materiálem.

Aby byl zjištěn vliv gumy při krátkodobém styku se spermiemi kance, bylo použito také hadiček 50 cm dlouhých (ošetřených stejným způsobem, jako v prvním případě). Hadičky byly naplněny semenem a po uplynutí jedné minuty, bylo semeno vždy přelito do zkumavky, umístěné v 35–40° C teplé lázni.

K posuzování vlivu zkoušených hmot na spermie, bylo použito semeno tří kanců různého stáří, jejichž plodnost byla ověřena již během působení v přirozené plemenitbě.

K zjištění látek, které po vyvaření gum působí spermicidně, byl proveden další pokus, při kterém byly sledovány účinky jednotlivých chemikálií, používaných v procesu výroby gumových hadiček. Chemikálie byly získány z výzkumného ústavu gumárenského z Gottwaldova.

S celou řadou látek byl proveden orientační pokus tak, že chemikálie byly v menším množství přidány k jednotlivým vzorkům semene. Ze 7 použitých sloučenin byl okamžitý účinek zjištěn u tetrametylthiuramdisulfidu, známého v průmyslu pod jménem H e r m a t, chemický vzorec $(\text{CH}_3)_2\text{N} \cdot \text{OS} \cdot \text{S} \cdot \text{N}(\text{CH}_3)_2$. O této látce se uvádí, že je lehce rozpustná v chloroformu, těžko v alkoholu a éteru, nerozpustná je ve vodě. Bod tání 146° C.

Aby byla zjištěna tzv. hubící koncentrace „Hermatu“, bylo přesně odvážené množství (0,01 g) této látky, přidáno do 100 ml glukózo-solného roztoku, tento roztok povařen a přefiltrován. Glukózo-solný roztok se používá k doředování semene při frakcionovaném způsobu inseminace prasat a je tohoto složení: Dest. voda 100,0 — glukóza 3,0 — NaCl 0,45.

Čirý filtrát pak byl dále glukózo-solným roztokem rozředěn na koncentraci 0,001 % a 0,0005 %.

K 5 ml roztoku s každou uvedenou koncentrací bylo přidáno 5 ml semene a zkumavky byly ponořeny do lázně 35–40° C teplé.

Vyšetření motility spermií bylo prováděno po 10 minutách (třikrát).

Hodnocení výsledků a diskuse

Výsledky pokusů jsou podrobně uvedeny v tabulce I, II a III. Z pokusů vyplývá, že po sterilizaci gumových hadiček varem, dochází k současnému vystoupení určitých látek, které mají velmi nepříznivý vliv na vitalitu spermií. Tak při trvalém styku semene, došlo k úplnému zastavení pohybu spermií se třemi ze čtyř zkoušených gum u tří již během 15 min. U stejných vzorků při 1 min. styku se

I. Semeno kance při trvalém styku se zkoumaným materiálem

Použitý materiál	Počet kanců	Počet pokusů	Hodnocení progresivního pohybu za				
			15 min.	30 min.	1 hod.	2 hod.	24 hod.
G u m a							
tmavočervená	3	15	0 8	0 8	0 8	0 7	0 4
jasněčervená	3	15	0	0	0	0	0
růžová	3	15	0	0	0	0	0
žlutá	3	15	0	0	0	0	0
Kontrola	3	15	0 8	0 8	0 8	0 7	0 4
Um. hmota							
plexisklo	3	15	0 8	0 8	0 8	0 7	0 4
polyethylen	3	15	0 8	0 8	0 8	0 7	0 4
polyvinylchlorid	3	15	0 8	0 8	0 8	0 7	0 4

II. Semeno kance při styku se zkoumaným materiálem po dobu 1 min.

Guma							
tmavočervená	3	15	0 8	0 8	0 8	0 7	0 4
jasněčervená	3	15	0 1	0	0	0	0
růžová	3	15	0 1	0	0	0	0
žlutá	3	15	0 1	0	0	0	0
kontrola	3	15	0 8	0 8	0 8	0 7	0 4

III.

Použitá koncentrace tetrametylthiuramdisulfidu	Počet kanců	Počet pokusů	Hodnocení pohybu za	
			15 min.	30 min.
0,01	3	15	0	0
0,001	3	15	03—08	0—02
0,0005	3	15	08—09	0—06
kontrola	3	15	09	09

semenem byl pohyb spermií zcela zastaven mezi 15—30 minutami, po provedeném pokuse. Není bez zajímavosti, že tmavočervená hadička, označovaná odborníky za hadičku plynovou, nepůsobila na pohyb spermií během celého pozorování negativně. Totéž je možno zjistit u zkoušených umělých hmot, což prokázali v podstatě také D i k o v a Z a g o r s k i (1960) se semenem přežvýkavců a také P l y š k o (1960) se semenem kance.

Praktický výsledek našeho pozorování byl potvrzen i pokusy s inseminací prasnic, když po inseminaci prováděné pomocí aparatury obsahující gumové součásti zabřezlo ze 145 prasnic 24, což je 16,5 % a po nahrazení gumových součástí umělými hmotami zabřezlo v tzv. laboratorních podmínkách po první inseminaci z 21 prasnic 16, to je 76,19 % a z 58 inseminovaných prasnic v terénu 36, to je 62,06 %.

S o u h r n

V práci je pojednáno o vlivu některých druhů gum a umělých hmot, používaných u inseminační aparatury pro prasnice, na životnost spermií kance.

Bylo zjištěno, že určité druhy gum (transfúzní hadičky), mají tak nepříznivý vliv na spermie kance, že tyto i po 1minutovém styku s uvedenými gumami, ztrácejí pohyb během 15 min.

Spermicidní účinek nebyl zjištěn jen u jedné hadičky (plynové) a u všech zkoumaných plastických hmot (PVC, plexisklo, polyethylen).

Z chemikálií, používaných v procesu výroby gumových hadiček, byl zjištěn silný spermicidní účinek tetrametylthiuramdisulfidu ještě v koncentraci 0,001 %.

Spermicidní vlastnost gum byla zjištěna také pokusem, při němž ze 145 prasnic inseminovaných aparaturou s gumovými součástmi zabřezlo toliko 24, tj. 16,5 % a po nahrazení gumových součástí umělými hmotami, zabřezlo v tzv. laboratorních podmínkách z 21 inseminovaných prasnic 16, tj. 76,19 % a z 58 inseminovaných prasnic v terénu 36, tj. 62,06 %.

Došlo dne 15. 2. 1962

L i t e r a t u r a

Bratanov K.: Osemenjavane na selskостop. životni, Zenizdat, Sofia, 1958. — Dikov V., Zagorski V.: Výzkum vlivu některých plastických hmot na životnost spermií býků a beranů, Mez. zem. čas., Sofia-Praha, 5, 150, 1960. — Eibl K.: Lehrbuch der Rinderbesamung, Berlin u. Hamburg, 1959. — Hammond J.: Progress in the Physiology of Farm Animals (Supp.), London, 1959, Butterworth Sc. Publ. — Langer J.: Inseminace hospodářských zvířat, Script. SZN Praha, 1960. — Mann

T.: The biochemistry of Semen, London/Methuen, 1954. — Pliško N. I.: O vlijanii toksičeskich vėščestv reziny, Svinovodstvo, 2, 39, 1961. — Polák L.: Inseminace skotu, SZN Praha, 1961. — Příbyl E.: Umělá inseminace hospodářských zvířat, SPN Praha, 1952. — Sertev M.: Vlijanie na njakoi metali vrchu preživjaemostta na sperma ot bik, Žur. Životnovodstvo i vet. delo, 31, 7, 1958.

О влиянии некоторых видов резины и пластических масс на жизнеспособность сперматозоидов хряка

В приведенной работе разбирается вопрос о влиянии некоторых видов резины и пластмассы, применяемых в приборах для осеменения свиноматок, на жизнеспособность сперматозоидов хряка.

При испытаниях было установлено, что известные виды резины (шланги для трансфузий) оказывают неблагоприятное влияние на сперматозоиды хряков, что они после одной минуты соприкосновения с указанными видами резины в течение 15 минут теряли свою подвижность.

Неблагоприятное действие резины на сперму не было установлено только у одного шланга (газопроводного) и у всех испытываемых пластических масс (ПХВ, плексистекло, полиэтилен).

Из химических веществ, применяемых в процессе производства резиновых шлангов, был установлен сильно действующий на сперму тетраметилтиурамисульфид еще в концентрации 0,001 %.

Неблагоприятное действие резины на сперму было установлено также опытом, при котором из 145 свиноматок, осемененных с применением аппаратуры с резиновыми составными частями, забеременело только 24, т. е. 16,5 %. После замены резиновых составных частей пластмассой в так называемых лабораторных условиях забеременело из 21 осеменной свиноматки — 16, т. е. 76,19 %, а из 58 осемененных в производственных условиях свиноматок — 36, т. е. 62,06 %.

Der Einfluß von Gummiarten und plastischer Stoffe auf die Vitalität der Eberspermien

Die Arbeit behandelt den Einfluß einiger Gummiarten und künstlicher Stoffe, die bei den Apparaturen zur Besamung von Sauen zur Anwendung kommen, auf die Vitalität der Eberspermien.

Es wurde festgestellt, daß gewisse Gummiarten (Transfusionsschläuche) einen derart ungünstigen Einfluß auf Eberspermien haben, daß diese schon nach einer 1 Minute dauernden Berührung mit dem Gummi im Verlaufe von 15 Minuten die Beweglichkeit verlieren.

Eine spermizide Wirkung trat nicht auf bloß bei einem Schlauch (Gasschlauch) und bei allen überprüften plastischen Stoffen (PVC, Plexiglas, Polyethylen).

Von den bei Erzeugung von Gummischläuchen verwendeten Chemikalien zeigte eine spermizide Wirkung Tetramethylthiuramidsulfid, und das noch in einer Konzentration von 0,001 %.

Die spermizide Wirkung von Gummi wurde auch in einem Versuch überprüft, bei dem von 145 mit einer Gummibestandteile enthaltenden Apparatur besamten Sauen bloß 24, d. i. 16,5 % trüchtig wurden. Nach Ersatz der Gummibestandteile durch solche aus künstlichen Stoffen, wurden unter Laboratoriumsbedingungen von 21 besamten Sauen 16, d. i. 76,19 %, im Terrain von 58 besamten Sauen 36, d. i. 62,06 % trüchtig.

L'influence de quelques sortes caoutchouc et matières plastiques sur la vitalité des spermatozoïdes du verrat

On a étudié l'influence de quelques sortes du caoutchouc et des matières plastiques, employés chez les appareils d'insémination des truies, sur la vitalité des spermatozoïdes. Il a été confirmé, que certaines espèces du caoutchouc (conduit à transfu-

sion) ont une si défavorable influence sur les spermatozoïdes du verrat, qu'ils sont privés de leur motilité pendant 15 minutes après un contact avec des caoutchoucs durant 1 minute.

Un effet spermicide n'a été constaté seulement chez un conduit (à gaz) et chez toutes les matières plastiques examinés (PVC, Plexiglas, Polyéthylène). Des produits chimiques employés dans la production des conduits de caoutchouc on a constaté un fort effet spermicide chez le Tetramethylthiuramdisulfide, et cela encore en concentration de 0,001 %.

L'effet spermicide des caoutchoucs a été constaté aussi par un expériment, pendant lequel de 145 truies, inseminées avec une apppareture contenant parts de caoutchouc seulement 24, c. e. 16,5 % sont devenues gravides et après compensation des parts à caoutchouc dans les conditions de laboratoire de 21 truies inseminées 16, c. e. 76,19 % et de 58 inseminées dans le terrain 36, c. e. 62,06 %.

Vyvolání říje u prasnic v období laktace

Вызывание течки у свиноматок в период лактации

Auslösung der Brunst bei Sauen in der Laktationsperiode

La provocation de la chaleur chez les truies pendant la lactation

MVDr. E. KUDLÁČ, C. Sc.

*Porodnicko-gynekologická katedra veterinární fakulty v Brně, vedoucí prof. dr.
E. Přibyl, D. Sc.*

Úvod a literární přehled

Rozhodujícími faktory při určování velikosti ukazatele celkové plodnosti prasnic a hlavně počtu selat odchovaných prasnicí za 1 rok, jsou velikost vrhu, ztráty selat do doby odstavu a délka období mezi jednotlivými porody. Vzhledem k tomu, že u plemen prasat u nás chovaných jsou počty narozených selat všeobecně uspokojivé, zaměřuje se chovatelská a veterinární zdravotní péče především na omezování ztrát selat při odchovu a na zkrácení období mezi porodem a opětovným připouštěním, eventuálně obřeznutím.

V poslední době, zvláště v zahraničí, je věnována velká pozornost možnosti získání vrhů selat následujících po sobě pokud možno v co nejkratším intervalu. Svědčí o tom intenzivní výzkum a rada vědeckých sdělení o odstavu selat za 21 dní po porodu a jejich další umělé výživě a některé publikace o možnosti vyvolání říje u prasnic během laktace.

U prasnic, podobně jako u některých jiných druhů zvířat, se říje zpravidla během doby kojení selat nedostavuje. Podle Krallinger (1932) dochází u části prasnic k říji již za 7–14 dní po porodu, její příznaky jsou však slabé a další říje během laktace vynechává. Warnick, Casida a Grummer 1950 ve svých pokusech prokázali, že u prasnic se po porodu mohou objevit příznaky říje, které však nejsou doprovázeny ovulací. Rovněž Baker 1953, když pozoroval 39 prasnic, z nichž některé kojily selata 2 dny a požraly lůžko a jiným byla selata po narození odebrána, zjistil, že u 17 prasnic se za 3 dny po porodu dostavila říje, nebyla však doprovázena ovulací a prasnice po připuštění také neobřezly. Zbývajících 22 prasnic se řijelo mezi 8. až 16. dnem a u 21 došlo k ovulaci 197 vajíček, z nichž 182 po připuštění bylo oplozeno.

Heitman a Cole 1956 zkoušeli dvakrát denně kancem 7 prasnic na postpartální říji začínající dnem oprasení. Průměrně za 2 a půl dne po porodu všechny prasnice projeví říji, když však byly připuštěny, neobřezly. Z 10 prasnic denně zkoušených na říji od 8. dne laktace do odstavu selat se však během

tohoto období neřijela žádná. Rasbetch 1958 označuje anestrus během laktace za laktační sterilitu a má za to, že tato je u prasnic s malým počtem selat kratšího trvání než u prasnic s vrhy početnými. Robeson 1918 (cit. podle Cole a Hughes 1946) ukázal, že vyvolání říje u prasnic je možné jednoduchým způsobem, když se selata od matky oddělí na 4 nebo 5 nocí a připouštějí se sát pouze během dne.

Sami jsme opakovaně zjistili případy, že některé prasnice projeví říji ještě před odstaven selat a když byly připuštěny, většinou obřezly. O úspěšném připuštění prasnic ještě před skončením laktace referují rovněž Heidrich 1950, Sekirkin 1956 a Cochet 1957.

Z uvedeného vyplývá, že inhibice estru u prasnic během laktace není jednoznačná. Vlastní příčina potlačení říje během laktace není přesně známa a většinou je vysvětlována nadprodukcí prolaktinu v předním laloku hypofýzy. Přesnější pozorování v tomto směru však chybí.

Zdá se také, že říje během laktace je častější na jejím začátku a pak ke konci. Toto je pravděpodobně v závislosti na výši laktace, neboť ta u prasnic po porodu má progresivní charakter, maxima dosahuje ke konci třetího týdne a ve 4. týdnu se znovu snižuje.

Vlastní práce

Materiál a metodika

Při provádění pokusů o stimulaci říje u prasnic, byly opakovaně zjištěny případy, že některé prasnice, zvláště ve velkochovech, kde byly po porodu sdružovány dvě až čtyři do společného kotce, projeví říji ještě před odstaven selat. Když takové prasnice byly připuštěny, většinou obřezly a velikost jejich následujícího vrhu se vcelku nelišila od standardu.

V rámci zkoumání účinnosti séra březích klisen (SBK) a možnosti jeho praktického použití ke zvyšování plodnosti u prasnic byly prováděny také pokusy o vyvolání říje v období laktace za účelem dosažení zkrácení doby mezi dvěma porody. Práce měla především zodpovědět otázku:

a) zdali je vyvolání říje u prasnic aplikací serumgonadotropinů během laktace možné,

b) určit potřebnou dávku séra k ošetření,

c) určit dobu mezi aplikací séra a objevením se estru,

d) posoudit vliv říje na laktaci a zdravotní stav selat,

e) a konečně zjistit výsledky obřeznutí a velikost vrhů u prasnic připouštěných během laktace při říji vyvolané aplikací serumgonadotropinů.

K uvedeným pokusům daly podnět v dřívějších pracích dosažené příznivé výsledky při ošetřování anestrus prasnic přetrvávající delší dobu po odstaven selat (Kudláč 1960, 1961), dále pak předpoklad, že eventuální obřeznutí nebude podstatně ovlivňovat kojící prasnici, poněvadž potřeba živin pro vývoj embryí a růst fetů asi do 50. dne březosti je velmi malá a konečně skutečnost, že při brzkém odstaven selat (kolem 21. dne po porodu) jsou relativně vysoké ztráty, vyšší než při odstaven za 8–10 týdnů.

Do pokusů bylo zařazeno 52 prasnic, vesměs bílého plemene ve stáří 1½ až 4 roky, o váze 140–220 kg, které jednou až čtyřikrát porodily selata. Těmto prasnicím bylo aplikováno jednorázově subkutánně 15–22 ml SBK, prakticky 1 ml na 10 kg ž. v. v období 32. až 70. dne laktace. Den posledního předcházejícího porodu byl posuzován jako první den laktace.

Před aplikací séra byl zjišťován zdravotní stav prasnic a kromě způsobu krmení a odchovu veškeré anamnestické údaje týkající se plodnosti prasnic. Po provedeném ošetření většina prasnic byla zkoušena kancem. Říjící se prasnice byly připouštěny a v dalších dnech bylo zjišťováno zdali se nebude u nich říje opakovat, zvláště, když byla odstavena selata. U obřezlých prasnic byl zjišťován počet narozených selat a výsledky zhodnoceny ve srovnání s natalitou při předcházejícím porodu. Krmné dávky, způsob odchovu a podmínky ustájení se u prasnic po ošetření nezměnily.

V ý s l e d k y

Z 52 prasnic dosud kojících se říje po aplikaci SBK dostavila celkem u 44 zvířat, tj. 84,61 %. Říje se u prasnic dostavovala zpravidla 3. až 6. den po provedeném ošetření. Její délka byla poněkud kratší a ponejvíce trvala 1 a půl dne až 2 a půl dne a příznaky byly také méně výrazné. Některé prasnice byly svolné k páření i když změny v chování i na zevních pohlavních orgánech byly jen slabě znatelný. Ošetření vcelku nemělo nepříznivý vliv na sající selata a jen v ojedinělých případech se u nich objevil přechodný průjem, který však neovlivnil jejich růst a zdravotní stav.

Z 8 prasnic po ošetření se neříjejících, příznaky říje se dostavily do 21 dnů po odstavu selat u 7 kusů. 1 prasnice se neříjela a byla z dalšího chovu vyřazena.

Ze 44 po aplikaci SBK se říjících prasnic jich bylo připuštěno 29. Po prvním připuštění obřezlo 21 prasnic, tj. 72,41 %. U 8 prasnic se znovu opakovala říje nejpozději do 1 měsíce po odstavu. Když byly pak znovu připuštěny, 6 jich obřezlo. U 10 prasnic byla prováděna umělá inseminace (v tabulce I jejich připuštění není hodnoceno). Z nich obřezly 4 a zbývajících 6 obřezlo po připuštění při opakujících se říjích. 5 prasnic po ošetření sérem během laktace se říjících ale ne-

I. Výsledky ošetření prasnic během laktace sérem březích klisen

	Ošetřeno				Říjelo se ze			
	I. 32—40	II. 41—50	III. 51—60	IV. 61—70	I.	II.	III.	IV.
	den laktace				skupiny			
prasnic	5	13	14	20	3	11	12	18
v %	100	100	100	100	60,00	84,61	85,71	90,00
celkem	52 = 100,00 %				44 = 84,61 %			
	připuštěno ze skupiny				obřezlo ze skupiny			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
prasnic	3	7	8	11	2	5	6	9
v %	100,0	100,0	100,0	100,0	66,66	71,42	75,00	81,81
celkem	29 = 100,00 %				21 = 72,41 %			

připouštěných, se znovu řijelo vesměs nejpozději do 21 dnů po odstavu selat a když byly připuštěny 4 obřezly.

Průměrný počet narozených selat u prasnic obřezlých při prvním připuštění při říji vyvolané aplikací SBK v době laktace činil 8,81. Ve srovnání s velikostí vrhu při posledním porodu se natalita bezvýznamně snížila — o 2,12 % (při předcházejícím porodu průměrná velikost vrhu byla 9 selat) (tab. I).

Diskuse

Z tabulky I je zřejmé, že procento řijících se prasnic, u nichž bylo ošetření prováděno v době od 40. dne laktace, je poměrně vysoké a že mezi jednotlivými skupinami nejsou signifikantní rozdíly. Celkově lze říci, že aplikací séra březích klisen ještě v době kojení selat od 40. dne laktace lze vyvolat říji ve vysokém procentu případů. I když počet prasnic, jimž bylo sérum aplikováno ještě v ranějším stadiu laktace je poměrně malý, přece však naznačuje, že aplikovaný serumgonadotropin má i v této době silný stimulační účinek na pohlavní funkce. Používaná dávka 15–22 ml SBK séra pro jednu prasnici se jeví jako zcela postačující. Heitman a Cole 1956 uvádějí, že jim se zdařilo vyvolat říji aplikací séra v období od 20. do 39. dne laktace u 76 % ošetřených prasnic a že v této době používaná vyšší dávka (přes 2 500 m. j.) měla zdnalivě menší účinek než 750–1 600 m. j. aplikovaných po 40. dni laktace. Paredis 1961 aplikoval 2 000 m. j. PMS 8 prasnicím krátce po porodu a i když většina prasnic se řijela, žádná z nich neobřezla.

Říje se ponejvíce dostavovala 4. a 5. den po provedeném ošetření. Její příznaky byly menší intenzity a rovněž trvaly kratší dobu. Prasnice bylo účelné zkoušet po ošetření denně kancem, jelikož některé i při říji zevně stěží rozpoznatelné byly svolné k páření.

Za uspokojivé však nelze hodnotit procento prasnic, které po připuštění v říji vyvolané během laktace obřezly. Z výsledků je patrna zřejmá závislost mezi procentem obřezlých prasnic a stadiem laktace. Nejvíce prasnic obřezlo při říji vyvolané na sklonku laktace, těsně před odstavem selat. Také Heitman a Cole 1956 uvádějí, že zvětšení procenta prasnic obřezlých při estru vyvolaném ke konci laktace je evidentní. Zvýšení kladných výsledků u prasnic stimulovaných do 39. dne laktace však nedosáhli ani po aplikaci vyšších dávek serumgonadotropinu. Také Paredis 1961 zaznamenal lepší výsledky při aplikaci séra 42. den laktace než při aplikaci v ranějším stadiu laktace. Je pravděpodobné, že v mnohých případech při říji vyvolané během laktace a zvláště v ranějších stadiích nedochází k dozrání a ovulaci Graafových folikulů. Poukazují na to i pozorování Cole a Hughes 1946, Warnicka, Cassidy a Grummera 1951, Bakera 1953 a Paredise 1961, kteří prokázali, že připouštění prasnic při postapartálním estru bylo bezvýsledné. Brown a Luther 1951 (cit. podle Paredise 1961) stejně i Paredis 1961 nedosáhli obřeznutí u prasnic při říji vyvolané brzy po porodu aplikací serumgonadotropinu a zaznamenali častější výskyt pseudogravidity.

Velikost vrhu prasnic obřezlých ještě v době laktace se ve srovnání s počtem selat při předcházejícím porodu příliš nelišila. Maslov 1939 a Tebbe 1935 zjistili nižší plodnost u prasnic připouštěných časně v laktaci (cit. podle Paredise 1961).

Vyvolání říje během laktace neovlivnilo nepříznivě zdravotní stav selat ani prasnic. Jeví se proto doporučitelným u prasnic dobrého výživného stavu po 40. dni laktace a zvláště u prasnic, které porodily malý počet selat nebo v průběhu odchovu došlo k jejich vyšším ztrátám, takže hospodářské využití prasnic by bylo malé. U pokusných prasnic se vyvoláním říje během laktace zkrátilo období mezi porodem a novým obřeznutím v průměru o 2 až 3 týdny.

Souhrn

V práci je pojednáno o možnosti vyvolání říje u prasnic během laktace sérem březích klisen.

Z 52 prasnic, ošetřených v období 32. až 70. dne laktace, po aplikaci 15 až 22 ml SBK se řijelo 44 zvířat, tj. 84,61 %. Říje se zpravidla dostavovala 4. a 5. den po provedeném ošetření a trvala v průměru 2 dny.

Z 29 prasnic připuštěných při vyvolané říji obřezlo 21, tj. 72,41 %. Průměrný počet selat porozených prasnicemi obřezlými při prvním připuštění při říji vyvolané aplikací SBK v době laktace byl 8,81. Ve srovnání s velikostí vrhu při posledním předcházejícím porodu se natalita prasnic snížila o 2,12 %.

Byla zjištěna přímá závislost mezi procentem řijících se a obřezlých prasnic a stadiem laktace. Nejlepšími výsledky byly zaznamenány u prasnic na sklonku laktace, těsně před odstavem selat.

Došlo dne 15. 2. 1962

Literatura

1. Baker L. N.: J. of Animal Science 1953, 12, 33-38. — 2. Cochet J., M.: Contribution à l'étude de la frigidité chez la truie. Vet. Diss. Alfort 1957. — 3. Cole H. H., Hughes E. H.: J. of Animal Science 1946, vol. 5, 25-29. — 4. Heidrich H. J.: T U 1950, 11/12, 184-187. — 5. Heitman H. J., Cole H. H.: J. Animal Science 1956, 15, 970-977. — 6. Krallinger H.: Archiv f. Tierernährung u. Tierzucht 1932, 8, 436. — 7. Kudláč E.: Veterinářství 1960, 10, 377-383. — 8. Tentýž: Sborník VŠZ v Brně, řada B, spisy fakulty veterinární 1961, 1-2, 121-141. — 9. Paredis F.: Onderzoekingen over vruchtbaarheid en kunstmatige inseminatie bij het varken. Habil. práce, Gent 1961. — 10. Rasbech N. O.: Nordisk Vet. Med. 1958, 1, supplement 1-40. — 11. Sekirkin A. S.: Dostiženija nauki i peredovoj opyt v sel. choz. 1955, 9, 67-71. — 12. Warnick A. C., Casida L. E., Grummer R. H.: J. of Animal Science 1950, vol. 9, s. 66.

Вызывание течки у свиноматок в период лактации

В приведенной работе разбирается вопрос о возможности вызова течки у свиноматок в период лактации путем применения сыворотки жеребых кобыл.

Из 52 свиноматок, обработанных в период от 32-го до 70-го дня лактации, после применения 15—22 мл PMS течка появилась у 44 животных, т. е. у 84,61 %. Как правило, течка появлялась на 4 и 5 день после проведенной обработки и в среднем продолжалась 2 дня.

Из 29 свиноматок, покрытых при вызванной течке, забеременела 21, т. е. 72 %. Среднее число поросят, рожденных свиноматками, забеременевшими при первом покрытии при течке, вызванной применением PMS в период лактации, достигало 8,81. По сравнению с величиной опороса при последнем предыдущем помете плодовитость свиноматок снизилась на 2,12 %.

Далее, была установлена прямая зависимость между процентом свиноматок с течкой и супоросных и стадией лактации. Самые лучшие результаты были отмечены у свиноматок к концу лактации, непосредственно перед отъемом поросят.

Auslösung der Brunst bei Sauen in der Laktationsperiode

Die Arbeit befaßt sich mit der Möglichkeit, bei Sauen in der Laktation mittels Serum gravidier Stuten Brunst auszulösen.

Von 52 im Zeitraum vom 32. bis zum 70. Tage der Laktation mittels Applikation von 15—22 ml Serum gravidier Stuten behandelten Sauen trat bei 44, d. i. 84,61 %, die Brunst auf, und zwar 4—5 Tage nach der Behandlung, und dauerte durchschnittlich 2 Tage.

Von 29 nach ausgelöster Brunst zugelassenen Sauen wurden 21, d. i. 72,41 % trächtig. Die durchschnittliche Anzahl von Ferkeln von einer nach einer Zulassung trächtig gewordenen Sau betrug 8,81. Im Vergleich zur Größe des Wurfes bei der vorhergehenden Geburt sank die Natalität der Sauen um 2,12 %.

Festgestellt wurde die direkte Abhängigkeit des Prozentsatzes der brünstigen und der gravid gewordenen Sauen vom Stadium der Laktation. Die besten Erfolge lieferten Sauen gegen Ende der Laktation knapp vor dem Absetzen der Ferkel.

La provocation de la chaleur chez les truies pendant la lactation

On a étudié la possibilité d'évoquer la chaleur chez les truies pendant la lactation par le sérum des juments gravides (PMS).

De 52 truies, qui ont reçu dans la période du 32ième au 70ième jour de la lactation 15—22 ml du PMS la chaleur a été provoqué chez 44 animaux, c. e. 84,61 %. La chaleur apparait de règle le 4ième et 5ième jour après l'application et durait en moyenne 2 jours.

De 29 truies accouplées durant la chaleur évoqué 21, c. e. 72,41 % sont devenues gravides. Le nombre moyen des porcelets nés de truies après le premier service en chaleur évoqué par PMS durant la lactation a été 8,81. En comparant le nombre des porcelets des naissances précédentes la natalité des truies s'est diminuée de 2,12 %.

On a constaté une dépendence directe entre la pourcentage des truies en chaleur et gravides et l'état de lactation. Les meilleurs résultats ont été obtenues chez les truies vers la fin de la lactation, peu avant le sevrage des porcelets.

Příspěvky ke studiu časně diagnózy březosti krav pomocí vaginální reakce na oxytocin

Работы по изучению ранней диагностики стельности коров
путем вагинальной реакции на окситоцин

Beiträge zum Studium der Trächtigkeits-Frühdiagnose bei Kühen mittels
der vaginalen Oxytocinreaktion

Contribution à l'étude d'un diagnostic précoce de la gravidité chez vaches à l'aide
de la réaction vaginale sur l'Oxytocine

V. OCEL, A. TAKU, St. FLORESCU, A. BERINDEJ
Výzkumný ústav pro chov zvířat, Bukurešť

Ú v o d

V řízení procesu reprodukce krav zvlášť důležitou roli hraje stanovení diagnózy březosti.

Dvěma zlepšenými metodami v současné době velmi používanými (metoda vnějšího vyšetření — vynechání říje — a metoda palpce dělohy a vaječníků) se získávají přesné výsledky pro zjištění březosti u většiny krav, březích 2,5—3 měsíce. Přesto zůstává jisté procento plemenic, u kterých nelze přesně stanovit gynekologický stav v tomto období. Týká se to plemenic s funkcionální anafrodisií (perzistentní žluté tělísko, atrofie a nezpůsobilost vaječníků atd.).

Pro vyjasnění těchto případů je třeba nalézt nové způsoby diagnózy březosti a to co nejčasnější, založené na vztazích mezi pohlavními hormony v období po připuštění.

Takovou metodou je vaginální reakce na oxytocin.

Tavennier a Green (1), kteří dělali pokusy na časnou diagnózu březosti způsobem vaginální reakce na oxytocin, používali ke stanovení reakce manometrické a chronometrické metody.

Rozhodli jsme se zkoumat tuto metodu a použili jsme vlastních preparátů a grafické metody registrace reakcí vaginy pro stanovení její reakce na aplikovaný oxytocin.

Experimentální materiál a metoda práce

Při pokusech jsme použili oxytocin rumunské výroby s farmaceutickým názvem „Glanduitrin“, v 1 ml ampulkách, z nichž každá ampulka obsahovala 5 mezinárodních jednotek. Každé krávi jsme vstříkli intravenózně 25—30 m. j. oxytocinu již na začátku grafických záznamů.

Grafický zápis se prováděl kymografem, jehož hřídel Marej jsme připojili pryžovým tubusem k tenkému, rovněž pryžovému balónku.

Balon spojený s pryžovým tubusem jsme zavedli ručně do pochvy (po očistění vnějších pohlavních orgánů) co možná nejbliže ke kraniální části pochvy a po naplnění balonu vzduchem jsme volný konec tubusu připevnili k bubnu. Krávy byly upevněny do nehybné polohy v obyčejném připouštěcím zařízení.

Pokusy se prováděly na chovatelské farmě Státního statku Afumacj a na pokusné chovatelské stanici Slobozija v Bukureštské oblasti.

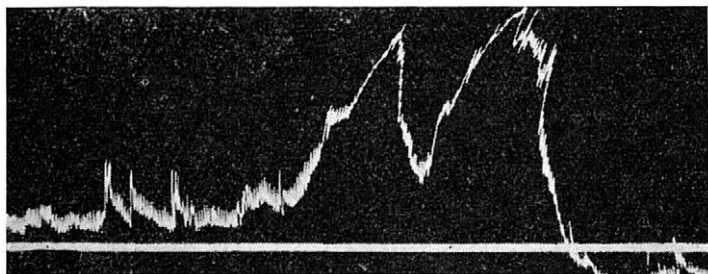
K provedení pokusu byly vybrány krávy připuštěné maximálně 4 měsíce před začátkem pokusů. Celkem bylo vybráno 49 krav: 24 ze státního statku Afumacj a 25 z pokusné chovatelské stanice Slobozija.

U několika krav byla diagnóza březosti již provedena, u ostatních až později asi za 3 měsíce po připuštění.

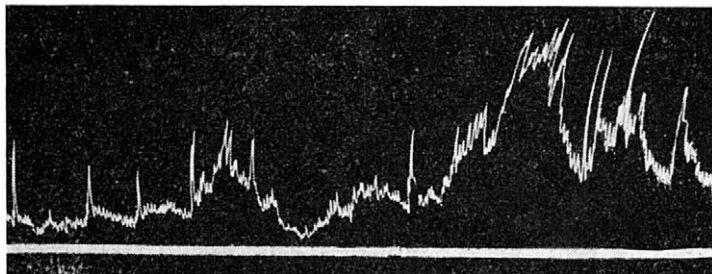
Výsledky pokusů byly zpracovány odděleně podle skupin březích a nebřezích krav, podle transrektální klinické diagnózy včetně amplitudy a doby trvání kontrakcí, které byly graficky znázorněny.

Dosažené výsledky a jejich interpretace

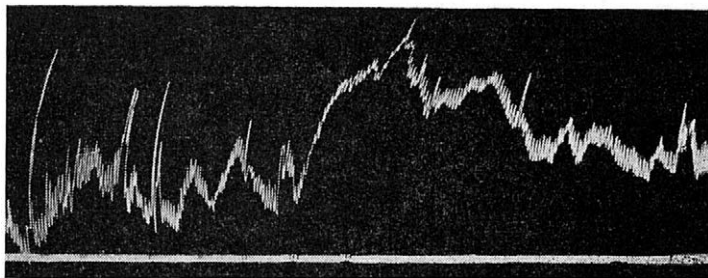
Na základě amplitudy a doby trvání graficky zaznamenaných kontrakcí konstatujeme, že u březích krav průměrně během 3–5 minut po podání oxytocinu byly pozorovány kontrakce značné amplitudy, jejichž křivku tvořila vzestupná linie s více nebo méně pravidelnou vrcholnou rovinou, přecházející opět v sestupnou linii. Křivka se opakovala v časových obdobích různých u jednotlivých krav. (Grafy 1, 2, 3 a 4.)



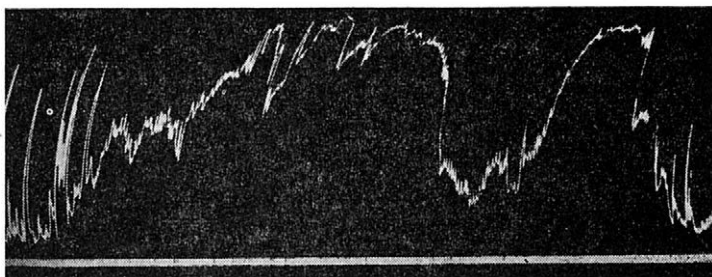
Graf 1.



Graf 2.



Graf 3.



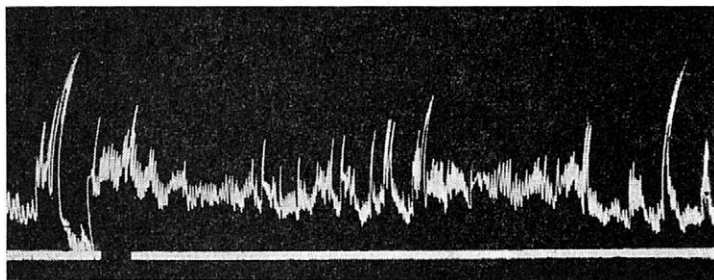
Graf 4.

U nebřezích krav byly zjištěny krátkodobé, málo výrazné kontrakce, zachovávající nezměněnou křivku v průběhu celé registrace (grafy 5 a 6). Domnívám se, že tento aspekt je grafickým záznamem normálního tonusu stěny pochvy a že oxytocin neovlivňuje svalstvo pochvy ve fázích bez říje (anoestrus) a po říji (metoestrus). U žádné z nebřezích krav se nedostavila říje.

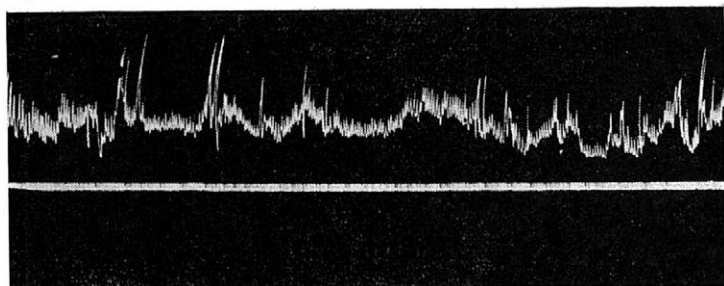
Část březích krav nereagovala na vstříknutý oxytocin, ale grafický záznam byl analogický jako u nebřezích krav.

Analýzujeme-li shodující se výsledky transrektální klinické diagnózy a diagnózy stanovené na základě reakce oxytocin (tab. I), konstatujeme u nebřezích krav 100% přesnost výsledků.

Při diagnóze březích krav byla konstatována přesnost 87,5 % v Afumaci a 88 % v Slobozii nebo v průměru 87,8 %.



Graf 5.



Graf 6.

I.

Místo provedení pokusu	Počet zvířat	Březích				Nebřezích			
		diagnóza oxytocinem				diagnóza oxytocinem			
		celkem	březích	nebřez.	%	celkem	březích	nebřez.	%
Afumacj	24	11	8	3	87,5	13	0	13	100
Slobozija	25	15	12	3	88,0	12	0	12	100
Celkem	49	26	20	6	87,8	25	0	25	100

Srovnáme-li výsledky naše s výsledky pokusů Tavennera a Greena, zjišťujeme, že procenta přesnosti se shodují u březích krav. Uvedení vědci zjistili 92 % přesnost u březích krav, rozdíl zde tedy činí 4,2 % ve prospěch jimi použité manometrické metody.

Jestliže však u výsledků těchto autorů přihlídneme jen k zvířatům stejného období březosti (1–4 měsíce) jako je tomu u výsledků našich pokusů, rozdíl přesnosti je menší a to přesně 3,1 % ve prospěch našich pokusů.

Pokud jde o procento přesnosti diagnózy nebřezích krav, jeví se zde velký rozdíl (16 %) ve prospěch našich výsledků, ale ve srovnání přesnosti diagnózy u nebřezích krav, které nebyly v říji nebo měly cysty na vaječníku, rozdíl byl jen 8 %.

Jak získané výsledky, tak též zjištění uvedených autorů (1) vyzdvihují otázku souvislosti mezi reakcí na oxytocin a hladinou folikulinu a progesteronu v krvi. V literatuře se uvádí (2), že myometrium reaguje na malé dávky oxytocinu v období říje, tedy při zvýšené folikulinemii.

Podle těchto autorů má progesteron brzdící účinek na reakci na oxytocin (3), kdežto v období březosti lůžko produkuje enzym „oxytocináz“, který ničí oxytocin a brání takovýmto způsobem jeho činnosti. Z toho vyplývá, že březí krávy by neměly reagovat na oxytocin. Avšak naše záznamy dokazují brzdící účinek progesteronu při „metoestru“ a při „anoestru“; tento účinek je ovšem méně zřetelný u březích krav, u nichž se zvyšuje folikulinemie, ve srovnání s uvedenými obdobími pohlavního cyklu.

Souhrn

1. Intravenózní vstříknutí 25—30 m. j. oxytocinu způsobuje u březích krav kontrakce pochvy zvýšené intenzity a dlouhého trvání, které se projevuje 3—5 minut po očkování.

U nebřezích krav v období „metoestru“ a „anoestru“ nebyla zaznamenána kontrakce pochvy.

2. Metodou diagnózy březosti cestou reakce pochvy na oxytocin byla zjištěna 87,7 % přesnost u březích a 100 % u nebřezích krav.

Došlo dne 15. 2. 1962

Literatura

1. Travenner H. W. a Green W. W.: Journal of Anim. Sci., sv. 18, č. 3, 1959. —
2. Derivaux J.: Physio-Pathologie de la reproduction et insémination artificielle des animaux domestiques. 1958. Bruxelles. — 3. Ruckebusch Y. a Youber L.: Rev. de Med. Vet. Lyon et Touloux. Sc. CXI, duben 1960, str. 241-260.

Работы по изучению ранней диагностики стельности коров путем вагинальной реакции на окситоцин

1. Интравенозное введение 25—30 м. е. окситоцина вызывает у стельных коров повышенной интенсивности продолжительную сокращение влагалища, которая наступает через 3—5 минут после инъекции.

У нестельных коров в период метэструма и анэструма сокращение влагалища не наблюдалась.

2. Этим методом диагностики стельности, т. е. реакцией влагалища на окситоцин, была установлена 87,7 % точность у стельных и 100 % у нестельных коров.

Beiträge zum Studium der Trächtigkeits-Frühdiagnose bei Kühen mittels der vaginalen Oxytocinreaktion

1. Intravenöse Injektionen von 25—30 I. E. Oxytocin bewirken bei trächtigen Kühen in 3 bis 5 Minuten nach der Applikation Kontraktionen der Scheide von verschiedener Intensität und Dauer.

Bei nicht trächtigen Kühen in der Phase des Metoestrus und Anoestrus wurden keine Scheidenkontraktionen beobachtet.

2. Die Oxytocinmethode der Trächtigkeitsdiagnose ergab bei trächtigen Kühen eine 87,7 %ige, bei nichtträchtigen Kühen eine 100 %ige Genauigkeit der Resultate.

Contribution à l'étude d'un diagnostic précoce de la gravidité chez vaches à l'aide de la réaction vaginale sur l'Oxytocine

1. Une injection intraveineuse de 25—30 UI d'Oxytocine cause chez les vaches gravides des contractions du vagin d'une haute intensité et longue durée, se manifestant 3—5 minutes après l'injection.

Chez les vaches non gravides en metoestrus et anoestrus, les contractions du vagin n'ont pas observées.

2. Par la méthode diagnostique de la gravidité à l'aide d'une réaction du vagin sur l'Oxytocine on a prouvé une précision des résultats en 87,7 % de cas chez les vaches gravides et 100 % chez les non gravides.

Skúsenosti s laboratórnym vyšetovaním cervikálneho hlienu u kráv

I. Arborizačný test cervikálneho hlienu u kráv

Опыт, полученный при лабораторном исследовании цервикальной слизи у коров

I. Арборизационный тест цервикальной слизи у коров

Erfahrungen mit der Laboruntersuchung des Zervikalschleims bei Kühen —

I. Arborisationstest des Zervikalschleims bei Kühen

P. GAMČÍK — A. ŠEVČÍK

*Katedra pôrodnictva, gynekológie a umelej inseminácie Veterinárskej fakulty
v Košiciach, vedúci doc. MVDr. P. Gamčík*

Úvod

Cervikálny hlien predstavuje podklad pre rôzne fyzikálne zmeny, ktoré súvisia s jednotlivými fázami pohlavného cyklu. Pri jeho vyšetrení dostaneme obraz o jeho vlastnostiach chemických, fyzikálnych a o jeho závislosti na vplyvoch humorálnych, nervových a funkčných. Cervikálny hlien podlieha zmenám nielen počas pohlavného cyklu, ale i v jednotlivých obdobiach gravidity. O tejto súvislosti svedčia výsledky mnohých vedecko-výskumných prác, hlavne z oblasti ľudskej medicíny.

