

VĚDECKÝ ČASOPIS

# VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

**2**

ROČNÍK 10 (XXXVIII)  
PRAHA,  
LEDEN 1965  
CENA 10 Kčs

ÚSTAV  
VĚDECKOTECHNICKÝCH  
INFORMACÍ MZLVH

### Rídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král, (předseda), člen korespondent ČSAV akademik Ivan Brauner, MVDr. Jan Čarvaš, CSc., doc. MVDr. Jaroslav Dražan, prof. MVDr. Tomáš Gdovin, MVDr. Martin Lis, MVDr. Andrej Mačička, MVDr. Ladislav Polák, doc. MVDr. Oldřich Svoboda, MVDr. Jan Šnoflák, doc. MVDr. inž. Jan Vlček, pplk. MVDr. Miroslav Vojáček, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, CSc., MVDr. Ladislav Zima, MVDr. Alojz Žuffa, CSc.

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 1965

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství, lesního a vodního hospodářství. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Mánesova 75, telefon 274551-8. Celoroční předplatné Kčs 120.—

Научный журнал ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по научному исследованию в области ветеринарной медицины. Издает Институт научно-технической информации Министерства сельского, лесного и водного хозяйства. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Манесова 75.

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Institute of Scientific and Technical Information of the Ministry of Agriculture, Forestry and Water Management. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Mánesova 75.

Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben vom Institut für wissenschaftlich-technische Informationen des Ministeriums für Land-, Forst- und Wasserwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion Praha 2, Mánesova 75.

Le journal scientifique VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publie les études, analyses et traités scientifiques concernant les tâches de recherches résous dans le domaine de médecine vétérinaire. Publié par l'Institut des renseignements scientifiques et techniques du Ministère de l'agriculture, des eaux et des forêts. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Mánesova 75.

■ Výsledky experimentálnych prác s použitím stopových prvkov jednotlive (kobalt) ako aj zmesí stopových prvkov vo výžive hydiny jednoznačne potvrdili potrebu dopĺňovania našich priemyselne vyrábaných krmív pre hydinu (Veliký I., 1954, 1956, 1957, 1961). Stimulačný vplyv v experimentoch použitých zmesí stopových prvkov MEZ-51, ME-V, a MEV-3a, ako aj samostatne pridávaného kobaltu sa pozoroval ako vo zvýšení váhového prírastku, tak aj vo zvýšení životnosti, zvýšenej znáške u pokusných zvierat v porovnaní so zvieratmi, ktoré nedostávali diétu obohatenú o stopové prvky.

V predloženej práci sa uvádzajú výsledky z pokusov s použitím stopových prvkov vo výžive hydiny z hľadiska ich vplyvu na oplodnenie vajec, ich vplyvu na priebeh liahnutia, najmä na životnosť zárodokov, ako aj na počet vyliahnutých kurčiat.

## MATERIÁL A METODIKA

V tejto časti dlhodobých pokusov sa sledovali nosnice — biele leghornky — v piatich skupinách, z ktorých jedna skupina nedostávala prídavok zmesí stopových prvkov do krmiva. Táto skupina slúžila pre porovnanie s pokusnými, ako kontrolná skupina. Označenie skupín sa ponechalo tak ako v predchádzajúcich pokusoch nasledovne:

| skupina   | označenie skupiny |                                  |
|-----------|-------------------|----------------------------------|
| kontrolná | K                 | bez prídavku mikroelementov      |
| pokusná   | P <sub>1</sub>    | s prídavkom kobaltu v diéte      |
| pokusná   | P <sub>2</sub>    | s prídavkom zmesi MEZ-51 v diéte |
| pokusná   | P <sub>3</sub>    | s prídavkom zmesi ME-V v diéte   |
| pokusná   | P <sub>4</sub>    | s prídavkom zmesi MEV-3a v diéte |

Zmes stopových prvkov pridávaná do krmiva v pokusnej skupine P<sub>3</sub> — ME-V — bol vo forme „biologickej“. Táto forma ako aj jej príprava sa popísala v predchádzajúcich našich prácach (Veliký I., 1954).

Vajíčka od nosníc kontrolnej a pokusných skupín sa označovali hneď po znesení, pred nasadením do liahní. V priebehu celého obdobia liahnutia sa nasadilo v kontrolnej skupine spolu 392 ks vajec, v pokusnej skupine P<sub>1</sub> —

393 ks, v skupine P<sub>2</sub> — 422 ks, v skupine P<sub>3</sub> — 401 ks a v pokusnej skupine P<sub>4</sub> — 436 vajec. Tento počet vajec sa liahol v desiatich násadách. Liahnutie sa sledovalo osobitne u každej skupiny podľa označenia. Používali sa liahne typu 3600, v ktorých sa vajíčka rozmiestňovali na lieskách tak, aby všetky skupiny boli v rovnakých podmienkach. V priebehu liahnutia sa dvakrát robili prehliadky vajec. Prvá prehliadka bola na 6-ty deň. V tejto sa vytriedili neoplodnené vajíčka a v druhej prehliadke (3 dni pred vyliahnutím) sa vyradili odumreté zárodky. Týmto spôsobom so získal prehľad o priebehu liahnutia v jednotlivých skupinách. Po vyliahnutí kurčiat sa tieto triedili podľa spôsobnosti k odchovu.