U zvierat sa v ruji mení väzkosť a elasticita cervikálneho hlienu a v dôsledku toho i rýchlosť prenikania spermii v krčkovom sekréte. Na základe poznania týchto fyzikálne-chemických vlastností boli rozpracované praktické návrhy na určovanie najvhodnejšej doby osemenenia a rôzne diagnostické metódy použiteľné pri ranej diagnostike gravidity a rôznych poruchách pohlavného cyklu.

Prehľad literatúry

V posledných rokoch bol popísaný u ženy zaujímavý zjav súvisiaci s činnosťou hormónov pohlavného cyklu — kryštalizácia (*arborizačný test*) cervikálneho hlienu. Mnohí autori pri sledovaní cyklických zmien vaginálnych epitelií u žien zistili, že cervikálny hlien kryštalizuje v typických útvaroch podobných listom papradia (7, 8, 9).

Intenzita tvorby kryštáľkov sa mení počas pohlavného cyklu a je viazaná na hormonálnu činnosť ovarií, takže prítomnosť alebo neprítomnosť kryštáľkov môže byť indikátorom hormonálnej liečby. Počas gravidity sa kryštáľky netvoria, čo bolo u žien využité pre nový tehotenský test, s ktorým boli získané skoro 95 % výsledky (11, 12, 6).

O výsledkoch štúdia cervikálneho hlienu u kráv metódou podľa Papanicolaoua referuje ako prvý Garm a Skjerven (4, 5), neskoršie Bone (2) a kolektív autorov Alliston, Patterson a Ulberg (1). Uvedení autori zistili, že i u kráv sa vo folikulárnej fáze cervikálny hlien formuje v papradovitých útvaroch, ktoré sa vo fáze luteálnej a počas gravidity strácajú. Tieto pozorovania sme rozšírili podrobným popísaním arborizačných útvarov počas pohlavného cyklu u kráv (3).

Prítomnosť papradovitých útvarov poskytla nové možnosti pre jednoduché a rýchle určenie ranej gravidity. Vychádzajúc z týchto poznatkov zaumienili sme si overiť doterajšie výsledky štúdia arborizácie cervikálneho hlienu u kráv počas pohlavného cyklu v jednotlivých obdobiach gravidity podrobným popísaním kryštalizačných útvarov v jeho jednotlivých fázach a schopnosti cervikálneho hlienu vytvárať arborizačné obrazce využiť pre diagnostiku včasného obdobia gravidity u kráv a rôznych porúch v pohlavnom cykle.

Materiál a metodika

I. Štúdium cervikálneho hlienu sme robili u 147 zdravých kráv a jalovic rôzneho plemena a veku, ktoré boli dodané na porážku na mestský bitúnok v Košiciach v roku 1959—1960. V uvedenom počte bolo 14 kráv gravidných a 6 kráv v ruji (predbežné štúdium).

U všetkých kráv bola pred odberom cervikálneho hlienu prevedená rektálna prehliadka za účelom diagnostiky gravidity a zistenia zdravotného stavu ovarií. U 18 kráv boli pri vyšetrení zistené ovariálne cysty a u 5 kráv *corpus luteum*. U telných kráv sa po odporazení stanovil vek plodu podľa stupňa jeho vývoja Kellerovou formulou. U všetkých kráv bol po dĺžke prerezaný krčok matrice, potom bol platinovou ézou z kanáľika krčku matrice odobratý cervikálny hlien a rozotretý na podložné skličko, predtým dôkladne umyté v destilovanej vode. Zhotovený preparát sa vyšetroval v natívnom stave, keď vyschol.

II. Mimo týchto kráv sme cervikálny hlien študovali u 20 kusov zdravých kráv počas dvoch pohlavných cyklov. Cervikálny hlien sme odoberali každý deň. Všetky kravy boli rektálne vyšetrované (1krát týždenne). Pomocou poševného spekula a poševnej lampy bola vyšetrená sliznica vagíny a krčku matrice. Ružica krčku matrice bola zbavená zvyškov vaginálneho hlienu a z kanáľika krčku matrice bol platinovou ézou odobratý cervikálny hlien.

Získaný cervikálny hlien bol rozotretý na podložnom skličku v elipse tak, aby v nátere boli aspoň dva hrubšie pásy hlienu. Takto zhotovený náter bol označený a nechaný na osušenie.

III. Zmeny v cervikálnom hliene počas gravidity sme sledovali u 20 kusov kráv tak, že sme od nich počnúc 21 dňom po pripustení každý mesiac až do skončenia gravidity odoberali cervikálny hlien pre zhotovenie natívnych preparátov. Pred každým odberom sme pozorované gravidné kravy dôkladne vaginálne a rektálne vyšetrili.

Dosiahnuté výsledky

Prvé príznaky tvorby kryštálikov zo zaschnutého cervikálneho hlienu u kráv sa objavujú 2—3 dni pred rujou postupným skladaním bodiek a čiarok (obr. 1), z ktorých sa 1—2 dni pred rujou formujú jemné arborizačné útvary v podobe krikov a vetvičiek (obr. 2). Na začiatku ruje pribúdajú charakteristické formy arborizačných útvarov, ktoré majú zo začiatku podobu konárovitú a neskoršie sa objavujú plavúňovité útvary (obr. 3). Na konci ruje sa objavujú pre blížiacu sa ovuláciu charakteristické papradovité kryštálky tvorené tak, že od rovnej alebo len mierne do oblúka ohnutej strednej stonky odstupujú vetve v pravom uhle. Obrazce sa dajú dobre rozlíšiť od okolia masívnosťou hrúbky i veľkosti (obr. 4).

Po ruji sa v náteroch cervikálneho hlienu vyskytujú kryštálky rôzneho typu, ktoré majú viacej zaoblené „hrubé“ tvary (prezraté formy) (obr. 5). Toto obdobie je bohaté na arborizačné obrazy tvaru ružice, vetvičiek, čiar a oblúkov. Útvary pochádzajúce z tohoto obdobia sú často podobné kryštálkom z obdobia pred rujou.

V období 8—12 dní po ruji, odpovedajúcim výške aktivity *corpus luteum* sa v náteroch z cervikálneho hlienu nedajú zistiť kryštálky. V ďalších 2—4 dňoch sa už začínajú ojedinele objavovať útvary podobné niektorým kryštalizačným obrazcom z obdobia pred rujou.

Pozorované arborizačné útvary sú zo začiatku slabo viditeľné, ich zreteľnosť sa behom 1—2 dní zlepšuje natoľko, že obrysy jednotlivých kryštálikov sa dajú dobre posudzovať. V tejto fáze možno pozorovať zatiaľ ešte ojedinelé bodkovité a čiarkovité útvary, ktoré tvoria prvé vetvenie kryštálikov. Toto obdobie odpovedá involúcii *corpus luteum* a trvá 2—4 dni.

U gravidných kráv sa obraz mení podľa jednotlivých období gravidity. Vo včasnom období gravidity (1—2 mesiac) sa môžu ojedinele vyskytovať medzi hrudkovitými útvarmi atypické zanikajúce prezraté formy arborizačných útvarov (obr. 6). V strednom období gravidity (3—4 mesiac) sa začínajú vytvárať rôzne usporiadané typické hrudkovité formy rôznej veľkosti a tvaru, vo forme rybieh ikier alebo hrudiek husto uložených, ako makové zrnká a pod. Behom 4.—7. mesiaca gravidity sú nátery cervikálneho hlienu formované v podobe nepravidelne usporiadaných hrudkovitých útvarov alebo v podobe rôzne uložených ihlíc (obr. 7). V poslednom období gravidity, koncom siedmeho a v priebehu ôsmeho mesiaca, možno pozorovať postupné prenikanie jemných vetvičkovitých foriem medzi hrudkovité útvary (obr. 8). V priebehu ôsmeho a deviateho mesiaca gravidity sa môžu vyskytovať už i rôzne atypické arborizačné formy.

Medzi jednotlivými obdobiami gravidity nepozorovať nijaké zvlášť rigorózne hranice, podľa ktorých by sa na základe jednotlivých arborizačných obrazcov dalo posudzovať na výšku gravidity. Niekedy, najmä na začiatku gravidity a na jej konci, sa formy jednotlivých obrazcov vzájomne prelínajú. V týchto prípadoch je treba bezpodmienečne poznať gynekologickú anamnézu a v dubióznych prípadoch doplniť obraz rektálnym vyšetrením alebo opakovane vyšetriť cervikálny hlien po 1 mesiaci.

Štúdiom náterov cervikálneho hlienu u kráv vo včasnom období gravidity bol zistený pozitívny nález (amorfné útvary) v prvom mesiaci u 73,3 %, v II. mesiaci u 75,1 % a v III. mesiaci u 78,2 %.

U všetkých kráv s folikulárnymi-ovariálnymi cystami sme zistili typické papradovité útvary, zatiaľ čo u kráv s nálezom *corpus luteum persistens* bol nález negatívny.

Arborizačný test je ďalšou fyzikálnou vlastnosťou cervikálneho hlienu, ktorú možno použiť k diagnostickým účelom vo veterinárnej gynekológii.

Je metódou, ktorú možno využiť v insemináčnej praxi pri určovaní penetračných schopností spermíí a tiež pri laboratórnej diagnostike včasných období gravidity a určovaní rôznych porúch pohlavného cyklu spôsobených zmenami v hormonálnej hladine.

Našími výsledkami, ktoré sme dosiahli pri štúdiu cervikálneho hlienu u zdravých kráv sme potvrdili doterajšie literárne údaje (4, 5, 2, 1), ktoré sme doplnili podrobným popisom kryštalizačných útvarov v jednotlivých fázach pohlavného cyklu.

Nami popísané jednotlivé typy arborizačných útvarov počas pohlavného cyklu a v gravidite umožnia presnejšie diagnostikovať jeho jednotlivé fázy najmä obdobie ruje a blížiacej sa ovulácie, ktoré sú pre reprodukciu zvierat najdôležitejšie. Tieto výsledky potvrdila na konferencii v Karlových Varoch popri predtým citovaných autoroch i Sokolovskaja (13).

Dosiahnuté výsledky o náleze v zaschnutom cervikálnom hliene gravidných kráv potvrdzujú údaje Garma a Skjervena (4, 5), ktoré dopĺňujú popisom útvarov v jednotlivých obdobiach gravidity. Náš nález v prvom mesiaci gravidity potvrdila taktiež Sokolovskaja (13) nálezom drobných vetvičkovitých štruktúr, tak ako to popisujeme my. Intenzívnejšie pribúdanie arborizačných foriem v posledných dvoch mesiacoch gravidity možno vysvetliť hormonálnym vplyvom regredujúceho žltého telieska (viď. obr. 8).

Arborizačný test cervikálneho hlienu môže byť spoľahlivý len vtedy, ak cervikálny hlien je správne odobraný a náter odborne pripravený a včas posúdený.

Cervikálny hlien musí pochádzať od plemieníc prostých akýchkoľvek pohlavných nákaz, pretože akákoľvek úchyľka od fyziologických pomerov môže značne skresliť výsledky. Mimo toho je nutné dodržiavať bezpodmienečne čistotu všetkých pomôcok, ktoré majú byť opláchnuté destilovanou vodou.

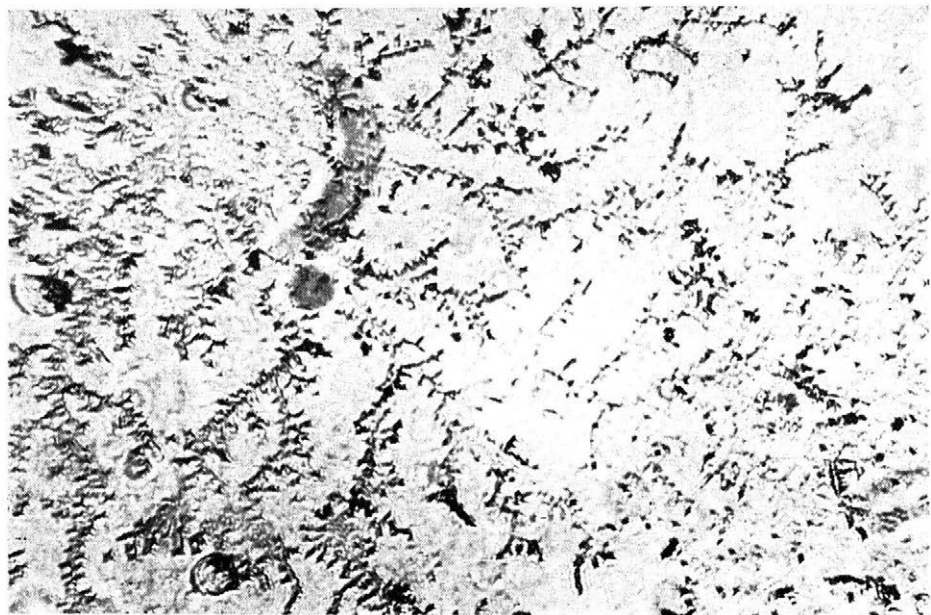
V priebehu vyšetrenia sme zistili, že cervikálny hlien s väčšou prímiesou krvi sa nehodí na vyšetrenie, pretože krv mechanicky brzdí arborizáciu. Taktiež sa nesmie odoberať cervikálny hlien z ružice krčku maternice znečisteného vaginálnym sekrétom ako i po výplachu pošvy.

Zhotovený preparát sa má vyšetrovať až po úplnom zaschnutí pri izbovej teplote alebo opatrným niekoľkonásobným pretiahnutím preparátu nad plameňom. Samotné vyšetrenie je najlepšie prevádzať pri 100násobnom zväčšení (pri dennom alebo umelom osvetlení). Primeraným clonením možno obraz ešte zvýrazniť. Kryštálky z obdobia ruje možno pozorovať aj makroskopicky.

Nátery majú byť posudzované behom prvého dňa, najlepšie 2—3 hodiny po dôkladnom osušení preparátu. Ak sa preparáty nechajú stáť dlhšiu dobu a vyšetrujú sa až po niekoľkých dňoch, číre útvary sa stanú hrubozrnné a začínajú javiť rozpad. Odložené preparáty sa nehodia na ďalšiu dokumentáciu, preto preparáty pre tieto účely majú byť zhotovené do 48 hodín po odbere.

Podľa našich skúseností mohla by táto metóda i vo veterinárnej medicíne nájsť podobné uplatnenie ako v humánnej medicíne. Vychádzajúc z podmienok v teréne zatiaľ nie je možné túto metódu doporučiť pri stanovení včasnej gravidity u kráv ako spoľahlivú pre terénnu prax.

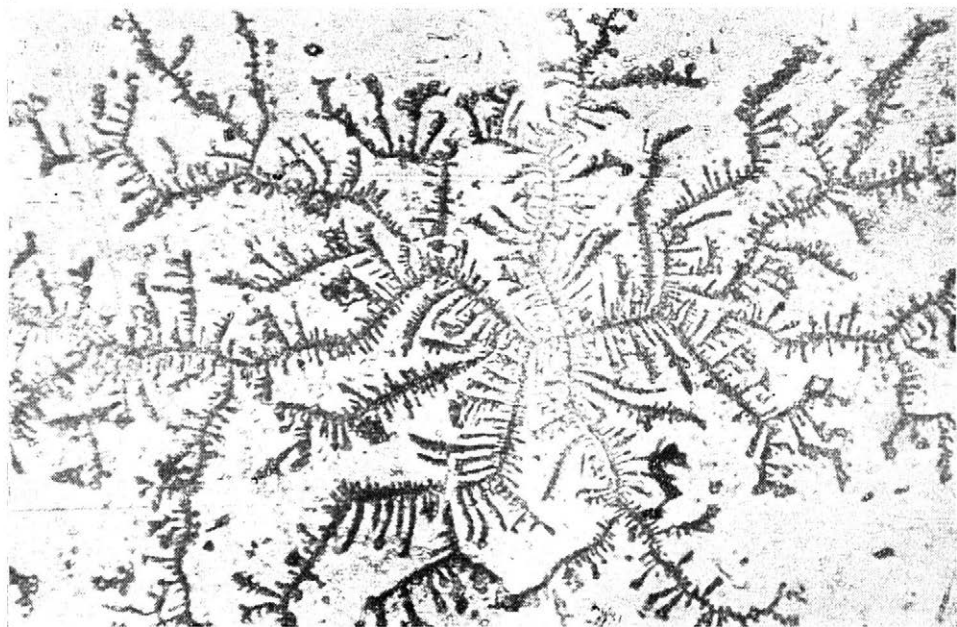
Možnosti tejto metódy ovšem nachádzajú uplatnenie pri stanovení jednotlivých fáz pohlavného cyklu, hlavne však pri diagnostike porúch pohlavného cyklu, najmä pri folikulárnych ovariálnych cystách a pri náleze *corpus luteum persistens*.



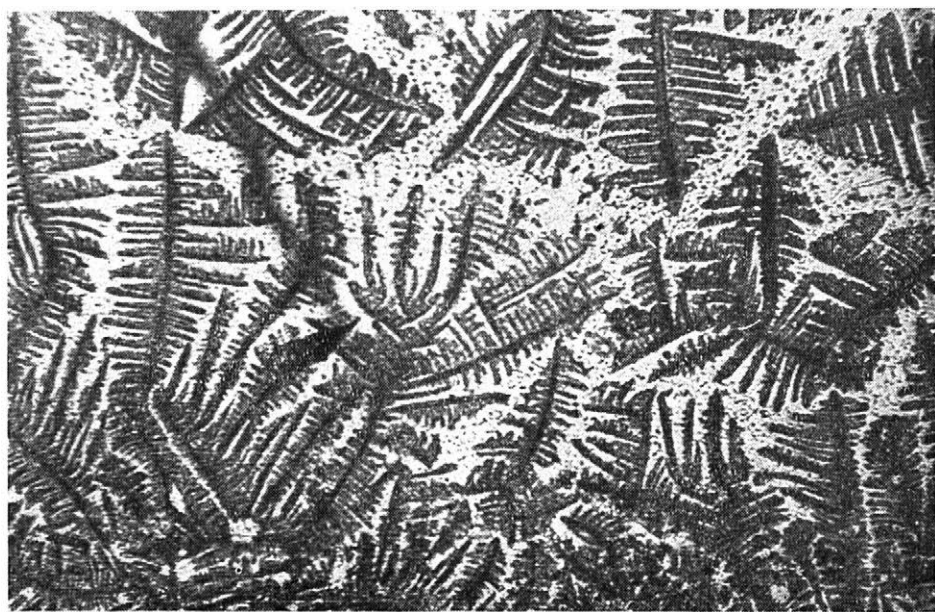
Obr. 1. Prvé príznaky arborizácie (2—3 dni pred rujou)



Obr. 2. Vývoj jemnejších arborizačných foriem (1—2 dni pred rujou)



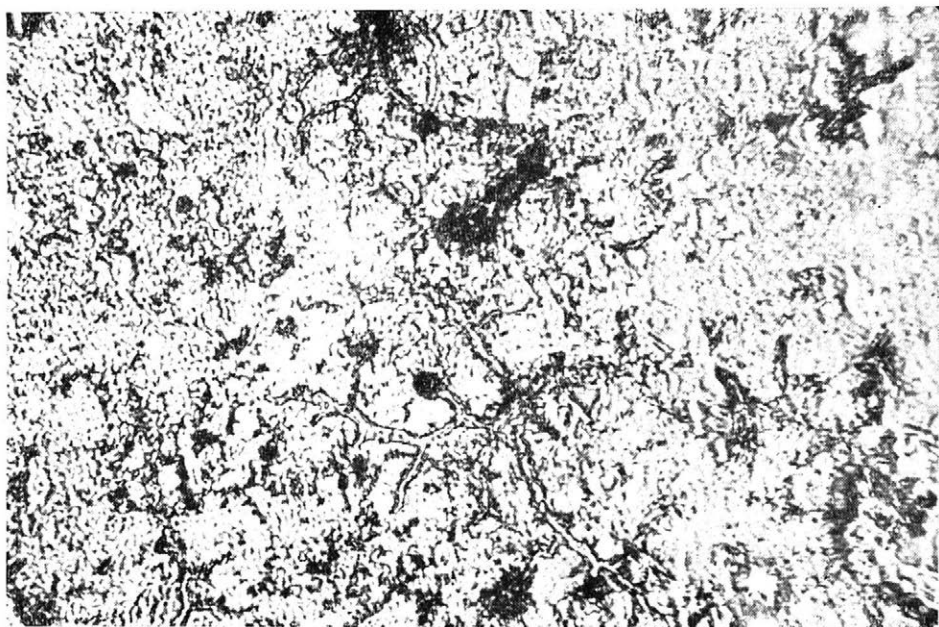
Obr. 3. Tvorba plavúňovitých útvarov (začiatok ruje)



Obr. 4. Papradovité útvary (koniec ruje)



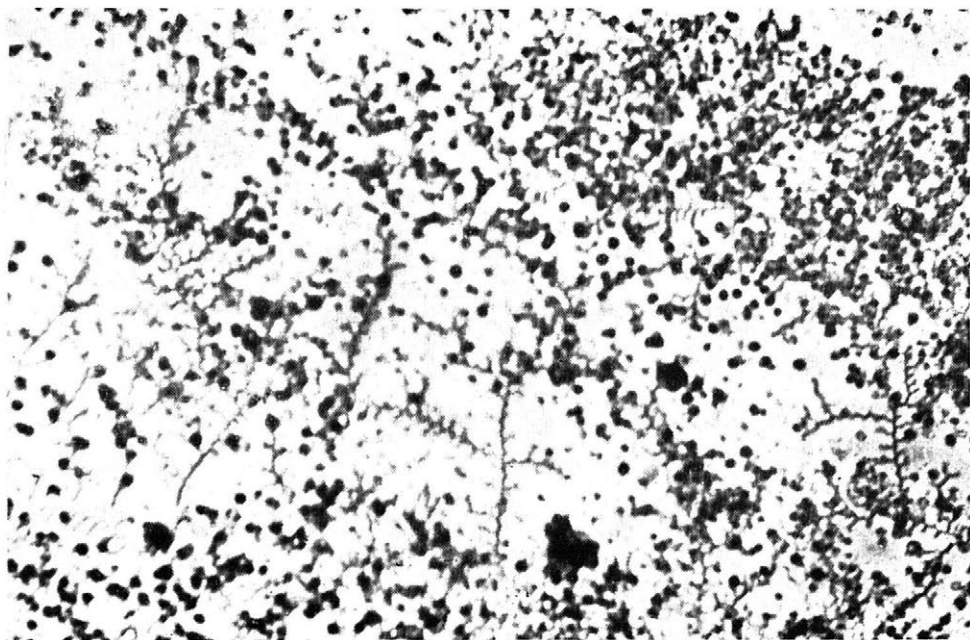
Obr. 5. Papraďovité formy prezraté a prechod na kríkovité formy (2 dni po ruji)



Obr. 6. Rané obdobie gravidity (1—2 mesiac). Málo zreteľné prezraté arborizačné formy



Obr. 7. Nepravidelne usporiadané ihlicovité formy (2.—6. mesiac)



Obr. 8. Posledné obdobie gravidity (8.—9. mesiac). Ubúdanie hrudkovitých útvarov a postupné prenikanie jemných křikovitých foriém

S ú h r n

I. Boli študované schopnosti cervikálneho hlienu u zdravých kráv vytvárať arborizačné útvary počas pohlavného cyklu.

1. Prvé príznaky tvorby kryštálikov so zaschnutého cervikálneho hlienu sa u kráv objavujú 2—3 dni pred rujou vo forme jemných vetvičkovitých a krikovitých útvarov.

2. Tesne pred rujou a na začiatku ruje sa objavujú plavúňovité útvary, ktoré sa v druhej polovici ruje menia na papradovité formy, ktoré sú typické pre blížiacu sa ovuláciu.

3. 3—5 dní po ruji obraz prebieha v tých istých obmenách ako pred rujou.

4. V cervikálnom hliene kráv s folikulárnymi ovariálnymi cystami sa nachádzajú typické papradovité útvary a u kráv s *corpus luteum persistens* boli nájdené amorfné štruktúry.

II. V náteroch cervikálneho hlienu gravidných kráv boli zistené hrudkovité útvary rôznej formy.

1. V prvých dvoch mesiacoch a na konci gravidity medzi hrudkovitými formami sa nachádzajú atypické arborizačné formy.

2. Štúdiom náterov cervikálneho hlienu u kráv vo včasnom období gravidity bol zistený pozitívny nález v prvom mesiaci u 73,3 %, v druhom mesiaci u 75,1 % a v treťom mesiaci u 78,2 %.

III. Vaginálny hlien nie je spoľahlivý pre vyššie uvedené vyšetrovacie metódy.

IV. Úspech arborizačného testu závisí na správnom odbere cervikálneho hlienu a na správnej príprave a posudzovaní preparátov.

V. Arborizačný test možno použiť pri diagnostike jednotlivých fáz pohlavného cyklu a pri jeho poruchách. Pri stanovení včasnej diagnostiky gravidity ho možno zatiaľ použiť ako pomocnú laboratórnu metódu.

Došlo dňa 20. 12. 1962

L i t e r a t u r a

1. Alliston C. W., Patterson T. B., Ulberg L. C.: Jour. Anim. Science, 1, 322 (1958). — 2. Bone J. F.: Amer. J. of Vet. Res., XV, 57, 542 (1954). — 3. Gamčík P. - Ševčík A.: Folia vet., 1961 (v tlači). — 4. Garm O., Skjerven O.: Nord. Vet. Med., 4, 1098 (1952). — 5. Garm O., Skjerven O.: XVth International Veterinary Congress, Proceedings Part I., 2, 770, Stockholm (1953). — 6. Obr O.: Čs. gynekologie, 19, 34 (1955). — 7. Papanicolau G. N.: Amer. J. Obst. Gynec., 51, 316 (1945). — 8. Papanicolau G. N.: Amer. J. Obst. Gynec., 51, 316 (1946). — 9. Papanicolau G. N., Traut H. F.: The Epithelia of Woman's Reproductive Organs New York (1948). — 10. Prokopov A.: Naučni trudove na Vyšija Veterinarno medicinski institut, Tom VIII., 161 (1960.). — 11. Roland M. D.: Amer. J. Obstetric. Gynec., 63, 81 (1952). — 12. Skalický J., Klačanský T.: Brat. lek. listy, 8, 908 (1954). — 13. Sokolovskaja I. I.: Nové sovietske výskumy na úseku oplodňovania hosp. zvierat. Referát prednesený na Medzinárodnej konferencii o biológii a patológii rozmnožovania hosp. zvierat v Karlových Varoch 19.-21. IX. 1961.

Опыт, полученный при лабораторном исследовании цервикальной слизи у коров I. Арборизационный тест цервикальной слизи у коров

1. Изучалась способность цервикальной слизи здоровых коров создавать арборизационные образования во время полового цикла.

а) Первые признаки образования кристалликов из засохшей цервикальной слизи у коров появляются за 2—3 дня до течки в виде тонких ветвистых и кустистых образований.

б) Непосредственно перед течкой и в начале течки появляются плаунообразные образования, которые во второй половине течки принимают папоротникообразные формы, являющиеся типичными для приближающейся овуляции.

в) Спустя 3—5 дней после течки картина протекает с такими же видоизменениями, как и перед течкой.

г) В цервикальной слизи коров с фолликулярными овариальными кистами находятся типичные папоротникообразные образования, а у коров с *corpus luteum persistens* были обнаружены аморфные структуры.

2. В мазках цервикальной слизи беременных коров были обнаружены комочкообразные образования различной формы.

а) В первые два месяца и в конце беременности среди комочкообразных форм встречаются нетипичные арборизационные формы.

б) Исследование мазков цервикальной слизи у коров в ранний период беременности дало положительные результаты в первом месяце у 73,3 %, во втором — у 75,1 % и в третьем — у 78,2 %.

3. Вагинальная слизь ненадежна для выше упомянутых исследовательских методов.

4. Успех арборизационного теста зависит от правильного взятия цервикальной слизи и от правильной подготовки и оценки препаратов.

5. Арборизационный тест можно применить при диагностике отдельных фаз полового цикла и при его нарушениях. При определении ранней диагностики беременности его можно применить пока только как вспомогательную лабораторную методику.

Erfahrungen mit der Laboruntersuchung des Zervikalschleims bei Kühen — I. Arborisationstest des Zervikalschleims bei Kühen

I. Bei gesunden Kühen wurde die Fähigkeit des Zervikalschleims, während des Geschlechtszyklus die Arborisation zu bilden, untersucht.

1. Die ersten Symptome der Kristallbildung aus dem eingetrockneten Zervikalschleim erscheinen bei Kühen 2—3 Tage vor der Brunst in Form feiner zweig- und struchähnlicher Gebilde.

2. Unmittelbar vor der Brunst und am Anfang der Brunst zeigen sich bärlappähnliche Gebilde, die in der zweiten Hälfte der Brunst zu Farnkrautformen, typisch für die bevorstehende Ovation, werden.

3. 3—5 Tage nach der Brunst verläuft das Bild in denselben Formen wie vor der Brunst.

4. Im Zervikalschleim der Kühe mit follikulären Ovarialzysten befinden sich typische Farnkrautgebilde und bei den Kühen mit dem Corpus luteum persistens wurden amorphe Strukturen gefunden.

II. In den Zervikalschleimanstrichen der graviden Kühe wurden schollenartige Anhäufungen verschiedener Form festgestellt.

1. In den ersten zwei Monaten und am Ende der Gravidität befinden sich zwischen den schollenartigen Anhäufungen atypische Arborisationsgebilde.

2. Durch Untersuchung der Zervikalschleimanstriche bei Kühen im Frühstadium der Gravidität wurde ein positiver Befund im ersten Monat bei 73,3 %, im zweiten bei 75,1 % und im dritten Monat bei 78,2 % festgestellt.

III. Der Vaginalschleim ist für die oben erwähnten Untersuchungsmethoden nicht angebracht.

IV. Der Erfolg des Arborisationstestes hängt von der richtigen Zervikalschleimentnahme sowie von der richtigen Herstellung und Beurteilung der Präparate ab.

V. Der Arborisationstest kann bei der Diagnostik der einzelnen Phasen des Geschlechtszyklus und bei dessen Störungen verwendet werden. Bei der frühzeitigen Diagnose der Gravidität kann er vorläufig als eine Hilfslabormethodik angesehen werden.

Skúsenosti s laboratórnym vyšetrovaním cervikálneho hlienu u kráv

II. Raná diagnostika gravidity u kráv pomocou luhového testu a modrej skalice

(Predbežná zpráva)

II. Опыт, полученный при лабораторном исследовании цервикальной слизи у коров

II. Erfahrungen mit der Laboruntersuchung des Zervikalschleims bei Kühen —

II. Experiences with the Laboratory Examination of the Cervical Secretion of Cows

P. GAMČÍK, J. ELEČKO, A. ŠEVČÍK

*Katedra pôrodnictva, gynekológie a umelej inseminácie Veterinárskej fakulty VŠP
Košice, vedúci doc. MVDr. P. Gamčík*

Úvod

Jedným z veľmi dôležitých opatrení pri kontrole plodnosti kráv je diagnostika gravidity.

Dnes sa pri stanovení gravidity u kráv bežne používa rektálny spôsob. Táto metóda je spoľahlivá s výnimkou prvých dvoch mesiacov po pripustení.

V poslednej dobe sa vo zvýšenej miere začala venovať pozornosť vlastnostiam cervikálneho hlienu u žien a v posledných 5-tich rokoch i u kráv; výsledky výskumu v tomto smere sa začali aplikovať i pri diagnostike gravidity.

Zistila sa súvislosť medzi fyziologickým stavom organizmu a fyzikálno-chemickými vlastnosťami sekrétu pohlavných ústrojov u kráv. Došlo sa tiež k poznaniu, že v cervikálnom hliene kráv sa zreteľne odzrkadľujú fyziologické zmeny v genitálnom systéme. Tieto zistenia dali podnet k využitiu sekrétov krčku maternice k laboratórnej diagnostike včasnej gravidity u kráv.

Prehľad literatúry

Cervikálny hlien sa skladá z mucínu, ktorý je zlučeninou bielkovín a derivátov uhlovodíkov — mukopolysacharidov. Tento sekrét má ochrannú úlohu. Postupnou sekréciou chráni mucín organizmus pred hlbokým prenikaním mikroor-

ganizmov do pohlavných orgánov, pričom na tieto počas ruje nepriaznivo pôsobí. Zmeny koloídneho stavu súvisia sa zmenami chemickými. Sokolovskaja a kolektív (11) zistili, že sekréty krčku matrice obsahujú v dobe ruje menšie množstvo sušiny než sekréty u gravidných kráv.

Při vyšetření cervikálního hlienu v různých fázach cyklu u ženy našiel Pommereňke (9) mimo uhlohydrátov tiež ďalšie redukčné substancie s bielinovým charakterom. U kráv sa podobným problémom zaoberal Gröndler (5), ktorý pozoroval pri kvantitatívnom určovaní uvedených látok zaujímavé kolísania. Počas cyklu kolíšu hodnoty medzi 5,7—394 mg %, v ruji a po pôrode medzi 2,2—497 mg % a počas gravidity medzi 24,9—179 mg %. Výkyvy sú individuálne a nemožno z nich urobiť žiadne uzávery.

V roku 1949 pomocou Althausenovej reakcie varením s luhmi zisťoval Kňazev (7) cukor v sekrétoch prídavných pohlavných žliaz. O niekoľko rokov neskoršie Maximov (8) hľadal súvislosť medzi špecifickou váhou cervikálneho hlienu kráv a graviditou v piatom mesiaci.

Katerinov (6) pozoroval v roku 1959, že pri varení 1—2 minút v destilovanej vode sa cervikálny hlien negravidných kráv celkom rozpustí, zatiaľ čo sa u gravidných vytvorí biela usadenina. Pri varení cervikálneho hlienu s 10 % NaOH sa tento u gravidných a negravidných úplne rozpustí, ale farba zmesi negravidných kráv je bleďožltá, kdežto u gravidných oranžová až hnedá. Autor dosiahol pri stanovení včasnej gravidity u kráv 80 % výsledky.

Vychádzajúc z týchto skúseností zaviedla Sokolovskaja, Drozdová a Kurganov (11) skúšku ranej diagnostiky u kráv pomocou roztoku CuSO_4 so špecifickou váhou od 1,008. Uvedení autori totiž zistili, že špecifická váha cervikálneho hlienu negravidných kráv sa pohybuje od 1,002 až do 1,008, u gravidných je oproti tomu vždy vyššia než 1,010 a stúpa až do 1,050. Podľa ich názoru je skúška ľahko prevediteľná. Touto skúškou stanovili graviditu u 90 %, zatiaľ čo skúškou podľa Katerinova len u 80 % gravidných kráv. O podobných výsledkoch referuje Denisova (2), ktorá zistila 90 % pozitívnych výsledkov skúškou podľa špecifickej váhy. Skúškou s 10 % NaOH dosiahla 80 % pozitívnych výsledkov, zatiaľ čo s 25 % NaOH až 90 %.

Jedným z posledných zaujímavých prameňov týkajúcich sa diagnostiky včasnej gravidity pomocou CuSO_4 a NaOH sú práce Buscha a Möbusa (1) ako aj Ebertusa (3).

Busch a Möbus (1) referujú o spoľahlivosti testu podľa Katerinova na 45,8 %, podľa Sokolovskej na 53,5 %. Rektálne vyšetrenia súhlasili pri použití obidvoch metodík len u 32 % prípadov. Ešte nižšie výsledky popisuje Ebertus (3).

Materiál a metodika

Cervikálny hlien 243 gravidných kráv (I.—IX. mesiac) bol podrobený skúške podľa Katerinova a Sokolovskej.

Po očistení vonkajších pohlavných ústrojov bol odobratý cervikálny hlien zvlášť upravenými lyžicovitými kliešťami z ružice krčku matrice predtým očistenej gázovým tampónom od zvyškov vaginálneho sekrétu. Na roztvorenie pošvy bolo použité spekulum a pri jej vyšetrení poševná lampa.

Bezprostredne po odbere bol hlien použitý na prevedenie skúšky nasledovne:

Skúška podľa Katerinova

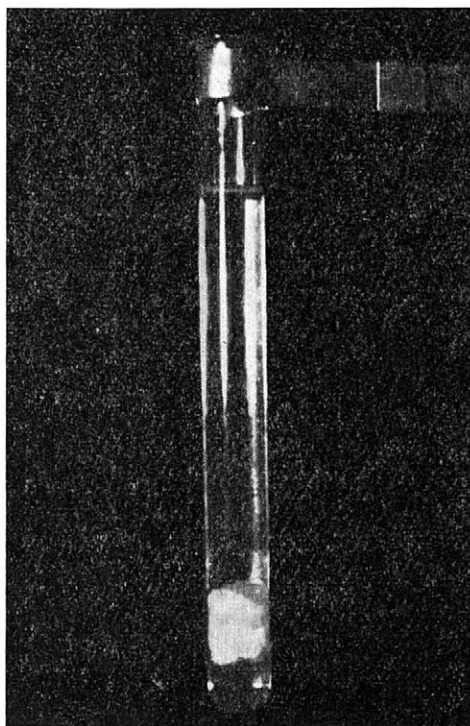
1. metóda: Hlien veľkosti kukuričného zrna sme dali do skúmavky, do ktorej bolo pridané 4 ml destilovanej vody. Zmes bola 1 min. varená. U negravidných kráv sa hlien má rozpustiť a u gravidných sa má zmeniť v želé.

2. metóda: Do skúmavky s hlienom veľkosti kukuričného zrna bol pridaný v pomere 1 : 3 10 % lúh sodný a zmes bola varená 1 min. Hlien negravidných kráv sa má rozpustiť v bledožltú priesvitnú tekutinu. Hlien gravidných kráv po rozpustení má sfarbiť roztok na svetlohnedo, oranžovo alebo škoricovo.

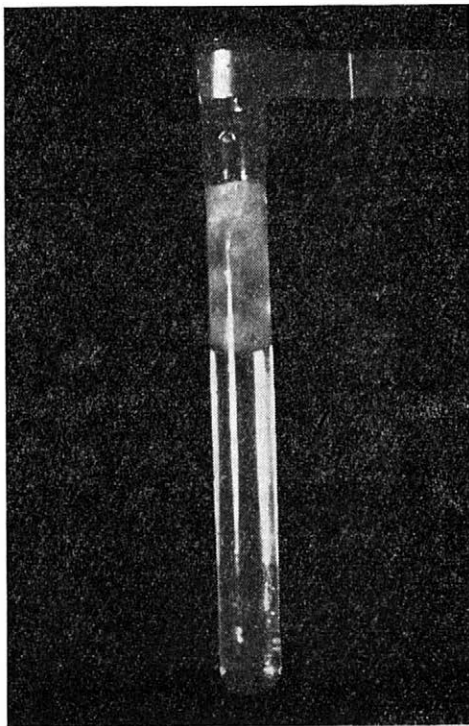
Skúška podľa Sokolovskej

Ako pracovný roztok sa používa CuSO_4 o špecifickej váhe 1,008. Roztok bol pripravený podľa návodu Sokolovskej.

Cervikálny hlien veľkosti kukuričného zrna ponoríme do roztoku CuSO_4 o špecifickej váhe 1,008 pipetou asi 1–2 cm pod hladinu, kde ho pridržíme a pustíme. Pri tomto úkone asi 15–20 sekúnd treba dávať pozor či hlien klesá ku dnu alebo stúpa ku hladine. Ak sekrét klesá ku dnu, je jeho špecifická váha väčšia než 1,008 a krava je gravidná (obr. 1), ak vypláva na povrch, tak je špecifická váha nižšia než 1,008 a krava nie je gravidná (obr. 2).



Obr. 1. Hlien klesá ku dnu. Krava je gravidná.



Obr. 2. Hlien stúpa hore. Krava nie je gravidná.

Dosiahnuté výsledky a diskusia

I. Metódou podľa Katerinova varením cervikálneho hlienu s 10 % NaOH sme zistili graviditu u kráv v I. mesiaci u 74,6 %, v II. mesiaci u 76,3 % a v III. mesiaci u 77,2 %.

II. Metódou podľa Sokolovskej zmiešaním cervikálneho hlienu s CuSO_4 o špecifickej váhe 1,008 dosiahli sme pri určovaní gravidity u kráv tieto výsledky: v I. mesiaci 76,1 % v II. mesiaci 77,2 % a v III. mesiaci 77 %.

Najlepšie výsledky sme dosiahli podobne ako Sokolovská (11, 12) s pracovným roztokom CuSO_4 o špecifickej váhe 1,008 u kráv v dobe od 20 do 90 dní gravidity.

Dosiahnuté výsledky sú o niečo nižšie než výsledky Katerinova (6) a Sokolovskej (11, 12). Zaujímavé sú posledné údaje Denisovej (2), ktorá pomocou 25 % NaOH stanovila graviditu u kráv na 90 %, zatiaľčo zmiešaním cervikálneho hlienu s 10 % NaOH len 80 %. Túto závislosť bude treba preskúšať a overiť na väčšom počte zvierat, pretože je predpoklad, že pomerne vysoké % stanovenej gravidity pomocou tejto skúšky by sa pri metodickom zlepšení dalo ešte zvýšiť.

Výsledok tejto skúšky do určitej miery závisí aj na presnom posudzovaní farebných odtieňov. Skúška sa má robiť v svetlej miestnosti, roztoky posudzovať na bielom podklade.

Katerinov (6) vo svojej zpráve z Medzinárodného sympózia o fyziológii a patológii rozmnožovania v Sofii v r. 1959 uvádza, že hlien u gravidných kráv má po rozpustení sfarbiť roztok na svetlo hnedo, oranžovo alebo škoricovo. Na rozdiel od údajov Katerinova (6) sme pozorovali najčastejšie sfarbenie roztoku u gravidných kráv výrazne žlté, v menšom počte oranžové a škoricové. Cervikálny hlien negravidných kráv sa rozpúšťal v bledožltú tekutinu.

Naše výsledky sú v porovnaní so Sokolovskou (12, 11), a Denisovou (2) asi o 10 % nižšie, čo je možné vysvetliť podobne ako pri skúške podľa Katerinova (6) nízkym počtom gravidných kráv v prvých troch mesiacoch gravidity.

Overili sme si tiež metódu určovania gravidity u kráv varením cervikálneho hlienu s destilovanou vodou metódou podľa Katerinova (6). Tento spôsob dáva niekedy uspokojivé výsledky u gravidných kráv, ovšem podobné výsledky dáva i u kráv negravidných, takže zistené výsledky si vzájomne protirečia. Podobného názoru je aj Sokolovská (12).

Podstatne vyššie sú naše výsledky s nálezmi Buscha a Möbusa (1) a Ebertusa (3). Tieto pomerne vysoké rozdiely je možné snáď pripísať metodike skúšky. Je diskutabilné, či transport cervikálneho hlienu z miesta odberu do laboratória neznižuje spoľahlivosť skúšky. Je dôležité tiež dbať, aby sa do množstva sekrétu určeného ku skúške podľa Sokolovskej nedostali vzduchové bubliny.

Ďalším dôležitým činiteľom je správny postup pri odbere cervikálneho hlienu, ktorý nesmie obsahovať vaginálne sekréty. Cervikálny hlien musí byť zdravotne nezávadný, má teda pochádzať od plemieníc so zdravými pohlavnými ústrojmi, pretože zápalom zmenený cervikálny hlien u kráv dáva skreslené výsledky. I presná evidencia pripustených plemieníc a ich gynekologická anamnéza je dôležitým faktorom pri hodnotení výsledkov. Nakoniec nesmieme zabudnúť i na správny postup pri výbere reagensí a príprave pracovného roztoku. V ranom období gravidity, keď klinicky nemožno stanoviť graviditu, môže byť percento gravidných

nižšie i tým, že zatiaľ čo sú tieto prípady pri zisťovaní pozitívne, pri klinickom vyšetrení vykazujú negatívny nález; tento zjav si môžeme vysvetliť raným odumretím zárodka (10, 4).

Porovnávajúc jednotlivé metódy stanovenia gravidity u kráv, bezpochyby najspoľahlivejšia metóda je rektálne vyšetrenie. Táto metóda má ovšem veľkú nevýhodu, že nezachytáva včasné obdobie gravidity, ktoré je pri obrate stáda veľmi dôležité.

Použitá metóda zdá sa byť dobrá, ovšem tak ako všetky nové metódy vyžaduje prepracovanie a ďalšie zdokonalenie najmä čo sa týka presných farebných odtieňov pri skúške podľa Katerinova a štandardných roztokov CuSO_4 s použitím roztokov o rôznej špecifickej váhe pre jednotlivé mesiace gravidity.

S ú h r n

Boli preskúšané nové laboratórne metódy diagnostiky včasnej gravidity u kráv.

1. Predbežne boli pri diagnostike gravidity dosiahnuté tieto výsledky:

a) Metódou podľa Katerinova v I. mesiaci 74,6 %, v II. mesiaci 76,3 % a v III. mesiaci 77,2 %.

b) Metódou podľa Sokolovskej v I. mesiaci 76,1 %, v II. mesiaci 77,2 % a v III. mesiaci 77 %.

Došlo dňa 20. 12. 1961

L i t e r a t u r a

1. Busch W., Möbus H. J.: Monatshefte f. Vet. Med., 16, 10, 381 (1961).
2. Denisová S. V.: Životnovodstvo, 3, 53 (1961).
3. Ebertus R.: Monatshefte f. Vet. Med., 16, 10, 384 (1961).
4. Gamčík P., Ševčík A.: Folia vet. 1961 (v tlačí).
5. Gründler W.: Untersuchungen über reduzierende Substanzen im Zervikalschleim des Rindes, Vet. Diss., Hannover (1951).
6. Katerinov J.: Veterinářství XII., 10, 479 (1959), ref.
7. Kňazev (cit. podľa Sokolovskej, Drozdovej a Kurganova).
8. Maksimov (cit. podľa Sokolovskej, Drozdovej a Kurganova).
9. Pommerenke W. T.: Americ. J. Obstetr. Gynec., 52, 1032, (1946).
10. Scott Blair G. W., Glover F. A.: The British Vet. J., 10, 3 (1957).
11. Sokolovskaja I. I., Drozdova L. P., Kurganov V. A.: Životnovodstvo 28, 12 (1952).
12. Sokolovskaja I. I.: Nové sovietske výskumy na úseku oplodňovania hosp. zvierat. Referát prednesený na Medzinárodnej konferencii o biológii a patológii rozmnožovania hospodárskych zvierat v Karlových Varoch (19.-21. IX. 1961).

Опыт, полученный при лабораторном исследовании цервикальной слизи у коров

II. Ранняя диагностика беременности у коров при помощи щелочного теста и медного купороса

Были испытаны новые лабораторные методы диагностики ранней беременности у коров.

1. При диагностике беременности предварительно были получены следующие результаты:

a) по методу Катеринова в первом месяце — 74,6 %, во втором — 76,3 % и в третьем — 77,2 %,

б) по методу Соколовской в первом месяце — 76,1 %, во втором — 77,2 % и в третьем — 77 %.

Erfahrungen mit der Laboruntersuchung des Zervikalschleims bei Kühen —
**II. Frühzeitige Diagnose der Gravidität bei Kühen mittels des Alkalisations-
testes und des Kupfersulfats**

Es wurden neue Labormethoden der frühzeitigen Graviditätsdiagnostik bei Kühen untersucht.

1. Vorläufig wurden bei der frühzeitigen Graviditätsdiagnostik bei Kühen folgende Ergebnisse erzielt:

a) Mit Hilfe der Methode nach Katerinov im 1. Monat 74,6 %, im 2. 76,3 % und im 3. Monat 77,2 %.

b) Mit Hilfe der Methode nach Sokolovskaja im 1. Monat 76,1 %, im 2. 77,2 % und im 3. Monat 77 %.

Experiences with the Laboratory Examination of the Cervical Secretion of Cows
II. The early Diagnosis of Gravidity in Cows by means of the Alkalization and Copper Sulphate Tests

There were tested the new laboratory methods of an early diagnosis of gravidity in cows.

1. For the time being there have been attained at the early diagnosis of gravidity in cows the following results:

a) By means of the method according to Katerinov in the first month 74,6 %, in the second month 76,3 % and in the third month 77,2 %.

b) By means of the method according to Sokolovskaya in the first month 76,1 %, in the second month 77,2 %, and in the third month 77 %.

K otázce významu mnohojaderných buněk v semenoplodných kanálcích

K вопросу о значении многоядерных клеток в семенных каналах

Zur Frage der Bedeutung der vielkernigen Zellen in den samenbildenden Kanälchen

La question de l'importance des cellules polynucléaires dans les canaux seminifères

MVDr. Z. VEŽNÍK C. Sc.

*Oddělení fyziologie a patologie rozmnožování hospodářských zvířat VÚV Brno,
vedoucí prof. dr. E. Příbyl, D. Sc.*

Technická spolupráce: M. Fejová

Ú v o d

Během několika minulých let byla opět častěji diskutována otázka obrovských mnohojaderných buněk v semeni a varlatech plemeníků. Vzhledem k dosavadní dominantní pozici spermiologického vyšetřování v otázkách poruch plodnosti plemeníků, má nález těchto elementů pro diagnostiku velký význam a je na místě pokusit se ujasnit si, do jaké míry je tento nález směrodatný pro hodnocení poruch spermiogeneze, případně varlečního parenchymu. V roce 1955 Tillmann, Czernická a Gehring prozkoumali materiál z varlat, získaný biopsií, nejen v histologickém řezu, nýbrž i vitálně cytologicky. Přitom dospěli k výsledkům, které odporují dosud obecně platnému pojetí a významu vícejaderných obrovských buněk. Všeobecně je dnes uznáván názor Lagerlöfův a ostatních, že obrovské buňky jsou známkou porušené sperminogeneze, případně jsou přímo výsledkem změn vznikajících za degenerace. Tillmann, Czernická a Gehring naopak považují obrovské buňky za projev dobré kvality semennotvorné tkáně a hodnotí dokonce jejich výskyt v přímém poměru ke kvalitativnímu posouzení spermiogenetického epitelu.

Při studiu literatury bylo možno posuzovat názory jednotlivých autorů na etiologii vzniku mnohojaderných elementů a na jejich další vývoj.

V dalším uvádíme názory jednotlivých autorů tak, jak se vyvíjely během let a dalšího studia.

Přehled literárních údajů

Rok	Autor — vztah k uvedenému problému
1841—1847	referoval již von K ö l l i k e r o výskytu mnohojaderných elementů u různých zvířat a považoval je za cysty. Podle T i l l m a n a předcházely těmto nálezům zprávy o mnohojaderných elementech, nalezených u medvěda V a l e n t i n e m a u králíka a člověka W a g n e r e m.
1867	pozoroval tyto buňky též L a V a l e t t e a nazval je spermatogemmy.
1880	popisuje E. M e y e r tyto elementy ve svých nálezech jako kulovité útvary s velkým počtem jader.
1889	uvádí B e n d a a H a r m s tyto útvary v souvislosti s počátkem puberty, stářím a říjí.
1898	upozorňuje C o r d e s jako první na vztah těchto útvarů ke změnám ve tkáni varlat.
1899	uvádí M a x i m o v nálezy obrovských buněk ve varletu savců v souvislosti s pokusně vyvolaným zraněním varlete. Na základě svých pokusů dospěl k závěru, že mnohojaderné buňky jsou známkou degenerativního procesu a jejich vznik vysvětloval amitotickým dělením jader.
1912	rovněž T a n d l e r a G r o s s uvádí v souvislosti s nálezem mnohojaderných elementů s vlivy stáří.
1921	W e g e l i n hovoří o těchto elementech pouze v nadvarletu a označuje je jako spermiofagy.
1923	považuje M o r g e n s t e r n amitotické dělení za vznik varletních obrovských buněk.
1924—1925	považují S t i e v e, S c h i n z a S l o t o p o l s k y za prokázané, že mnohojaderné obrovské buňky jsou projevem raného stadia regresivních stavů ve varletu. Považují tyto mnohojaderné buňky za neschopné progresivního vývoje.
1928	vysvětluje K r a u s tvorbu obrovských buněk poruchami příjmu živných látek a buněčné membrány, takže dochází k buněčnému splývání.
1928	také O i y e považuje za nejpravděpodobnější vznik těchto buněk splýváním. Zjistil obrovské buňky ve varlatech téměř při všech onemocněních. Také on je nepovažuje za schopny progresivního vývoje.
1930	D i B i a s i soudí, že obrovské buňky mohou vznikat následkem nedokonalého dělení buněčného, přiklání se též v úvaze k názoru o splývání.
1930	N e m i l o f f a R i c h t e r vidí umožnění vzniku mnohojaderných elementů ve vytváření mnohojaderných syncytií po vypuzení semenotvorných buněk při poruchách plazmy Sertoliho buněk a jejich zkapalnění.

1930. Brack se vrací svým názorem k Wegelinovu označení spermiofagů a považuje pouze tyto za pravé obrovské buňky přicházející v uvahu pouze při lokálních zjevech v pohlavních cestách. O podobných útvarech ve varletních tubulech soudí, že jde o umělé produkty — o buněčné konglomeráty.
- 1930 též Follin a Jussin považují splývání za vznik obrovských buněk.
- 1933 vyslovil Andres domněnku, že obrovské buňky mohou snad být základem pro vznik vícehlavých spermií. Rozděluje tyto elementy, aniž by však udal kriteria fyziologických a patologických forem obrovských buněk.
- 1934 Lagerlöf považuje obrovské buňky za projev degenerace a poškození parenchymu varletního a také on je uvádí jako průvodce prvních náznaků regrezivních pochodů.
- 1935 vznik obrovských mnohojaderných elementů hledá Michailoff v atipických mitózách.
- 1953 se Yoel přiklání k názoru, že obrovské buňky jsou produkty nedokonalého dělení, při čemž nastává dělení jádra, ale ne dělení cytoplazmy.
- 1955 Tillman, Cernická a Gehring považují vícejaderné semenotvorné buňky, jimi též nazývané polyenergidními, za pravidelný nálež i u zdravých zvířat a věří, že jsou schopny progresivního vývoje.
- 1956 hovoří Knudsen ve své studii o hypoplasii o jejím vzniku jednak „lepivostí“ chromosomů a za druhé v důsledku vadného rozdělování chromosomů ve spermatocytech, vzniku mnohočetných větven a tak vzniku charakteristických obrovských buněk.
- 1957 řadí Tillman mnohojaderné elementy do fyziologické řady spermiogenese a uvažuje u fenoménu polykaryosie o úspoře energie.
- 1957—1959 spojuje Helm vznik obrovských buněk s poškozením varlete a původ těchto buněk hledá v aglutinaci.
- 1959 uvádí Steinberger a Dixon při studiu vlivu tepla na zárodečný epithel původ mnohojaderných buněk coalescencí spermatid.

Přehled materiálu a metoda práce

Účelem této studie nebylo spermiocytogenetické bádání o genezi a mechanismu mitózy u mnohojaderných elementů, ale hlavně vyjasnění nálezu obrovských buněk jak v ejakulátu, tak v parenchymu, v diagnostice poruch plodnosti. Nesmírně závažnou otázkou tvoří zde i hodnocení těchto elementů v histologických nálezech, neboť při snaze využít biopsii varlat pro praktickou diagnostiku hrají tyto nálezy velkou roli. Vycházeli jsme v podstatě z názorů autorů posledních prací a to hlavně Tillmanna, Cernické, Gehringa, Knudseny, Helma, Steinbergera, Dixona a dalších.

Jak již bylo v úvodu a přehledu literatury řečeno střetávají se i u nich názory na původ mnohojaderných buněk.

Věnovali jsme proto nejdříve pozornost přítomnosti mnohojaderných elementů v neporušených varlatech a sledovali rozdíl těchto nálezů s počtem těchto útvarů ve varlatech ovlivněných rozličným způsobem (thermoizolace, inkulace jod-kalia, artef. orchitis apod.).

Ve svých pracech uvádí Tillman a spol., že při zkoumání parenchymu varlečního pouze histologicky, nezavdávají nálezy důvod k pochybnostem, že jednojaderné semenotvorné buňky představují výhradně progresivní vývojový buněčný typ. Sděluje, že vícejaderné útvary se nachází v histologických řezech u zdravých zvířat v kanálcích varlat jen krajně zřídka a většinou ne v korelativním svazku zárodečného epitelu a rozhodně jen ojediněle v lumen kanálků. Naproti tomu při fázově optickém výzkumu nepoškozené, živé semenotvorné tkáně se situace zcela mění. Ukázalo se, že pro výzkum těchto útvarů se mnohem lépe hodí cytologické vyšetřování než materiál řezný. Ale autoři jdou ve svých vývodech i dále, uvádí, že pozorování živých buněk má výhody před fixovaným a barveným materiálem u něhož považují možnost vzniku poškození těmito cestami. Tillman a spol. sdělují, že při histologickém zkoumání tkáně varlete u zvířat s neporušenou schopností rozmnožování, nález buněk s větším počtem jader byl velkou výjimkou. Naproti tomu ale srovnávací cytologická zkoumání jak fixovaných a barvených buněk v nátěru, tak zkoumání ve fázově kontrastním mikroskopu mělo shodný výsledek, právě opačný vzhledem k histologickému zkoumání.

Abychom brali v úvahu všechny názory a též si ověřili při našich sledováních závažnost rozdílu mezi cytologickým zkoumáním za živa a u fixovaného materiálu, volili jsme jednak sledování ve fázově - kontrastním mikroskopu a dále kontrolní vyšetření barvených nátěrů a histologických řezů.

K pokusům bylo použito celkem 70 samců z toho 26 býků, 32 králíků a 12 krys. Zvířata byla rozdělena do několika pokusných skupin v nichž bylo prováděno srovnávání počtu mnohojaderných elementů u pokusně ovlivňovaných zvířat a u zvířat kontrolních. Thermoizolaci skrota případně držení zvířete za zvýšené okolní teploty bylo podrobeno 9 býků, 4 králíci, 5 krys. K těmto pokusným zvířatům přináležel stejný počet kontrolních. U další skupiny pokusných zvířat bylo použito k ovlivnění 8% jodkalia, které bylo podáváno králíkům subkutánně, v jednom pokuse po předchozím podání agovirinu. Při ovlivňování pokusných býků bylo užito též jod-kalia intratestikulárně podaného k vyvolání arteficiální orchitidy.

Mnohojaderné elementy byly počítány jednak v absolutních hodnotách při průběžném meandrovitém prohlížení preparátů, dále v diferenciálním počtu na 500 elementů spermiogenetického epitelu a konečně byl stanoven buněčný index na základě práce Tillman a spol. podle vzorečku $\frac{V}{J} = Sp i$ (jednojaderné: vícejaderným = spermiologický index).

Vlastní výsledky

Pokus I.

Byl prováděn na krysách průměrné váhy 310 g v počtu 5 ks kontrolních a 5 ks zařazených do pokusu.

Pokusná zvířata byla udržována v okolní teplotě 37° C po dobu 3, 4, 6, 8 a 9 dní.

Po uplynutí uvedené doby byla zvířata usmrcena a okamžitě odebrána varlata, která po šetrném vynětí z tunik byla otevřena protnutím *tun. vag. proprie* a *albuginey*. K nativnímu pozorování ve fázovém kontrastu byl odebrán materiál do Tyrodeova roztoku a prohlížen ve čtyřech preparátech s hodnocením absolutních hodnot mnohojaderných elementů a propočítáváním na diferenciální počty s jednojadernými buňkami spermiogenetického epitelu. K barveným nátěrům byl odebrán materiál běžným způsobem otiskového nátěru.

Výsledné hodnoty jsou uvedeny v tabulce I.

I.

Číslo pokusu	Druh zvířete	Skupina zvířat	$\bar{x}$ získaných hodnot ve skupině			
			A	B	D	I
I	krysy	kontrolních	25,4	86,4	3,12	31,0
		pokusných	158,0	220,0	5,12	18,53
II	králíci	kontrolních	92,4	114,0	4,7	20,27
		pokusných	158,7	189	7,0	13,28
III	králíci	kontrolních	95,4	97,8	4,5	21,22
		pokusných	181	175,4	7,04	18,10
IV	býci	kontrolních	138,8	137,8	6,4	14,62
		pokusných	173,2	184,0	6,9	13,53
V-VI	býci	kontrolních	—	76,5	3,61	31,3
		pokusných D	—	124,18	7,44	18,35
		pokusných Z	—	85,37	4,9	28,27
VII	králíci	kontrolních	—	16,0	1,52	87,8
		pokusných a	—	27,9	2,66	37,3
		pokusných b	—	104,8	9,8	10,5
		pokusných e	—	27,9	2,6	40,6

I. Přehled průměrů ($\bar{x}$) získaných počtů mnohojaderných buněk u pokusů I—VII ve skupině materiálu nativních preparátů (A), preparátů barvených (B), průměrů diferenciálních počtů (D) a indexů (I)

Získané výsledky vykazují zejména v kategoriích absolutních hodnot podstatné zvýšení nálezu mnohojaderných elementů v nativních preparátech i v preparátech barvených u pokusných zvířat. Rozdílná čísla počtů mnohojaderných buněk v nativních a barvených preparátech je nutno vysvětlit rozdílem plochy vlastního preparátu. Rozdíl v diferenciálních hodnotách a ve velikosti indexu

nevykazuje takových maximálních výkyvů. Rozdílná doba po kterou byla pokusná zvířata vystavena okolní teplotě 37° C neprojevila se v závislosti na počtu mnohojaderných elementů.

Pokus II.

Byl prováděn rovněž na principu dříve popsaného ovlivnění varlat zvýšenou teplotou okolí. Za pokusná zvířata sloužili králíci v průměrné váze 2 858 g v počtu 5 kusů kontrol a 4 kusů pokusných. Okolní teplota byla udržována na 40° C za vydatné ventilace. Pokusná skupina zvířat byla v thermoboxu ponechána 4 dny (2 kusy) a 11 dnů (2 kusy).

Zpracování materiálu bylo obdobné jako u předchozího pokusu, jen získání varlat bylo prováděno kastrací.

Výsledné hodnoty jsou uvedeny v tabulce I.

Výsledky ukazují ve všech kategoriích hodnocení poměrně podstatný vzestup hodnot u zvířat chovaných při zvýšené teplotě okolí vůči kontrolním zvířatům.

Pokus III.

Do tohoto pokusu bylo zařazeno 10 králíků v průměrné váze 2 905 g. 5 zvířat tvořilo skupinu kontrolní a 5 zvířat bylo podrobeno každodenní parenterální aplikaci 20 ccm 8% vodného roztoku jod-kalia. Tyto dávky byly podávány ve dvou depositech s. c. po 5 ccm tedy 10 ccm *pro dosi* dvakrát denně. Doplnkové dávky před zakončením pokusu byly u některých zvířat zvednuty na 40 ccm *pro die*.

Celkem bylo jednotlivým pokusným zvířatům podle označených protokolárních čísel podáno: 457/60ccm, 471/180ccm, 477/180ccm a v doplňkové dvoj dávce 80ccm, 481/160ccm — v doplňkové dvoj dávce 120ccm, 482/160ccm — v doplňkové dvoj dávce též 120ccm.

Zpracování materiálu bylo obdobné jako v předchozím pokuse. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v tabulce I.

Výsledné průměrné hodnoty ukazují, že po aplikaci jod-kalia došlo k vzestupu mnohojaderných elementů. Vezmeme-li však v úvahu všechny získané hodnoty a srovnáme si jejich vztahy, pak zjistíme, že v absolutních vyčísleních mnohojaderných buněk nacházíme poněkud zvednutá výsledná čísla u pokusných zvířat. V diferenciálních výsledcích však pouze jediný případ (457) vykazoval svou hodnotou podstatný rozdíl, ostatní zůstávají v průměru.

Pokus IV.

Do tohoto pokusu byli zařazeni býci v počtu deseti kusů, průměrné váhy 387 kg, tito býci byli vybráni z žirných kusů a byl u nich pro přípravu pokusu odebrán jedenkrát ejakulát před vlastním započítáním pokusných prací. 5 kusů býků bylo kontrolou a 5 kusů bylo zařazeno do pokusu.

Jako ovlivňování spermiogenetické funkce varlete bylo použito thermoizolace skrota tak, jak je ve svých pracích popsal již Lagerlöf. Thermoizolace byla provedena igelitovým suspensoriem s vatovou vložkou. Toto suspensorium bylo přiloženo u 3 kusů po dobu 4 dnů a u 2 kusů po dobu 8 dnů. Během doby co byla přiložena suspensoria byl odebrán ejakulát ještě jednou a to u býků u nichž trvala thermoizolace 8 dnů.

Po zakončení pokusu thermoizolace byl býkům pravidelně jednou až dvakrát týdně odebírán ejakulát na umělou pochvu až do 21 dne od započetí pokusu. V této

době byl zjištěn pokles kvality ejakulátu a zvýšené procento patologických forem. V této době byl pokus zakončen, materiál odebrán kastrací a okamžitě vyšetřen v nativních preparátech na místě v terénu, současně byly pořízeny nátěrové a otiskové preparáty, které po obarvení v laboratoři byly vyšetřeny běžně, jak je výše popsáno.

Výsledné hodnoty získané ze studia mnohojaderných elementů jsou uvedeny v tabulce I.

Výsledky, které tabulka uvádí jsou jak je zřejmé hlavně z diferenciálních hodnot vzhledem k předchozím skupinám pokusů naprosto neprůkazné. Také rozdíl absolutních hodnot je v podstatě nepatrný a diferencí průměrných čísel tvoří nízké počty mnohojaderných elementů v případě kontrolního býka č. 586.

Pokus V. a VI.

Tato skupina zahrnuje 10 býků, jejichž průměrná váha byla asi 400 kg. Tato zvířata byla předem na pokus připravena řadou pravidelných odběrů semene, až do vyrovnání kvality ejakulátu. Pokus byl kombinován tak, že po ustálení kvality ejakulátu bylo unilaterální kastrací odňato varle a vyšetřeno ve skupině kontrolních pokusů — stanovení fyziologických — normálních hodnot. Skupina býků byla rozdělena posléze ve dvě kategorie do nichž bylo zařazeno po 4 kusech (z celkového počtu 2 ks pro technické důvody vyřazeny). Jedna ze skupin tvořila pokračování pokusu vyvolání inhibičních pochodů a degenerace spermiogenetického epitelu thermoizolací skrota (D) a druhá skupina byla podrobena arteficiálnímu vyvolání orchitidy po intraparenchymální inokulaci 8% jod-kalia v dávce 5 ccm pro dosi (Z). U jednoho kusu bylo použito jedné dávky u 3 kusů byla dávka podána dvakrát a to podruhé za 10 dnů.

Způsob zpracování byl obdobný předchozím pokusům — nebylo však prováděno hodnocení v nativním materiálu, ale pouze v materiálu barveném.

Výsledky jsou uvedeny v tabulce I.

Obě pokusné skupiny vykazují hodnoty v průměrech, ale směrodatné odchylky (viz graf) splývají značnou měrou ve svém rozsahu minimomaximálních hodnot. Průkaznější zvednutí množství mnohojaderných elementů vykazuje pokus D (arteficiální thermoizolace skrota).

Pokus VII.

Tento pokus vymyká se poněkud z rámce pokusů předchozích. Jako pokusná zvířata byli zvoleni králíci v průměrné váze 2 500 g v počtu 18 ks. Králíci byli rozděleni do 3 skupin: kontrolní, do skupiny, které byl podán Agovirin v dávce 10 mg, do skupiny, která byla podrobena parenterální aplikaci jod-kalia v celkové dávce 240ccm na kus (obdobně jako pokus III) a konečně do skupiny, které bylo jod-kalium podáno až po aplikaci Agovirinu.

Základním předpokladem byly údaje o humorálních regulacích pohlavní činnosti samců uvádějící, že velké dávky androgenů, případně dlouhou dobu podávané, inhibují sekreci gonadotropinů natolik, že může dojít k atrofii varlat.

Průměrné výsledné hodnoty ukazují vzestup mnohojaderných elementů v spermiogenetickém epitelu ve všech pokusných skupinách proti kontrolní. Nejvýraznější posun vykazuje skupina ovlivněná jod-kaliem. Samostatný Agovirin vyvolal pozvednutí množství mnohojaderných elementů a v kombinaci s jod-kaliem tento vzestup byl nepatrně nižší. Rozsah směrodatných odchylek však vylučuje rozdílnost hodnot, neboť splývají.

Diskuse

Aby bylo možno zařadit nálezy mnohojaderných elementů do diagnostických kritérií, považovali jsme za vhodné, jak již bylo v úvodu této práce vyzvednuto, věnovat pozornost vztahu existence těchto buněčných forem ve spermiogenetickém epitelu ke stavu parenchymu varletního a případně procesu v něm probíhajícímu.

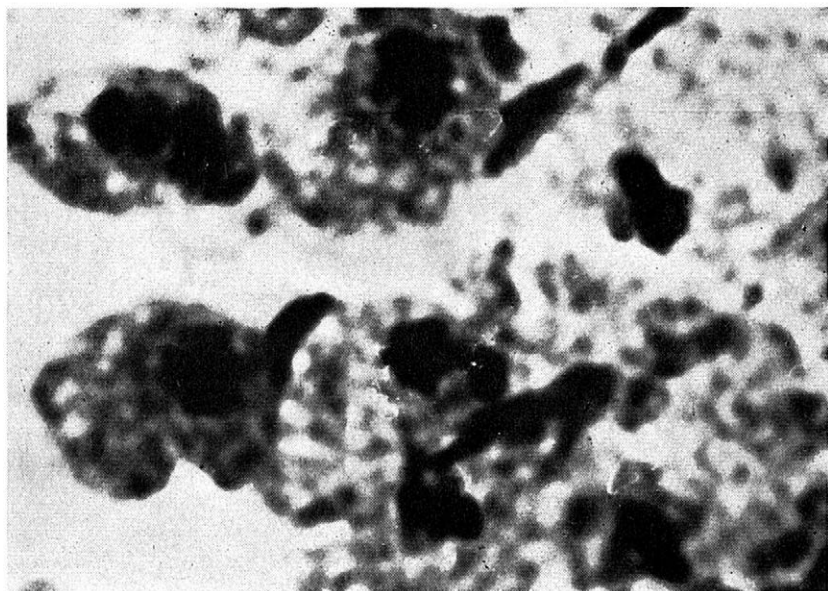
Je správné, jak soudí Tillmann a spol., že k posouzení epitelu, musíme znát bio-morfologii semenotvorných buněk. Není totiž vždy naprosto zřejmé, kdy fyziologické procesy přecházejí již v patologické. V těchto otázkách je kliník stále odkázán na hodnocení ejakulátu. Je proto velmi důležité věnovat cytologickému rozboru pozornost a mít podklady pro posouzení nálezu heterogenních elementů a mladých buněčných forem spermiogenetického epitelu. Je pravda, že rozhodnutí, kdy hodnotit tyto nálezy — jmenovitě nález mladých forem — za proces fyziologický a patologický je mnohdy obtížné, ale je nutno pamatovat na možnost jejich výskytu při zvýšené pohlavní frekvenci. Ovšem nadměrné zatížení gonád může vést k potlačení produkce semene a v pozdějším stadiu dokonce může být příčinou vyčerpání nebo selhání činnosti pohlavní žlázy. Výsledkem jsou pak nálezy aspermii, oligospermii a nekrospermii, doprovázené pochopitelně vysokým procentem patologických forem buněk semenných. Zde pak je nutno uvážít, že tato spermatoschese nebo tubulární insuficience může být i ireverzibilní.

Jak bylo v literárním přehledu vzpomenuť považuje se za jednu z nejranějších a nejdůležitějších známek regrese na varletech nález mnohojaderných buněk. Tyto symplazmy nebo plazmodiální komplexy byly zjištěny při histologickém vyšetřování též v kanálcích varlete a nadvarlete.

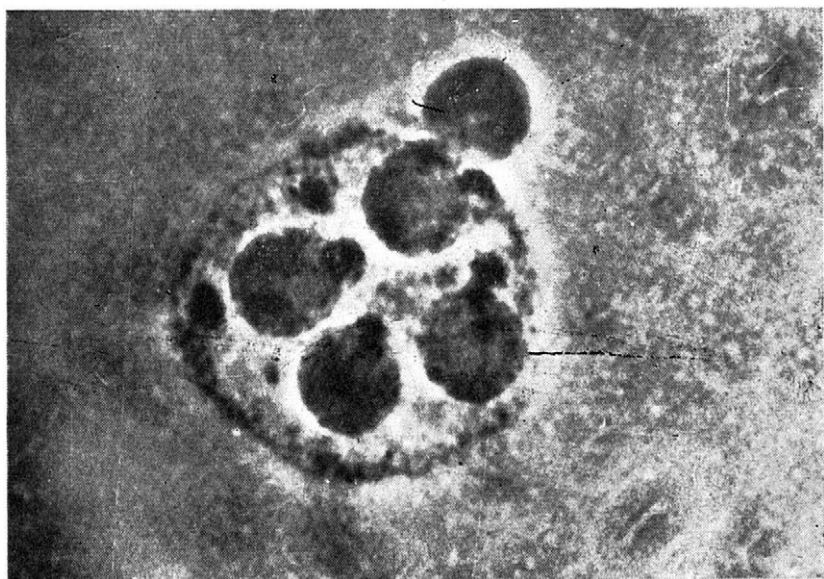
Tillmann nejnověji rozebírá jejich vznik v posledních pracích. Názory na jejich vznik se značně různí. Vznikají prý obtékáním hlaviček spermií plazmatem nebo jejich vníkaním do plazmatické hmoty, jiní autoři považují tyto elementy za fyziologické útvary. I v pracích posledních let názory Tillmanna a spol. a Helma se podstatně různí.

Výkladu vzniku nebo spíše popisu mechanismu mitózy podle Tillmanna věnujme pozornost. Základním procesem spermatogenese je jaderné dělení. Při něm dochází k přetvoření výstavby buňky. Substance chromosomová opouští vymezený prostor jádra a mísí se s cytoplazmou, neboť jaderná membrána postupně mizí. Různě utvářené složky plazmatické i chromosomální nachází se v této fázi v pohybu, poslední se u jednojaderných buněk poznenáhlu uspořádávají do aequatoriální roviny. Při vícejaderných buňkách vzniká bouřlivý pohyb v nitru buňky, aniž by byly jednotlivé procesy zřetelně viditelné. Na různých místech vystupují později silně světlolomná tělíska, která je možno funkčně považovati za dynamická centra formující kol sebe nová jádra. Helm rozvádějící výsledky autorů Tillmanna a spol. a konfrontující je se svými nálezy uzavírá svůj názor přesvědčením, že vznik mnohojaderných obrovských buněk je možný jen aglutinací.

Jak jsme již předem upozornili nemohla se tato naše pracovní etapa zabývat přímo studiem cytogeneze mnohojaderných forem, ale z velmi širokého materiálu, hlavně histologických materiálů, je zřejmé, že ve všech případech není možno za danou neznámou tj. vznik mnohojaderných forem, jednoznačně dosadit aglutinační, případně conflusní teorii. To hlavně tam, kde jsme se setkávali s mnohojadernými elementy v kanálcích varlete zcela sporadicky vykazujících existenci jakýchkoliv buněčných elementů spermiogenetické řady. Jmenujme hypoplasie, pokročilejší formy degenerací apod. Mitotický vznik těchto polykariózních elementů potvrzuje též studie Knudsenova. Knudsen při studiu partiální testikulární hypo-



Obr. 1. Malformovaná vřetena jaderná s polyaxiálním utvářením dávající podklad vzniku mnohoadernosti.



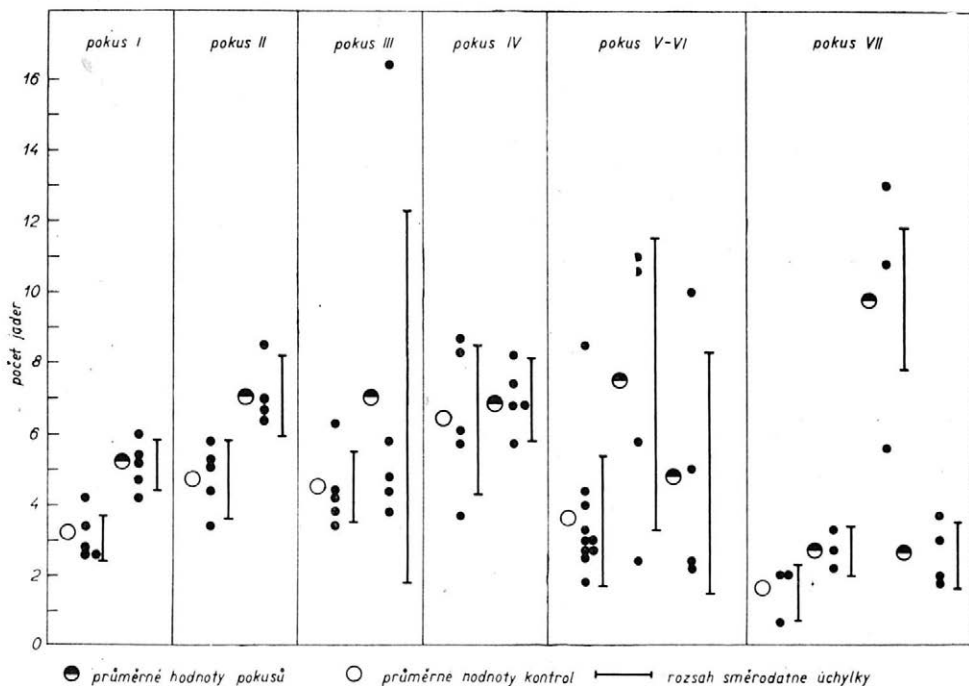
Obr. 2. Spermatidní mnohoaderná buňka s jádry ve stadiu spermatohistogenese označovaném „Golgi-fáze“.



Obr. 3. Mnohojaderná buňka spermatidní se zřetelným konturováním acrosomální části jader.

placie sledoval vznik mnohoaderných obrovských buněk z poruchy dělení spermiocytů, při kterém vznikla mnohočetná vřetena jaderná. Těmto elementům nepřipisuje však schopnost progresivního vývoje. Názor T i l l m a n n a a spol., že vícejaderné semenotvorné buňky se zpravidla vyskytují u zdravých zvířat s intaktní spermatogenezí, a že jsou schopny progresivního dalšího vývoje, jsme již uvedli. Je to jistě přímá kontradikce toho času všeobecně přijatého pojetí, že polykariozie je známkou regresivních pochodů, které se ovšem nemusí projevit stejnoměrně ve všech úsecích kanálků.

Vraťme se nyní k rozboru vlastních pokusů. V uvedeném grafickém vyhodnocení a tabulce je přehledně zachycen v průměrech cytologických diferenciálů výsledky pokusů.



Graf I.: Počty mnohoaderných buněk (●) u jednotlivých zvířat zařazených do pokusů I—VII s průměrnými hodnotami a směrodatnou odchýlkou.

Je však nutno rozebrat okolnosti a především kvalitativní otázky pokusného materiálu užitého k vlastním pracem. Dotkneme se hlavně nesrovnatelnosti v nálezů mnohoaderných elementů v pokusech na králících. Na první pohled je patrný rozdíl v hodnotách získaných u kontrolních kusů pokusů II., III. a VII. Zatím co poměrně souhlasné počty byly u pokusu II. a III., pokus VII. prokázal výrazný pokles nálezů polykariotických elementů. Předpokládáme, že příčinou byl nedostatečný věk a stáří zvířat. U dodatečných pokusů, prováděných na králících byl stanoven diferenciál mnohoaderných elementů v neporušeném králíčním varleti 4,3 %, tedy velmi se blíží hodnotám pokusu II. a III. tj. 4,7 a 4,5 %.

Tyto diferenciální hodnoty mnohoaderných a jednojaderných elementů, které jsme obdrželi v našich výsledcích se neshodují s nálezy uváděnými T i l l m a n n e m a spol. Uváděné spermiologické indexy v T i l l m a n n o v ě práci mají poměrně

II.

Číslo pokusu	I		II		III		IV		V–VI			VII			
Označení skupiny	K	P	K	P	K	P	K	P	K	PD	PZ	K	Pa	Pb	Pc
Průměrná hodnota diferen. v %	3,12	5,12	4,70	7,00	4,50	7,04	6,40	6,90	3,60	7,40	4,90	1,50	2,70	9,80	2,60
Směrodatná odchylka	0,66	0,71	1,10	1,15	1,05	5,27	2,04	1,11	1,85	4,11	3,42	0,80	0,74	2,00	0,96

II. Přehled diferencíálů mnohojaderných buněk ve spermiogenetickém epithelu v %. Označení skupin zvířat kontrolních (K) a pokusný (P)

III.

Skupina	Hodnoty diferencíálů v %					Průměr hodnot	Směrodatná odchylka
Otiskové nátěry	3,8	3,2	5,0	4,8	3,4	4,04	0,8
	5,4	3,6	4,2	5,0	3,2	4,28	0,92
Homogeniz. nátěry	3,6	3,4	3,6	4,8	3,4	3,6	0,74
	4,6	3,6	5,4	4,4	4,0	4,4	0,74

III. Srovnání variace diferencíálů získaných z nátěrů provedených otiskovou metodou a po homogenizaci materiálu

značně vysoké poměry. Tak při zdravé spermatogenezi, jak uvádí, byl index např. u myši 4,9–7,3; u krysy 9,0–14,4; u králíka 1,9–5,3; u ovce 2,0–2,9; u prasete 1,7–2,6; u býka 0,8–2,5 a u psa 3,1.

Heilm, který svou studií o mnohojaderných buňkách navazoval na uváděnou práci Tillmana u myši při vitálně cytologickém zkoumání index 14,3–20,0. V další práci, kterou Heilm tomuto problému věnoval pohybuje se index spermiocytologického poměru v rozmezí 4,5–7,0.

Tento nepoměr výsledných hodnot v pracích jednotlivých autorů vedl nás k tomu, abychom si ověřili připomínku uváděnou Heilmem. Ve své práci upozorňuje na variace indexu propočítávaného z 200 až 400 buněčných elementů. Považuje za nutnost naprosté metodické shody mají-li být výsledky schopné porovnání. Zjistil, že výsledky závisí do velké míry na kvalitě a velikosti preparátů, na velikosti zvoleného zorného pole apod. Jako jednu z velmi důležitých okolností uvádí počítání buněk ve svazcích buněčných, které zůstaly v souvislosti. Husté nakupení buněčné a vzájemné překrývání, jakož i směs s klasy semene ve svazcích kotvicích v Sertoliho buňkách, nedává možnosti reálných výsledků a současně je možné právě zde naléztí pravý číselný poměr jednojaderných a mnohojaderných buněk.

Musíme s názory Heilma souhlasit, neboť jak ve vitálně cytologickém pozorování, tak i v barevných preparátech, jsme se setkávali se shluky buněčnými v nichž poměry buněčné bylo opravdu velmi obtížné přesně stanovit. Abychom variabilitu výsledných hodnot co nejvíce omezili, pokusili jsme se o buněčnou homogenizaci v auto-séru pokusného zvířete. Z uvedené tabulky je zřejmé, že směrodatné odchylky výsledků diferencíálů získaných z náterů otiskových jsou o něco vyšší než odchylky získané u homogenizovaných buněčných náterů.

Závěrem, co je možné říci k původu mnohojaderných buněk a jejich významu pro diagnostiku. Již výše jsme podotkli, že nelze ve všech případech vysvětliti vznik mnohojaderných elementů conflusí a aglutinací. Na základě našich pozorování můžeme souhlasně s pozorováním jiných autorů (Lagerlöff, Knudsen, König apod.) hledat vznik polykariozie v poruchách jaderného dělení. Setkali jsme se s nálezy spermiocytů s vícepólově vytvořenými vřeteny, z nichž vznikají mnohojaderné buňky. Náзор na vznik těchto elementů dělením jaderným je možno podpořit též orientačním pokusem na krysách, který uvádíme jen jako doplněk pro malý počet provedených vyšetření.

Dvěma pokusným krysám bylo kastrací odňato levé varle a vyšetřeno ustáleným způsobem na přítomnost mnohojaderných elementů. Po unilaterální kastraci bylo zvířatům průměrné váhy 215 g podáno 0,18 mg colchicinu jako mitotického stopangens (0,01–0,1 mg colchicinu/100 g ž. v. pro krysu při s. c. aplikaci). Za 4 hodiny po podání odňato i varle druhé a vyšetřeno stejným způsobem.

Výsledky v obou případech prokazatelně potvrdily pokles výskytu polykariózních buněk (p. č. 483 : dif. varle levé 6,5 % : dif. varle pravé po podání colchicinu 5,0 %; p. č. 484 : dif. varle levé 9,5 % : dif. varle pravé 6,5 %).

Lze tedy souditi, že mitotický útlum, byť krátkodobý, mohl snížit procento mnohojaderných buněk.

Pokud jde o vývojovou progresivnost mnohojaderných buněčných typů spermiogenetické řady, mohly být pozorovány mnohojaderné formy spermiocytární, spermatidní s jádry v „Golgi – fázi“, fázi acrosomické a též vyklouzávání jader. Ovšem řada jader těchto elementů byla též pozorována v kariopyknóze, případně takovéto mnohojaderné elementy měly vzhled shluku „restitučních jader“ obdaných plazmatem. Také Heilm se staví poměrně skepticky k otázce, do jaké míry

je možno všechny tyto životní projevy polykariózních elementů považovat za fyziologické.

Naše zkoumání nás přesvědčilo, že mnohojadernost není pravidelností v spermiognesi a též vysoké indexy se kterými se v literatuře setkáváme jsme v dosavadních pokusech nemohli prokázat. Na základě našich pokusných studií je možné konstatovat, že vznik mnohojaderných buněk je většinou podmíněn poruchou v meiotické aktivitě, a to ať již přímým poškozením dělení jaderného, nebo poruchou telofáze. Vznik těchto pochodů je možno hledati v nejrůznějších příčinách. Podklady mohou dáti iritační faktory vnitřní i vnější, jistě, že i karence výživy budou zde hráti svoji roli. Zde je možno vzpomenouti práce Tillmanna, kde ve spermiogenetické studii hovoří o velkých požadavcích buněk ve fázi dělení na výživné látky. Možná, že při dělení bude hrát karence výživných podmínek pro semenotvorné buňky určitou úlohu, která může být zesilována i skutečností, že schopnost buněčného dělení a hlavně dělicí tendence cytoplazmatu se při zracím dělení snižuje. Tillmann uvádí, že druhým zracím dělením se dělicí schopnost ztrácí docela.

Fenomen polykariozie lze tedy vztahovat vzhledem k velké citlivosti spermiogenetického epitelu k prvním příznakům určité nesrovnalosti v spermiogenetické funkci varlat. Také však zvýšená výkonnost gonády bude provázena zmnožením těchto elementů v důsledku nedostatku živých zásob. Tím by bylo možné vysvětlit i tu skutečnost, že po podráždění zakončení parasymptiku ve varleti pilokarpinem obdržel Tillmann zvýšený počet mnohojaderných elementů. Na druhé straně ta okolnost, že za stresu má vícejadernost semenotvorných buněk tendenci klesavou a že u senilních zvířat chybí vícejaderné elementy, je podle našeho názoru vysvětlitelná snížením dělicí aktivity buněčné a současně i podstatným snížením vrstev spermiogenetického epitelu v nichž mnohojaderné buňky vznikají.

Stejně tak setkáváme se s poklesem mnohojaderných buněk nebo tyto zcela chybí u procesů s velmi rychlým toxickým průběhem, kde se spermiogenetický epitel záhy octne v takovém stupni porušení, že nenacházíme buněčné elementy v dělicí fázi.

Je tedy možné z rozvedených výsledků vyvodit, že mnohojaderné elementy na základě dosavadních zkušeností považujeme za projev poruchy vzniklé ve funkci spermiogenetické a můžeme na jejich bázi stanovit, že mitotická aktivita buněčná je dosud zachována. Stále se prohlubující spermatoschese a zmizení mnohojaderných buněk bude provázet zhroucení spermiogenetické funkce.