## VÝSLEDKY

Stopové prvky pridávané do krmiva pokusných nosníc a v skupinách prítomných kohútov vplývali ako na oplodnenie vajec tak aj na priebeh liahnutia a životnosť zárodok. V kontrolnej skupine, ktorá nedostávala prídavok stopových prvkov v krmive, bolo oplodnených 76,8 % vajec. V pokusnej skupine P<sub>1</sub> s prídavkom stopového prvku kobaltu bolo oplodnených 96,7 % vajec, čo je najvyššie dosiahnuté množstvo zo sledovaných skupín. Ďalšia pokusná skupina P<sub>4</sub> dosiahla 93,4 % oplodnených vajec, čo je o 16,4 % viac v porovnaní s kontrolnou skupinou. Pokusná skupina P<sub>2</sub> s prídavkom MEZ-51 mala oplodnenie vajec na 90,4 % a pokusná skupina P<sub>3</sub> 83,6 % oplodnených vajec z celkového počtu naložených. Uvedené výsledky sú sumárne, zo všetkých sledovaných násad a z celého počtu naložených vajec. Z výsledkov, ktoré sú shrnuté v tabuľkách I až V a v grafoch 1 a 2 vyplýva, že stopové prvky v podmien-

### I. Kontrolná skupina

| vajíčka<br>zárodky<br>kurčatá | počet kusov | %<br>k naloženým | %<br>k oplodneným |
|-------------------------------|-------------|------------------|-------------------|
| naložené                      | 392         | 100,0            | —                 |
| neoplodnené                   | 91          | 23,2             | —                 |
| oplodnené                     | 301         | 76,8             | 100,0             |
| odumreté zárodky              | 44          | 11,2             | 14,6              |
| vyliahnuté                    | 221         | 56,4             | 73,5              |

### II. Pokusná skupina P<sub>1</sub>

| vajíčka<br>zárodky<br>kurčatá | počet kusov | %<br>k naloženým | %<br>k oplodneným |
|-------------------------------|-------------|------------------|-------------------|
| naložené                      | 393         | 100,0            | —                 |
| neoplodnené                   | 13          | 3,3              | —                 |
| oplodnené                     | 380         | 96,7             | 100,0             |
| odumreté zárodky              | 54          | 13,7             | 14,2              |
| vyliahnuté                    | 260         | 66,2             | 68,4              |



### III. Pokusná skupina P<sub>2</sub>

| vajíčka<br>zárodky<br>kurčatá | počet kusov | %<br>k naloženým | %<br>k oplodneným |
|-------------------------------|-------------|------------------|-------------------|
| naložené                      | 422         | 100,0            | —                 |
| neoplodnené                   | 42          | 9,6              | —                 |
| oplodnené                     | 380         | 90,4             | 100,0             |
| odumreté zárodky              | 31          | 7,3              | 8,2               |
| vyliahnuté                    | 277         | 65,6             | 72,9              |

### IV. Pokusná skupina P<sub>3</sub>

| vajíčka<br>zárodky<br>kurčatá | počet kusov | %<br>k naloženým | %<br>k oplodneným |
|-------------------------------|-------------|------------------|-------------------|
| naložené                      | 401         | 100,0            | —                 |
| neoplodnené                   | 66          | 16,4             | —                 |
| oplodnené                     | 335         | 83,6             | 100,0             |
| odumreté zárodky              | 35          | 8,7              | 10,4              |
| vyliahnuté                    | 260         | 64,9             | 77,7              |