Souhrn

Na základě vitálně cytologických studií, studií barevných cytologických preparátů a histologického materiálu byl vysloven názor na význam mnohojaderných elementů v spermiologické diagnostice a diagnostice histo-bioptické.

Zvýšený počet polykariózních buněk je možno považovat za příznak porušení spermiogenetické funkce varlat. Vzhledem k tomu, že většina výsledků prokazovala jejich vznik na bázi buněčného dělení, lze je považovati současně za ukazatele dosud zachovalé vývojové schopnosti buněčné i když nenormální.

Došlo dne 15. 2. 1962

W. Biasi: Über mehrkernige Spermatiden und Spermatidenriesenzellen im menschlichen Hoden. Virch. Arch. 1929. 250, 275. — T. Bonadonna: Problemi biologici e tecnologici della fecondazione artificiale. Milano, 1953. — E. Brack: Über intrakanalikulären Riesenzellen der männlichen Genitalwege. Zbl. Path. 1930. 48, 241. — L. Fallin-Jussin: Die Riesenzellen des Hodens. Anat. Anz. 1930. 70, 246. — F. Ch. Helm: Ein Beitrag zur Riesenzellen im Hoden. Münch. tztl. Wchschr. 1954. 11, 228-230. — F. Ch. Helm: Über die Riesenzellen des Hodens im histologischen Schnitt und im vitalzytologischen Bild. Berl. Münch. tztl. Wschr., 1957. 70, 16, 350-354. — Kiyoshi Masui: The Spermatogenesis of domestic Mammals. II. The Spermatogenesis of Cattle. Journ. Coll. Agric. Vol. 111. No. 6, 1919. 377-403. — O. Knudsen: Cytomorphological Investigations into Spermiocytogenesis of Bulls with Normal Fertility and Bulls with Acquired Disturbances in Spermiogenesis. Royal Vet. Col. Stockholm 1954. — O. Knudsen: Chromosomen-Untersuchungen beim Bullen. Fortpflanz. Zuchthyg. 1956. 1, 5-3. — A. F. Kraus: Über die Riesen-zellenbildung im menschlichen und tierischen Hoden. Beiter. Path. Anat. 1928. 80, 658. — N. Lagerlöf: Morphologische Untersuchung über Veränderungen im Sper-mabild und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertili-tät. Uppsala 1934. — C. P. Leblond, Y. Clermont: Definition of the Stages of the Cycle of the Seminiferous Epithelium in the Rat. Annals of the New York, Acad. of Sciences, 1952, 55-548-573. — T. Oie: Über mehrkernige Zellen in den Samenkanälchen der Hoden. Beitr. Path. Anat. 1928. 80, 479. — K. K. Surikova: К вопросу о цитологическом и цитохимическом изменении при сперматогенезе. Вестник ленинградского университета 1957. 15, 53-71. — H. Tillmann, B. Czer-nická, W. Gehring: Zur Zytologie der Spermatogenese unter besonderer Be-rücksichtigung der Zytotypik Zbl. f. Vet. Med. 1955. 11, 303-325. — H. Tillmann: Zur Konstitution und physiologie der Samenbildungszellen. Berl. Münch. tztl. Wchschr. 1957. 70, 16-347-349. — O. Warren, O. Nelson, J. Macleod: Bio-logy of the Testes Annals. of th. New York, Acad. of Sciences. 1952. 55, 545-547. — J. E. Wodsdalek: Spermatogenesis of the accessory chromosomes. Biological Bulletin Vol. XXV. 1912. L: 8-44. — J. E. Wodsdalek: Spermatogenesis of the Horse with special reference to the accessory chromosome and the chromatoid Body. Biological Bulletin - XXVII. 1914. 6, 295-324. — J. Wolf: Učebnice histologie, Praha 1956. str. 524.

К вопросу о значении многоядерных клеток в семенных каналах

На основе *in vivo* цитологических исследований, исследований цветных цитологических пре-паратов и гистологического материала был высказан взгляд на значение многоядерных элементов в спермиологической и гисто-биоптической диагностике.

Повышенное число поликариозных клеток можно считать признаком нарушений спермиогенетической функции семенников. Ввиду того, что на основании большинства результатов было доказано их возникновение на базе клеточного деления, это явление в то же время можно считать показателем сохранившейся способности клеток к раз-витию, хотя и ненормальной.

Zur Frage der Bedeutung der vielkernigen Zellen in den samenbildenden Kanälchen

Auf Grund vital-zytologischer Studien gefärbter zytologischer Präparate und anderen histologischen Materials wird die Bedeutung der vielkernigen Elemente für die spermiologische und histobiopische Diagnostik besprochen.

Eine Steigerung der Anzahl der vielkernigen Zellen kann man als Zeichen einer Störung der spermiogenetischen Hodenfunktion betrachten. Im Hinblick darauf, daß der Großteil der Ergebnisse ihr Auftreten nachweisbar in Zusammenhang mit der Zellteilung brachte, kann man sie als Zeichen einer bisher erhaltenen, wenn auch abnormalen Entwicklungsfähigkeit der Zellen betrachten.

La question de l'importance des cellules polynucléaires dans les canaux seminifères

A la base des études cytologiques in vivo, des préparations cytologiques colorées et du matériel histologique on a énoncé l'opinion quant à l'importance des éléments polynucléaires dans le diagnostic spermiologique et histo-bioptique.

Une augmentation du nombre des cellules polynucléaires peut être considérée comme un symptôme d'un dérangement de la fonction spermatogénétique des testicules. Vu que la majorité des résultats a prouvé leur origine à la base de la division cellulaire, on peut les considérer simultanément comme indicateurs d'une faculté d'évolution préservée, si même pas normale.

Pozorování při diagnostice vibriózy u býků

Наблюдения при диагностике вибриоза у быков

Beobachtungen bei der Diagnostik der Vibriose bei Bullen

R. HOPPE

*Katedra porodnictví a patologie rozmnožování veterinární fakulty vysoké školy
zemědělské, Varšava, přednosta: prof. dr. R. Hoppe*

Úvod

Je nesporné, že z nakažlivých nemocí, které se mohou přenášet při umělém osemeňování, je nejméně potírána vibrióza skotu (Bartlett a Larson, 1960). V mnoha zemích se býci, používaní k inseminaci, nevyšetřují vůbec na toto onemocnění a nařízení o nutnosti tohoto vyšetření zůstávají jen na papíře nebo se vyšetřuje takovými diagnostickými metodami, jejichž hodnota je pochybná, protože nelze přesně kontrolovat jejich přesnost.

V převážné většině zemí se používá proti šíření vibriózy osemeňováním jako ochranného opatření přidavek antibiotik k semenu. A tak tato významná metoda rozmnožování skotu, jakou je umělé osemeňování, je založena na citlivosti *Vibrio fetus* vůči streptomycinu a penicilinu. Přihlédneme-li k tomu, že již byly zjištěny kmeny *Vibrio fetus* odolné k streptomycinu (Morgan, 1952), je zřejmé, že při umělém osemeňování je velmi zanedbávána hygienická stránka pokud jde o vibriózu, a že profylaxe vibriózy přidáváním antibiotik do semene je v podstatě kapitulací před obtížemi při stanovení diagnózy u býků.

Z dosavadních způsobů diagnostiky vibriózy je nejpřesnější biologický test používaný v Dánsku („one heifer test“, Adler, 1957), kterého se však v jiných zemích nepoužívá vzhledem k vysokým nákladům na udržování velkého počtu jalovic. V této práci jsou uvedeny výsledky výzkumů několika základních otázek bakteriologické diagnostiky, přístupné pro všechny země, které byly dosud uskutečněny na naší klinice. Při výzkumech bylo naší snahou přesně zjistit:

I. Jak velký vliv má

- a) způsob odebrání výplašků
- b) množství bacilů v předkožce a
- c) způsob přípravy výplašků k naočkování

na znečištění živné půdy *B. proteus* a *Pseudomonas aeruginosa* a na růst vibrií.

II. Která živná půda nejlépe zajistí izolaci typů *Vibrio fetus*, vyskytujících se v předkožce.

III. Za jakých podmínek prostředí se nejlépe zajistí izolace kmenů.

IV. Jakými metodami je možno rozlišit *Vibrio fetus* od *Vibrio fetus* typu III. a *Vibrio bubulus*.

V. Zda lze pokládat bakteriologickou zkoušku k diagnostice vibriózy u býků za postačující.

Vlastní výzkumy

Materiál

Jako diagnostického materiálu používali jsme výplašky z předkožky býků. Podle údajů většiny autorů (Florent 1959, Hubrig a Wohanka 1959 aj.) a podle výsledků vlastních počátečních pozorování je semeno obvykle méně zamořeno banální mikroflórou, avšak obsahuje současně méně původce vibriózy a často je příliš nákladným materiálem. Výplašky z prepucia lze kromě toho používat i k všude povinnému vyšetřování trichomonázy. K vyšetření bylo použito výplašků od 117 býků z inseminační stanice a od 77 býků, kterých se používalo k připouštění. U nevyлеченých býků vyšetřovala se nákaza po trojím bezvýsledném místním léčení býka antibiotiky.

Výsledky výzkumů

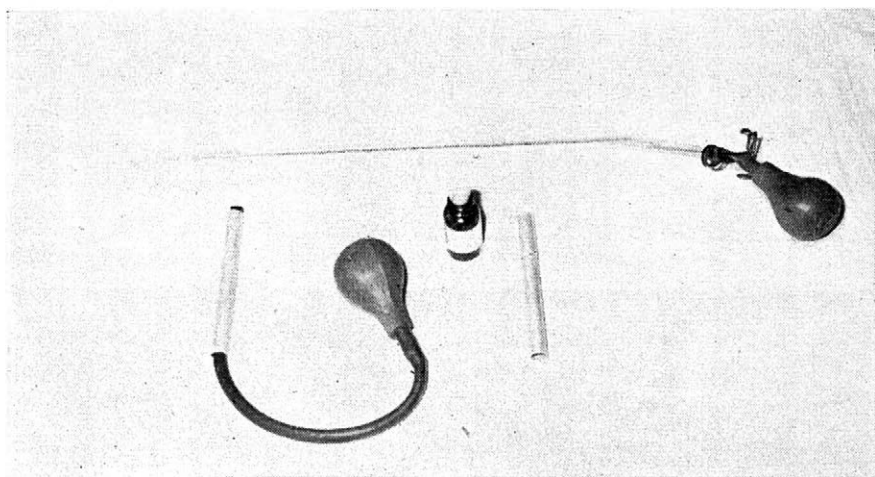
Když byl materiál odebírán z prepuciální dutiny pipetkou nebo gumovou rourkou nechráněnou před dotekem se sliznicí, začaly na živné půdě růst *B. Proteus* nebo *Ps. aeruginosa* v takovém stupni, že izolace vibrií nebyla možná. Proto jsme nástroj na odebírání materiálu zaváděli do prepucia sterilizovanou kovovou rourkou. Otvor prepucia jsme zpravidla omývali mýdlovou vodou a vysoušeli ligninem.

Při odebírání materiálu se řešila otázka, zda se má k tomuto účelu používat pipetky, jejímž koncem by se seškrábl materiál z povrchu sliznice žaludu pohlavního údu a prepucia, které se jí dotýká nebo zda postačí výplach dutiny prepucia tekutinou vpravenou gumovou rourkou. Při prvním způsobu se musí býkovi spoutat nohy, protože při úderu nohou by se mohla pipetka zlomit; při tomto způsobu se však může odebírat materiál jen z dutiny prepucia.

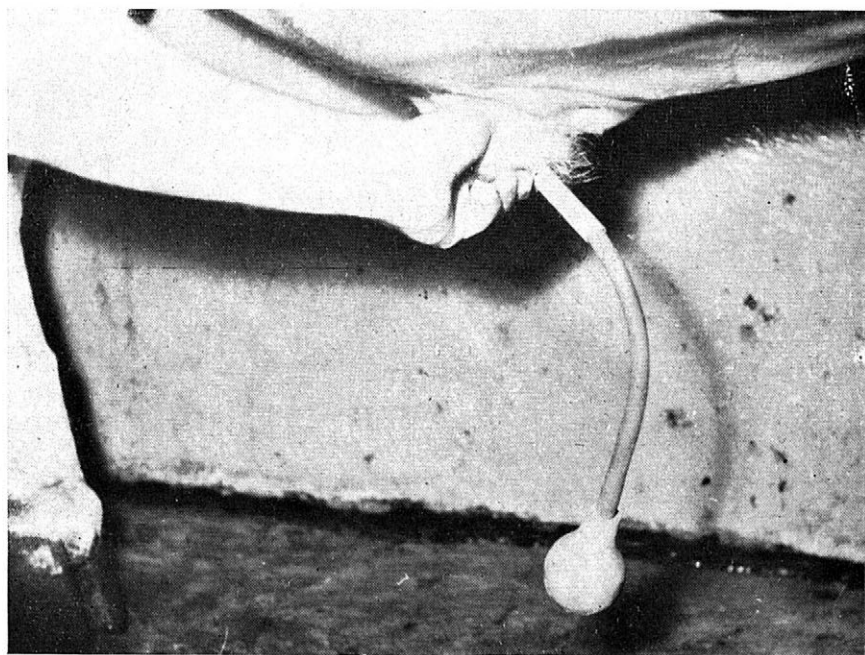
V kontrolovaných pokusech jsme odebírali výplašky oběma metodami od 48 býků. Při první i druhé metodě jsme výplašky odebírali v několikátýdenních přestávkách. Bylo zjištěno, že výrazného zkalení, které svědčí o správném odebírání materiálu, se dosáhne také použitím metody odběru bez pipetky, masíruje-li se současně polštářky prstu žalud pohlavního údu a provede-li se energicky masáž předkožky. Použití pipetky má však celou řadu jiných předností. Při výplachu umožňuje sledovat kolik zavedené tekutiny se podařilo získat z předkožky nazpět a zda při tomto zásahu býk nevyloučil moč. Odebírání materiálu pipetkou umožňuje také dodržovat zásady naprosté sterility, zatím co při zavádění gumové rourky je nezbytné přidržovat rourku prsty.

Při porovnávání procenta znečištění syntetických živných půd, které znemožňuje zjištění výsledků očkování, podle metody odběru, můžeme od okamžiku, kdy byly metody kultivace sjednoceny, konstatovat toto:

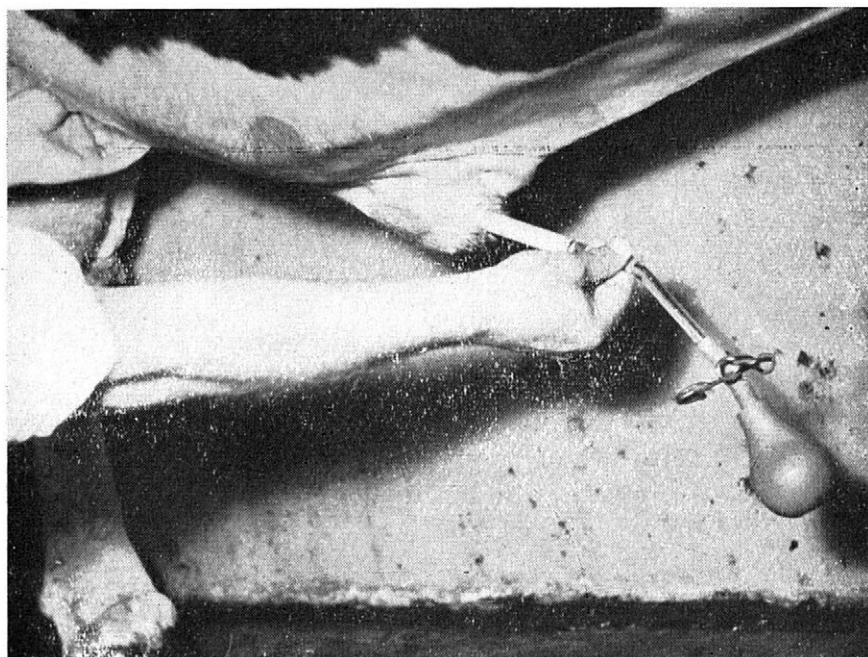
Jak je vidět z tabulky, procento úspěšně zakončených výzkumů rozhodující o vhodnosti metody z hlediska zabránění znečištění je znatelně vyšší při použití skleněné



Obr. 1. Nástroje k odebrání vzorku výplašku.



Obr. 2. Odběr výplašku pomocí gumového balónku.



Obr. 3. Opláchnutí hrotu pyje pomocí skleněné pipety, která se naplněná tekutinou zasune k hrotu pyje a po opláchnutí nasaje zpět do pipety.

I. Procento *B. Proteus* na syntetických živných půdách při různých metodách odběru výplašků

	Počet býků	Počet výplašků	Růst <i>B. Proteus</i> na živné selektivní půdě		Růst <i>B. Proteus</i> na krevním agaru		Počet býků, u nichž se podařila izolace
			počet výzkumů	%	počet výzkumů	%	
Použití skleněné pipetky (metoda I)	178	315	11	3,49	25	7,93	2
Použití gumové rourky (metoda II)	128	236	22	9,32	39	16,5	—

pipetky. Zde však musíme kategoricky zdůraznit, že růst vedlejší mikroflóry na živné půdě závisí hlavně na stupni zamoření prepuciální dutiny býka *B. Proteus*.

V materiálu od býků, u kterých jsme zjistili infekci v nejvyšším stupni, jsme nedokázali žádným způsobem zabránit růstu vedlejší mikroflóry na živné půdě. Možnost bakteriologického vyšetření za použití našich živných půd závisí tudíž na procentu těchto býků; v našich výzkumech jsme měli tuto možnost v 98 %.

K bodu I-b.

Neměli jsme možnost uskutečnit systematický výzkum pokud jde o bakteriologické vyšetření materiálu, tj. procento shodných nálezů (především procento pozitivních nálezů u nakažených býků) a ani pokud jde o závislost procenta shodných výsledků na metodě odbírání výplašků. Býci, u nichž bylo zjištěno onemocnění, byli okamžitě léčeni a jen v několika případech byli býci znovu vyšetřováni. Výsledky ukazují tabulka II.

II. Procento shodných výsledků u nakažených býků

	Počet býků	Počet výplašků	Počet pozit. výsledků	Procento pozitivních výsledků	Procento růstu
Použití skleněné pipetky	9	22	12	54,5	4,5

Zkoušky k zjištění nákazy býků, kteří po místním léčení nebyli vyléčeni, nesporně prokázaly, že růst vibrií z výplašků na syntetických živných půdách neprostlých *B. Proteus* závisí hlavně na množství infekčního agens ve výplašcích. Aby se zabránilo možnosti odumírání vibrií, používali jsme k propírání masový bujón, ve kterém vibrie žijí mnohem déle (F l o r e n t 1959) a výzkumy jsme konali vždy před uplynutím 12 hodin a jen v některých případech před uplynutím 24 hodin

III. Vliv menšího množství inf. agens v prepucií na shodnost výsledků po dvakrát opakovaném místním léčení u býka P. 140

Datum a výsledky zkoušky před II. léčením	Datum II. léčení	Datum a výsledky zkoušky po II. léčení	Datum III. léčení	Datum a výsledky zkoušky po III. léčení
9. 4. 1959 + 30. 4. 1959 +	30. 4. 1959	7. 5. 1959 — 14. 5. 1959 — 21. 5. 1959 — 22. 5. 1959 C 4. 6. 1959 + 11. 6. 1959 + 16. 7. 1959 C 12. 9. 1959 +	17. 9. 1959	21. 9. 1959 — 28. 9. 1959 — 3. 10. 1959 — 10. 10. 1959 — 17. 10. 1959 — 24. 10. 1959 + 31. 10. 1959 + 16. 11. 1959 + 3. 12. 1959 + 8. 1. 1960 +
+ — <i>Vibrio fetus</i> — — bez růstu V. <i>Fetus</i> C — růst vedlejší mikroflóry na syntetických živných půdách B. <i>Proteus</i>				

po odebrání materiálu. Při dodržování těchto podmínek bylo možné přesně zjistit vliv místního léčení pohlavního údu a předkožky na množství infekčního agens v prepuciální dutině, který popsal již Florent (1959) a který svědčí o tom, že procento shodných výsledků závisí na množství infekčního agens v prepucií.

Uvedená tabulka současně ukazuje značnou shodnost výsledků šetření při větším množství původců v prepucií býka.

Z uvedených údajů vyplývá, že na výsledek výzkumu má rozhodující vliv čistota při odběru vzorků a množství původců infekce v materiálu. Toto množství nezávisí tak ani na technice odebírání výplašků, jako hlavně na množství infekčního agens v prepucií.

Po uvedení významu hlavních faktorů rozhodujících o dosažení růstu *Vibrio fetus* z výplašků, chtěli bychom uvést několik málo výzkumů pokud jde o izolaci kmene *Vibrio fetus venerealis* z předkožky býka. V tabulce se nepřihlíží ke kontrolnímu vyšetření býků bezvýsledně léčených a ani k výzkumům, které jsme dělali před sjednocením metod odebírání výplašků a podmínek kultivace.

Jak vyplývá z tabulky IV byl *Vibrio fetus* izolován při 4. zkoušce jen u jednoho býka z materiálu, ve kterém nebyl nalezen *B. Proteus*. K zjištění nákazy bylo zapotřebí v průměru 1,81 zkoušky a po odečtení zkoušky, při kterých byl zjištěn růst *B. Proteus* na živné půdě — 1,75. Tato čísla svědčí o značném zlepšení metod bakteriologické diagnostiky vibriózy u býků ve srovnání s metodikou, které autoři používali v dřívějších létech. Je však nesporné, že při malém množství infekčního agens a silném zamoření prepucia *B. Proteus* bude zapotřebí u takových býků větší počet zkoušek.

K bodu I-c.

Již na počátku výzkumů bylo zjištěno, že při kultivaci sedimentu z výplašků a necentrifugovaného supernatantu vzrůstá procento *B. Proteus*, *Ps. aeruginosa* a jiné banální mikroflóry předkožky.

IV. Počet výzkumů potřebných k izolaci *Vibrio fetus venerealis* z předkožky býka

Pořadové číslo	Jméno býka	Zkouška I.	Zkouška II.	Zkouška III.	Zkouška IV.	Pozn.
1.	P. 140	+	+	0	0	
2.	N. P.	+	+	0	0	
3.	P. P.	+	C	0	0	
4.	K. V.	+	0	0	0	
5.	K. U.	+	+	0	0	
6.	G. S.	+	0	0	0	
7.	B. C.	+	0	0	0	
8.	K. C.	+	0	0	0	
9.	A. C.	—	—	—	+	
10.	A. Ž.	—	—	0	0	
11.	G. R.	+	—	0	0	
12.	B. L.	—	+	0	0	
13.	C.	+	0	0	0	
14.	D.	+	—	—	0	
15.	G. P.	+	0	0	0	

Vyzkoušením různě dlouhé doby odstředování a různého počtu otáček za minutu bylo zjištěno, že při odstředování po dobu 30 minut při 3000 ot/min. a při naočkování podle metody Florentovy kapky supernatantu ze spodní třetiny sloupce na medium přímo po odstředění získá se na syntetických živných půdách nejmenší procento růstu vedlejší mikroflóry a kolonie vibrií se objeví stejně často jako při kratším odstředování.

K bodu II.

Syntetické živné půdy k naočkování materiálu jsme zvolili po vyzkoušení kultivace na krevním agaru s přidavkem paranitrofenolglycerinu (PNPG-1, Beer, 1958) a na krevním agaru s přidavkem cysteinu a brilantové zeleně podle Florenta (1959). Bylo zjištěno, že PNPG-1 sice brzdí růst kolonií *B. Proteus* během 24—48 hodin, ale jen tehdy, je-li jejich počet nepatrný nebo přiměřený. Při větším počtu kolonií se účinek preparátu nevyrovná účinku brilantové zeleně a selektivní půdě Florentově, na které je kolonie *B. Proteus* obvykle možno rozeznat po celé plotně za 48 hodin. Růst *ps. aeruginosa* je na obou živných půdách potlačen do té míry, že umožňuje izolaci vibrií.

Při hodnocení provedených pozorování bylo zjištěno, že nejlepší podmínky pro izolaci jsou jen tehdy, očkují-li se odstředěné výplašky na selektivní živnou půdu s brilantovou zelení, ze které se mnohem početnější kolonie odstraní za 24 hodin a také na krevní agar a na medium Burlettovo, které se jak známo skládá z tekuté a pevné části. Po zjištění růstu vibrií na tomto mediu pomocí fázového kontrastního mikroskopu se tekutá část media odstřeďovala jako výplašky a kapku supernatantu jsme naočkovali na selektivní živnou půdu k vytvoření kolonií a k izolaci vibrií. Použití Barlettova media umožnilo izolovat vibrie v celé řadě případů, kdy se nedosáhlo růstu kolonií na pevných živných půdách.

K bodu III.

Pozorováním vlivu atmosférických poměrů v kultuře na izolaci kmenů bylo zjištěno, že při inkubaci v 10 % CO₂ byl růst slabší a pomalejší než při tlaku 399 mm rtuťového sloupce v atmosféře 10 % CO₂ podle Reicha a Morse (1956). Později se zjistilo, že tyto podmínky se nevyrovnávají svou efektivností podmínkám, které popsal Florent (1959) a Plastringe aj. (1957), tj. 90 % N₂, 3 % CO₂ a 5 % O₂, při tlaku sníženém jen o několik mm rtuťového sloupce.

K bodu IV.

Naše výzkumy ukázaly, že v předkožce býka se vyskytuje často kromě *Vibrio fetus* i jiný typ V. f., který Akkermans a Terpstr (1956) nazvali *Vibrio fetus typu III*. a Florent (1959) *Vibrio fetus intestinalis*. Tento typ se nepřenáší pohlavní cestou a nezpůsobuje jalovost. Z 15 kmenů *Vibrio fetus venerealis* bylo izolováno 7 kmenů typu III a 12 kmenů *Vibrio bubulus*.

Oba izolované kmeny *Vibrio fetus* jsou katalázně pozitivní (jsou C +); *Vibrio fetus venerealis* neprodukuje sirovodík (je H₂S –) a typ III vytváří sirovodík v přiměřeném nebo nepatrném množství (je H₂S + nebo H₂S ±). *Vibrio bubulus* jak je známo C + H₂S –. Protože o metodice diferenciace obou C + typů bylo podrobně referováno na IV. mezinárodním kongresu o biologii rozmnožování zvířat v Haagu t. r. a zpráva o tom bude uveřejněna v polském odborném tisku, zdůrazňujeme v této práci jen to, že diferenciace obou typů podle katalázního čísla a vytváření H₂S nebylo vždy možné a že rozhodující metodou diferenciace byla zkouška aglutinací kmenů imunními séry „anti *Vibrio fetus venerealis*“ a „antityp III“. Nutno zdůraznit, že u některých kmenů *Vibrio fetus* bylo katalázní číslo velmi nízké (asi 0,2) a že některé kmeny V. *bubulus*, které podle Braunera a Franka (1955) jsou vždy C –, produkovaly katalázu jen v menších množstvích než 0,2. Na základě získaných výsledků jsme uznali jako „pracovní tézi“, že kmeny *Vibrio* s katalázním číslem > 0,2 jsou katalázně pozitivní, kdežto kmeny s číslem < 0,2 – katalázně negativní, není to ovšem zcela zdůvodněné. Nutno také poukázat na to, že kataláza se musí stanovit ihned po izolaci kmene. Během času a pasážemi snižují kmeny *Vibrio fetus venerealis* své katalázní číslo jen nepatrně, i když se stává, že někdy jsou naprosto neschopné vytvářet katalázu. Katalázní číslo kmenů typu III se však snižuje během času velmi značně, jak ukazuje tabulka V.

V. Katalázní číslo kmenů „C +“ a „H₂S +“ (tab. III)

Poř. číslo	Název kmene	Datum izolace	Katalázní číslo	H ₂ S	Katalázní číslo	H ₂ S
			ihned po izolaci		dne 12. 5. 1961	
1.	Vech	17. 1. 1959	3,0	+	0,6	±
2.	Sokoluv	29. 2. 1960	1,2	+	0,2	±
3.	Kavjor II	7. 4. 1960	1,0	+	0,25	±
4.	Vilčar	14. 5. 1960	0,3	+	0,15	±
5.	Vrak	15. 8. 1960	0,6	+	0,2	±
6.	Karlik II	4. 11. 1960	0,9	+	0,05	+
7.	Tatar	4. 12. 1960	0,6	±	0,1	±

Z uvedených pozorování vyplývá jednak to, že všeobecně užívaná metodika Blomova k stanovení katalázního čísla není dosti přesná a jednak, že vytváření katalázy původcem *Vibrio fetus* a zcela apatogenním *Vibrio bubulus* se může lišit velmi nepatrně.

A třebaže to nepůsobí zásadní potíže při vzájemném rozlišování těchto typů vibrií, protože se dostatečně liší morfologicky i vnějším vzhledem kolonií, byly by další výzkumy tvoření katalázy a H_2S různými typy vibrií nesporně velmi žádoucí.

K bodu V.

Naše pozorování ukázala, že při metodice získávání výplašků a metodice laboratorních zkoumání, která jsme tu popsali, může být bakteriologické vyšetření hlavní metodou diagnostiky vibriózy u býků. Není-li bakteriologické vyšetření výplašků možné v důsledku růstu vedlejší mikroflóry na živné půdě, musí být provedena biologická zkouška s jalovicemi. Tyto případy však nesmí normálně převyšovat několik procent.

Z tabulky IV nesporně vyplývá, že každý býk musí být bakteriologicky vyšetřen nejméně dvakrát za rok, protože k zjištění nákazy je zapotřebí průměrně 1,81 zkoušek. Býci, kteří byli nově zakoupeni pro inseminační stanici a dříve byli používáni především k připouštění, musí být vyšetřeni bakteriologicky alespoň čtyřikrát a před použitím k umělému osemeňování vyzkoušeni biologicky na jalovicích.

Bude-li se takto postupovat několik let, musí být na stanicích zjištění všichni nakažení býci. Do té doby se musí bezpodmínečně přidávat do semena antibiotika.

Je nesporné, že bakteriologická vyšetření vibriózy a výplach předkožky metodami, které jsme prozkoumali, mohou dělat jen osoby vyškolené pro tuto práci. To se netýká bakteriologických vyšetření v laboratořích, které se zabývají mnohostrannou bakteriologickou diagnostikou. Zjišťování vibriózy u býků musí provádět laboratoře specializované v oboru bakteriologie rozmnožování soustavy orgánů skotu a semena, příslušně vybavené. V těchto laboratořích musí být jalovice, aby se mohly provádět biologické zkoušky podle Adlera (1957) a kontrolovat patogenita obtížně klasifikovatelných *Vibrio fetus*.

S o u h r n

Na podkladě výsledků bakteriologického vyšetření prepuciálních výplašků 194 býků na vibriózu byla hodnocena úloha jednotlivých činitelů, které ovlivňují spolehlivost diagnózy. K zábraně přerůstání živných půd *B. Proteus* se zavádí nástroje k odeírání výplašku sterilní kovovou trubičkou. Je výhodnější odeírat výplasek pomocí skleněné pipety, jejímž koncem za kontroly prstů zevně lze získat vzorek výplašku z hrotu a krčku pyje (3,4 % přerůstání půd) než při použití gumové hadičky (9,3 % přerůstání). Ukázalo se, že procento správných výsledků u býků infikovaných *V. fetus* závisí na počtu zárodků v předkožkovém vaku.

Průměrný počet vyšetření ke zjištění infekce u býků, u nichž předtím nebylo prováděno místní ošetření antibiotiky, je 1,81, v jednom případě byla nutná 4 vyšetření.

Z pevných kultivačních půd se nejlépe osvědčila selektivní půda s briliantovou zelení podle Florenta. Přísada paranitrofenylglycerinu (Beer) nebyla dosti účinná proti přerůstání zárodků při silném znečištění materiálu *B. Proteus*.

Účinné bylo použití půdy podle Bartletta: byla-li v ní po 24 hodinách ve fázovém kontrastu zjistitelná vibria, mohla být tekutá část živné půdy odstředěna a na selektivní prostředí mohlo být očkováno.

Nejlepší růst vibriových kmenů byl dosažen při 90 % N₂, 3 % CO₂ a 5 % O₂.

Bylo izolováno celkem 14 kmenů *Vibrio fetus*, 7 kmenů *vibria* typu III. podle Akkermanse a Terpstry a 12 kmenů *Vibrio bubulus*. Vibriové kmeny typu III. byly pozitivní na katalázu a H₂S a byly pro jalovice apatogenní. Rozlišení vibrií typu III. od kmenů *Vibrio fetus* mohlo být provedeno zcela spolehlivě jen aglutinační reakcí s diagnostickými séry.

Došlo dne 15. 2. 1962

Literatura

1. Akkermans J. P., Terpstra J. I.: Tijdschr. Diergeneesk, 81, 430, 1956.
- 2. Adler H. C.: Genital Vibriosis in the bovine. Copenhagen 1957.
- 3. Bartlett D. E., Larson L. L.: J. A. V. M. A. 137-453, 1960.
- 4. Beer I.: Zol. Bant. (Orig.) 171, 3, 195, 1958.
- 5. Nryner I. H., Frank A. H.: A. J. V. R. XVI, 76, 1955.
- 6. Florent A.: Zuchthyg. Fortpflanzungsstörung u. Besam. d. Haustiere, 3, 30, 1959.
- 7. Florent A.: Mededel. d. Veeartsenijschool v. Gent, 3, 60, 1959.
- 8. Hubrig Th., Wohanka K.: Zuchthyg. Fortpflanzungsstörung u. Bes. d. Haustiere, 3, 67, 1959.
- 9. Morgan W. J., Brinley, Merrose F. R., Stewart D. L.: J. Comp. Path. 67, 257, 1959.
- 10. Plastringe W. N., Walker E. C., Williams W. F., Stula E. F.: A. J. V. R. XVIII. 68, 575, 1957.
- 11. Reich C. V., Morse E. V., Wilson J. R.: A. J. V. R. XVII. 140, 1956.

Наблюдения при диагностике вибриоза у быков

На основании результатов бактериологического исследования продуктов смыва из препуциального мешка у 194 быков на вибриоз, проводилась оценка отдельных факторов, влияющих на достоверность диагноза. С целью ограничения чрезмерного разрастания *B. proteus* на питательных средах, инструмент для взятия пробы вводят через металлическую стерильную трубочку. Вместо резиновой трубочки (9,3 % перерастание) рациональнее брать пробу при помощи стеклянной пипеты, концом которой, при контроле пальцами снаружи, можно получить пробу продукта смыва из верхушки и шейки полового члена (3,4 % перерастание сред). Оказалось, что процент правильных результатов у быков, зараженных *V. fetus*, зависит от числа зародышей в препуциальном мешке.

Среднее число исследований, проводимых с целью определения инфекции у быков, у которых до того не проводилось местное лечение антибиотиками, составляет 1,81; в одном случае необходимо было провести 4 исследования.

Из твердых питательных сред самой пригодной оказалась элективная среда, содержащая бриллиантгрюн по Флоренту. Добавление паранитрофенилглицерина (Beer) не оказало тормозящего действия на чрезмерное разрастание зародышей при сильном загрязнении материала *B. proteus*.

Эффективное влияние оказало применение среды по Бартлетту: если в ней после 24 часов в фазовом контрасте были определены вибрионы, то жидкая часть питательной среды могла быть отцентрифугирована и можно было произвести посев на элективную среду.

Наилучший рост штаммов вибрионов наблюдался при 90 % N₂, 3 % CO₂ и 5 % O₂.

Всего было изолировано 14 штаммов *Vibrio fetus*, 7 штаммов вибрионов типа III по Аккермансу и Тепстри и 12 штаммов *Vibrio bubulus*. Штаммы вибрионов типа III дали положительную реакцию на каталазу и H₂S и были непатогенны для телок. Различие вибрионов типа III от штаммов *Vibrio fetus* можно провести вполне надежно только агглюнационной реакцией с диагностическими сыворотками.

Beobachtungen bei der Diagnostik der Vibriose bei Bullen

Auf dem Grund der Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung auf Vibriosis der Praeputialspülproben von 194 Bullen wurde die Rolle der einzelnen Faktoren, die die Sicherheit der Diagnose beeinflussen, beurteilt. Zur Vermeidung der Überwucherung der Nährböden durch Bact. Proteus trägt das Einführen der zur Entnahme von Spülproben benutzten Instrumente durch ein steriles Metallröhrchen bei. Es erwies sich mehr vorteilhaft, die Spülproben mittels einer Glaspipette, mit deren Ende man den glans penis und collum glandis (unter Fingerkontrolle vom außen abschaben kann (3,4 % Überwucherung), als mittels einer Gummischlauche (9,3 % Überwucherung), zu entnehmen. Es ergab sich, daß der Prozentsatz der richtigen Ergebnisse bei V. fetus infizierten Bullen hauptsächlich von der Menge des Erregers im Praeputialsack abhängt.

Die durchschnittliche Zahl der zur Entdeckung der Infektion nötigen Untersuchungen bei Bullen, bei welchen vorher keine lokale Behandlung mit Antibiotika durchgeführt war, betrug 1,81; in einem Falle waren aber 4 Untersuchungen nötig.

Von dei festen Nährböden erwies sich der selektive Brillant — Grönnährboden nach Florent als der beste. Die Zugabe von Paranitrophenylglycerin (Beer) konnte bei starker Verunreinigung des Materials mit Bact. proteus der Überwucherung nicht genügend entgegen wirken. Als erfolgreich erwies sich die Anwendung des Nährbodens nach Bartlett: Falls in diesem die Vibrionen nach 24 Stunden im Phasenkontrast feststellbar waren, konnte der flüßige Teil des Nährbodens zentrifugiert und auf das selektive Medium gleich wie Praeputialspülproben ausgesät werden.

Das beste Wachstum der Vibrio-Stämme konnte bei 90 % N₂, 3 % CO₂ und 5 % erzielt werden.

Es wurden insgesamt 14 *Vibrio-fetus*-Stämme, 7 Stämme von *Vibrio* — „Typ III“ nach Akkermans u. Terpstra und 12 *Vibrio bubulus* — Stämme isoliert. Die *Vibrio* „Typ III“ — Stämme waren Katalase + und H_2S + oder = und ergaben sich als apathogen für Färsen. Die Differenzierung deren von *Vibrio-fetus*-Stämmen konnte mit vollständiger Sicherheit nur mittels der Agglutinationsreaktion mit diagnostischen Seren erzielt werden.

Vliv hodnoty pH výplašků z předkožky pyje na životaschopnost *Trichomonas foetus*

Влияние pH смыва крайней плоти на переживаемость *Trichomonas foetus*

Einfluß von pH der präputialen Spülflüssigkeit auf die Vitalität von *Trichomonas foetus*

The Influence of the Value of pH of the Preputial Irrigation Liquid upon the Vitality of *Trichomonas foetus*

K. PETKOV

Ústřední výzkumný ústav biologie a patologie rozmnožování hospodářských zvířat
v Sofii, ředitel prof. dr. K. Bratanov

Úvod

Diagnóza trichomonázy u býků byla usnadněna po zavedení různých živých prostředí pro kultivaci původce nemoci. Přesto však nelze v infikovaném materiálu vždy prokázat přítomnost *Trichomonas foetus*.

Někteří autoři, jako V. A. Akatov (1), Dirnhöfer (podle Varenikové-Markoviče (2), K. Eibl (5) aj. se domnívají, že příčinou je fyziologický roztok používaný k odebírání splašku, který navrhl Benesch (podle V. Zavagliho (14)). Jiní autoři, jako např. Sørensen (podle N. Varenikové [2], K. Weiss [13]) aj. hledají příčinu v okysličování splašků při dopravě.

Třetí skupina autorů, jako např. N. Vareniková (2), Rieck podle V. Moccaferiho (8), přidávají k odebraným splaškům antibiotika. Vycházejí zřejmě z prací I. M. Machina (3), V. Moriguchiho (9), A. Florenta podle J. Eusebyho (8), aj., kteří zjistili, že některé bakterie jsou antagonisty *Trichomonas foetus*. Bylo navrženo mnoho prostředků k odebírání splašků z předkožky, avšak doposud nelze ani jeden z nich pokládat za obecně použitelný.

O vlivu koncentrace vodíkových iontů na životaschopnost *Trichomonas foetus* existují nejrozmanitější údaje. K. Eibl podle Piševa (4) pokládá za optimální hodnotu pH v rozmezí 5,5–8,5; K. Weiss (13) pH mezi 6,0 a 7,4; Strassmann (12) pH mezi 6,0 a 8,8; W. Mund (10) pH mezi 6,8 a 7,4; V. Zavagli (14) a V. Flückiger (7) hodnotu pH mezi 7,2 a 7,6 atd.

V dostupné literatuře jsme se setkali s podrobnými údaji o hodnotě pH předkožkových splašků. E. Přibyl (11) uvádí, že hodnota pH v oblasti sliznice horního okraje předkožkového vaku býka činí v průměru 6,8, uprostřed 7,15 a v dolní třetině 7,42.

Vlastní práce

Prověřili jsme hodnotu pH celkem 334 splašků z předkožky pyje, odebraných s 30 ml fyziologického roztoku u 73 býků a zaslaných do laboratoře k vyšetření.

Hodnotu pH jsme stanovili elektrodovým Ph-metrem československé výroby typu „Multaskop“ s přesností 0,1. Ze zkoumaných splašků 7 (2,1 %) mělo pH mezi 6 a 6,4; 218 (65,3 %) mezi 6,5 a 7,9 a 109 (32,6 %) mezi 8,0 a 9,3. Toto značné kolísání pH laboratorně vyšetřovaných splašků postavilo před nás otázku, zda tyto rozdíly se projevují již při odběru materiálu nebo zda vznikají při jeho dopravě. K objasnění této otázky jsme sledovali hodnotu pH u 167 splašků ihned po jejich odebrání, k němuž jsme použili fyziologického roztoku s $\text{pH} = 7,0$. Z nich 8 vzorků (4,8 %) mělo pH mezi 6,0 a 6,4, 142 (85 %) mezi 6,5 a 7,9 a 17 (10,2 %) mezi 8,0 a 9,1. Stanovení hodnoty pH u těchto splašků jsme opakovali za 4–5 hodin, tj. za dobu, která je potřebná k dodání splašků do laboratoře. U 23 (13,8 %) splašků jsme nezjistili změny pH, u 24 (14,4 %) došlo k okyselení v rozpětí od 0,2 do 0,7 (v průměru 0,3) a u 120 (71,8 %) k alkalizaci od 0,3 do 1,3 (v průměru 0,6) pH. Třetí stanovení jsme provedli za další 3–4 hodiny; změny byly nepatrné do $\pm 0,2$ pH.

Abychom prověřili, jak předkožkové splašky s různými pH ovlivňují životaschopnost a rozmnožovací schopnost *Trichomonas foetus*, infikovali jsme při odběru 89 vzorků každý splašek 1 ml kultury *Trichomonas foetus* ve fázi maximálního rozmnožení, při čemž jsme předběžně stanovili hodnotu pH každého splašku. Za 4–5 hodin jsme provedli další stanovení pH a současně jsme infikovanými splašky očkovali Görtlerovo medium v poměru 1 : 10. Kultivovali jsme pod vrstvou tekutého parafinu v termostatu při teplotě 37° C. Přítomnost *Trichomonas foetus* jsme kontrolovali dvakrát denně po 9 dní. Výsledky jsou uvedeny v tabulce I.

Tab. 1. Vliv pH na životaschopnost a rozmnožování *Trichomonas foetus*

Průměrná hodnota pH a rozmezí pH výplašků při jejich infikování	6,0 – 6,4 (6,3)	6,5 – 7,9 (7,3)	8,0 – 8,9 (8,5)	9,0 – 9,1 (9,05)	6,0 – 9,1 (7,7)
Počet a procento infikovaných výplašků s různou hodnotou pH	2 (2,3 %)	57 (64 %)	26 (29,2 %)	4 (4,6 %)	89 (100 %)
Počet a procento výplašků s nerozmnoženými trichomonádami	2 (100 %)	2 (3,5 %)	15 (57,5 %)	4 (100 %)	23 (25,8 %)
Různá hodnota pH ve výplaších od okamžiku infikování do očkování na medium	0,5 – 0,6	0,6 – 0,8	0,4 – 1,8	0,2 – 0,8	0,1 – 1,8

V posledním sloupci tabulky je vidět, že ve 23 vzorcích (25,8 %) splašků nedošlo k rozmnožení bičíkovců *Trichomonas*. Podrobnější rozbor ukázal, že ve splaších s pH v rozmezí 6,0 a 6,4 na jedné straně a 9,0 a 9,1 na druhé straně se bičíkovci *Trichomonas* ani v jednom případě nerozmnožili. Ve splaších s hodnotou pH mezi 8,0 a 8,9 nedošlo k rozmnožení *Trichomonas* v 57,5 % případů a při pH mezi 6,5 a 7,9 se bičíkovci *Trichomonas* rozmnožili jen ve 3,5 % při-

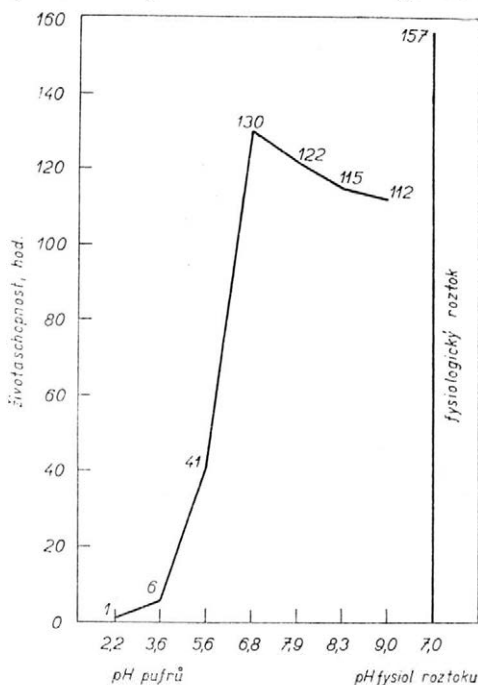
padů, při čemž rozdíl v hodnotě pH splašků od momentu jejich odebrání do inkubování před očkováním činil v průměru ve všech případech průměrně 0,5 až 0,6 (s kolísáním od 0,1 do 1,8).

Abychom si ověřili, jak různá koncentrace vodíkových iontů ovlivňuje životaschopnost *Trichomonas foetus*, použili jsme ústojných roztoků, izotonických s fyziologickým roztokem, ale s odlišným pH. Tyto roztoky jsme připravovali podle běžných biochemických metod. Do 3 ml každého roztoku jsme vpravili po 0,3 ml kultury *Trichomonas foetus* v různých fázích množení. Pokusy jsme prováděli při pokojové teplotě. Za použití téže metodiky jsme pro kontrolu prováděli ve všech případech ještě pokus s fyziologickým roztokem s hodnotou pH = 7. Přítomnost pohyblivých bičíkovců *Trichomonas* jsme kontrolovali první den každých 10 minut, dále pak každý den v 8 a 16 hodin až do doby, kdy jsme již pohyblivé bičíkovce nenalezli. Průměrnou životaschopnost jsme vyjadřovali v hodinách od založení pokusu do doby, kdy jsme naposledy zjistili přítomnost pohyblivých bičíkovců. Celkem jsme vykonali 7 sérií pokusů. Jejich výsledky jsou znázorněny v grafu 1.

Na grafu 1 vidíme, že největší životaschopnost měli bičíkovci *Trichomonas* ve fyziologickém roztoku s hodnotou pH = 7,0 (průměrně 157 hodin), menší v ústojném roztoku s pH = 6,8 (průměrně 130 hodin) a že při zvyšování alkality roztoku jejich životaschopnost postupně klesala, až při hodnotě pH = 9,0 dosáhla v průměru 112 hodin. V ústojných roztocích s kyselou reakcí byla situace jiná: při pH = 5,6 dosahovala životaschopnost bičíkovců sotva 41 hodin a při pH = 3 pouze 6 hodin.

V našich pokusech jsme zjistili, že již během prvních 4–5 hodin po odebrání splašků pomocí fyziologického roztoku nastalo v 71,8 % případů jejich zalkalizování v různém stupni a pouze ve 14,4 % případů došlo k okysličením. Dále bylo zjištěno, že ve zalkalizovaných infikovaných splaších lze nejvýše v 60 % případů kultivaci zjistit bičíkovce *Trichomonas*, přestože se hodnota pH pohybuje v rozmezí 8,0–9,1.

Na druhé straně výsledky pokusů znázorněné na grafu 1 svědčí o tom, že bičíkovci *T. foetus* žijí dokonce i při hodnotě = 9,0 v průměru 112 hodin. Až do dnešní doby nejsou v literatuře uváděny případy, kdy by pohybliví bičíkovci ztráceli rozmnožovací schopnost. Tato skutečnost nám dovoluje předpokládat, že pohyblivost a rozmnožovací schopnost jsou neodlučitelnými vlastnostmi buňky bičíkovce *Trichomonas foetus*. To nám umožňuje tvrdit, že příčinou, která způsobuje, že v infikovaných splaších se nevyskytují bičíkovci, není hodnota pH sama o sobě, nýbrž procesy, které způsobují změny pH.



Graf 1. Životaschopnost *Trichomonas foetus* při různém pH prostředí

Tyto změny možná způsobují bakterie antagonistické bičíkovcům *Trichomonas foetus* [o nichž hovoří I. M. Machin (3)]. K objasnění této otázky konáme v přítomné době pokusy, při čemž se snažíme nalézt nejlepší medium pro odebírání a dopravu splašků.

Souhrn

Měřili jsme pH-metrem koncentraci vodíkových iontů 167 výplašků předkožky odebraných s fyziologickým roztokem o pH 6,8–7,2. Zjistili jsme, že ihned po odebrání výplašků kolísá pH v rozmezí 6,3 a 9,0. Při přepravě výplašků již v prvních 4 až 5 hodinách zůstává pH jen u 13,8 % výplašků beze změn, u 14,4 % se zvyšuje koncentrace vodíkových iontů v různém stupni (okyselení) a u 71,8 % se snižuje (alkalizace) rovněž v různém stupni.

Kulturou trichomonád bylo infikováno 89 výplašků. V kulturách nebyly trichomonády zjištěny ve 23 případech. V 19 případech koncentrace vodíkových iontů výplašků v okamžiku očkování byla větší než 8,0, ve 2 případech nižší než 6,5 a ve 2 dalších případech se pohybovala mezi 6,5–7,9. V těchto případech byl rozdíl v koncentraci vodíkových iontů v době od infikování výplašků do očkování (6–8 hodin) 0,5 nebo vyšší.

Bylo zkoumáno přežití trichomonád v pufrovaném roztoku s různým pH, izotonickém s fyziologickým roztokem. Bylo zjištěno, že při pH = 6,8 přežití trichomonád se v průměru rovná 130 hodinám a při pH = 9,0 – 112 hodinám. Příčinou toho, proč v uvedených případech nebyly zjištěny trichomonády, není koncentrace vodíkových iontů výplašků, ale neprozkoumané procesy, podmiňující změny pH. Při záporných výsledcích zkoumaných výplašků při koncentraci vodíkových iontů mimo hranice 6,5 a 7,9, se doporučuje odebrat nové výplašky od týchž býků.

Došlo dne 15. 2. 1962

Literatura

1. Akatov V. A.: Veterinarija, 2, 1954. — 2. Varenika-Markovič: Zbornik I. Kongressa družstva veterinara FNRJ, 1954. — 3. Machin J. M.: Veterinarija, 5, 1958. — 4. Pišev D.: Trichomonozata po govedata i borbata s neja, Sofia, 1956. — 5. Eibl K.: Monatshefte für Veterinärmedizin, 1950. — 6. Euseby J.: Revue de Medicine Vétérinaire, 3, 1949. — 7. Flückiger G.: Zooprofilassi, 4, 1950. — 8. Maccaferri V.: Zooprofilassi, 4, 1950. — 9. Moriguchi V.: Referativnyj žurnal biologii, 1958, soobšč. 67472. — 10. Mund W.: Ibidem, 1956–12870. — 11. Příbyl E.: Sterilita hovädzieho dobytku, Bratislava, 1953. — 12. Strassmann K.: Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift, 1954. — 13. Weiss K.: Ibidem. — 14. Zavagli V.: Zooprofilassi, 1, 1949.

Влияние рН смыва крайней плоти на переживаемость *Trichomonas foetus*

При помощи рН-метра измерялась концентрация рН 167 смывов крайней плоти, взятых с физиологическим раствором с рН — 6,8–7,2. Было отмечено, что непосредственно после взятия смывов рН колеблется в границах между 6,3 и 9,0. При перевозке

смывов, уже в первые 4—5 часов, только 13,8 % из них сохраняют pH без изменений, 14,4 % имеют увеличение водородных ионов различной степени (окисление), а 71,8 % — уменьшение (ощелачивание), также в различной степени.

Культурой трихомонады было заражено 89 смывов. При культуральном исследовании в 23 случаях трихомонады не было обнаружено. В 19 из них концентрация pH смыва в момент посева была больше 8,0, в двух случаях — меньше 6,5 и в двух других случаях — между 6,5 и 7,9. В последних случаях разница концентрации pH от заражения смывов до посева (6—8 часов) была 0,5 или выше.

Исследовалась переживаемость трихомонады в буферных растворах с различной pH, изотонических с физиологическим раствором. Было установлено, что при pH=6,8 переживаемость трихомонады в среднем равняется 130 часам, а при pH=9,0 — 112 часам. На этом основании автор считает, что причиной необнаружения трихомонады в упомянутых выше случаях является не концентрация pH в смывах, а неисследованные процессы, обуславливающие изменения pH. При отрицательных результатах при исследовании смывов с концентрацией pH вне границ 6,5 и 7,9 рекомендуется брать новые смывы от тех же быков.

Einfluß von pH der präputialen Spülflüssigkeit auf die Vitalität von *Trichomonas foetus*

Wir untersuchten die Wasserstoffionenkonzentration in 167 präputialen Spülflüssigkeiten, entnommen mittels physiologischer Lösung von pH 6,8—7,2. Wir fanden gleich nach Entnahme eine Schwankung zwischen 6,3 und 9,0. Beim Transport der Spülflüssigkeiten bleibt das pH schon innerhalb der ersten 4—5 Stunden nur bei 13,8 % der Proben unverändert, bei 14,4 % steigt es in verschiedenem Grade (Säuerung) und bei 71,8 % sinkt es in verschiedenem Grade (Alkalisierung).

Wir infizierten 89 Spülflüssigkeiten mit Trichomonadenkultur. In den Kulturen fanden sich in 23 Fällen keine Trichomonaden. In 19 Fällen war die Wasserstoffionenkonzentration der Spülflüssigkeiten zur Zeit der Impfung höher als 8,0, in 2 Fällen niedriger als 6,5 und in 2 weiteren Fällen schwankte sie zwischen 6,5 und 7,9. In diesen Fällen betrug der Unterschied in der Ionenkonzentration im Zeitraum zwischen Infektion der Spülflüssigkeit und Impfung (6—8 Stunden) 0,5 oder mehr.

Untersucht wurde die Vitalität der Trichomonaden in einer Pufferlösung verschiedener pH, doch isotonisch mit physiologischer Lösung. Wir fanden, daß bei pH 6,8 die Trichomonaden durchschnittlich 130 Stunden am Leben blieben, bei pH 9,0 112 Stunden. Der Grund, warum in den angeführten Fällen keine Trichomonaden gefunden wurden, liegt nicht in der Konzentration der Wasserstoffionen, sondern in unerforschten Prozessen, die Änderungen des pH bedingen. Bei negativen Ergebnissen der Untersuchung der Spülflüssigkeit und einer Wasserstoffionenkonzentration außerhalb der Grenzen, 6,5 und 7,9, empfiehlt es sich eine neuerliche Entnahme von denselben Bullen.

The Influence of the Value of pH of the Preputial Irrigation Liquid upon the Vitality of *Trichomonas foetus*

In examining with the pH-meter the concentration of H-ions of 167 irrigation liquids with physiological solution at pH 6,8—7,2, we found immediately after taking the samples that the pH varied between 6,3—9,0. After transport of the samples during 4—5 hours the pH remained only in 13,8 % of the cases unchanged, in 14,4 % the concentration increased, in 71,8 % decreased, the changes being in both cases of a various degree.

89 of the liquids have been infected with a culture of *Trichomonades*. In 19 of the cases the pH of the liquids at the inoculation was higher than 8,0, in 2 cases lower than 6,5 and in 2 cases varied between 6,5—7,9. In these cases the difference of the pH between the time of infection and the time of inoculation (6—8 hours) was 0,5 or higher.

The vitality of the *Trichomonades* was examined in a buffer solution of various pH, isotonic with the physiological solution. It was found, that at pH 6,8 the *Trichomonades* lived average 130 hours, at pH 9,0 112 hours. The cause, why in these cases no *Trichomonades* were found is not the pH of the liquid, but a hitherto not examined process causing changes of pH. In cases of negative results in examining irrigation liquids at other pH than 6,5—7,9 it is recommended to take further irrigation liquids.

Vyšetřování infekce pohlavních orgánů skotu zárodkem *C. pyogenes*

Исследование инфекции половых органов крупного рогатого скота зародышем
C. pyogenes

Untersuchungen über die *C. pyogenes*-Infektion der Geschlechtsorgane des Rindes

K. WOHANKA a Th. HUBRIG

Ústav pro výzkum bakteriálních nákaz zvířat v Jeně Německé akademie zemědělských věd v Berlíně, ředitel prof. dr. h. c. V. Goerttler

Úvod

Infekce pohlavních cest skotu zárodkem *C. pyogenes* byly častěji zjištěny a označovány za příčiny poruch reprodukce.

Zjištění B a n e h o a jeho spolupracovníků (4), že z pochvy nepřipuštěných jalovic nebylo možno izolovat *C. pyogenes*, svědčí o tom, že četné nálezy tohoto zárodku v pohlavních cestách u krav souvisí s úkoly reprodukce. Otevřenou zůstává otázka, zda k infekci dochází při páření nebo v jiné době reprodukční činnosti, a jak k ní dochází. M i l l a r a R a s (11) požadují, stejně jako L a i n g (10), velmi bedlivé vyšetření všech činitelů doprovázejících infekci a považují platné názory pro zanedbání takových vyšetření za nedostatečně zdůvodněné.

I.

První část práce má objasnit otázku, zda a za jakých podmínek se infekce *C. pyogenes* může vyskytnout jako koitální infekce a získat povahu pohlavní nákazy.

Názor, že infekce *C. pyogenes* je venerická a podobně jako *V. fetus* a *Trichomonas fetus* může vyvolat sterilitu stáda a pohlavní nákazu bez vedlejších příčin, najdeme v písemnictví často (2, 3, 7, 9). Odporuje mu jenom D i e r n h o f e r (14). Býci, v jejichž prepuciální dutině nebo v semeni jsou zárodky *C. pyogenes*, měli by být vyloučeni jako dodavatelé semene (6, 11). Jen V a n d e p l a s s c h e (13) a E a s l e y a j. (5) jsou opačného názoru.

Vlastní vyšetřování a pokusy

1. *C. pyogenes* v prepuciu a spermatu inseminačních býků a plodnost po inseminaci. Výplachy prepucia a zkoušky spermatu 33 inseminačních býků dvou inseminačních stanic byly vyšetřovány na *C. pyogenes*. Podle bakteriologického

I.

Skupina číslo	Počet býků	Průměr zkoušek	Průměr kladných zkoušek	Počet prvních inseminací	% nevracejících se (60–90 dní)
1	16	a) 3,6 b) 3,6	0 0	22 906	66,0
2	4	a) 4 b) 4	1,7 1,2	3 253	66,1
3	11	a) 4,5 b) 4,1	1,5 0	7 761	64,8
4	2	a) 1,5 b) 1,5	0 1	482	68,4
a) výplašky předkožky		b) zkoušky semene			

nálezu byly rozděleny na čtyři skupiny a srovnány s odpovídajícími poměrnými čísly nevracejících se (non return rate) (tab. I). Ke spermatu bylo po dobu vyšetřování přidáváno 400 MJ penicilinu a 500 MJ streptomycinu pro ml zředěného semene.

Diskuse

U 50 % kontrolovaných býků lze prokázat *C. pyogenes* na sliznici vnějších pohlavních orgánů. Rozdělení kladných výsledků na 15 býků (skup. 2 a 3), v jejichž prepuciu i spermatu nebo jen v prepuciu bylo nalezeno *C. pyogenes*, a na 2 býky (skup. 4), u nichž se izolace podařila jen ze semene, svědčí o tom, že asi nedošlo k osídlení vnitřních pohlavních cest, přídatných žláz nebo varlat.

Vzhledem k P a u f l e r o v ý m (12) zjištěním, že přidavky antibiotik k semeni do 200–400 MJ penicilinu a 1000 MJ streptomycinu/ml zředěného semene neovlivňují růst *C. pyogenes*, lze ze srovnání 1. a 2. skupiny býků soudit, že při cervikální inseminaci nevzniknou oplození rušící koitální infekce fertilním semenem býků, jež obsahuje *C. pyogenes*. Tyto výsledky potvrdily zjištění V a n d e p l a s s c h e h o (13) a E a s l e y e a jeho spolupracovníků (5).

2. Plodnost jalovic po umělé inseminaci. a) 9 nepřipuštěných jalovic bylo před započítáním pokusu pomocí výtěrů pochvy a krčku vyšetřeno na *C. pyogenes*, v následující říji připuštěno k býkům dosud k připouštění nepoužívaným, 15 minut později injekcí 20 ml husté bujónové kultury *C. pyogenes**) do pochvy nakaženo a 3., 6. a 9. den po infekci pomocí výtěrů kontrolováno. Přebíhající se jalovice byly připuštěny jiným býčkem. Kontrolní skupina 9 nepřipuštěných jalovic byla rovněž předběžně vyšetřena, připuštěna stejným býčkem, ale neinfikována (tab. II a III).

b) 5 nepřipuštěných jalovic. Kontrola výtěrů před pokusem při I. říji. Devátého dne říje kontrola výtěrů, pak vaginální infekce 20 ml hustou bujónovou kulturou *C. pyogenes*. Pak kontrola výtěrů až do III. říje, kdy jsou zvířata připouštěna (graf 1).

*) Kmen *C. pyogenes* byl izolován ze zmetků a odpovídal svými vlastnostmi (morfolgie, β -hemolýza, sérofilie, aktivita želatinázy, změny lakmusem opatřeného mléka atd.) údajům H a r t w i g k a (8).

II.

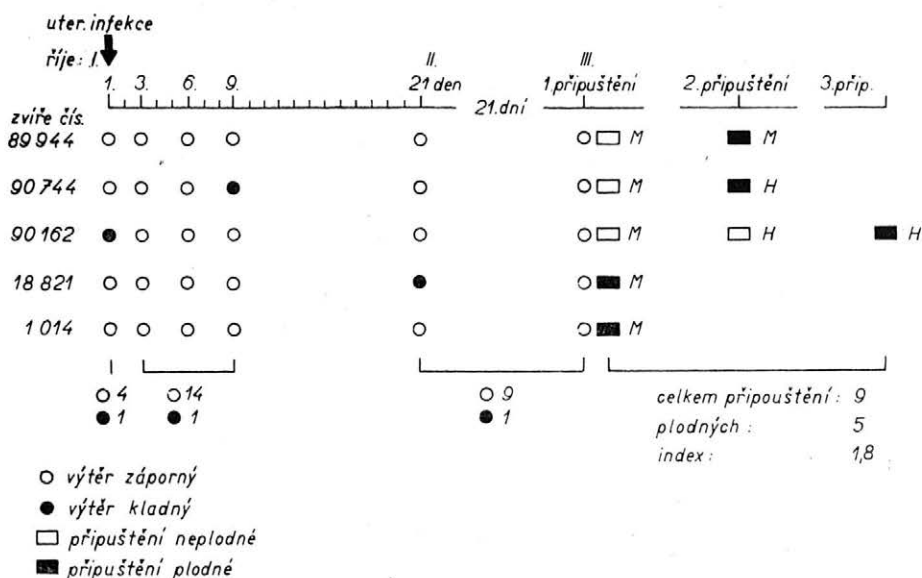
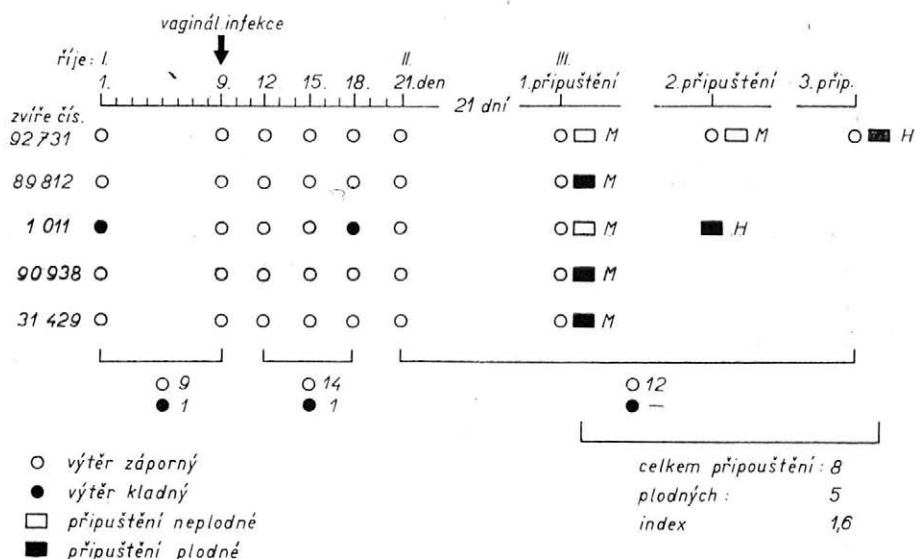
Číslo jalovice	Výtěry před pokusem s <i>C. pyog.</i>		1. připuštění	Infekce <i>C. pyog.</i>	Výtěry po infekci <i>C. pyog.</i>		2. připuštění	Výtěry po 2. připuštění		Březost
	+	-			+	-		+	-	
1001		2	H-	+		4				+
1003		3	H	+		4				+
91780	2	1	H	+	2	1	M		2	+
1006		4	H	+	1	3				+
72019		3	H	+		4	M			+
89809		5	H	+		4				+
1008		3	H	+		4				+
6543		1	M	+		4				+
40478		3	H	+		4				+
9	2	25	9		3	32	2	0	9	9 index 1,2

III.

Číslo jalovice	Výtěry před pokusem s <i>C. pyogenes</i>		1. připuštění	Infekce <i>C. pyogenes</i>	Výtěry kontrolní <i>C. pyogenes</i>		Březost
	+	-			+	-	
1010		1	H	-		5	+
1005		2	H	-		4	+
112664		2	H	-		4	+
89207		3	H	-		4	+
987		3	H	-		4	+
1009		3	H	-		4	+
8009		1	H	-		4	+
92479		2	M	-		2	+
1551		3	H	-		4	+
9	0	20	9	0	0	35	9 index 1,0

c) 5 nepřipuštěných jalovic. Kontrola výtěrů před pokusem při I. říji, pak intrauterinní infekce 20 ml hustou bujónovou kulturou *C. pyogenes*. Kontrola výtěrů až do III. říje, kdy jsou zvířata připuštěna (graf 2).

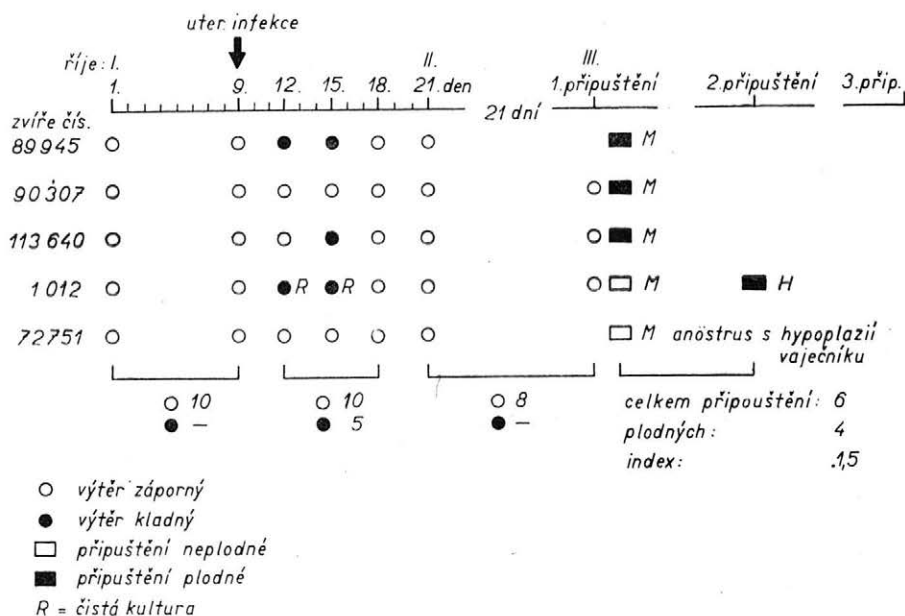
d) 5 nepřipuštěných jalovic. Kontrola výtěrů před pokusem při I. říji. Devátý den kontrola výtěrů, pak intrauterinní infekce 20 ml hustou bujónovou kul-



turou *C. pyogenes*. Kontrola výtěrů do III. říje, kdy jsou zvířata připuštěna. (Graf 3).

Diskuse

Pokus s jalovicemi a) vytváří podmínky infekce připuštěným býkem, který hostí na vnějších sliznicích pohlavních orgánů *C. pyogenes*. V obou skupinách není rozdílu (tab. II a III). Index pokusné skupiny se podstatně neliší od skupiny kontrolní. Pokusné skupiny b)–d) jsou zvlášť zatíženy. U zvířat skupiny b) se infekce nezachytí (graf 1). Ve skupině c) je *C. pyogenes* izolováno spo-



Gr. 3.

radicky u dvou zvířat. K přechodnému zachycení infekce dochází u dvou zvířat skupiny d) (graf 2 a 3).

Srovnávací hodnocení oplození je potud obtížné, že býk Max, který byl připouštěn u skupin a) až d) nemohl být přezkoušen na plodnost u žádné kontrolní skupiny.

II.

Zabývali jsme se též infekcemi zárodkem *C. pyogenes* vnitřních pohlavních cest u skotu ve spojení s porodem. Tyto pokusy jsme konali proto, abychom kromě speciálních poznatků i všeobecně přispěli k vyjasnění etiologie poporodních chorob a chronických endometritid.

Onemocnění dělohy v puerperiu vedou podle obecného názoru (9, 10, 20, 24) k četným chronickým katarům nebřezí dělohy, k endometritidám.

Tato nemocnění dělohy v puerperiu jsou s poukazem na poznatky Semmelweisovy označována v moderních příručkách porodnictví u zvířat (15) velmi rozhodně za následek osídlení pohlavních orgánů bakteriemi. Infekce vniká prý zpravidla při porodu nebo v prvních dnech puerperia zvenčí a zastihuje zvíře zcela nepřipravené. Jako každodenní možnosti infekce jsou uváděny nedostatečné snahy po aseptu a nedostatečná antisepse za pomáhání při porodu a nedostatečná hygiena stáje v době puerperia. Jednotlivé nebo hromadné případy onemocnění krav puerperální horečkou, které se oteílily bez jakékoli pomoci, jsou označovány pouze za bakteriologicky nevyjasněné. Byly to však právě takové případy, které jsme viděli ve stádech ve vysokém stupni březosti importovaných, brucelózy a tuberkulózy prostých plemenných zvířat jako hromadné onemocnění (22).

Napsali jsme v roce 1956 (28), že osídlení děložní dutiny různými zárodky odlišné virulence je jen jednou příčinou, a to ne právě tou nejdůležitější, komplexu příčin puerperálních intoxikací a infekcí. Rozhodující o tom, zda k těmto

nemocem dochází po zavlečení zárodků do děložní dutiny, je chování se myometria po ukončeném porodu. Chorobná atonie svalstva umožňuje vznik velkého lochiálního depa, v němž se zárodky mohou excesivně pomnožovat, vytvářet toxiny a podle okolností zvýšit i svou virulenci. Příčina akutní puerperální atonie spočívá rozhodně v nesplnění požadavků na organismus během gravidity a v nedostatečcích hygieny za březosti.

Kromě toho novější pozorování (18, 19, 22) stád skotu, která byla v pokročilém stavu březosti za ztížených podmínek (přeprava lodí, železnicí, dlouho trvající karanténa za nepříznivých okolností) importována do NDR a do Jugoslávie, připouštějí domněnku, že puerperální atonie je podstatným příznakem syndromu vegetativních poruch puerperia. Názor (28) o rozhodující úloze atonie při vzniku puerperální intoxikace a infekce je příliš úzký, neboť výkony, které požaduje involuce na celé konstituci a na děloze, jsou rozsáhlejší a pestřejší než jenom udržování tonu děložního svalstva. Schulz (27) prokázal 1961 za použití elektronového mikroskopu, že stroma endometria u skotu vykazuje stavbu i funkci retikulární tkáně, a že proto musí být počítáno k retikuloendoteliální soustavě v užším smyslu. Považuje tuto cytoplastickou funkci děložního vaziva za velmi významnou pro takzvané sebeočistění. Považuje dále podporu všeobecné adaptability jednotlivých zvířat zvýšenou péčí a lepším krmením za nejjistější cestu k regulaci buněčných obranných úkolů endometria.

Všechna tato zjištění nás přiměla k pokusům o kritické přezkoušení zásad profylaxe puerperálních onemocnění, které dosud byly jednostranně zaměřeny na zábranu infekce a na dezinfekci, a podle které se považovalo za nejslibnější zabránit aktivnímu nebo pasivnímu pronikání zárodků do děložní dutiny (16, 23), čímž byl význam hygieny při porodu pro zábranu těchto škod silně zdůrazněn (16, 25, 17).

Aniž chceme oslabit význam hygieny při porodu, meze jejího působení — jde-li o zábranu zavlečení zárodků za pomáhání při porodu — jsou každému veterinárnímu lékaři známy. Za podmínek porodnických operací ve veterinární praxi dochází vždy a nevyhnutelně ke značnému zavlečení zárodků do děložní dutiny. Bereme-li nadto v úvahu zřejmé zcela obyčejné vnikání zárodků do děložní dutiny i po nedotknutých, nekomplikovaných porodech (24), budou naše očekávání stran působnosti snah o profylaxi, zaměřených výhradně na antisepsi a na asepsi, nevalná. Intrauterinní aplikace antibiotik a sulfonamidů ihned po porodnických operacích může být označována jen za preventivní léčbu, která po neinfikovaných a nekomplikovaných porodech ani nepřichází v úvahu. Tím se stává omezenost této o sobě cenné metody na určité případy zřejmou.

K vyjasnění otázky, zda a za jakých podmínek zdánliví původci se v puerperální děloze usadí, množí a mohou vyvolat obraz puerperální intoxikace nebo infekce, vedoucí v četných případech k chronické endometritidě a tím k neplodnosti skotu, měli jsme tuto pracovní hypotézu:

Není to porod, který znamená zvláštní zatížení samičího organismu při rozmnožování, nýbrž gravidita a ve zvláštní míře puerperium se svým na krátkou lhůtu vázaným základním přeladitelným vegetativním funkcí na involuci, laktaci a přípravu pohlavního ústrojí na plně hodnotné pohlavní cykly. Organismus musí být na tento značný výkon připravován naprostým splněním jeho požadavků, zejména ve druhé části březosti, pokud jde o krmení, péči, šetrné dojení, hygienu březosti. Rozhodující pro zachycení a pomnožení zárodků, jež jsou při puerperálních nemocech skotu stále znovu zjišťovány, je neschopnost dělohy a organismu vcelku zajistit zdravou involuci. Jde o podmíněně jednotlivé infekce. Těžiště pro-

fylaxe puerperální infekcí nesmí spočívat v antiseptické hygieně porodu a poporodí. Za posledních měsíců březosti musí být zajištěna schopnost k involuci jak celého těla, tak zejména pohlavních orgánů. Hygiena březosti je profylaxí puerperálních poruch.

Experimentální infekce hlubších pohlavních cest skotu vzápětí po porodu zárodkem *C. pyogenes* se zdály zvlášť vhodné k vyřešení dané otázky, protože mezi zárodky, uváděnými jako příčiny puerperární horečky, *C. pyogenes* platí za nejodolnější a nejškodlivější.

Vlastní pokusy

I. Základy založení pokusů

a) Naše pracovní hypotéza nám dělala při vytváření vhodných podmínek pro pokusy obtíže. Neschopnost zdravé involuce se dá pokusně jen nejistě reprodukovat, protože není dosud klinicky dostatečně charakterizována. Abychom vytvořili kladnou situaci schopnosti involuce, bylo třeba jalovice stejnoměrně dobře ošetřovat, aby za stejných podmínek obřezly a otelily se. Do rodidel těchto zvířat byly během 18 hodin po porodu injikovány kultury *C. pyogenes* různého původu.*)

Klinicky byl vyšetřován celkový stav zvířat, byl sledován vývoj jejich dojivosti a postup morfologické involuce. Možná inkubace a pomnožení zárodků byla zjišťována bakteriologickým vyšetřováním pohlavních sekretů a rovněž index připouštění byl zjišťován po připuštění zvířat k plodným býkům.

b) Vyšetřovali jsme chování dvou skupin pokusných zvířat poprvé březích (I a II). Zvířata II. skupiny byla onemocněním slintavkou ve 3., 4. a 5. měsíci březosti, nevhodnými chovatelskými podmínkami ke konci březosti a hlubokou intrauterinní injekcí na rozdíl od cervikovaginální u zvířat I. skupiny silněji zatížena.

II. Materiál a metodika pokusů

1. Zvířata

Připuštěno bylo po prvé:

24 zvířat I. skupiny, průměr stáří 32 měsíců,

12 zvířat II. skupiny, průměr stáří 30 měsíců.

Přitom koncipovaly:

jalovice I. skupiny s indexem připuštění 1,1,

jalovice II. skupiny s indexem připuštění 1,2.

Zdravotní stav skotu za březosti byl u 24 jalovic I. skupiny normální. Z jalovic II. skupiny onemocnělo 12 slintavkou (viz graf 1), 5 chorobnými edémy, 1 chronickou enteritidou.

*) Směs „Rostock“, 4 kmeny z pyometry (skot), dělohy (skot), předkožky (skot), abscesu (skot); 5 pokusných zvířat. Směs „Leipzig“ 2 kmeny z dělohy (skot); 6 pokusných zvířat. Směs „Berlin-sperma“ 2 kmeny ze semene (skotu); 4 pok. zvířata. Kmen „Berlin-foet“ z fetu (skotu); 4 pokusná zvířata. Kmen „Jena-foet“ z fetu (skotu); 9 pokusných zvířat. Všechny kmeny odpovídaly svými vlastnostmi (morfologie, β -hemolýza, sérofilie, aktivita želatinázy, srážení mléka s lakmusem atd.) údajům Hartwigovým.

2. Podmínky prostředí

a) Požadavky krmení zvířat obou pokusných skupin na stravitelné bílkoviny byly uspokojeny, požadavky na škrobové jednotky zčásti a těsně. Poměrně bílkovin ke škrobové hodnotě byl u I. skupiny průměrně 5 : 1, u II. skupiny průměrně 6 : 3.

b) Pastva a výběh

Během 1.—3. měsíce březosti se pásla zvířata

I. skupiny průměrně 38 dní (září—listopad),

II. skupiny průměrně 61 dní (červenec—září). Během 6.—9. měsíce březosti se pásla zvířata

I. skupiny průměrně 79 dní (květen—srpen),

II. skupiny průměrně 3 dny (květen—červen).

c) Ustájení

Obě skupiny byly provizorně umístěny v suché, dobře větrané masivní stáji (postavené původně pro výkrm prasat). Teplota stáje odpovídala převážně vnější teplotě. Stání nebyla dost hygienická, neboť kanalizace byla závadná. Steliva bylo dostatek.

d) Opatření při porodu

Porody probíhaly za pozorování laiky a podle potřeby laické pomoci. Zadržovaná lůžka nebyla odebírána. Kromě repozice akutně vyhřezlých částí nebylo provedeno žádné ošetření pohlavních orgánů.

3. Pokusná opatření po infekci

a) Denní pozorování příjmu potravin a ruminace.

b) Denní měření rektální teploty ve stejné denní době.

c) Sledování, jak se vyvíjela laktace až do 18 dní po porodu. Průměrné množství mléka za den bylo vyjádřeno v % údaje z druhého dne po porodu = 100 %.

d) Klinické vyšetřování pohlavního ústrojí se dělo výhradně rektální palpací dělohy 11. a 21. dne po porodu a adspexí vulvy a okolí. K objektizaci stavu involuce 11. a 21. dne po porodu za účelem měření a srovnání její kvality ohodnotili jsme každý nálezy 11. a 21. dne body kladnými a zápornými podle tohoto klíče:

11. dne	21. dne	ano	ne
městnání lochií	značná asymetrie	—	+
zánětlivé změny	zánětlivé změny	—	+
děloha v celém rozsahu	dělohu lze v pánvi stěs-		
oddělitelná proti břišní	nat do ruky	+	—
dutině			
tonus nebo erekce	tonus nebo erekce	+	—
výtok z vulvy	výtok z vulvy	—	+

Procentuální údaje uvedené v zhodnocení pokusů vyplývají z podílu získaných kladných bodů na možných kladných bodech.

e) Bakteriologická vyšetřování cervikálního a poševního hleny na *C. pyogenes* se konala 1 měsíc, 1½ měsíce a 2 měsíce po porodu a těsně před připouštěním

zvířat. Při porážce zvířat po ukončení pokusů byla děloha a podle okolností i plod bakteriologicky vyšetřován na *C. pyogenes*.

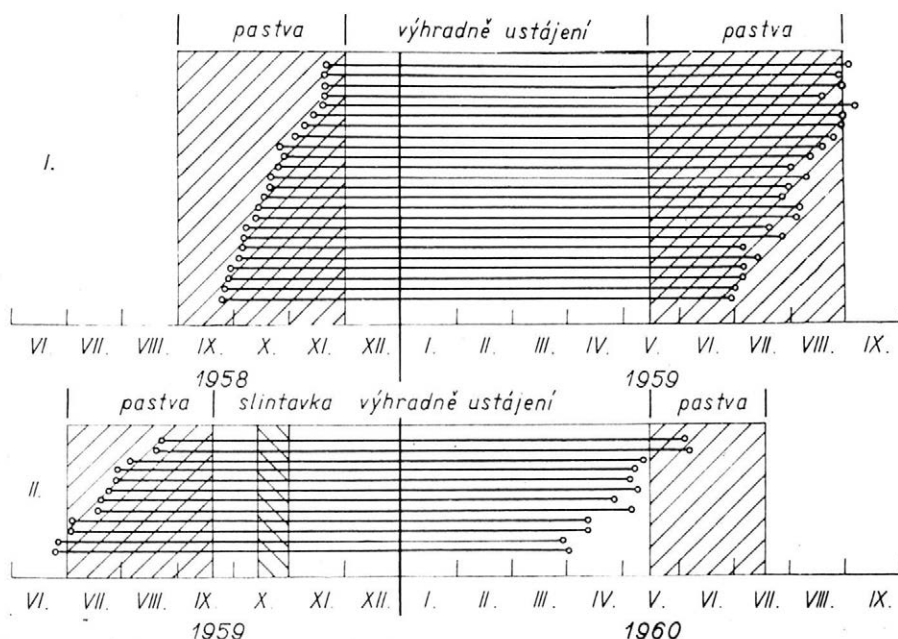
f) První připouštění po porodu se konalo u zvířat I. skupiny za 4 měsíce a později, u zvířat II. skupiny za 3 měsíce a později, a to stejným býkem při volném připáření v připouštěcí ohradě.

III. Skupinové vyhodnocení

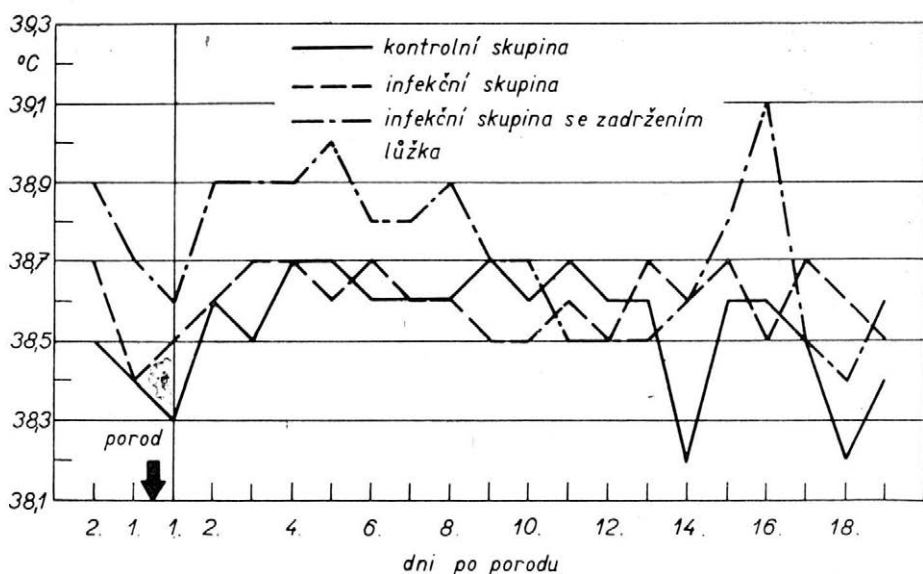
1. Pokusná skupina I pozůstává z 19 infikovaných pokusných a 5 neinfikovaných kontrolních zvířat.

Zvířata byla po celou dobu březosti zdráva a žila zejména ke konci březosti ve zvlášť výhodných podmínkách [pastva (viz gr. 4), zelené krmivo bohaté na vitamíny a bílkoviny včetně přídatného pokosu, pohyb, intenzivní klimatické popudy]. Srovnání křivky teplot a dojivosti (gr. 5 a 6), podobně jako nedostatek všeobecných poruch svědčí pro to, že se nevyskytla ani všeobecná puerperální intoxikace, ani puerperální infekce. Involuce byla u infikovaných zvířat jen přechodně a zcela nepatrně postižena (11. den po porodu 66 %, 21. den po porodu 84 %). K déle trvajícimu bakteriálnímu osídlení a přechodné poruše plodnosti došlo jen u jednoho infikovaného zvířete (čís. 17 535) (viz připojenou tabulku infikovaných pokusných zvířat, u nichž bylo dokázáno *C. pyogenes* [tab. IV]) :

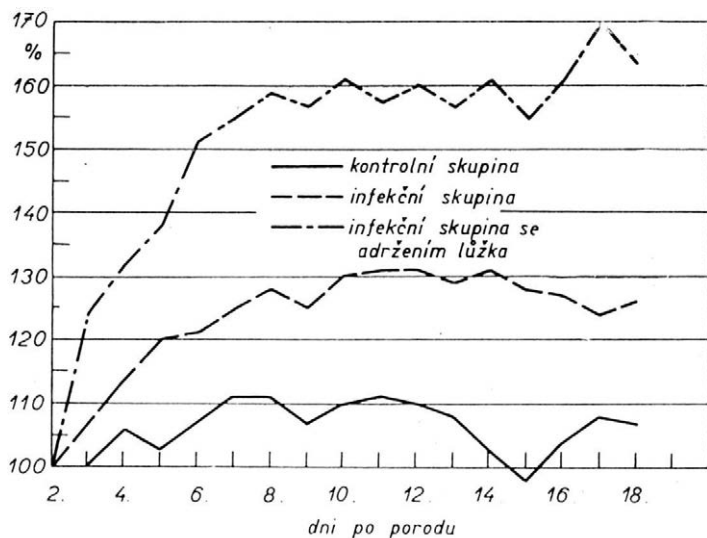
Index připouštění infikovaných zvířat ve výši 1,33 nesvědčí o poruše plodnosti; bylo ho ovšem dosaženo po prodloužené době mezi porodem a připuštěním, průměrně 153 (103–251) dní, což bylo způsobeno jinými okolnostmi (uzávěra pro slintavku). Infikovaná 4 pokusná zvířata s retencí lůžka koncipovala vesměs při prvním připouštění.



Gr. 4.



Gr. 5.



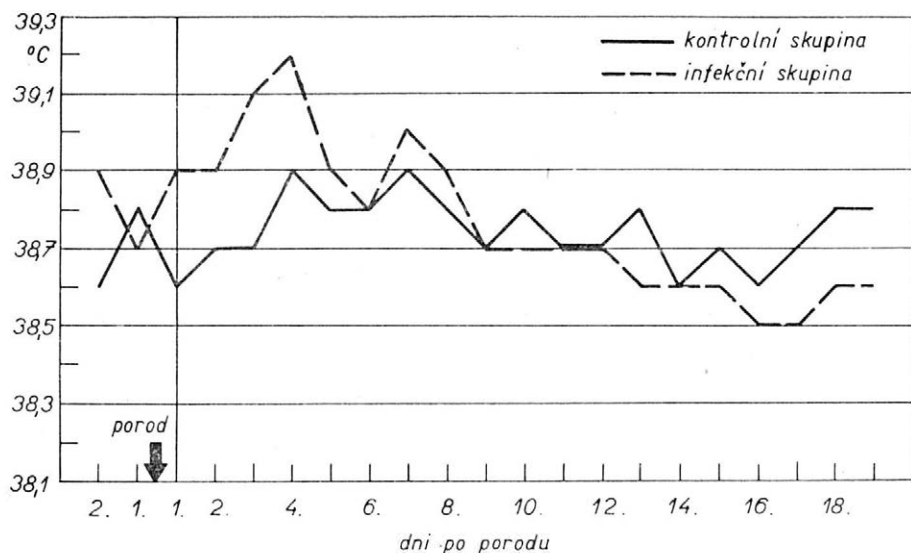
Gr. 6.

Kontrolní zvířata byla po celou dobu březosti rovněž zdravá. Křivky teplot a dojitosti, nálezy celkového stavu a vývoj involuce (11. den po porodu 72 % a 21. den po porodu 84 %) nevykazují rozdíly proti infikovaným pokusným zvířatům. Přechodné zjištění *C. pyogenes* v sekretu krčku a pochvy se podařilo u jednoho pokusného zvířete. Index připouštění 1,0 se podstatně neliší od indexu infikovaných pokusných zvířat.

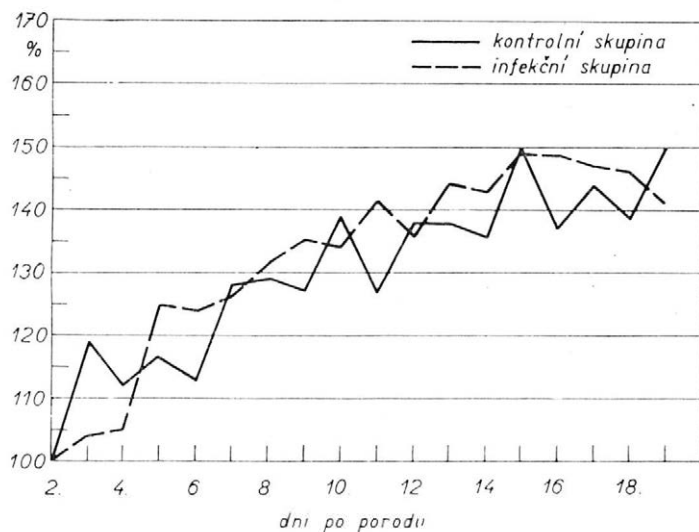
2. I. pokusná skupina pozůstává z 9 infikovaných pokusných a 3 neinfikovaných kontrolních zvířat. Všechna zvířata onemocněla během 2.—5. měsíce

IV.

Číslo zvířete	Zkoušky v 2. měsíci po porodu	Zkoušky před připuštěním	Připuštění do obřeznutí
32 611	+ - -	-	1
17 535	+ + +	- - +	3
171	+ - -	-	1
185	+ -	- -	2
154	+ - -	-	1



Gr. 7.



Gr. 8.

březosti slintavkou. V době pozdní březosti byla výhradně ustájena; bylo to v posledních měsících zimního období (viz graf 4). 3 z později infikovaných pokusných zvířat a 2 z pozdějších kontrolních zvířat jevila v posledním měsíci březosti chorobné edémy končetin, podbřiší, vemene a jeho okolí. Křivka teploty a laktace (graf 7 a 8) vykazovala u infikovaných pokusných zvířat až do 4. dne po porodu proti neinfikovaným kontrolám mírné zvýšení teploty a až do 4. dne po porodu sníženou dojivost. Jakmile klesla teplota, zvýšila se podstatně dojivost. U pokusných i kontrolních zvířat vyskytují se častěji než u skupiny I chorobný výtok lochií a mírné poruchy celkového stavu. Involution infikovaných pokusných zvířat (11. den po porodu 50 %, 21. den po porodu 90 %) a zejména involution neinfikovaných zvířat (11. den po porodu 40 %, 21. den po porodu 87 %) je 11. dne po porodu proti pokusným a kontrolním zvířatům I. skupiny značně opožděna. Dosahuje však přesto 21. dne po porodu u pokusných a kontrolních zvířat stavu odpovídajícího pokusným a kontrolním zvířatům I. skupiny. Velmi poučné jsou výsledky bakteriologických vyšetřování. Kontrolní skupina se jeví větším podílem pozitivních zkoušek více zatížena než pokusná skupina (viz následující tabulku pokusných a kontrolních zvířat, která jevila kladný nález — tab. V) :

V.

Infikovaná pokusná zvířata				Kontrolní zvířata			
číslo	zkoušky v 2. měsíci po porodu	zkoušky před při- puštěním	přípouště- ní do obřeznutí	číslo	zkoušky v 2. měsíci po porodu	zkoušky před při- puštěním	přípouště- ní do obřeznutí
60972	+ - +	—	1	15	+ R + +	—	1
93178	+ R + *)	+ R + po 4 při- puštěních neobřezla		8079	— + —	— — —	3
R = čistá kultura <i>C. pyogenes</i> *) Infekce po <i>prolaps uteri totalis sub partu</i>							

Pokusné zvíře čís. 93 178, které zatěžuje skupinu infikovaných, bylo infikováno po repozici úplně vyhrzlé, silně znečištěné, vychladlé a poraněné dělohy.

Při průměrném časovém odstupu prvního připuštění od porodu 105 dní index připuštění 1,5 infikovaných pokusných zvířat nesvědčí o poruše plodnosti, když uvážíme, že všechna infikovaná zvířata s výjimkou čís. 93 178 (čtyři bezvýsledná připuštění po totálním výhrězu dělohy) obřezla po prvním skoku. Malá skupina kontrolních zvířat má špatný index, ale při malém počtu zvířat není průkazný. Opožděná involution neinfikované kontrolní skupiny 11. dne po porodu (40 % proti 50 % u infikovaných) poukazuje na to, že kontrolní skupina II. pokusu je proti oné I. pokusu podstatně narušena. 2 pokusné krávy a 1 kontrolní s retencí lůžka koncipovaly jak u pokusu I. při prvním připuštění.

Ono ve smyslu naší pracovní hypotézy mírné zatížení skupiny II. se zřetelně projevuje v přechodně pozdržené involuci s krátkodobými celkovými poruchami (puerperální intoxikace) a v déle trvajícím bakteriálním osídlení u pokusných a kontrolních zvířat. Že silnější iritace jsou dílem tohoto zatížení a nikoli zaviněny způsobem infekce (proti cervikovaginálnímu u skupiny I), vyplývá z chování neinfikovaných kontrolních zvířat této skupiny.

IV. Diskuse výsledků

Skot, jemuž krátce po porodu bez zření k jeho průběhu bylo vpraveno do středních a hlubokých porodních cest po 20 ml hustých kultur typických *C. pyogenes* různé provenience, nevykazoval žádné nebo jen nepatrné poruchy involuce. Ukázal se plodným, když byl 150 resp. 105 dní po porodu opět připuštěn. U neinfikovaných kontrolních zvířat se po neinfikovaném porodu projevilo stejně často a stejně dlouho trvající spontánní osídlení vnitřních pohlavních cest jako u infikovaných zvířat. Retence lůžka neměly u pokusných a kontrolních zvířat nepříznivý vliv na průběh puerperia ani na plodnost.

Puerperální intoxikace a metritidy, spojené s celkovými poruchami středního stupně, jsou podmíněné jednotlivé infekce, které se vyskytují hromadně, jako by šlo o nákazu, jestliže skupiny zvířat žijí současně za nepříznivých podmínek, zejména v poslední třetině březosti, takže vznikají vhodné stejné podmínky pro zachycení zárodků a rozvinutí jejich choroboplodných vlastností. *C. pyogenes* nevyvolává v poporodí skotu tak často významné škody, protože je pro skot zvlášť patogenní (25, 21, 15), nýbrž proto, že u skotu z naznačených příčin tak častá neschopnost ke zdravé involuci vytváří specifické podmínky pro rozvinutí škodlivých vlivů bakterií v děložní dutině skotu za puerperia.

Poruchy puerperia nejsou závislé na vnikání zárodku, nýbrž na podmínkách, které orgán poskytuje vzniklým zárodkům, a tyto rozhodují o tom, zda se mohou rozvinout stavy, které mohou komplikovat nedostatečnou involuci.

Souhrn

Infekce pohlavního ústrojí skotu zárodkem *C. pyogenes* není pohlavní infekcí skotu, srovnatelnou s vibriózou nebo trichomoníí. Srovnání indexu připouštění (1,5) zvlášť zatížené skupiny d) s indexem skupiny a (1,2) a skupiny b) (1,6) ukazuje, že infekce nebřezí, involvované dělohy skotu z pohlavních cest je sotva možná.

1. Hromadný výskyt nespecifických metritid ve stádech nesvědčí především o nedostatečné hygieně při porodu a v puerperiu, nýbrž hlavně o nedostatečné hygieně za březosti. Hygienická opatření během porodu a puerperia nejsou s to odstranit chorobné stavy ve stádech.

2. Anomalie lochií a zpozděná involuce po spontánních porodech jsou příznaky vegetativních poruch puerperia, které jsou blízké puerperálním poruchám výměny látkové a jsou snad s jejich lehkými formami identické. Totéž může platit pro anomalie lochií a involuce po poskytování pomoci při porodu, byly-li zákroky lehkého nebo středního stupně.

3. Zárodky nespecifických infekcí zavlečené do samičího pohlavního ústrojí mohou rozvinout patogenní vlastnosti jen tehdy, jestliže involuce je již porušena vegetativními poruchami nebo poruchami výměny látkové, které pocházejí z nespokojených nároků nebo ze zatížení organismu za březosti. Je třeba upozornit na to, že moderní učebnice hygieny (26) se nedostatečně obírají požadavky hygieny gravidity.

Došlo dne 15. 2. 1962

Literatura

1. Von der AA, R., Müller C.: Festschr. 150-Jahr F. Humboldt-Univ. II, 687, Berlin (1960). — 2. Aehnelt E.: Arbeiten Arbeitsgemeinschaft. Dt. Rinderzucht. e. V., XXV., Hannover (1959). — 3. Agrimi P., D'Ascani E., Tozzini F.: Zoo-profilasse 14, 5 (1959). — 4. Bane A., Thal E., Bakos K.: VIII Nord. veterinär-mötet-Sektion D, rapport 23. — 5. Easley G. T., Leonhard R. H., Trotter D. M.: North Am. Vet. 32, 258 (1951). — 6. Eibl K.: Lehrbuch der Rinderbesamung, Berlin (1959). — 7. Hancock J. L., Kelly W. R.: Vet. Rec. 60, 669 (1948). — 8. Hartwick H.: Dt. tierärztl. Wchschr., 68, 38 (1961). — 9. Küst D., Schaetz F.: Fortpflanzungsstörungen d. Haustiere, Stuttgart (1953). — 10. Laing J. A.: Fertility and Infertility in the Domestic Animals, London (1955). — 11. Millar P. G., Ras N. P. I.: Manual of Infertility and artificial Insemination in Cattle, London (1952). — 12. Paufler S.: Dt. tierärztl. Wchschr. 67, 99 (1960). — 13. Vandeplasse M.: Artificial Insemination of Cattle. Advances in Veterinary Science III., 397, New York (1957). — 14. Wirth-Diernhofer: Lehrb. d. inn. Krankheiten d. Haustiere einschl. d. Hautkrankheiten sowie d. klin. Seuchenlehre, Stuttgart (1950). — 15. Aehnelt E.: Richter-Götze-Rosenberger-Tillmann, Tiergeburtschilfe, Berlin-Hamburg (1960). — 16. Baier W., Schaetz F.: Tierärztliche Geburtshilfe, Stuttgart (1958). — 17. Benesch F.: Lehrbuch der tierärztlichen Geburtshilfe und Gynäkologie, München-Berlin-Wien (1957). — 18. Bratanovic U.: Medlemsbl. danske Dyrlaegeforen, 43, 488 (1960). — 19. Brodauf H., Wohanka K.: Dt. tier-ärztl. Wchschr. 62, 300 (1955). — 20. Götze R.: Besamung u. Unfruchtbarkeit d. Haussäugetiere, Hannover, (1949). — 21. Götze R.: Tierärztl. Umschau, 8, 2225 (1953). — 22. Heinicke W.: Mh. Vet. Med., 17, (1962) im Druck. — 23. Neundorff R., Hussel L., Eize K., Franke E. R.: Mh. Vet. Med. 16, 168 (1961). — 24. Richter J.: Die Sterilität des Rindes, Berlin (1944). — 25. Richter J., Götze R.: Lehrbuch der Tiergeburtschilfe, Berlin (1950). — 26. Boots E., Haupt H., Hartwick H.: Veterinärhygiene, Berlin-Hamburg (1955). — 27. Schulz L. C.: IVth Inter. Congr. Anim. Reprod. Proceedings (1961). — 28. Wohanka K., Grunert E.: Mh. Vet. Med., 11, 363 (1956).

Исследование инфекции половых органов крупного рогатого скота зародышем

C. pyogenes

Инфекция половых органов крупного рогатого скота зародышем *C. pyogenes* не является половой инфекцией крупного рогатого скота, сравниваемой с вибриозом или гриотрихомонозом. Сравнение индекса случки (1,5), особенно загруженной группы г) с индексом группы а) (1,2) и группы б) (1,6) показывает, что заражение небеременной инволютированной матки крупного рогатого скота из половых путей едва возможно.

1. Массовое появление неспецифических метритов в стадах в первую очередь не свидетельствует о недостаточной гигиене во время родов и в послеродовой период, но главным образом о недостаточной гигиене в период беременности. Гигиенические мероприятия во время родов и в послеродовой период не могут устранить обширные болезненные состояния в стадах.

2. Аномалия лохий и задержка инволюции после спонтанных родов являются признаками вегетативных нарушений послеродового периода, близкими к послеродовым нарушениям обмена веществ и, вероятно, даже идентичны с их легкими формами. Это может быть действительным для аномалии лохий и инволюции после оказания помощи во время родов, если были приемы легкой или средней степени.

3. Бактерии, которые не являются зародышами специфических инфекционных заболеваний, а проникли или были занесены в половые органы самок, могут развить патогенные свойства лишь в том случае, когда инволюция уже нарушена вегетативными нарушениями или аномалиями обмена веществ, которые происходят в результате неудовлетворенных требований или в результате загрузки организма в период беременности. Поэтому можно констатировать, что современные учебники по ветеринарной гигиене (26) недостаточно уделяют внимание требованиям гигиены беременности.

Untersuchungen über die C. pyogenes-Infektion der Geschlechtsorgane des Rindes

Die C. pyogenes-Infektion der Geschlechtsorgane der Rinder ist keine der Vibriose oder Trichomoniasis vergleichbare Genitalinfektion der Rinder. Ein Vergleich des Deckindex (1,5) der besonders belasteten Gruppe d) mit dem von 1,2 der Gruppe a) und von 1,6 der Gruppe b) zeigt, daß eine fruchtbarkeitsstörende Infektion der nicht trächtigen, involvierten Gebärmutter des Rindes von den Genitalwegen her kaum möglich ist.

1. Gehäuftes Auftreten von unspezifischen Endometritiden in Herden läßt in erster Linie nicht auf mangelhafte Geburts- oder Nachgeburtshygiene, sondern vorzüglich auf Mangel an Graviditätshygiene schließen. Hygienische Maßnahmen während der Geburt und des Puerperiums vermögen ausgedehnte Schadenszustände in Herden nicht zu beheben.

2. Lochienanomalien und verzögerte Involution nach Spontangeburt sind Symptome vegetativer Störungen im Puerperium, die den puerperalen Stoffwechselkrankheiten nahestehen oder möglicherweise mit deren milderer Formen identisch sind. Das gleiche kann für Lochien- und Involutionsanomalien nach Geburtshilfeleistungen leichten bis mittleren Grades gelten.

3. Bakterien, die keine Erreger spezifischer Infektionskrankheiten sind und die in die weiblichen Geschlechtsorgane eindringen oder dorthin verschleppt wurden, können krankmachende Eigenschaften nur entfalten, wenn die Involution bereits

durch vegetative Störungen oder Stoffwechselanomalien beeinträchtigt ist, die ihrerseits aus unbefriedigten Ansprüchen oder Belastungen des Organismus während der Schwangerschaft herrühren. Dazu ist festzustellen, daß die modernen Lehrbücher der Veterinärhygiene (26) die Belange der Graviditätshygiene unzureichend berücksichtigen.

Příspěvek k mikrobiální analýze puerperálních onemocnění pohlavního ústrojí u skotu

К вопросу микробного анализа пuerперального заболевания половых органов у крупного рогатого скота

Beitrag zur mikrobiellen Analyse puerperaler Erkrankungen der Geschlechtsorgane beim Rind

Contribution à l'analyse microbienne des maladies puerpérales des organes génitaux du bétail

MVDr. Z. VLČEK

*Porodnicko-gynekologická klinika veterinární fakulty VŠZ v Brně, vedoucí prof.
MVDr. E. Přibyl, D. Sc.*

Úvod a literární přehled

Onemocnění pohlavního ústrojí skotu v puerperiu jsou, přes důraz kladený na jejich prevenci, ještě stále příčinou předčasného vyřazování plemenic z chovu nebo poklesu jejich užitkovosti. Průběh a terapie těchto onemocnění jsou komplikovány mikroflórou, která proniká do hlubších částí pohlavního ústrojí většinou ze zevního prostředí při neodborném, nečistém porodnickém zákroku, výhřezu pochvy nebo dělohy, retenci sekundin apod. (Přibyl — 1955, Goetze — 1955, Laing — 1955) nebo ascendenčně z osídlení pochvy (Lebette — 1953, Baier — 1955). Podle Sokolova (1960) je ve většině případů praedispozičním momentem snížení odolnosti organismu deficientní výživou, nedostatkem pohybu, vzácněji jinými chorobami, bezprostředně v puerperiu pak těžký porod, traumatizace sliznice porodních cest a zadržení lůžka. W o h a n k a a spol. (1956) považují pronikání různých zárodků nestejné virulence do dělohy v poporodním období jen za jednu a to nejdůležitější složku v souhrnu příčin puerperální infekce a intoxikace. Rozhodující je chování myometria. Příčinou atonie je přetížení organismu za březosti a nedostatečná hygiena při porodu. V atonické děloze se zadržuje velké množství lochií, v nichž se množí mikroby, hromadí jejich toxiny a virulence mikrobů se zvětšuje. Následkem je další narušení funkce děložní svaloviny a zvětšení atonie. Rovněž Benesch (1957) poukazuje na praedisponující vliv omezeného odtoku lochií a poškození endometria.

O zárodcích, které byly izolovány ze sekretů při poporodních onemocněních pohlavního ústrojí a které jsou často hlavní příčinou jejich závažnosti, bylo již referováno v našem i zahraničním písemnictví (Přibyl — 1955, Stula, Plastringer a Jungherr — 1958, Vandesplasse a Bou-

c k a e r t — 1949, W o h a n k a a G r u n e r t — 1956 aj.). Většinu těchto zárodků tvoří ubikvitárně se vyskytující mikroby — *Escherichia*, *Proteus*, ev. jiné mikroby z čeledi *Enterobacteriaceae*, mikrokoky, streptokoky, aerobní sporotvorné zárodky aj. Vyskytují se však též korynebakteria, zárodky nekrózy (*Sphaerophorus necroseos*), plynové flegmony a tetanu.

Tak např. W o h a n k a a G r u n e r t (1956) uvádějí *C. pyogenes*, hemolytické a jiné streptokoky, stafylokoky, mikrokoky, zárodek nekrózy aj. Podle B a i e r a (1955) jde u puerperálních komplikací, zejména těch, jež jsou provázeny zadržením lůžka, téměř vždy o smíšenou infekci, v níž dominuje *E. coli*. Při vyšetření 147 případů onemocnění pohlavního ústrojí v puerperiu bylo zjištěno v děloze ve 131 případech *Bact. coli*, v 76 streptokoky, 20 *Bact. proteus*, 13 *Bact. aerogenes*, 8 mikrokoky, 3 *Bact. pyogenes*, 2 *Bact. parasarcophysematos*, 20 bližší neurčené aerobní sporuláty (dalších 15 pouze mikroskopicky), 1 *Str. pyogenes*, 1 bližší neurčený zárodek, 1 nález byl negativní. Autor uvádí, že při polybakteriálním osídlení je někdy těžké prokázat převahu určitého druhu mikrobů a nejsou přesné údaje o tom, zda se mění osídlení v průběhu onemocnění ev. o bakteriálním antagonismu. Rovněž P r ö l s (1954) se zmiňuje o častém nálezu *E. coli* buď v čisté kultuře nebo společně s *B. pyogenes* a streptokoky. S u t t e r (cit. podle Baiera) našel *E. coli* u téměř 100 % vyšetřovaných případů, u 74 % diplokoky, 53 % strepto- a stafylokoky, 40 % *C. pyogenes*, 20 % *Sphaerophorus necroseos* a 16 % *Proteus vulgaris*. B l a s e r (1950) našel u těžkých případů puerperální infekce *E. coli*, streptokoky, stafylokoky, zárodky maligního edému, brucely a *B. pyogenes* vesměs ve smíšených kulturách a doporučuje proto použití léčiv s co nejširším antibakteriálním spektrem.

Z uváděných zárodků zejména o *C. pyogenes* svědčí četná pozorování, že je příčinou léčebně obtížně ovlivnitelných procesů v pohlavním ústrojí plemenic i plemeníků. U plemenic jsou to nejčastěji endometritidy, cervicitidy a vaginitidy provázené hlenohnisavým až hnisavým zápachajícím výtokem a vzniklé irreversibilní změny jsou často léčebně neovlivnitelnou příčinou neplodnosti (B e e r — 1958, P u r d o m a spol. — 1958, R i ž n a r a spol. — 1959, P r ö l s — 1955 aj.). Je též známo, že tento mikrob může být původcem zmetání (v a n U l s e n — 1960, A g r i m i a spol. — 1959, K r á l — 1954, H e s s — 1951). Velmi nebezpečná je infekce mikroblem *Sphaerophorus necroseos* zvaným též korynebakteriem nekrózy nebo bacilem nekrózy, a to zejména tehdy, byla-li zpozorována a diagnostikována opožděně, neboť může mezitím dojít k takovému rozvlečení zárodků, že lze hovořit o stájové infekci. *Sphaer. necroseos* se vyskytuje často v okolí zvířat v půdě, na kůži a zejména na rozpadající se rohovině paznehtů, může tedy příležitostně proniknout do pohlavního ústrojí, kde vyvolává vaginitidy a metritidy vyznačující se rozsáhlými nekrotizacemi, pro něž je často nutno zvíře odporazit. Prognóza je nepříznivá zejména v případech, kdy došlo k proniknutí zárodků do krevního oběhu — puerperální sepsi nebo k tvorbě metastatických ložisek v orgánech. *Sphaer. necroseos* jako obligátní anaerobiont se vyskytuje nejčastěji ve smíšené infekci s aerobními mikroby, které umožní jeho množení tím, že spotřebují většinu kyslíku (A e h n e l t a M e r k t — 1958). Terapie je obtížná, proto někteří autoři nedoporučují, již také vzhledem k prevenci dalších onemocnění, léčení těchto případů. Velmi nebezpečné, avšak na štěstí sporadické jsou infekce *klostridiemi* vyvolávajícími plynové flegmony nebo klostridiem tetanu. Prognóza u flegmon není příznivá, tetanus lze zpravidla ovlivnit biologickými preparáty. Velmi časté jsou nálezy gramnegativních tyčinek z čeledi *Enterobacteriaceae*, zejména podčeledi *Escherichieae* (*Escherichia*, *Paracolobactrum*, *Aerobacter*) a *Proteeae*. Ke kontaminaci těmito mikroby dochází pro

jejich ubikvitární výskyt velmi snadno, jde pravděpodobně nejčastěji o kontaminaci z trusu a steliva. Předpokládá se, že by k infekcím mohlo mít vztah narušení fyziologického osídlení střeva (rozvlečení krevním nebo lymfatickým oběhem). Tyto zárodky hrají ve smíšené infekci při onemocnění pohlavního ústrojí v puerperiu dominantní úlohu (Baier — 1955 aj.). Názory na jejich patogenitu se liší; předpokládá se, že některé kmeny jsou patogenní a rovněž kmeny nepatogenní mohou v určitých podmínkách získat patogenní vlastnosti. Poměrně časté nálezy streptokoků a stafylokoků při onemocnění pohlavního ústrojí v puerperiu svědčí o tom, že i tyto mikroby je třeba zařadit mezi zárodky, které ztěžují proces. Pokud jsou v této souvislosti uváděny určité druhy, jsou to zejména pyogenní streptokoky a stafylokoky (*Str. pyogenes*, *zoepidemicus* a *Staph. pyogenes*). V pracích s klinickým zaměřením však většinou nejsou izolované druhy přesně určovány.

Je nesporné, že v bakteriologii pohlavního ústrojí hospodářských zvířat je ještě mnoho neobjasněného; mikroflóra, která se tam vyskytuje není ještě zevrubně prozkoumána a právě tam se můžeme často setkat se zárodky, které nelze zařadit podle systematik. Může jít o nové, dosud neznámé druhy nebo atypické varianty již popsanych mikrobů (Kolář a spol. — 1957, Munker a Klein-kampf — 1960 aj.).

Vlastní práce — metodika

Příznivý obrat v terapii dříve obtížně ovlivnitelných puerperálních infekcí a intoxikací způsobilo používání antibiotik, zejména antibiotik se širokým antibakteriálním spekterem, s nimiž máme i na naší klinice několikaleté zkušenosti (Hrivnák — 1958). Jejich preventivnímu používání lze přičíst na vrub rovněž okolnost, že se těžké infekce pohlavního ústrojí v puerperiu nevyskytují v takové míře, jako dříve. Avšak ani aplikace antibiotik se nesesetává vždy s úspěchem, neboť jednotlivé kmeny druhů považovaných za senzitivní vůči určitým antibiotikům, jsou individuálně různě vnímavé nebo dokonce rezistentní. V poslední době proto sledujeme případy s těžkým klinickým průběhem mimo jiné také po stránce mikrobiologické analýzy. Materiál (loch, hnis, nekrotické části, části lůžka apod.) odebíráme pomocí speciálního nástroje sterilními tampony (Vlček — 1958), seminetami, punkcí do stříkaček apod. a bezprostředně po homogenizaci inokulujeme živné půdy. Jako výchozích půd užíváme většinou agar s 10 % defibrinované beraní krve a Endova agaru, jednu krevní plotnu inkubujeme v mikroaerofilním nebo anaerobním prostředí. Souběžně zjišťujeme na větších krevních plotnách testablety Spofa citlivost zárodků vůči běžně používaným antibiotikům (penicilinu, streptomycinu, chloramfenikolu, aureomycinu, terramycinu, tetracyklinu, neomycinu) a pokusně jsme použili i některých antibiotik s užším spektrem nebo kombinací (bacitracinu, erythromycinu, rovamycinu, nebacetinu a vionactanu). Testablety Spofa jsou číslovány, barevně rozlišeny a obsahují tato množství antibiotik: penicilín 10 m. j., streptomycin 20 gama, chloramfenikol 20 gama, chlortetracyklin 100 gama, oxytetracyklin 50 gama, tetracyklin 50 gama, erythromycin 20 gama, neomycin 40 gama, bacitracin 5 m. j., nebacetin 10 gama, rovamycin 125 gama, vionactan 50 gama.

K rychlé orientaci nám slouží testace směsi mikroflóry v homogenizovaném a zředěném materiálu (nanášíme 0,5 ml na povrch krevní plotny), která je též velkým přínosem pro diagnostiku. Z útlumových zón antibiotik, zejména — těch, která potlačují růst druhů čeledi *Enterobacteriaceae*, jež jsou při onemocnění po-

hlavního ústrojí v puerperiu pravidelně přítomny, lze totiž často izolovat v čistých kulturách druhy, jejichž průkaz by byl jinak velmi obtížný. V tomto směru jsme si ověřili a můžeme potvrdit údaje B e e r o v y (1959), který s výhodou používal inhibičního účinku neomycinu na saprofytní mikroflóru při průkazu *C. pyogenes*.

K zjištění inhibičního účinku jednotlivých antibiotik na nejčastěji se vyskytující mikroby jsme použili 57 kmenů izolovaných druhů a to 12 kmenů *E. coli*, 6 *E. freundii*, 1 *E. intermedia*, 5 *C. pyogenes*, 1 sérofilního, blízkého se vlastnostmi *C. pyogenes* 1 *C. renale*, 6 *Staph. pyogenes*, 16 beta-hemolytických, viridujících streptokoků a enterokoků a 9 kmenů *Protea*.

V ý s l e d k y v y š e t ř e n í

Uváděné výsledky byly získány zhodnocením nálezů bakteriální flóry u 70 případů onemocnění pohlavního ústrojí skotu v porodním období a některých onemocnění, jejichž primární příčinou byly komplikace v puerperiu.

Ve 24 případech šlo o lochiometry po ztížených porodech, abortech, fetotomiích apod., z nichž u 10 případů bylo též zadrženo lůžko. Většina zvířat vykazovala v době odběru materiálu více nebo méně vyznačené symptomy sapremie. V dalších dvou případech šlo o hnisavý zánět endometria vzniklý po manuálním vybavení zadržovaného lůžka a retenci sekundin po zmetání. U čtyř krav byla na podkladě typického průběhu (zduření kloubů, abscesy) diagnostikována pyemie. Praedispozičním momentem bylo vesměs opožděné ošetření retence sekundin nebo lochiometry. V desíti případech došlo k dalším komplikacím (endometritidám různého stupně) po výhřezu pochvy nebo dělohy, ev. po provedení císařského řezu, v šesti šlo o traumatické vaginitidy, cervicitidy nebo metritidy. Ve čtyřech případech pocházel sekret od krav, které zadržely lůžko po ztížených porodech, ale jejichž celkový zdravotní stav nebyl narušen, v osmi případech šlo o páchnoucí sekret odebraný z podkoží v okolí infikovaných operačních ran po císařských řezech, ve zbývajících dvanácti o hnis z pyometer.

O tom, že vesměs šlo o případy s těžkým průběhem terapeuticky obtížně ovlivnitelným, svědčí vysoké procento zvířat, které bylo nutno odporazit. Bylo to ze 70 kusů 24, tj. 34,2 %. Šlo ve čtyřech případech o pyemii, třech sapremii nebo sepsi po lochiometře, třech o komplikace po výhřezu pochvy nebo dělohy, dvou o infekci operační rány po císař. řezu vedoucí k peritonitidě, jednom o hnisavý zánět endometria po manuálním vybavení zadržovaného lůžka, dalším o traumatickou vaginitidu, v desíti o pyometry. Ze zárodků, které měly u těchto případů podíl na tíži procesu, lze jmenovat hlavně *C. pyogenes*, beta-hemolytické streptokoky, *Staph. pyogenes* a *E. coli*.

Bakteriologické vyšetření bylo pozitivní ve všech 70 vyšetřovaných případech. Většinou byla zjištěna smíšená mikroflóra, pouze v devíti případech vyrostl jeden druh v takové míře, že lze hovořit o relativně čisté kultuře. V souhlasu s nálezy B a i e r a (1955) a jiných autorů dominovaly i u námi vyšetřených případů v celkovém souhrnu zárodků jasně *Enterobacteriaceae* a to zejména podčeď *Escherichiae* a *Proteeae* (prokázány většinou ve více druzích u 57, tj. 81,5 % případů). Bylo určeno 51 kmenů rodu *Escherichia*, 3 rodu *Aerobacter*, 7 rodu *Paracolonobacterium* a 2 blízkí se vlastnostmi klebsiellám, dále 28 kmenů rodu *Proteus*. (Přehled zárodků je uveden v tab. I). V hojném počtu byly zjišťovány rovněž streptokoky (u 47, tj. 67,1 % případů). 52 kmenů rostlo aerobně, 8 pouze v anaerobním prostředí (pravděpodobně rod *Peptostreptococcus* — vlastnosti

I. Přehled izolovaných mikrobů

Druh	Počet kmenů	Druh	Počet kmenů
<i>Achromobacter</i> sp.	1	Nediferencované gramnegat. tyčinky	3
<i>Aerobacter aerogenes</i>	2	<i>Paracolobactrum intermedium</i>	3
<i>Aerobacter</i> sp.	1	<i>Paracolobactrum arizonae</i>	3
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1	<i>Paracolobactrum</i> sp.	1
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i>	3	<i>Peptostreptococcus</i> sp.	8
<i>Bacillus cereus</i>	1	<i>Proteus vulgaris</i>	16
<i>Bacillus subtilis</i>	1	<i>Proteus mirabilis</i>	7
<i>Bacillus</i> sp.	3	<i>Proteus rettgeri</i>	2
<i>Clostridium</i> sp.	2	<i>Proteus</i> sp.	3
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Korynebakteria atypická, blízká <i>C. pyogenes</i>	5	<i>Staphylococcus pyogenes (aureus)</i>	6
<i>Corynebacterium bovis</i>	2	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	6
<i>Corynebacterium renale</i>	1	Streptokoky beta-hemolytické nedif.	5
<i>Corynebacterium</i> sp.	1	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	33	<i>Streptococcus equisimilis</i>	1
<i>Escherichia freundii</i>	10	<i>Streptococcus acidominimus</i>	3
<i>Escherichia intermedia</i>	7	<i>Streptococcus bovis</i>	3
<i>Escherichia aurescens</i>	1	<i>Streptococcus mitis</i>	1
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	1	<i>Streptococcus thermophilus</i>	1
<i>Klebsiella</i> sp.	2	Streptokoky alfa-hemolytické atyp.	1
<i>Lactobacillus</i> sp.	1	<i>Streptococcus faecalis</i>	16
<i>Micrococcus candidus</i>	4	<i>Streptococcus faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>	4
<i>Micrococcus flavus</i>	1	<i>Streptococcus zymogenes</i>	4
<i>Micrococcus varians</i>	1	<i>Streptococcus durans</i>	4
<i>Micrococcus</i> sp.	4	Atypické streptokoky	2

II. Účinek antibiotik na nejčastěji zjišťované mikroby

	Streptokoky				Stafylokoky				Korynebakteria				Rod Escherichia				Rod Proteus				Celkem			
	+++	++	+	R	+++	++	+	R	+++	++	+	R	+++	++	+	R	+++	++	+	R	+++	++	+	R
Penicilin	1	6	8	1	—	5	—	1	—	5	2	—	—	—	—	19	—	—	—	9	1	16	10	30
Streptomycin	—	—	2	14	—	—	5	1	—	1	4	2	—	1	12	6	—	2	2	5	—	4	25	28
Chloramfenikol	—	13	3	—	—	3	3	—	1	5	1	—	—	7	10	2	—	1	8	—	1	29	25	2
Chlortetracyklin	2	12	—	2	—	6	—	—	1	6	—	—	—	—	6	13	—	—	1	8	3	24	7	23
Oxytetracyklin	1	6	6	3	—	4	2	—	—	7	—	—	—	2	12	5	—	—	1	8	1	19	21	16
Tetracyklin	—	8	5	3	—	5	1	—	—	6	1	—	—	1	9	9	—	—	1	8	—	20	17	20
Erythromycin	1	13	1	1	—	5	1	—	1	4	2	—	—	—	—	19	—	—	—	9	2	22	4	29
Neomycin	—	—	5	11	—	3	2	1	—	2	3	2	—	6	13	—	—	4	5	—	—	15	28	14
Bacitracin	—	—	4	12	—	—	4	2	—	2	2	3	—	—	—	19	—	—	—	9	—	2	10	45
Rovamycin	1	8	5	2	—	3	2	1	—	4	2	1	—	—	—	19	—	—	—	9	1	15	9	32
Nebacetin	—	—	3	13	—	—	4	2	—	2	—	5	—	—	5	14	—	1	2	6	—	3	14	40
Vionactan	—	—	2	14	—	—	—	6	—	1	2	4	—	—	—	19	—	—	1	8	—	1	5	51

+++ = vysoce citlivý
 ++ = středně citlivý

+ = málo citlivý
 R = rezistentní

číslo udává počet kmenů

těchto kmenů jsme detailně nestudovali). Z aerobních kmenů bylo 13 beta-hemolytických, 9 viridujících, 28 enterokoků a 2 atypické. V počtu 19 kmenů byla izolována korynebakteria a to 10 kmenů *C. pyogenes*, 5 atypických, serofilních, vlastnostmi velmi blízkých *C. pyogenes*, 2 *C. bovis*, 1 *C. renale* a 1 blíže neurčený. V počtu 16 kmenů byly zjištěny *Micrococcaceae*, z toho 6 kmenů *Staphylococcus pyogenes*. V menším počtu byly zjišťovány saprofytní sporuláty, *Pseudomonas aeruginosa*, ojediněle *Alcaligenes faecalis*, *Lactobacillus* sp., *Haemophilus haemolyticus* a *Clostridium* sp.

Za účelem zjištění nejvhodnějších terapeutik jsme u 43 případů zjišťovali orientačně citlivost směsi mikroflóry v sekretech vůči antibiotikům. Zhodnocením těchto šetření jsme si ověřili, že celkový inhibiční efekt antibiotik na směs mikroflóry je závislý předně na jejím složení a pravděpodobně též na jejím množství. Jak vyplývá z rozboru mikrobiální flóry, nebylo možno očekávat a ve většině případů také neinhibovala jednotlivá antibiotika všechny druhy mikrobů přítomné v materiálu. Nejlepší inhibiční efekt vykázal neomycin (hodnocen jako nejlepší u 20, tj. 46,5 % případů) a chloramfenikol (vykázal největší efekt u 16, tj. 37,2 % případů). Je ovšem nutno mít na zřeteli, že zejména pokud se týká neomycinu, nešlo o inhibici všech druhů mikrobů (nebyly inhibovány např. streptokoky, *Aerobacter*). Kladný výsledek u těchto antibiotik je pochopitelný vzhledem k tomu, že většinu zárodků tvořily druhy z čeledi *Enterobacteriaceae*, které jsou jak vůči neomycinu, tak chloramfenikolu vnímavé. Poměrně dobré výsledky vykázaly rovněž (v sestupné řadě) streptomycin, terramycin, aureomycin a nebacetin. Nedostatečný efekt zbývajících antibiotik lze vysvětlit tím, že s výjimkou tetracyklinu jde o antibiotika s užším spektrem, která se nemohla ve smíšené flóře dostatečně uplatnit. Jen málo antibiotik inhibovalo všechny mikroby přítomné v materiálu; takový efekt byl pozorován nejčastěji opět u chloramfenikolu (tab. II).

K zjištění inhibičního účinku antibiotik *in vitro* na jednotlivé druhy mikrobů jsme použili 57 kmenů nejčastěji izolovaných druhů. Na streptokoky byly nejúčinnější aureomycin (2 kmeny vysoce senzitivní, 12 středně, 2 rezistentní), erythromycin (1 kmen vysoce, 13 středně, 1 málo senzitivní, 1 rezistentní), rovamycin (1 kmen vysoce, 8 středně, 5 málo senzitivních a 2 rezistentní), penicilin (1 kmen vysoce, 6 středně, 8 málo senzitivních a 1 rezistentní) a terramycin (1 kmen vysoce, 6 středně, 6 málo senzitivních a 3 rezistentní). Všechny stafylokokové kmeny byly středně senzitivní vůči aureomycinu, vůči tetracyklinu a erythromycinu bylo 5 kmenů středně a 1 málo senzitivní, vůči terramycinu 4 středně, 2 málo senzitivní, penicilinu 5 kmenů středně senzitivních a 1 rezistentní, chloramfenikolu 3 středně a 3 málo senzitivní, neomycinu 3 středně, 2 málo senzitivní a 1 rezistentní. Korynebakteria byla inhibována nejlépe aureomycinem (1 kmen vysoce, 6 středně senzitivních) a chloramfenikolem (1 kmen vysoce, 5 středně a 1 málo senzitivní). Dobré výsledky vykázaly též terramycin (všechny kmeny středně senzitivní), erythromycin a penicilin, vůči nimž též nebyl žádný ze zkoušených kmenů rezistentní. Na druhy rodu *Escherichia* byly nejúčinnější neomycin (6 kmenů středně, 13 málo senzitivních) a chloramfenikol (7 kmenů středně, 10 málo senzitivních a 2 rezistentní). Nepoměrně slabší inhibici jsme zaznamenali u terramycinu, streptomycinu a tetracyklinu, vůči nimž byla již řada kmenů rezistentních. Velmi málo antibiotik inhibovalo v dostatečné míře *Protea*. Vůči neomycinu byly 4 kmeny středně a 5 málo senzitivních, vůči chloramfenikolu 1 středně a 8 málo senzitivních, vůči streptomycinu bylo již 5, vůči nebacetinu 6 kmenů rezistentních. Tetracykliny vykázaly účinek velmi slabý — pouze 1 kmen byl slabě senzitivní.

Diskuse

Velkému rozmachu, který doznalo používání moderních baktericidních a bakteriostatických prostředků — antibiotik — lze přičíst zásluhu na tom, že dnes je možné ovlivnit většinu puerperálních infekcí a intoxikací. S rozvojem jejich používání se však počaly objevovat častěji také kmeny mikrobů, které byly vůči nim málo vnímavé nebo rezistentní. Z této skutečnosti vyplynul požadavek, aby tam, kde je to možné, byla před použitím antibiotik přezkoušena vnímavost mikrobů vůči nim.

Výsledky našich šetření, v podstatě shodné s výsledky podobných prací jiných autorů, ukazují, že v obsahu děložním při puerperálních infekcích a intoxikacích je pestrá škála mikrobů. Bakteriologické vyšetření bylo u všech případů pozitivní, přičemž v celkovém souhrnu izolovaných mikrobů převládaly mikroby z čeledi střevních zárodků (*Enterobacteriaceae*), jež byly zjištěny u 81,5 % případů. Z ostatních mikrobů, jež jsou uváděny častěji v souvislosti s onemocněním pohlavního ústrojí hospodářských zvířat v poporodním období, jsme zaznamenali časté nálezy *C. pyogenes* a hemolytických koků. I když nelze předpokládat, že se všechny zjištěné mikroby účastní stejnou měrou na vzniku chorobného procesu, je zřejmé, že ve velké většině případů jde o smíšenou infekci. Je proto pochopitelné, že jsou při těchto onemocněních dosahovány nejlepší výsledky právě antibiotiky se širokým antimikrobiálním spektrem. Ani aplikace antibiotik se však neseťká vždy s úspěchem. Zabývali jsme se proto v naší práci nejen rozborem přítomné mikroflóry, ale též zjišťováním její senzitivity vůči antibiotikům, s cílem zjistit nejvhodnější antibiotika pro prevenci a léčbu těchto onemocnění. Z rozboru zkoušek účinnosti běžně užívaných antibiotik na mikroby, které nejčastěji vyvolávají infekce pohlavního ústrojí v puerperiu, vyplývá, že velká většina streptokoků, stafylokoků a korynebakterií zůstává vůči těmto antibiotikům dostatečně vnímavá a rezistentní kmeny se vyskytují jen zřídka. Jiná situace je však u mikrobů z čeledi střevních zárodků (*Enterobacteriaceae*), kde jsme zjistili řadu málo citlivých nebo rezistentních kmenů a to jak vůči antibiotikům se širokým antimikrobiálním spektrem, tak vůči některým antibiotikům účinným převážně právě na tyto mikroby (streptomycin, chloramfenikol). Touto skutečností lze rovněž vysvětlit nálezy velkého množství mikrobů z čeledi *Enterobacteriaceae* u zvířat, jež byla léčena aureomycinem. Tuto rezistenci mikrobů, jež se při puerperálních infekcích a intoxikacích vždy hojně vyskytují, nelze jen tak přehlížet. Domníváme se, že rovněž mikroby z rodu *Proteus*, o jejichž patogenitě v současné době nejsou shodné údaje, nehrají při těchto onemocněních vždy podřadnou úlohu. Bylo by tedy vhodné tam, kde není možné zjistit před aplikací antibiotik vnímavost přítomné mikroflóry, užít vhodné kombinace kupř. antibiotika se širokým spektrem s antibiotikem účinným převážně na *Enterobacteriaceae*. Je třeba počítat také s tím, že účinek antibiotik se širokým antibakteriálním spektrem je převážně bakteriostatický, nikoliv baktericidní (J a w e t z a spol. — 1952), takže mikroby nejsou zneškodněny a tato antibiotika se také v děloze rychle rozkládají, čímž jejich účinnost klesá. Je tedy nezbytné aplikovat antibiotika opakovaně, abychom předešli novému pomnožení mikrobů. Zajímavé je sdělení M e s u d e A c t a n a a spol. (1960), kteří pozorovali u *C. pyogenes* po léčbě antibiotiky vytváření L-forem, které se změnily opět v normální, jakmile poklesla účinnost antibiotik.

Jak vyplývá z rozboru mikrobiální flory izolované z vyšetřovaných sekretů, nebylo možno očekávat a také jednotlivá antibiotika většinou neinhibovala růst všech druhů mikrobů. V pokusech, v nichž jsme sledovali účinek antibiotik na směs

mikroflóry v sekretech, vykázal nejlepší výsledky neomycin a chloramfenikol, což je pochopitelné uvážíme-li, že většinu mikrobů tvořily zárodky z čeledi *Enterobacteriaceae*, jež jsou vůči oběma antibiotikům senzitivní. Je však třeba též uvést, že *in vitro* inhiboval chloramfenikol celkově růst mikroflóry lépe než aureomycin, jenž se osvědčil a je převážně užíván v praxi. Malý počet případů, na nichž jsme si klinicky ověřovali laboratorní výsledky, nemůžeme prozatím hodnotit.

Ekonomická a účinná terapie puerperálních komplikací by měla vycházet z rozboru mikroflóry a stanovení její citlivosti vůči terapeutikům. Orientační zjištění citlivosti mikrobů testabletami Spofa není technicky náročné a mohlo by být prováděno běžně ve veterinárních zařízeních zejména u případů, u nichž se dosavadní terapie nesečkala s úspěchem. Tam, kde provedení zkoušky není možné, zůstává na prvním místě preventivní i léčebná aplikace antibiotik se širokým antibakteriálním spektrem nebo vhodné kombinace. Na porodnicko-gynekologické klinice VF VŠZ v Brně podáváme preventivně antibiotika po všech ztížených porodech a porodnických zákrocích a docílujeme velmi dobrých výsledků. Je nesporné, že i dočasným potlačením množení mikrobů je dána organismu možnost, aby je vlastními silami zničil. Je třeba si uvědomit, že výsledek ošetření dělohy není závislý pouze na správné volbě léčiva, nýbrž zejména na jejím vyčištění, aby bylo zabráněno vzniku nebo prohloubení atonie a hromadění sekretu, v němž nacházejí mikroby nejpriznivější podmínky k množení. Výsledky posledních prací (W o h a n k a — 1961) ukazují, že pro vznik i průběh onemocnění v poporodním období je rozhodujícím činitelem zdravotní stav zvířat. Pro prevenci těchto onemocnění je tedy nejdůležitější upevnění zdraví zvířat tak, aby byla odolná vůči infekci i jiným nepříznivým vlivům prostředí.

S o u h r n

U 70 krav s poporodními komplikacemi byla sledována mikroflóra v pohlavním ústrojí a zjišťována její citlivost vůči antibiotikům. Mikrobiologické vyšetření bylo ve všech případech pozitivní, většinou byla zjištěna smíšená mikroflóra, V souhrnu mikrobů převládaly mikroby z čeledi *Enterobacteriaceae*, hojně se vyskytovaly též hemolytické koky a *Corynebacterium pyogenes*. Většina kmenů korynebakterií, streptokoků a stafylokoků byla dostatečně senzitivní vůči antibiotikům, zatím co řada kmenů mikrobů z čeledi *Enterobacteriaceae* vykázala nedostatečnou citlivost nebo rezistenci. Je poukázáno na význam orientačního zjišťování senzitivity mikrobů vůči antibiotikům pro praxi, a to zejména u případů, u nichž se dosavadní terapie nesečkala s úspěchem.

Došlo dne 15. 2. 1962

L i t e r a t u r a

1. Aehnelt E., Merkt H.: Berl. u. Münch. t. Woch. 1958, 10, 181-185. — 2. Agrimi P., Ascani E. D., Tozzini F.: Zooprofilassi 1959, 1, 5-19. — 3. Baier W.: W. t. Monatschr. 1955, 13, 393-396. — 4. Benesch F.: Lehrbuch der tierärztlichen Geburtshilfe und Gynäkologie. München-Berlin-Wien 1957. — 5. Blaser E.: Schw. A. f. Tierheilkd. 1950, 533-553. — 6. Bulling E.: Berl. u. Münch. t. Woch. 1954, 23, 381. — 7. Goetze R.: D. t. Woch. 1955, 9, 97. — 8. Hess E.: T. U. 1951, 11/12, 191-196. — 9. Hrivnák J.: Sborník ČSAZV Vet. medicína 1958, 8/9, 663. — 10. Jawetz E., Gunnister J. B.: JAVMA 1952, 693. — 11. Král J.: Veterinářství 1954, 8, 238. — 12. Kolář J., Král J., Baštář M.: Sborník ČSAZV Vet. medicína 1957, 7, 503. — 13. Laing J. A.: Fertility and Infertility in the Domestic Animals. London 1955. — 14. Lebettre J. Ch.: Vet. Diss. Alfort, Paris 1953. — 15. Mesude Aktan, Fethi Aktan: D. t. Woch. 1960, 15, 405-408. — 16. Mün-

ker W., Kleinkampf I.: Berl. u. Münch. t. Woch. 1960, 8, 151-153. — 17. Pröls J.: Vet. Diss. München 1954. — 18. Příbýl E.: Veterinářství 1955, 9, 275. — 19. Purdom M., Seaman A., Woodbine M.: Vet. Reviews and Annot. 1958, Vol. 4, Part. 2, 55-91. — 20. Rettinger H.: Vet. Diss. München 1955. — 21. Rižnar S., Hajsig M.: Vet. Arhiv 1959, 193-180. — 22. Sokolov N. J.: Veterinarija 1960, 1, 41-44. — 23. Stula E. F., Plastringe W. N., Jungherr E. L.: JAVMA 1958, 504-505. — 24. Van Ulsen F.: D. t. Woch. 1960, 16, 425-429. — 25. Vandeplasche M., Bouckaert J.: Vlaams Diergeneesk. Tijdschr. 18 (2), 37-45, 1949. — 26. Vlček Z.: Sborník ČSAZV Vet. medicína 1958, 8/9, 641. — 27. Wohanka K., Grunert E.: Mon. f. Vet. Med. 1956, 363. — 28. Wohanka K.: Sborník referátů z mezinárodní konference o fyziologii a patologii rozmnožování hosp. zvířat v K. Varech, září 1961.

К вопросу микробного анализа пuerперального заболевания половых органов у крупного рогатого скота

У 70 коров с осложнениями после родов исследовалась микрофлора половых органов и была установлена их чувствительность по отношению к антибиотикам. Во всех случаях микробиологические исследования дали положительные результаты, и в большинстве случаев была установлена смешанная микрофлора. В общем количестве микробов преобладали микробы из семейства *Enterobacteriaceae*, в изобилии встречались также гемолитические кокки и *Corynebacterium pyogenes*. Большинство штаммов коринебактерий, стрептококков и стафилококков было достаточно чувствительным по отношению к антибиотикам, в то время как целый ряд штаммов микробов из семейства *Enterobacteriaceae* отличался недостаточной чувствительностью или резистентностью. Далее, в работе указывается на значение ориентировочного установления чувствительности микробов по отношению к антибиотикам для практических целей, особенно же для тех случаев, когда проведенная терапия не дала положительных результатов.

Beitrag zur mikrobiellen Analyse puerperaler Erkrankungen der Geschlechtsorgane beim Rind

Bei 70 Kühen mit Komplikationen nach der Geburt wurde die Mikroflora der Geschlechtsorgane verfolgt und ihre Empfindlichkeit gegenüber den Antibiotica ermittelt. Die mikrobiologische Untersuchung war in allen Fällen positiv, meistens fand man eine Mischflora, in der Enterobacteriaceae überwiegen; häufig waren auch hämolytische Kokken und Corynebacterium pyogenes. Die meisten Stämme der Corynebakterien, Streptokokken und Stafylokokken war genügend empfindlich zur Wirkung der Antibiotika, während eine Reihe von Mikrobenstämmen der Enterobacteriaceae eine mangelhafte Empfindlichkeit oder Resistenz aufwies. Hingewiesen wird auf die Bedeutung einer orientierenden Überprüfung der Empfindlichkeit der Mikroben zur Wirkung der Antibiotika für die Praxis, insbesondere in Fällen, bei denen die Therapie bisher erfolglos war.

Contribution à l'analyse microbienne des maladies puerpérales des organes génitaux du bétail

Chez 70 vaches avec complications puerpérales on a suivi la microflore des organes génitaux et sa sensibilité envers les antibiotiques. L'examen microbiologique a été dans tous les cas positif; le plus souvent on a trouvé une microflore mixte. Dans la collection des microbes ont prévalu les Entérobactériaceae, fréquent ont été aussi les cocques hémolytiques et Corynebacterium pyogenes. La majorité des souches des corynebactéries, streptococques et staphylococques a été suffisamment sensible envers les antibiotiques, pendant qu'un nombre des souches des Entérobactériaceae a démontré une sensibilité insuffisante ou bien une résistance. On souligne la signification des examens d'orientation de la sensibilité des microbes envers les antibiotiques pour la pratique, et cela surtout en cas, où la thérapie n'a pas eu du succès.

Výskyt tbc pohlavního ústrojí skotu a její vztah k reprodukci

Появление Тбс половых органов у крупного рогатого скота
и его влияние на воспроизводство

The Incidence of Tuberculosis of the Genital Organs of Cattle and its Relation
to the Reproduction

L'incidence de la tuberculose des organes génitaux du bétail et sa relation avec
la reproduction

MVDr. E. KUDLÁČ, MVDr. Z. VLČEK, MVDr. F. KOZUMPLÍK
Porodnicko-gynekologická klinika veterinární fakulty v Brně, vedoucí prof.
MVDr. Emil Příbyl, D. Sc.

Úvod a literární přehled

Vymýcení tuberkulózy je jedním z hlavních úkolů veterinárně zdravotní a chovatelské práce při ozdravování chovu skotu a zvyšování jeho užitkovosti. Při dočasném hospodářském využívání tuberkulózních reagentů, soustředěných v izolátech zamořených zemědělských podniků, je stále aktuální otázka jednoho z nejdůležitějších faktorů určujících užitkovost, tj. otázka plodnosti.

Tuberkulóza pohlavního ústrojí se nemůže častostí výskytu vyrovnat frekvenci tuberkulózy některých jiných orgánů jako např. plic. Avšak i toto nižší procento výskytu vzhledem k závažnosti lokalizace vyžaduje pozornosti. Většinu případů totiž vykazuje otevřenou formu tuberkulózy, nebo v tuto velmi rychle přechází.

Tak Verge, Drieux a Basille 1958 zjistili u 5,1 % tuberkulózních krav tuberkulózu pohlavních orgánů. Vallé a Panisset 1958 u 6 %, Rautmann 1955 u 1,9 %, Verdon 1952 u 1,3 %, Hermanson 1940 u 11,8 %, Kudláč, Vlček a Věžník 1958 u 23,65 % a Oelkrug 1954 u 45,5 %. Nelze opomenouti některé práce, které se zabývaly zjišťováním tuberkulózních zárodků v makroskopicky nezměněných dělohách. Tak Meyen, Schliesser a Schneider-Pungs 1957 provedli podrobná vyšetření makroskopicky nezměněného pohlavního ústrojí tuberkulózních krav odporažených na jatkách. Prokázali ve 34,7 % případů přítomnost mykobakterií tuberkulózy. Makroskopicky rozpoznatelné změny na endometriu byly zjištěny jen u 18,9 % případů, bakteriologickým vyšetřením se podařilo prokázat tuberkulózní zárodky u dalších 15,8 % vyšetřených děloh. Také Killwein zjistil v nezměněných dělohách tuberkulózních krav v 25,8 % případů tuberkulózní zárodky.

Z uvedených údajů vyplývá, že tuberkulóza pohlavního ústrojí je častější než se všeobecně soudilo (Küst-Schaetz 1953, Grewing 1954, Klo-

bouk 1956 a jiní), a že zvláště děloha následkem vysokého funkčního zatížení je predilekčním místem pro hematogenní infekci.

Na základě našich pozorování získaných při potírání sterility ve třech větších chovech zamořených tuberkulózou, doplněných podrobným patomorfologickým, bakteriologickým a patohistologickým šetřením pohlavních orgánů krav odporážených na brněnských jatkách, chceme poukázat na frekvenci výskytu *tbc* pohlavního ústrojí, možnosti rané diagnostiky a na vztah *tbc* k plodnosti.

Vlastní práce

Metodika

Komplexní gynekologické vyšetření včetně zhodnocení anamnestických údajů o dosavadní plodnosti a průběhu pohlavního cyklu bylo provedeno u 152 krav. U většiny zvířat s podezřením na *tbc* pohlavního ústrojí byly po sterilním odběru sekretu z krčku děložního pořizovány preparáty obarvené Ziehl-Nielsenem a prováděna kontrolní aerobní kultivace.

Výskyt *tbc* změn pohlavního ústrojí, jejich charakter a lokalizaci jsme studovali u 798 kusů odporážených krav a jalovic. U 167 zvířat byly při veterinárně zdravotní prohlídce masa zjištěny *tbc* změny na parenchymatózních orgánech, pleuře, peritoneu, zažívacím traktu nebo v některých mizních uzlinách. V případech pozitivního nálezu *tbc* na pohlavních orgánech byla diagnóza ověřována mikroskopickým vyšetřením kompresivních preparátů. Od 20 tuberkulózních krav byly komplexně bakteriologicky vyšetřeny pohlavní orgány, které při makroskopickém vyšetřování nevykazovaly zjevné léze. Sediment z přefiltrovaného extraktu získaného z rozmělněných vzorků odebraných z rohů děložních a vejcovodů byl po preparaci jednonormální HCl, následně neutralizaci dvounormálním NaOH a trojitým proprání fyziologickým roztokem vyšetřován mikroskopicky, kultivován na Šulovu ascitovou půdu a inokulován morčatům. Při kultivaci byla současně prováděna kontrola čistoty a spolehlivosti půdy kontrolním kmenem mykobakterií.

Oddělení 04 VÚV ČSAZV v Brně provádělo souběžně histologické vyšetření tuberkulózních pohlavních orgánů a vzorků mukózy děložní, získaných biopsií od odporážených tuberkulózních krav, jejichž pohlavní orgány nevykazovaly žádné makroskopicky zjevné změny.

Výsledky

Při gynekologickém vyšetření pozitivně reagujících 152 zvířat byla *tbc* pohlavního ústrojí diagnostikována v 7,23 %. Délka jalovosti u těchto zvířat činila 8–14 měsíců, plemenice byly vesměs opakovaně inseminovány, přebíhaly se a u některých bylo pozorováno zkrácení pohlavního cyklu až permanentní říje. Vaginálně bylo pravidelně zjišťováno zbytnění a nepravidelné utváření a zarudnutí různého stupně na *portio vaginalis uteri*, často pootevření krčku děložního s výtokem mírně zkaleného eventuálně vločky obsahujícího hlenovitý sekret. Prvními zjevnými příznaky *tbc* bylo při rektálním vyšetření ztlustění vejcovodů a prostoupení jejich stěny tuhými uzlíky a uzly různé velikosti, nápadná tuhost a drobné uzlíky ve stěně děložní a válcovité utváření konců rohů děložních. Pokročilejší stadia ukazovala různorodý obraz výrazných změn ve velikosti, tvaru, konzistenci a pohyblivosti dělohy jakož i ostatních částech pohlavního aparátu.

Mikroskopickým posouzením odebraných vzorků sekretu zbarvených Ziehl-Nielsenem, mohla být diagnóza potvrzena v 36,36 % případů, přičemž počet nalezených zárodků byl různý (ojedinělé tyčinky i značné množství). Klinická diagnóza byla ve všech případech potvrzena po odporažení krav patologickoanatomickým a bakterioskopickým vyšetřením. Ze 167 tuberkulózních zvířat vyšetřených na jatkách byly tuberkulózní změny na pohlavních orgánech makroskopicky zjištěny celkem u 18,56 %.

Nejčastěji postiženou částí byla děloha (v 31 případech, tj. 100 %), v poněkud menší míře vejcovody (v 21 případech, tj. 77,40 %). Méně často bylo postiženo *perimetrium* (v 17 případech, tj. 54,83 %) a široké vazy děložní (v 16 případech, tj. 51,61 %). Vlastní tkáň ovaria byla postižena pouze ve dvou případech, tj. 6,45 %. Mnohem čtenější však byly nálezy tuberkulózních změn na povrchu ovarii (*perioophoritis tuberculosa*), které byly zjištěny u 14,0, tj. 45,16 % případů.

Změny nalézané na endometriu a oviduktu charakterizovaly častěji formu granulační (*endometritis* ev. *salpingitis tuberculosa*) typickou disseminovanými tuberkly různé velikosti, zatím co výskyt exsudativně alterativní formy (*endometritis* ev. *salpingitis caseosa*) charakterizované difúzním ztlustěním stěny a rozsáhlou kaseifikací byl o něco menší. Často se však vyskytovaly formy přechodné, u nichž nebylo přesné rozlišení možné. Na širokých vazech děložních, perimetriu a povrchu ovarii, byly vesměs zjišťovány růžové nebo žlutavé uzlíčky (perlovina) nebo mladá granulační tkáň a starší pojivová tkáň spojující často jednotlivé části pohlavního ústrojí v jeden nepřehledný konvolut.

Při vyšetření 20 makroskopicky nezměněných pohlavních orgánů pocházejících od tuberkulózních krav, byly mikroskopicky v homogenizovaném a preparovaném materiálu prokázány ve třech případech, tj. 15 %, Kochovy bacily. Kultivace téhož materiálu v Šulově ascitové půdě, posuzována s konečnou platností po 8 týdnech, byla pozitivní v 6, tj. 30 % případů.

Biologický pokus byl posuzován postupně při exitu jednotlivých morčat. Morčatům, která neuhynula, byl aplikován tuberkulín a ta, která aplikaci přežila, byla později usmrcena. Pro diagnózu byl směrodatný nález tuberkulózních změn (na orgánech) v nichž byly prokázány tuberkulózní zárodky. Nález byl pozitivní v 6 případech (30 %), čili ve stejném počtu případů jako u kultivace.

Histologickým vyšetřením byly prokázány v počátečních stadiích *tbc* tyto změny, které pravděpodobně mají hlavní podíl na neplodnosti:

Z nálezů degenerovaných pyknotických vajíček v primordiálních folikulech i ve folikulech vyššího stupně zrání nebo jejich zániku a dále atretických změn na folikulech jsme mohli usoudit, že toxický vliv *tbc* na pohlavní aparát je i v případech, kdy nebyla bezprostředně zasažena generativní tkáň ovaria.

Velmi záhy dochází k rozrušení tubárních řas, které při povrchu na rozrušených místech srůstají a v pokročilejších případech dochází již k úplné obturaci lumina tuby granulační tkání.

Na endometriu jsou počáteční změny lokalizovány nejvíce v okolí žlázek, dochází k narušení epitelu žlázek i povrchového epitelu a po provalení k vytváření ulcerózních afekcí.

D i s k u s e

Z výsledků našich vyšetření je zřejmé, že výskyt *tbc* pohlavních orgánů je poměrně častý a že zvláště dělohu v důsledku vysokého funkčního zatížení je třeba pokládat za významné predilekční místo pro infekci mykobakteriem *tuberculosis*.

Zvlášť závažná je skutečnost, že kromě zjištění *tbc* pohlavních orgánů u 18,56 % tuberkulózních zvířat byly prokázány tuberkulózní zárodky u dalších 33 % z počtu vyšetřovaných a makroskopicky zcela nezměněných děloh, i když jsme si vědomi, že v mnohých případech mohlo jít jen o pasáž bacilů genitálním traktem. Z epizootologického hlediska je důležité, že ve většině případů jde o otevřenou formu tuberkulózy nebo formu v ní velmi rychle přecházející. Zjištění tuberkulózy pohlavních orgánů v počátečním stadiu při gynekologickém vyšetření není snadné. Mikroskopické posouzení odebraného sekretu z krčku děložního potvrdilo totiž jen ve 33 % případů diagnózu stanovenou rektálním a vaginálním vyšetřením a později ověřenou po odporažení zvířat. Přínosem k průkazu specifické endometritidy může být histologické vyšetření biopsií získaného vzorku sliznice děložní, i když přímo neobsahuje typický tuberkl. Je však třeba získaný materiál podrobně vyšetřit po totálním prořezání a pátrat po drobných epiteloidních ložiscích, po shlucích lymfocytů a posuzovat celkový charakter skladby endometria.

Při zkoumání otázky vztahu tuberkulózy pohlavních orgánů k plodnosti je třeba obrátit pozornost na jednotlivé funkčně nejdůležitější části pohlavního aparátu.

Poruchy ovariální funkce jsou celkem samozřejmostí při rozšíření tuberkulózního procesu na vlastní pohlavní žlázy. Z našich histopatologických nálezů však vyplývá, že již při tuberkulózní *perioophoritis* může být ovlivňován folikulární aparát ovaria. Svědčí o tom nález degenerovaných pyknotických vajíček, nebo již dokonce nepřítomnost vajíčka v primordiálních folikulech a folikulech vyššího stupně zrání. V mnohých případech se nám však nepodařilo žádné degenerativní změny folikulů prokázat. Zdá se tedy, že i při zasažení ovarii tuberkulózním procesem nemusí alespoň na začátku docházet k poruchám jejich funkce.

Rovněž práce z humánní medicíny (Ženíšek 1958 a cit. autoři) zdůrazňují, že hlavní příčina sterility při *tbc* genitálu nespočívá v poruše generační funkce ovaria a že poruchy cyklu jsou ve svém výskytu stejně časté jako při vyšetření na sterilitu z jiných příčin.

Při zachvácení oviduktu tuberkulózním procesem dochází v důsledku vzniklé salpingitidy ke ztrátě ciliární struktury epitelu, peristaltické pohyby vejcovodů jsou zánětem omezeny a pohyb vajíčka je znesnadněn. Při těžších případech tuberkulózní salpingitidy dochází k hypertrofii stěny a hlavně její sliznice, lumen vejcovodu se ucpává, dochází k obturaci a úplné neprůchodnosti vejcovodů. Tyto změny, často již klinicky zjištělné, jsou mechanickou překážkou jak v migraci vajíčka, tak také spermií a v případě, že jsou vyvinuty oboustranně, příčinou absolutní sterility. Migrace pohlavních buněk a jejich vitalita kromě nedokonalé průchodnosti pohlavních cest může být také narušena látkami působícími toxicky a lyticky na vajíčka a spermie, které procházejí lumenem zánětlivě změněných vejcovodů.

Klinicky zjištělné leze na stěně děložní jsou vždy absolutní příčinou sterility. Při počátečním onemocnění dělohy tuberkulózou hraje také v etiologii sterility důležitou úlohu porušená funkce endometria. Nidace oplozeného vajíčka a jeho další vývoj není možný v endometriu s rozšířeným tuberkulózním procesem. V případě rozšíření tuberkulózního procesu na endometrium obřezlé dělohy dochází relativně často k abortům, jak o tom svědčí četné literární údaje. (Allanson 1949, Burgisseur a Schneider 1957 a jiní.) Uterinní leze a alterace placenty vzniklé v důsledku infekce dělohy až po zabřeznutí způsobují také relativně často kongenitální tuberkulózu telat.

Souhrn

Autoři se zabývali frekvencí výskytu tuberkulózy pohlavního ústrojí, její diagnostikou a vztahem k plodnosti. Klinickým vyšetřením pozitivně reagujících 152 krav a jalovic byla tuberkulóza pohlavních orgánů diagnostikována v 11 případech, tj. 7,23 %.

Mikroskopickým posouzením obarvených vzorků sekretu, odebraného z děložního krčku byla diagnóza potvrzena jen v 36,36 %. Klinická diagnóza byla však patologickoanatomickým a bakterioskopickým vyšetřením po odporažení zvířat ve všech případech potvrzena.

Při vyšetření 167 zvířat odporažených na jatkách, u nichž byly při prohlídce zjištěny *tbc* změny, byla tuberkulóza pohlavních orgánů zjištěna makroskopicky celkem u 31 kusů, tj. 18,56 %.

Vyšetřením 20 makroskopicky nezměněných pohlavních orgánů pocházejících od tuberkulózních krav, byly tuberkulózní zárodky v homogenizovaném a preparovaném materiálu prokázány ve 3 případech (15 %), kultivací téhož materiálu v 6 případech (30 %) a biologickým pokusem na morčatech rovněž v 6 případech (30 %).

Na základě výsledků klinického, patomorfologického, bakteriologického a histologického šetření jsou diskutovány možnosti rané diagnostiky tuberkulózy pohlavního ústrojí a její vztah k reprodukci.

Došlo dne 15. 2. 1962

Literatura

1. Allanson K.: Skandinav. Vetdskr. 1946, ref. WTM 1949. — 2. Burgis-seur H., Schneider P. A.: Schw. A. f. Tierheilk. 1957. — 3. Grewing E.: Die Genialtuberkulose beim männlichen und weiblichen Rinde im Schrifttum. Inaug. Dissertation Giessen 1954. — 4. Hermanson K.: Skand. Vet. Tidskr. 1940 - cit. podle Adoux. — 5. Killwein: cit. podle Meyena a spol. — 6. Klobouk A.: Tuberkulosa hospodářských zvířat. Praha 1956. — 7. Kudláč E., Vlček Z., Věžník Z.: Tuberkulosa pohlavního ústrojí krav a její vztah ke sterilitě. Sborník CSAZV Vet. med. 1959. — 8. Küst D., Schaetz F.: Fortpflanzungsstörungen der Haustiere. Stuttgart 1953. — 9. Meyen A., Schliesser Th., Schneider - Pungs K.: Monatshefte f. Tierheilkunde 1957. — 10. Oelkrug O.: Über das Vorkommen von Tuberkelbakterien im klinisch tuberkulösen und nichttuberkulösen Uterus von Rindern. Diss. München 1954. Ref. BMTW 1954. — 11. Rautmann: Kampf der Tuberkulose. Berlin 1955. — 12. Vallé, Panisset, Verge, Drieux, Basille: cit. podle Adoux: La tuberculose genitale de la vache. Diss. Paris 1958. — 13. Verdon F.: Výskyt onemocnění pohlavních ústrojů u hovězího dobytka při odporažení na jatkách. Diss. Brno 1952. — 14. Zeníšek L.: Československá gynekologie 1958.

Появление *Tbc* половых органов у крупного рогатого скота и его влияние на воспроизводство

В этой работе авторы занимаются вопросом частого появления туберкулеза половых органов у крупного рогатого скота, его диагностики и влияния на плодovitость. Путем клинического исследования 152 коров и телок, реагирующих положительно, туберкулез половых органов был диагностирован в 11 случаях, т. е. в 7,23 %.

Микроскопическим исследованием окрашенных образцов выделений из шейки матки приведенный выше диагноз был подтвержден только в 36,36 %. Клинический диагноз, однако, во всех случаях был подтвержден патологическо-анатомическим и бактериоскопическим исследованиями, проведенными после убоя животных.

При исследовании 167 животных, забитых на бойне, у которых при осмотре были установлены туберкулезные изменения, туберкулез половых органов был установлен макроскопически в общем у 31 животного, т. е. у 18,56 %.

Исследованием макроскопически неизмененных половых органов, взятых от туберкулезных коров, туберкулезные зародыши в гомогенизированном и препарированном материале были установлены в 3 случаях (15 %), путем культивирования того же самого материала в 6 случаях (30 %), и при помощи биологического опыта с морскими свинками также в 6 случаях (30 %).

На основании результатов клинического, патоморфологического, бактериологического и гистологического исследований проведена дискуссия о возможности заблаговременной диагностики туберкулеза половых органов и его влияния на воспроизводство.

The Incidence of Tuberculosis of the Genital Organs of Cattle and its Relation to the Reproduction

The authors studied the frequency of tuberculosis of the genital organs, its diagnostic and its relation to fertility. By clinical examination of 152 cows and heifers positively reacting upon tuberculine 11 cases (7,23 %) of tuberculosis of the genital organs have been found.

By microscopical examination of stained samples of the cervical secret the diagnosis was confirmed only in 36,36 % of the cases. The clinical diagnosis was, however, confirmed by the autopsy and the bacteriological examination of the organs in all cases.

Among 167 animals slaughtered in a slaughter house, showing tuberculous changes, was the tuberculosis of the genital organs macroscopically ascertained in 31 (18,56 %) animals.

In examining macroscopically non changed genital organs of cows with tuberculosis mycobacteria tuberculosis have been found in homogenized and prepared material in 3 cases (15 %), by cultivation of this material in 6 cases (30 %), and by biological experiment on Guinea pigs also in 6 cases (30 %).

On the base of the results of the clinical, patho-morphological, bacteriological and histological examinations are discussed the possibilities of an early diagnostic of tuberculosis in genital organs and its relation to the reproduction.

L'incidence de la tuberculose des organes génitaux du bétail et sa relation avec la reproduction

Les auteurs ont étudié la fréquence de la tuberculose des organes génitaux, son diagnostic et sa relation avec la fécondité. Par examination clinique de 152 vaches et génisses, réagissant positivement, la tuberculose des organes génitaux a été observé en 11 cas, c. e. 7,23 %.

Par examination microscopique des échantillons colorés de la sécrétion cervicale la diagnose a été confirmée seulement en 36,36 % des cas. Mais la diagnose clinique a été confirmée chez tous les cas par l'autopsie et bactérioscopie après abattage des animaux.

En examinant 167 animaux abattus en abattoir, chez lesquels on a constaté pendant l'examination des altérations tuberculeuses, la tuberculose des organes génitaux a été confirmée microscopiquement en total chez 31 animaux, c. e. 18,56 %.

Par examination des organes génitaux macroscopiquement non altérés, provenant des vaches tuberculeuses, les germes de la tuberculose ont été prouvés dans le matériel homogenisé et préparé en 3 cas (15 %), par cultivation du même matériel en 6 cas (30 %) et par expériment biologique sur cobayes de même en 6 cas (30 %).

Basant sur les résultats des recherches cliniques, patho-morphologiques, bactériologiques et histologiques on discute les possibilités d'un diagnostic rapide de la tuberculose des organes génitaux et sa relation envers la reproduction.

Príspevek k etiotropní léčbě ovariálních cyst u skotu choriongonadotropními hormony

**К вопросу этиотропного лечения кисты яичников у крупного рогатого скота
хорионгонадотропными гормонами**

**Beitrag zur ätiotropen Behandlung von Ovarialzysten beim Rind mittels
choriongonadotroper Hormone**

L. HOLÝ

*Porodnicko-gynekologická klinika Veterinární fakulty v Brně, vedoucí prof. dr.
E. Přibyl, D. Sc.*

Úvod a literární přehled

Jednou z velmi častých, ekonomicky a též z hlediska kontroly dědičnosti zdraví nejzávažnějších forem funkčních poruch pohlavního cyklu je cystózní degenerace Graafových folikulů. Ovariální cysty, jako porucha ovulace, jsou v konečných fázích svého vývoje důsledkem nedostatečné luteinizační činnosti hypotalamo-hypofyzárního systému, a to zejména u krav s vysokou mléčnou užitkovostí (Jubb, McEntee, 1955, McEntee, 1958, Roberts, 1955, Casida, 1951, Paredis, Vandeplasseche, 1953, McKay, Thomson, 1959 aj.).

Praxe je v současné době postavena před nutností snížit počet infertilních a sterilních krav na minimum, urychleně navrátit maximální počet zvířat do reprodukce a zabránit tak předčasnému jatečnému vyřazování mladých a užitkových jedinců.

Vlastní pozorování a zhodnocení výsledků

I. Materiál a metody

V předkládané práci jsme se zabývali klinickým studiem výskytu vaječnickových cyst ve vztahu k užitkovosti, stáří a výšce laktace, stejně jako doprovodnými symptomy, vyskytujícími se na ostatních částech pohlavního ústrojí.

Vycházejíce z poznatků, že cystické folikuly jsou ve své konečné fázi výsledkem insuficientní hypofyzární sekrece luteinizačního hormonu (LH), snažili jsme se tento nedostatek nahradit substituční terapií, to znamená aplikací LH placentárního typu ve formě Praedynu-Spořa.

Účelem studie bylo prověřit především možnost terapeutického využití choriongonadotropinu (CG) tuzemské výroby při ošetření vaječnickových cyst a zjistit,

jak daleko lze po ošetření počítat s opětným zařazením postižených zvířat do plemnitby ve srovnání s klasickými metodami, které zpravidla, i po opakovaném ošetření, nepřesahují 30—40 % úspěchů.

Do pokusů byly zařazovány krávy červenostrakatého plemene z několika socialistických velkochovů tak, jak jsme se s nimi setkávali během posledních 2 až 3 let při systematickém potírání neplodnosti.

Jednotlivé případy cystózních vaječníků byly podrobně anamnesticky a klinicky vyšetřeny a protokolárně zaznamenány.

CG byl k léčebným účelům podáván výhradně *intra venam* v dávce průměrně 5000 M. J. Současné s hormonálním ošetřením byly cystické útvary na vaječnicích někdy záměrně rozdrceny nebo praskly při rektální palpaci. Větší část cystózních vaječníků byla zachována bez porušení. V žádném případě nebyly cystózní útvary na vaječnicích odstraňovány za použití většího násilí.

Pokud byly při vaginálním vyšetření shledány uterinní výtoky podobné různým stupňům *endometritis*, byly u některých krav do dělohy infundovány dezinfekční antibiotické prostředky (Lugolův roztok, Lotagen, penicilin a streptomycin). Řada těchto výtoků byla ponechána bez ošetření jako kontrola. Jiná podpůrná terapie, jako úprava krmení a laktace, nebyla prováděna.

Po ošetření byla všechna ošetřovaná zvířata průběžně opakovaně kontrolována, poprvé za 7—14 dní, přičemž bylo v případě nutnosti ošetření opakováno stejným způsobem a přibližně ve stejné dávce (průměrně 4700 M. J.). Při kontrolních vyšetřeních byla věnována pozornost zejména reparačním procesům na ovarii, doprovodným symptomům, změnám v sexuálních projevech zvířat, prvním projevům říje, inseminaci a dále následné koncepci.

Hlavním kritériem léčebného zásahu nebylo pouhé docílení zániku syndromu vaječnickových cyst, ale především obnovení plodnosti. Březost byla kontrolována poprvé za 6—8 týdnů po připuštění a poté ověřována v pozdějších stadiích.

II. Klinická pozorování

Do dnešního dne jsme vyšetřili a ošetřili celkem 70 krav. Ošetření bylo prováděno průměrně za 144 dní po posledním porodu (25—416) a v mnoha případech byly již dříve prováděny marné pokusy o léčbu ovariaálních změn klasickými metodami. Cystami byly nejčastěji postiženy krávy mladé a středního věku, po I.—VI. porodu (70 % případů).

Postižená zvířata byla z 86,2 % vesměs velmi dobré mléčné užitkovosti. Posuzováno podle průměrné dojitosti stáda, připadalo na špičkové dojnice 41,2 % krav, na velmi dobré dojky 44,82 %; u průměrných a špatných dojnic se cysty objevovaly jen velmi málo (v 13,8 %).

Jednostranné cysty byly zjištěny na pravém vaječniku u 27 krav (38,57 %), na levém z 8 zvířat (11,4 %) a nejčastěji byla cystami zachváčena ovaria obě (50 %). Postižené vaječnice byly vesměs značně zvětšelé, dosahovaly od velikosti kaštanu a slepičího vejce až do velikosti husího vejce a pěsti, a vykazovaly jeden nebo více cystických útvarů.

Případy cystických vaječníků byly doprovázeny delší či kratší neplodností a poruchami sexuálního cyklu. Velký počet (47,14 %) zvířat byl postižen anoestrií, zatímco příznaky typické nymfomanie byly zaznamenány pouze u 7 krav (10 %). Zbývající případy cystózních ovarii (42,86 %) byly doprovázeny nepravidelnostmi pohlavního pudu ve formě kratších, či delších meziříjových intervalů.

Děložní sekrece byla vesměs hojná. Zčásti byl uterinní výtok podobný říjovému (25,8 %), většinou se však podobal výtokům zánětlivým (70,97 %) různého stupně, a jen u 2 krav (3,2 %) byl v krčku zjišťován hustý nažloutlý hlen. U 8 krav (11,4 %) byl jako doprovodný příznak cystických vaječníků zjištěn výhřez pochvy.

U všech případů cystických vaječníků bylo nápadné značné uvolnění pánevních vazů, mnohdy více na té straně, kde byly ovariální cysty výraznější. Některá cystami postižená zvířata vykazovala samčí habitus, a to jak v utváření jednotlivých tělesných proporcí (mohutnější osvalení, výrazný býčí krk, krátká a široká hlava s mohutnými rohy), tak i v chování (výrazné a typicky býčí bučení, pokles hlasu, značná nervozita, až agresivnost), příznaky to typické pro adrenální virilismus (Lagerlöf, 1951, Derivaux, 1958).

III. Výsledky léčebného zásahu

Po jednorázovém intravenózním podání CG, ať již byly cysty rozmáčkнутy, či nikoli, došlo k luteinizaci vaječníků u 53 krav (75,7 %). Luteinizace byla zřejmá zánikem fluktuace a tvorbou solidní křehké tkáně (luteální tkáň), patrné *per rectum* již za 5–7 dní, která někdy dosahovala značně větších rozměrů než velikost cyklického žlutého tělíska. Těchto útvarů se na ovariu vyvíjelo někdy i více, 2–3, pravděpodobně v závislosti na počtu a reaktivitě cystických folikulů.

Souběžně se změnou ovarilní funkce zanikly i ostatní doprovodné symptomy. Velmi záhy došlo k úbytku uterinní sekrece, zániku kongesce vaginální sliznice a stydkých pysků a výrazné tonizaci uvolněných pánevních vazů. U mladých krav se tonus širokých pánevních vazů zpravidla zcela navrátil do původního stavu, u starších zvířat bylo nápadné trvalé mírné propadnutí. Úprava tkáňového tonu v pánevní oblasti napomáhala během luteálního procesu i k zániku vaginálních výhřezů, které vesměs za tři až pět dní po ošetření spontánně zanikly.

Rovněž nymfomanické příznaky zanikaly po ošetření velmi rychle, a to již druhého až třetího dne.

U 17 krav (24,3 %) nedošlo po ošetření k zániku cystických útvarů, ačkoli mnohdy bylo zřejmé, že velikost cysty je menší, stěna pevnější a málo podajná (luteinizovaná). V takových případech byl CG intravenózně opakován, a to v dávkě průměrně 4700 M. J. (3600 až 6000) a u 15 krav byl syndrom ovariálních cyst potlačen. Zbývající dvě zvířata vykazovala opakovaně recidivy.

Celkem došlo po jednom až dvou ošetřeních vaječnickových cyst CG k luteinaci ovarií u 68 krav (97,1 %).

U krav se zvýšenými a nepravidelnými příznaky pohlavního pudu říje po ošetření náhle zanikla a pravidelný estrus jak u hyper-, tak i u anestrických zvířat se objevil průměrně v období jednoho sexuálního cyklu za 21,9 dní (5–61 dní) v normální intenzitě, délce a kvalitě, a krávy bylo možno inseminovat.

Laktace nebyla ve většině případů po ošetření trvale ovlivněna, a pokud k ovlivnění došlo, nejsou tyto změny jednoznačné vzhledem k tomu, že někdy došlo k vzestupu, jindy naopak k poklesu laktace.

IV. Zhodnocení léčby ve vztahu k zachování plodnosti krav

Kritériem správného léčebného postupu při cystických ovariálních změnách byl nejen zánik celého syndromu změn, ale především dosažení opětovného a brzkého zabřeznutí. Z tohoto hlediska je možno hodnotit celkem 62 krav. Ostatní zvířata byla velmi záhy po ošetření vyřazena z chovu bez připuštění, a to buď pro stáří

a nízkou užitkovost (5 kusů), nebo pro onemocnění zadních končetin (1 kráva); u jednoho zvířete došlo ke ztrátě evidence a v jednom případě není dosud výsledek ošetření znám.

Ze zbylých 62 krav, které zůstaly nadále v chovu, zabřezlo celkem 56 zvířat (90,3 %), z nichž po prvním ošetření koncipovalo 73,2 % (41 krav) a zbývajících 15 zvířat (tj. 26,8 %) koncipovalo po delším ošetření. Z celkového počtu 62 krav obřezlo po jednorázovém ošetření 41 krav (66,1 %) a 24,2 % (15 krav) vyžadovalo k zabřeznutí opakovaného ošetření. 6 krav (9,7 %) po hormonálním ošetření ovariálních cyst po delší dobu nekoncepovalo; 1 pro úpornou purulentní endometritidu, 2 pro chronické recidivy a 3 pro dlouhodobou anestrui v důsledku opakujících se tichých říjí. Z celkového množství 56 opětovně zabřezlých krav docházelo ke koncepci v průměru za 42,3 dní (5–159 dní) po prvním ošetření.

Nejvíce plemenic (41, tj. 73,2 % z počtu zabřezlých) koncipovalo po první inseminaci průměrně za 27,92 dní po ošetření (5–78 dní). 12 krav (21,4 %) obřezlo po druhé inseminaci průměrně za 65,6 dní (34–99), zbývajících 3 krávy (5,4 %) koncipovaly až po 3 a více inseminacích průměrně za 146 dní (136–159 dní). Vcelku bylo potřeba k zabřeznutí 56 krav 80 inseminací, to znamená 1,47 inseminací na jedno zabřeznutí, přičemž první inseminace po ošetření byla prováděna průměrně za 26 dní po ošetření.

V rámci práce byla věnována též pozornost vztahu děložního výtoku a rozmáčkání cyst k pozdějšímu zabřezávání.

Ze 44 krav, vykazujících příznaky podobné různým stupňům *endometritis*, bylo po ošetření pro další plodnost zachováno 41 zvířat. U 15 krav byla vedle hormonální terapie navíc ošetřena děloha infuzí dezinficiencí a antibiotik, a u 26 krav byl uterus ponechán bez ošetření. V první skupině byla koncepce 80 %, ve druhé 92,3 %. Je tedy možno předpokládat, že *endometritis* a děložní infekce hrají v syndromu ovariálních cyst jen podřadnou úlohu.

Rovněž rozmáčkávání cyst *per rectum* nemá vliv na urychlení reparace cystických ovarií, ani na uspořádání koncepce. Vedle hormonálního ošetření byly z 56 zabřezlých krav cysty na ovariích ponechány neporušené u 16 případů a rozmáčkнутy u 29 krav. (U 11 zvířat byly cysty odstraněny jen zčásti.) Pozoruhodné bylo to, že tam, kde byly cysty ponechány, zvířata koncipovala průměrně za 42,2 dní, a u krav, kde byly cysty rozmáčkнутy, docházelo průměrně k obřeznutí za 43,4 dní.

Při sledování průběhu gravidity 56 zabřezlých krav byl zaznamenán nápadně vyšší počet zmetání (8,93 %), a to v 63., 70., 86., 167. a 192. dni.

Diskuse

Jak vyplývá ze shora uvedených pozorování, shodují se naše výsledky se zjištěním Garma (1949), Paredise a Vandeplasseho (1953), Robertse (1955), McKaye a Thomsona (1959) aj. v tom, že ovariálními cystami bývají postiženy převážně krávy mladé a středního věku do stáří 8 let, nejvíce ve 4. až 6. roce života. Většina postižených krav vykazovala i v našich pokusech výbornou a velmi dobrou mléčnou užitkovost (86 %).

V souhlase s většinou výše citovaných autorů je též zjištěno, že ovariálními cystami bývají postižena nejvíce ovaria obě (50 %); jednostranné změny byly shledány častěji na vaječníku pravém (38,57 %) než na levém (11,43 %). Tato skutečnost bezpochyby souvisí s větší aktivitou pravého vaječníku u skotu.

Většina literárních údajů uvádí, že cystózní vaječníky jsou doprovázeny asi v 75 % případů nymfomanií. Podle našich pozorování, ve shodě s údaji Mc Kaye a Thomsona (1959), byly zjištěny příznaky zvýšeného pohlavního pudu jen u 55,56 % případů, z čehož jen 10 % vykazovalo typický obraz nymfomanie; ostatní zvířata vykazovala kratší či delší nepravidelnosti říjových cyklů. Podstatná část cystami postižených zvířat však trpěla anestríí (47,14 %). A z tohoto hlediska je velmi cenný doprovodný příznak uvolnění širokých pánevních vazů, dobře patrný i zaškolenému laiku, umožňující nejen včasnou detekci, ale především léčbu těchto anestrických případů.

Z doprovodných příznaků vaječnickových cyst byla téměř ve všech případech nápadná hojná uterinní sekrece (96,77 %) buď čirého říjového hlenu (25,8 %), nebo hlenu, podobného výtokům při různých stupních *endometritis* (70,97 %). Podle našich zkušeností neukázalo současné ošetření těchto „hormonálních endometritid“ (Küst a Schaetz, 1953) proti neošetřeným kontrolám průkaznou přednost. Lze tedy potvrdit zjištění Williamse (1947), Garma (1949), Robertse (1955, 1957), Dawsona (1957, 1958) a Vlčka (1960), že většina těchto příznaků není vyvolána na bakteriálním podkladě, poněvadž úpravou hormonálních poměrů v organismu zanikají i uvedené doprovodné symptomy. Bakteriální flóra, příležitostně v uterinním sekretu cystami postižených krav nalézaná, jeví spíše charakter flóry poševní než patogenní (Garm, 1949, Vlček, 1960).

Pokusy o odstranění syndromu ovariálních cyst rozmačkáním cystických útvarů na vaječnicích *per rectum* jsou velmi málo spolehlivé, snad jedině tehdy, provede-li se rozdrčení cyst do šesti týdnů po porodu (Uray, 1960). V pozdějších stadiích nedosáhneme i po opakovaných zákrocích více než 30–40 % výsledků, takže ostatní zvířata vzhledem k tomu, že spontánní vyléčení je řídké, jsou předem určena k odpořazení. Z tohoto důvodu je u produkčních krav velmi výhodné použití hormonálních přípravků luteinizačního charakteru, které nejenže potvrzují teoretický předpoklad, že syndrom ovariálních cyst je ve svých konečných stadiích důsledkem luteinizační insuficience systému hypotalamo-hypofyzárního, ale současně vedou k úpravě pohlavní činnosti a následné možnosti koncepce.

Z hlediska praktického použití je vzhledem k jednoduchosti aplikace nejvhodnější a nejspolehlivější podání luteinizačních přípravků intravenózní cestou v dávkách kolem 5000 M. J. Intracystické hormonální ošetření (Paredis, Vandeplassche, 1953, Vereertbruggen, 1957, Rösener, 1957, Roberts, 1957, Holý, Kudělka, 1958) vyžaduje sice nejmenší množství léčiva, je však daleko náročnější na čas, instrumentarium a pomocný materiál a vyžaduje jistých znalostí i praktických zkušeností.

Současně s hormonálním ošetřením mohou a nemusí být cysty odstraňovány z rekta. Odstranění cyst by se zdálo být logické, protože lze tak napodobit proces ovulace a redukovat estrogenní sekreci, která předchází luteinizaci. Stejně jako Roberts (1955) jsme při současné enukleaci cyst nezaznamenali zvláštní výhody ani pokud jde o zánik cystických změn, ani pokud jde o obnovení pozdější plodnosti.

Ve shodě s mnohými autory jsme rovněž zjistili, že první plnohodnotná říje se po ošetření dostavuje v období zhruba odpovídajícím jednomu pohlavnímu cyklu a že je možno, ba nutno zvíře inseminovat vzhledem k tomu, že při opakovaném přebíhání může snadno celý syndrom recidivovat.

Pomocí intravenózní aplikace CG v průměrné dávce 5000 M. J. jsme dosud zaznamenali u 70 krav velmi dobré výsledky. Po jednorázovém ošetření zanikly

symptomy ovariálních cyst u 75,7 % zvířat; u zbývajících bylo ošetření po 10 až 20 dnech opakováno a ovariální cysty zanikly u dalších 21,43 %, takže vcelku byla terapie CG úspěšná v 97,1 % případů, tj. u 68 krav.

Vzhledem k pozdější plodnosti bylo možno z celkového počtu 70 ošetřených krav hodnotit 62 krav, z nichž 56 (tj. 90,3 %) koncipovalo průměrně za 42,8 dní po ošetření. 41 krav zabřezlo (66,1 % z celkového počtu hodnocených) po prvním ošetření a 15 (tj. 24,2 %) po ošetření opakovaném, celkem při inseminacním indexu 1,47. Většina krav zabřezávala ihned při I. inseminaci (73,2 % z počtu zabřezlých) průměrně za 27,92 dní po ošetření. Po II. inseminaci koncipovalo 12 zvířat (tj. 21,4 %) průměrně za 65,6 dní a 3 (tj. 5,4 %) zabřezla po III. a více inseminacích průměrně za 146 dní.

Jak vyplývá ze shora uvedených výsledků, jsou při ošetření ovariálních cyst choriongonadotropními faktory vyhlídky na opětovné zařazení zvířat do plemenitby velmi dobré. Je však nutno podotknout, že jednotlivé případy je třeba po ošetření průběžně kontrolovat vzhledem k tomu, že asi 25 % případů vyžaduje opakované ošetření.

Někteří autoři, např. Vereertbruggen (1957) a Rösener (1957) se zmiňují o případech potratů během nastoupivší gravidity. Podobně i v našich pokusech se vyskytl zvýšený počet abortů (5, tj. 8,9 %), a to v 63., 70., 86., 167. a 192. dnu březosti. Ačkoli je obtížné tyto případy hodnotit, lze se domnívat, že někdy — přestože dojde k zániku ovariálních cyst a zabřeznutí — není labilní endokriniem schopno dovést graviditu do konce.

Porovnáme-li si výsledky klasických způsobů ošetření vaječnickových cyst s výsledky etiotropní hormonální terapie těchto funkčních abnormit, je použití CG velmi výhodné a ekonomicky významné. Z tohoto hlediska má hormonální terapie svoje oprávnění, neboť její opomíjení by znamenalo vzdát se účinného a ekonomicky významného zákroku k obnovení plodnosti a možnosti prodloužení plodnosti u vysoce užitkových dojníc (Příbyl, Holý, 1962).

Výsledky získané při ošetření vaječnickových cyst LH mají velkou praktickou cenu především u krav produkčních. U krav plemenných nelze přehlížet možnost hereditární predispozice, jak byla dokázána na širokém materiálu ve Švédsku Lagerlöfem, 1951 a Erikssonem, 1949. V tomto směru je otázka ošetření cystózních vaječníků z hlediska kontroly dědičnosti zdraví u plemenných zvířat velmi závažná a nebezpečná.

Souhrn

Ze 70 hodnocených případů vaječnickových cyst u krav byly nejčastěji postiženy krávy mladé, do VI. porodu, a nejvíce ve 4. až 6. roce života. Většina těchto zvířat (86,2 %) vykazovala velmi dobrou mléčnou produkci.

Cystické změny byly shledány na obou ováriích v 50 % případů, jednostranně byl častěji postižen vaječník pravý (38,57 %) než levý (11,43 %). Abnormita byla doprovázena více nebo méně výrazným zvýšením pohlavního pudu u 55,56 % zvířat, avšak jen 10 % krav vykazovalo typický obraz nymfomanie. Podstatná část cystami postižených zvířat trpěla dlouhodobou anestrií. Nápadným příznakem vaječnickových cyst bylo uvolnění širokých pánevních vazů, které je velmi cenné pro včasnou detekci zejména anestrických případů. Vaginálním vyšetřením bylo u většiny krav (96,77 %) možno zjistit hojnou uterinní hlenovitou

sekreci, velmi často však podobnou děložním výtokům při různých stupních endometritis (70,97 %). Ukázalo se, že ošetření dělohy není nutné a že tyto příznaky zanikají s úpravou hormonálních poměrů v organismu.

K léčbě syndromu vaječnickových cyst bylo použito choriongonadotropinu — Praedynu Spofa iv. — v průměrné dávce 5000 M. J. Ošetření bylo prováděno průměrně za 144 dní po posledním porodu, a po jednorázovém ošetření došlo k zániku ovariálních cyst v 75,7 % případů. 24,3 % krav vyžadovalo dodatečné ošetření dávkou průměrně 4700 M. J. Celkem došlo po hormonálním ošetření k zániku ovariálních cyst v 97,1 % případů (u 68 krav ze 70 hodnocených).

Ze 62 zvířat ponechaných dále v plemenitbě zabřezlo 56 krav (90,3 %) průměrně za 42,3 dní po ošetření při inseminačním indexu 1,47. Po prvním ošetření koncipovalo z celkového počtu 66,1 % zvířat a 24,2 % zabřezlo po dalším ošetření.

K obnovení pravidelného sexuálního cyklu došlo průměrně za 21,9 dní a krávy byly poprvé inseminovány průměrně za 26 dní po ošetření. Ke koncepci došlo nejčastěji po první inseminaci (v 73,2 % z počtu zabřezlých) průměrně za 27,9 dní po ošetření. Současné rozmačkání vaječnickových cyst nezvyšuje podstatně účinek hormonální léčby.

Během nastoupivší gravidity bylo zaznamenáno zvýšené procento abortů (v 8,93 %), které lze považovat za projev individuální lability endokrinního systému.

Ačkoliv jsou po ošetření vaječnickových cyst choriongonadotropinem vyhlídky na obnovení plodnosti všeobecně velmi příznivé, lze tuto léčebnou metodu doporučit především u krav produkčních. U zvířat plemenných je nutno respektovat možnost heritability predispozice k těmto poruchám plodnosti. Z tohoto hlediska je hormonální terapie vaječnickových cyst u chovných zvířat nežádoucí.

Došlo dne 15. 2. 1962

Literatura

1. Casida L. E., Chapman A. B.: Factors affecting the incidence of cystic Ovaries in a herd of Holstein Cows. J. Dairy Sci. (1951), Vol. XXXIV, s. 1200. — 2. Dawson E. L.: Bovine cystic ovarian diseases a review of recent progress. Brit. Vet. J. (1957), 113, 112-133. — 3. Dawson E. L.: Bovine cystic ovarian disease: an analysis of 48 cases. Brit. Vet. J. (1958), 114, 96-103. — 4. Derivaux J.: Physiopathologie de la reproduction et l'insemination artificielle des animaux domestiques, Bruxelles, 1959. — 5. Eriksson K.: Hereditary disturbance of the reproduction in cattle. Report of the XIVth Int. Vet. Congr., London, 1949. — 6. Garm O.: A study on bovine nymphomania. Acta Endocrinol., 2, 1949. — 7. Garm O.: Investigations on cystic ovarian degeneration in the cow, with special regard to etiology and pathogenesis. The Vet. Bull, 1954, s. 467. — 8. Garm O.: Endocrine disturbances in bovine nymphomania. Report of the Int. Vet. Congr., London, 1949. — 9. Henricson B.: Genetical and statistical investigations into cystic ovaries in cattle. IIIth Int. Congr. on Anim. Repr., Cambridge, 1956. — 10. Holý L., Kudělka E.: Hormonální terapie při cystosní degeneraci ovarií u skotu. Veterinární medicína ČSAZV (1956), č. 8-9, s. 705. — 11. Jubb K. V., McEntee K.: Observations on the bovine pituitary gland. Cornell Vet. (1955), 45, 570. — 12. Küst und Schaeetz: Fruchtbarkeitsstörungen der

Haustiere, Stuttgart, 1953. — 13. Lagerlöf N.: Hereditary form of sterility in Swedish cattle breeds. *Fert. and Ster.* (1951), No. 3, Vol. 2, s. 230. — 14. McEntee K.: Cystic corpora lutea in cattle. *Intern. J. of Fert.*, 1953, No. 1, s. 120. — 15. McKay G. W., Thomson J. D.: Field observations on the treatment of cystic ovaries in cattle. *Canad. J. of Comp. Med. and Vet. Med. Sci.* (1959), no. 5, s. 175. — 16. Paredis F., Vandeplassche M.: Intrafollicular administration of pregnancy urine hormone (P. U.) as a treatment for nymphomania in dairy cattle. XVth Int. Congr. Stockholm, 1953. — 17. Přibyl E., Holý L.: Beitrag zur aetiotropen Behandlung der Eierstockzysten bei Kühen, v tisku. — 18. Roberts S. J.: Clinical observations on cystic ovaries in dairy cattle. *Cornell. Vet.* (1955), XLV, 497. — 19. Roberts S. J.: A preliminary report on the treatment of cystic ovaries in dairy cattle by the injection of gonadotropic hormones directly into the follicular cyst. *JAVMA* (1957), 131, 510. — 20. Roberts S. J.: Ovarian dysfunction in the bovine animal. *The Vet. Rec.* (1957) s. 3. — 21. Rösener P.: Ein klinischer Beitrag zur Behandlung nymphomaner Rinder durch intrafollikuläre Injektion von ProlanBayer. *Vet. Med. Nachrichten* (1957), No. 3, s. 143. — 22. Uray H.: Fehler in der hormonalen Steuerung als Sterilitätsursache beim weiblichen Rind. *WtM* (1960), No. 9, s. 590. — 23. Vereertbruggen W.: Léčení nymfomanických krav intrafol. inj. gonadotropních hormonů P. U. *Vlaams. Diergeneesk. Tijds.* (1956), XXVI, 1. — 24. Vlček Z.: Příspěvek k otázce vztahu bakteriální flory v pohlavním ústrojí k cystózní degeneraci graafových folikulů u skotu. *Veterinární medicína ČSAZV* (1960), 5, 655. — 25. Williams W. L.: The diseases of the genital organs of dom. animals, London, 1947.

К вопросу этиотропного лечения кисты яичников у крупного рогатого скота хорионгонадотропными гормонами

Из 70 изучаемых случаев кисты яичников у коров чаще всего были поражены молодые коровы до VI отела, и больше всего в период первых 4—6 лет жизни. Большинство этих животных (86 %) отличалось очень хорошей продукцией молока.

В 50 % случаев изменения в результате кисты были обнаружены на обоих яичниках, односторонне был чаще поражен яичник правый (38,57 %), чем левый (11,43 %). Эта ненормальность сопровождалась более или менее явным повышением полового инстинкта у 55,56 % животных, однако, только у 10 % коров наблюдалась гипичная картина нимфомании. Большая часть животных, пораженных кистой яичников, страдала долговременным отсутствием течки. Типичным признаком кисты яичников было ослабление широких тазовых связок, которые весьма ценны для своевременного детектирования в особенности анестрических случаев. Путем исследования влагалища у большинства коров (96,77 %) можно было установить обильное слизистое выделение из матки, очень часто, однако, подобное выделениям из матки при различных степенях эндометрита (70,97 %). Затем оказалось, что нет необходимости в обработке матки, и что эти признаки исчезали вместе с урегулированием гормональных условий в организме.

Для лечения синдрома кисты яичников был применен хорионгонадотропин — Праедин-Спофа — интравенозно в средней дозе 5000 м. е. Лечение в общем проводилось по истечении 114 дней после последних родов и после одноразовой обработки кисты яичников ликвидированы в 75,7 % случаев, 24,3 % коров требовали еще дополнительной обработки дозой в среднем 4700 м. е. В общем в результате гормональ-

ного лечения кисты яичников были ликвидированы в 97,1 % случаев (у 68 из 70 обследуемых коров).

Из 62 животных, оставленных далее в племенном деле, забеременело 56 коров (90,3 %) в среднем через 42,3 дня после обработки при индексе осеменения 1,47. После первой обработки забеременело из общего числа обработанных коров и далее в стаде использованных животных 66,1 %, причем 24,2 % коров забеременело после дальнейшей обработки.

Для обновления регулярного полового цикла в среднем через 21,9 дня коровы были в первый раз осеменены в среднем через 26 дней после обработки. Чаше всего беременность наблюдалась после первого осеменения (73,2 % из числа забеременевших) в среднем через 27,9 дня после обработки. Одновременное раздавливание кист яичников не повышает существенно действия гормонального лечения.

В течение появившегося забеременения наблюдался повышенный процент аборт (8,93 %), которые можно считать проявлением индивидуальной лабильности эндокринной системы.

Несмотря на то, что после обработки кисты яичников хорионгонадотропином перспективы обновления плодovitости были весьма благоприятными, все же этот лечебный метод можно рекомендовать в первую очередь у продуктивных коров. У племенных животных необходимо принимать во внимание возможность наследственности предрасположения к этим нарушениям плодovitости. С этой точки зрения гормональная терапия кисты яичников у племенных животных нежелательна.

Beitrag zur ätiotropen Behandlung von Ovarialzysten beim Rind mittels choriongonadotroper Hormone

Von 70 beurteilten Fällen von Ovarialzysten bei Kühen waren am häufigsten junge Kühe bis zum 6. Geburt und im Höchstalter von 4—6 Jahren betroffen. Der Großteil dieser Tiere (86,2 %) wies eine sehr gute Milchproduktion auf.

Die zystischen Veränderungen waren in 50 % der Fälle beiderseitig, bei den einseitigen war das rechte Ovar häufiger betroffen (38,57 %) als das linke (11,43 %). Die Abnormität war begleitet von einer mehr oder minder ausgeprägten Steigerung des Geschlechtstriebes bei 55,56 % der Tiere, jedoch nur 10 % Kühe zeigten das typische Bild der Nymphomanie. Die überwiegende Mehrheit der von den Zysten betroffenen Tiere litt schon lange Zeit an Anöstrie. Ein auffälliges Symptom der Ovarialzysten war die Lockerung der breiten Beckenbänder, die für eine rechtzeitige Detektion besonders der anöstrischen Fälle sehr wertvoll ist. Durch vaginale Untersuchung wurde beim Großteil der Kühe (96,77 %) eine reichliche schleimige Uterussekretion festgestellt, die häufig dem Ausfluß aus dem Uterus bei verschiedenen Graden der Endometritis ähnelte (70,97 %). Es zeigte sich, daß eine Behandlung des Uterus nicht notwendig ist und daß diese Symptome mit der Regelung der hormonalen Verhältnisse im Organismus verschwinden.

Zur Behandlung der Ovarialzysten verwendeten wir das Choriongonadotropin — Praedyn-Spofa — i. v. in der durchschnittlichen Gabe von 5 000 IE. Die Behandlung erfolgte durchschnittlich 114 Tage nach der letzten Geburt und nach einer Behandlung schwanden die Ovarialzysten in 75,7 % der Fälle. 24,3 % der Kühe erfor-

derthen eine nochmalige Behandlung mit einer durchschnittlichen Gabe von 4 700 IE. Insgesamt verschwanden die Ovarialzysten nach der hormonalen Behandlung bei 68 Kühen (97,1 %).

Von 62 weiter zur Zucht verwendeten Kühe wurden 56 (90,3 %) trächtig durchschnittlich 42,3 Tage nach Behandlung bei einem Besamungsindex von 1,47. Nach der ersten Behandlung wurden von der Gesamtzahl 66,1 % der Tiere trächtig und nach folgender Behandlung konzipierten 24,2 %.

Ein regelmäßiger Sexualzyklus stellte sich durchschnittlich nach 21,9 Tagen ein und die Kühe wurden durchschnittlich 26 Tage nach Behandlung besamt. Zur Konzeption kam es am häufigsten nach der ersten Besamung (73,2 % der trächtig gewordenen Kühe) im Durchschnitt 27,9 Tage nach der Behandlung. Das gleichzeitige Abquetschen der Ovarialzysten steigert nicht erheblich die Wirkung der hormonalen Behandlung.

Bei den trächtigen Kühen trat eine erhöhte Anzahl von Aborten auf (8,93%), die als Ausdruck einer individuellen Labilität des endokrinen Systems aufzufassen sind.

Obwohl die Aussichten auf Erneuerung der Fruchtbarkeit bei Behandlung der Ovarialzysten mittels Choriongonadotropin sehr günstig sind, kann man diese Heilmethode hauptsächlich nur bei Produktionskühen anempfehlen. Bei Zuchtkühen ist die Möglichkeit einer erblichen Prädisposition zu diesen Fortpflanzungsstörungen zu respektieren. Von diesem Standpunkt ist eine hormonale Behandlung von Eierstockzysten bei Zuchttieren unerwünscht.

Císařský řez ve vztahu k uchování plodnosti krav

Кесарево сечение в связи с вопросом сохранения плодovitости коров

Der Kaiserschnitt in Beziehung zur Enthaltung der Fruchtbarkeit der Kühe

L'opération césarienne en relation avec la conservation de la fertilité chez les vaches

M. VRTĚL, L. HOLÝ

*Porodnicko-gynekologická katedra veterinární fakulty v Brně, vedoucí prof. dr.
E. Příbyl, D. Sc.*

Úvod a literární přehled

Císařský řez stal se v poslední době běžným zákrokem v porodnické praxi a představuje, zvláště u skotu mnohdy jediný způsob vyřešení ztíženého porodu. Rozšíření tohoto zákroku vedlo k dokonalému technickému propracování operace a tím i k zlepšení výsledků. Také vliv preventivní terapie stále účinnějšími antibiotiky znamenal podstatné zlepšení prognózy a snížení mortality operovaných krav.

Včasně provedený řez při vhodné indikaci dává tedy již reálnou možnost získat živé mládě a nepoškodit zdraví matky. Vzhledem k tomu, že projevem zdraví je v první řadě dobrá plodnost, je třeba výsledky císařského řezu hodnotit především z tohoto hlediska. Pod tímto zorným úhlem má císařský řez u krav plné opodstatnění a hospodářský význam teprve tehdy, zachová-li se u operovaných krav také další schopnost reprodukce a dostatečně vysoká laktace.

I když lze počítat s tím, že císařský řez jako každá dystokie bude fertilitu krav snižovat, jsou dosavadní výsledky obnovené plodnosti operovaných zvířat zcela uspokojivé. Tak Wright (1955, 1958) uvádí opětovné zabřeznutí po císařském řezu u 50 % krav, Lensch (1957) u 61 %, Merkt (1958) u 70 %, Lanz (1958) u 77 %, Vandeplasse, Paredis, Debackere (1956, 1959) u 78 a 80 %, de Bois (1960) u 70 % atd.

Z faktorů ovlivňujících plodnost jsou uváděny hlavně retence sekundin po operaci, postoperační srůsty a změny na děloze. Zatímco nepříznivý vliv zadrženého lůžka lze do jisté míry omezit aplikací účinných antibiotik, nelze již poměrně častým adhesím, zvláště operovaného děložního rohu tak spolehlivě předcházet žádným z dosud známých prostředků (intraabdominální aplikace rozpuštěného hovězího loje, arašidového oleje a hydrokortisonu).

Vandeplasse, Paredis a Debackere (1956, 1959) znamenali velmi dobré výsledky s ošetřením zadrženého lůžka po operaci teramycinem, kdy se plodnost zvýšila z 68 % na 78 a 85 %. Z operovaných krav, u kterých byly těmito autory zjištěny postoperační srůsty uteru, koncipovalo jen

51 % proti 81 %, které se hojily bez adhesí. Vedle těchto okolností, které mohou bezesporu plodnost částečně snižovat, nelze ale přehlédnout podstatný vliv, který může mít vlastní průběh porodu před operací. Průkazné je zvláště pozorování Merkta (1958), který zjistil obnovení koncepce u krav operovaných včas u 77 %. Byla-li však operace prováděna při zanedbaném porodu, koncipovalo jen 27 %. S tím také souvisí důležitost správně uvážené indikace, aby tak velký význam císařského řezu ve veterinárním porodnictví nebyl promarněn (Příbyl, 1957).

Vlastní pozorování a zhodnocení výsledků

Účelem našeho pozorování bylo zhodnocení plodnosti krav po císařském řezu se zřetelem k zjištění vztahu retence sekundin, postoperačních srůstů a způsobu intrauterinního ošetření k následné fertilitě.

Z 202 císařských řezů u skotu prováděných na porodnické klinice v posledních letech bylo nutně odporáženo 39 krav, z toho však v přímé souvislosti s provedenou operací 20 (9,9 %). V ostatních případech byly příčinou bezprostředního odporážení ireparabilní cirkulační změny při rozsáhlých a dlouhotrvajících torsích děložních a paraplegie vyvolané vesměs frakturami pánevních kostí při neodborně vedeném porodu. Tyto případy nedávají již předem nejmenší naději na úspěch a poukazují na to, že indikaci k císařskému řezu je nutno vždy dobře uvážit.

Ostatní krávy propuštěné do domácího ošetření byly pravidelně sledovány, aby u nich bylo možno posoudit další reprodukci a případné plodnost ovlivňující faktory.

Zapuštěno bylo jen 106 operovaných krav, u 4 došlo ke ztrátě evidence a 53 bylo vyraženo bez zapuštění. Důvody vyrazení tak vysokého počtu krav bez dalšího pokusu o zařazení do reprodukce byly různé. Někdy je způsobily obavy před dalším ztíženým porodem, jindy nízká užitkovost, hubnutí, vyražování krav v rámci likvidace *tbc* a opakovaně i děložní adhéze, považované za zásadní překážku dalšího zabřeznutí.

Ze 106 dále k chovu používaných krav obřezlo 70 (66 %) a 36 (34 %) i po opakovaném zapuštění zůstalo jalových. Service period u zabřezlých krav byla 163,5 dní (46 až 527 dní) při inseminačním indexu 1,8.

Procento retencí sekundin je po císařských řezech stejně jako při dystokiích vůbec značně vyšší než po normálních porodech. Zjistili jsme, že výskyt retencí u operovaných krav činil 21,7 %, zatímco po normálních porodech je počítáno s retencí ve 3 až 5 % případů (Goetze, 1950, Příbyl, 1955). U 106 zapuštěných krav se retence sekundin vyskytla v 19 případech, z toho 13 (68,4 %) zabřezlo a pouze 6 zůstalo jalových. Nelze tedy zjistit, jak by se předpokládalo, početnější výskyt retencí u přebíhalek, a v soulase s Debackerem a spolupracovníky (1959) se tedy nezdá, že by retence sekundin u operovaných krav byla hlavní příčinou neplodnosti. Na tuto skutečnost má jistě nemalý vliv také způsob ošetření dělohy při operaci a účinnost používaných léčiv. U krav se zadržným lůžkem, kde jsme použili intrauterinně širokospektrální antibiotika (aureomykoin a teramycin), zabřezlo 76,9 %, zatímco u ostatních případů ošetřených jinými prostředky (desinficientia, sulfonamidy, penicilin, streptomycin

a chloramfenikol) zabřezlo toliko 50 %. Tento průkazný rozdíl v procentu plodnosti není již tak výrazný tam, kde se podávají tyto prostředky intrauterinně jen za účelem prevenčním u těch krav, které se po operaci zčistily, nebo lůžko bylo vybaveno při operaci.

Výskyt adhesí, zvláště operovaného děložního rohu, je u krav po císařských řezech poměrně častý. Ani tyto adhezivní změny neovlivňují však plodnost krav tak, jak se často předpokládá. Z připuštěných 106 krav jsme zjistili na klinice nebo rektálním vyšetřením po delší době v terénu vesměs větší srůsty dělohy s orgány dutiny břišní u 32 případů (30,2 %). Z těchto 32 zvířat však znovu zabřezlo 20 (62 %). Přes to, že u krav s adhezemi je proti průměru zabřezlých plodnost do jisté míry snížena, nelze postoperační adhéze považovat za podstatný faktor snižující fertilitu krav po císařském řezu. Tuto skutečnost nám též spolehlivě prokázaly 4 po druhé opakované císařské řezy, kdy byly rovněž zjištěny adhéze děložního rohu po předchozích operacích.

Při sledování průběhu gravidity krav po operaci jsme zaznamenali neobvykle vysoké procento abortů, které se vyskytly ve 14,3 % případů, nejčastěji v 6. až 8. měsíci. Toto vysoké procento abortů je vzhledem k jejich rozmanité etiologii těžko hodnotit a odůvodnit. Je však se možno domnívat, že zvýšený počet zmetání souvisí jednak s výskytem silnějších adhezí, které mohou vést k předčasnému vypuzení plodu mechanickým drážděním uteru, a dále pak s porušenou involucí dělohy a atrofickými změnami v endometriu operovaného rohu, zvláště karunkul. Tyto atrofické a histologicky prokázané změny vyzvedávají jako příčinu snížené plodnosti Debackera a spolupracovníci (1959) a bezpochyby mohou souviset jak s prodloužením service period u operovaných zvířat, tak i s výskytem abortů.

Bezprostřední vztah k zachování další reprodukce má včasné provedení operace při živém plodu a relativně neinfikovaném děložním obsahu. Z celkového počtu 106 operovaných a později připuštěných krav byl živý plod vybaven v 59 případech (55,6 %), odumřelý v 47 případech (44,4 %). U krav, kdy byla operace prováděna při živém plodu zabřezlo opětovně 71,2 % zvířat, zatím co po operaci, kdy byl vybaven odumřelý plod, koncipovalo jen 49 %.

Zanedbané a dlouhotrvající porody, při nichž je nakonec nutno mrtvé mládě vybavit císařským řezem mají tedy podstatný vliv na další plodnost operovaného zvířete a snižují také celkovou ekonomickou hodnotu tohoto zákroku, jehož předností je právě vybavení živého mláděte. Zkušenosti naší kliniky ukazují, že dosud většina krav a jalovic je na císařský řez odesílána opožděně. Lze předpokládat, že včasným provedením císařského řezu u krav nevyčerpaných marnými pokusy o vybavení plodu se také dosáhne úměrně vyššího procenta koncepce obdobně, jak je známo z prací Vandeplasscheho, Paredise, Debackera (1956, 1959), Merkta (1958) a de Boise (1960).

Souhrn

Z 202 císařských řezů provedených na porodnicko-gynekologické klinice veterinární fakulty v Brně bylo zařazeno do další plemenitby 106 krav. Z tohoto počtu opětovně zabřezlo 70 zvířat (66 %) při inseminačním indexu 1,8 a průměrné délce service period 163,5 dní (46 až 527). Při sledování průběhu gra-

vidity byl zaznamenán nápadně vysoký počet abortů (14,3 %), nejčastěji v 6. až 8. měsíci gravidity.

Zdá se, že z faktorů ovlivňujících plodnost krav po císařských řezech má největší význam moment provádění operace a způsob ošetření retence sekundin. U krav, kde byl císařský řez prováděn při živém plodu opětne koncipovalo 71 % zvířat, zatím co tam, kde byl vybaven plod již odumřelý, koncipovalo jen 49 % krav.

Postoperativní adhezivní změny, které byly zjištěny u 30,2 % krav ze 106 hodnocených, nesnižují plodnost tak významně, jak se často předpokládalo. Z 32 případů zjištěných adhezí zabřezlo 20 krav, tj. 62 %.

Retence sekundin samotná, zjištěná po císařském řezu v 21,7 % případů není podstatnou příčinou nižší pooperační fertility. Pro další plodnost se však zdá velmi významný způsob medikamentózního ošetření zadrženého lůžka. V případech, kdy retence sekundin byla ošetřena širokospektrálními antibiotiky, koncipovalo 76 % krav proti 50 % zabřeznuvších po intrauterinním podání desinficiencí, sulfonamidů, penicilinu, streptomycinu i chloramfenikolu.

Došlo dne 15. 2. 1962

Literatura

1. Debackere M., Vandeplasse M., Paredis F.: Vlaams diergeneeskundig Tijdschrift, 1959, No. 1. — 2. De Bois C. H. W.: Tijdschrift voor Diergeneeskunde, 1960, No. 12, s. 699. — 3. Goetze - Richter: Lehrbuch der Tiergeburtshilfe, Berlin, 1950. — 4. Lanz E.: Schweizer Archiv f. Tierheilkunde, 1958, No. 6, s. 329. — 5. Lensch J.: T. U. 1957, No. 12, s. 386. — 6. Merkt H.: Die Schnittentbindung beim Rind in der neuzeitlichen Geburtshilfe, Jena, 1958. — 7. Příbyl E.: Veterinářství, 1955, No. 9, s. 275. — 8. Příbyl E.: Veterinární medicína ČSAV, 1957, No. 8, s. 525. — 9. Vandeplasse M., Paredis F., Debackere M.: IIIth Internat. Congr. on Anim. Repr., Cambridge, 1956. — 10. Wright J. G.: DtW, 1955, No. 39/40, s. 408. — 11. Wright J. G.: Vet. Rec. 1958, april.

Кесарево сечение в связи с вопросом сохранения плодовитости коров

Из 202 коров, у которых на акушерско-гинекологической клинике ветеринарного факультета в Брно было проведено кесарево сечение, 106 коров были включены в дальнейшую племенную работу. Из этого числа вновь забеременело 70 животных (66 %) при индексе осеменения 1,8 и средней продолжительности сервис-периода 163,5 дня (46—527). При наблюдении за ходом беременности было отмечено особенно большое число abortов (14,3 %), причем чаще всего в 6 и даже 8 месяце беременности.

Из факторов, оказывающих влияние на плодовитость коров после кесарева сечения, вероятно, самое большое значение имеет момент проведения операции и способ обработки задержанного последа. У коров, где кесарево сечение было проведено при

живом плоде, снова забеременело 71 % животных, в то время как в случаях, когда был извлечен уже отмерший плод — забеременело только 49 %.

Изменения, возникающие после операции в результате различных срастаний, которые были установлены у 30 % коров из 106 подопытных, не снижают плодовитость коров так значительно, как это часто предполагают. Из 32 случаев установленных срастаний забеременело снова 20 коров, т. е. 62 %.

Само по себе задержание последа, установленное после кесарева сечения в 21,7 % случаев, не является существенной причиной более низкой плодовитости после операции. Для сохранения дальнейшей плодовитости весьма важное значение, вероятно, имеет способ медикаментозной обработки задержанного последа. В тех случаях, когда задержка последа обрабатывалась широкоспектральными антибиотиками, забеременело 76 % коров против 50 %, которые забеременели после интраутеринного применения дезинфекции, сульфонамидов, пенициллина, стрептомицина и хлорамфеникола.

Der Kaiserschnitt in Beziehung zur Enthaltung der Fruchtbarkeit der Kühe

Von 202 Tieren nach einem an der geburtshilflich gynäkologischen Klinik der Veterinärfakultät in Brünn durchgeführten Kaiserschnitt wurden 106 Kühe zur weiteren Zucht verwendet. Von diesen wurden 70 (66 %) trächtig bei einem Besamungsindex von 1,8 und einer Durchschnittsdauer der service period von 163,5 (46-527) Tagen. Im Verlauf der Gravidität wurde eine auffallend hohe Zahl von Aborten (14,3 %) beobachtet, meistens im 6.—8. Monat der Gravidität.

Es scheint, daß unter den Faktoren, welche die Fruchtbarkeit der Kühe nach dem Kaiserschnitt beeinflussen, die größte Bedeutung dem Zeitpunkt der Durchführung der Operation und der Art der Behandlung der Nachgeburtsretention zukommt. Bei Kühen, an denen der Kaiserschnitt bei lebender Frucht durchgeführt worden war, erreichte die Zahl der Konzeptionen 71 %, während in den Fällen, wo die Operation bei toter Frucht erfolgte, die Zahl der Konzeptionen bloß 49 % betrug.

Postoperative adhäsive Veränderungen, die bei 30,2 % der 106 beurteilten Tiere gefunden wurden, vermindern die Fruchtbarkeit keineswegs so bedeutend, wie dies oft vorausgesetzt wird. Von 32 Tieren mit festgestellten Adhäsionen wurden 20, d. i. 62 % trächtig.

Die Nachgeburtsretention, die nach Kaiserschnitt in 21,7 % der Fälle auftrat, ist keine wesentliche Ursache einer niedrigeren postoperativen Fruchtbarkeit. Für die weitere Fruchtbarkeit scheint jedoch die Art der medikamentösen Behandlung der Nachgeburtsverhaltung von großem Einfluß zu sein. In Fällen, wo bei der Retention der Nachgeburt Antibiotika mit weitem Spektrum der Wirksamkeit in Anwendung kamen, konzipierten 76 % der Kühe gegenüber 50 % bei Kühen, die nach intrauteriner Anwendung von Desinfizienzien, Sulfonamiden, Penizillin, Streptomycin und Chloramphenicol trächtig wurden.

L'opération césarienne en relation avec la conservation de la fertilité chez les vaches

De 202 vaches après l'opération césarienne, exécutée dans la clinique gynécologique de la faculté vétérinaire à Brno, 106 sont utilisées pour l'élevage ultérieur. De ces 70 (60 %) deviennent gravides avec un indice inseminatoire de 1,8 et une durée du service période de 163,5 jours (46—527). En suivant le cours de la gravidité un étonnant grand nombre d'avortements (14 %) a été observé, le plus souvent dans le 6.—8. mois de la gravidité.

Il semble, que des facteurs influençant la fertilité des vaches après l'opération césarienne la plus grande importance à l'exécution de l'opération et le mode du traitement de la rétention de la placente. Chez les vaches opérées avec un veau vivant 71 % de celles-ci de nouveau concipaient, en comparaison avec 49 % de vaches délivrant un veau mort.

Les changements postopératifs adhésifs, trouvés chez 30 % de 106 vaches examinées, ne causent une telle diminution de la fertilité, comme on la souvent présume. De 32 cas des adhésions constatées 20 (62 %) ont concipées.

La rétention de la placente après l'opération césarienne, constaté en 21.7 % des cas, n'est pas un facteur important d'une fertilité faible post-opérative. Pour la fertilité ultérieure la méthode du traitement médicamenteux de la rétention de la placente semble d'être très importante. 76 % des vaches traitées avec antibiotiques d'un spectre large ont concipées contre 50 % après application intrautérine des désinfectants, sulfonamides, du Pénicilline, Streptomycine et Chloramphénicol.

Feredyan T., Feredyan I., Slavescu E.: Příspěvky ke studiu zředování a konzervace semene kanců Работы по изучению разбавления и консервации семени хряков Beiträge zum Studium der Verdünnung und Konservierung von Ebersamen	495
Kozumplík J.: O vlivu některých gum a plastických hmot na životnost spermii kance О влиянии некоторых видов резины и пластических масс на жизнеспособность сперматозоидов хряка Der Einfluß von Gummiarten und plastischer Stoffe auf die Vitalität der Eberspermien L'influence de quelques sortes caoutchouc et matières plastiques sur la vitalité des spermatozoïdes du verrat	501
Kudláč E.: Vyvolání říje u prasnic v období laktace Вызывание течки у свиноматок в период лактации Auslösung der Brunst bei Sauen in der Laktationsperiode La provocation de la chaleur chez les truies pendant la lactation	507
Ocel V., Taku A., Florescu St., Berindej A.: Příspěvky ke studiu časné diagnózy březosti krav pomocí vaginální reakce na oxytocin Работы по изучению ранней диагностики стельности коров путем вагинальной реакции на окситоцин Beiträge zum Studium der Trächtigkeits-Frühdiagnose bei Kühen mittels der vaginalen Oxytocinreaktion Contribution à l'étude d'un diagnostic précoce de la gravidité chez vaches à l'aide de la réaction vaginale sur l'oxytocine	513
Gamčík P., Ševčík A.: Skúsenosti s laboratórnym vyšetrovaním cervikálneho hlienu u kráv Опыт, полученный при лабораторном исследовании цервикальной слизи у коров. — I. Арборизационный тест цервикальной слизи у коров Erfahrungen mit der Laboruntersuchung des Zervikalschleims bei Kühen — I. Arborisationstest des Zervikalschleims bei Kühen	519
Gamčík P., Elečko J., Ševčík A.: Skúsenosti s laboratórnym vyšetrovaním cervikálneho hlienu u kráv — II. Raná diagnostika gravidity u kráv pomocou luhového testu a modrej skalice (predbežná zpráva) Опыт, полученный при лабораторном исследовании цервикальной слизи у коров. — II. Ранняя диагностика беременности у коров при помощи щелочного теста и медного купороса Erfahrungen mit der Laboruntersuchung des Zervikalschleims bei Kühen — II. Frühzeitige Diagnose der Gravidität bei Kühen mittels des Alkalisations-testes und des Kupfersulfats Experiences with the Laboratory Examination of the Cervical Secretion of Cows — II. The early Diagnosis of gravidity in cows by means of the Alkalization and Copper Sulphate Tests	525
Věžník Z.: K otázce významu mnohоядерных buněk v semenoplodných kanálkách К вопросу о значении многоядерных клеток в семенных каналах Zur Frage der Bedeutung der vielkernigen Zellen in den samenbildenden Kanälchen La question de l'importance des cellules polynucléaires dans les canaux seminifères	531

- Норре R.:** Pozorování při diagnostice vibriózy u býků
Наблюдения при диагностике вибриоза у быков
Beobachtungen bei der Diagnostik der Vibriose bei Bullen 545
- Petkov K.:** Vliv hodnoty pH výplašků z předkožky pyje na životaschopnost *Trichomonas foetus*
Влияние pH смыва крайней плоти на переживаемость
Einfluß von pH der präputialen Spülflüssigkeit auf die Vitalität von *Trichomonas foetus*
The Influence of the Value of pH of the Preputial Irrigation Liquid upon the Vitality of *Trichomonas foetus* 555
- Wohanka K., Hubrig Th.:** Vyšetřování infekce pohlavních orgánů skotu zárodkem *C. pyogenes*
Исследование инфекции половых органов крупного рогатого скота зародышем
Untersuchungen über die *C. pyogenes*-Infektion der Geschlechtsorgane des Rindes 561
- Vlček Z.:** Příspěvek k mikrobiální analýze puerperálních onemocnění pohlavního ústrojí u skotu
К вопросу микробного анализа пuerперального заболевания половых органов у крупного рогатого скота
Beitrag zur mikrobiellen Analyse puerperaler Erkrankungen der Geschlechtsorgane beim Rind
Contribution à l'analyse microbienne des maladies puerpérales des organes génitaux du bétail 577
- Kudláč E., Vlček Z., Kozumplik F.:** Výskyt tbc pohlavního ústrojí skotu a její vztah k reprodukci
Появление Тбс половых органов у крупного рогатого скота и его влияние на воспроизводство
The Incidence of Tuberculosis of the Genital Organs of Cattle and its Relation to the Reproduction
L'incidence de la tuberculose des organes génitaux du bétail et sa relation avec la reproduction 587
- Holý L.:** Příspěvek k etiotropní léčbě ovariálních cyst u skotu
К вопросу этиотропного лечения кисты яичников у крупного рогатого скота хорионгонадотропными гормонами
Beitrag zur ätiotropen Behandlung von Ovarialzysten beim Rind mittels choriongonadotroper Hormone 593
- Vrtěl M., Holý L.:** Císařský řez ve vztahu k uchování plodnosti krav
Кесарево сечение в связи с вопросом сохранения плодovitости коров
Der Kaiserschnitt in Beziehung zur Erhaltung der Fruchtbarkeit
L'opération césarienne en relation avec la conservation de la fertilité chez les vaches 603

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu v oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství, lesního a vodního hospodářství. Vychází měsíčně. Celoroční předplatné 120 Kčs. Redakce: Praha 2, Slezská 7, telefon 544-51, 575-41. Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá Poštovní novinový úřad, ústřední administrace PNS, třída Obránců míru 2, Brno. Lze též objednat u každého poštovního úřadu a doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje Poštovní novinový úřad, vývoz tisku, Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl Mír, novinářské závody, n. p. závod 2, provozovna 22, Legerova 22, Praha 2.