### V. Pokusná skupina P<sub>4</sub>

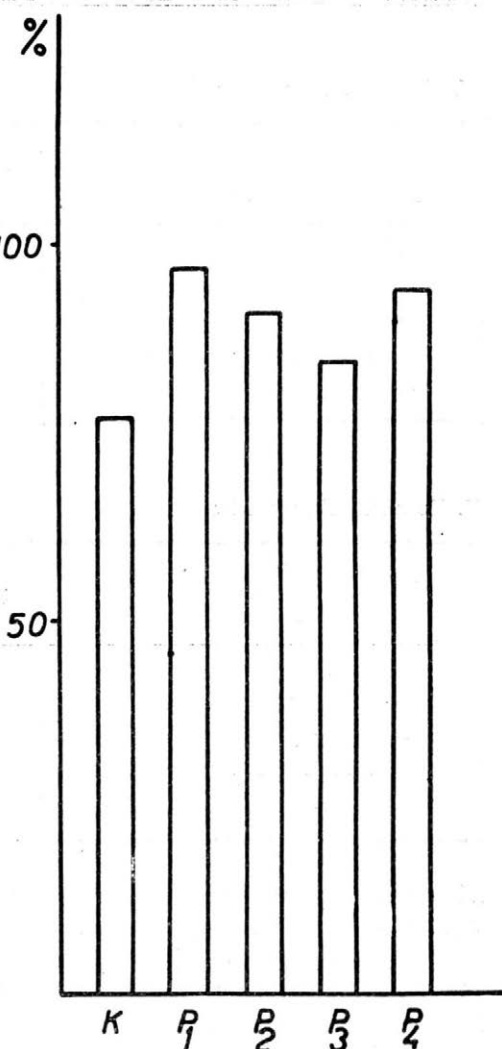
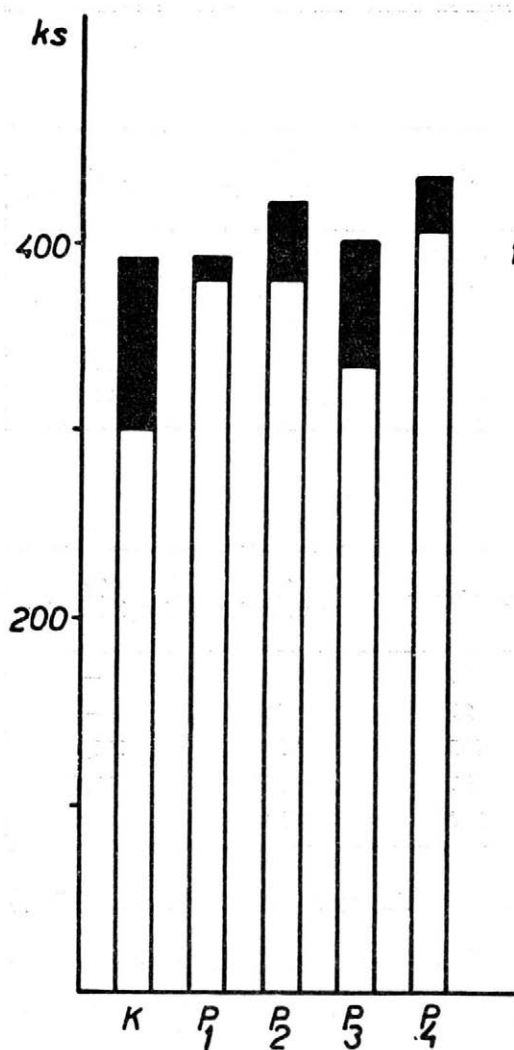
| vajíčka<br>zárodky<br>kurčatá | počet kusov | %<br>k naloženým | %<br>k oplodneným |
|-------------------------------|-------------|------------------|-------------------|
| naložené                      | 436         | 100,0            | —                 |
| neoplodnené                   | 29          | 6,6              | —                 |
| oplodnené                     | 407         | 93,4             | 100,0             |
| odumreté zárodky              | 51          | 11,7             | 12,5              |
| vyliahnuté                    | 327         | 75,0             | 80,4              |

kách nášho pokusu spôsobili zvýšenie oplodnenia vajec od 6,8 % do 19,9 % v pomere ku kontrolnej skupine.

Pozitívny vplyv stopových prvkov sa prejavil aj v ovplyvnení životnosti zárodok pri liahnutí. Po druhej prehliadke mala kontrolná skupina 65,5 % živých zárodok z celkového počtu naložených vajec, skupina P<sub>1</sub> — 82,9 %, skupina P<sub>2</sub> — 82,6 %, skupina P<sub>3</sub> — 74,9 % a skupina P<sub>4</sub> — 81,6 % živých zárodok. V tabuľkách I. až V. sú uvedené údaje o počte celkové odumretých zárodok v priebehu liahnutia vyjadrené na počet oplodnených vajec. I v tomto prípade sa pozitívny vplyv stopových prvkov dá pozorovať z menšieho počtu uhynutých zárodok u vajec zo skupín nosníc s prídavkom stopových prvkov

v diéte. Najnižší počet odumretých zárodokov na počet oplodnených vaje sa pozoroval v pokusnej skupine s prídavkom zmesi stopových prvkov MEZ-51, a to iba 8,2 %, t. j. o 6,4 % menej ako v kontrolnej skupine.

V grafoch 3 a 4 je znázornený výsledok vplyvu stopových prvkov na počet vyliahnutých kurčiat vyjadrený na počet do liahní naložených a taktiež na počet oplodnených vaje. Z výsledkov vyplýva, že počet vyliahnutých kurčiat sa v percentách na množstvo naložených vaje javí vo všetkých skupinách s prídavkom stopových prvkov vyšší v porovnaní s kontrolnou skupinou. Pri vyjadrení počtu vyliahnutých kurčiat na množstvo oplodnených vaje, čo môže byť v našom prípade ukazovateľ priebehu liahnutia a životnosti zárodokov sa



Graf 1. Počet oplodnených a neoplodnených vaje v kusoch z celého počtu naložených vaje

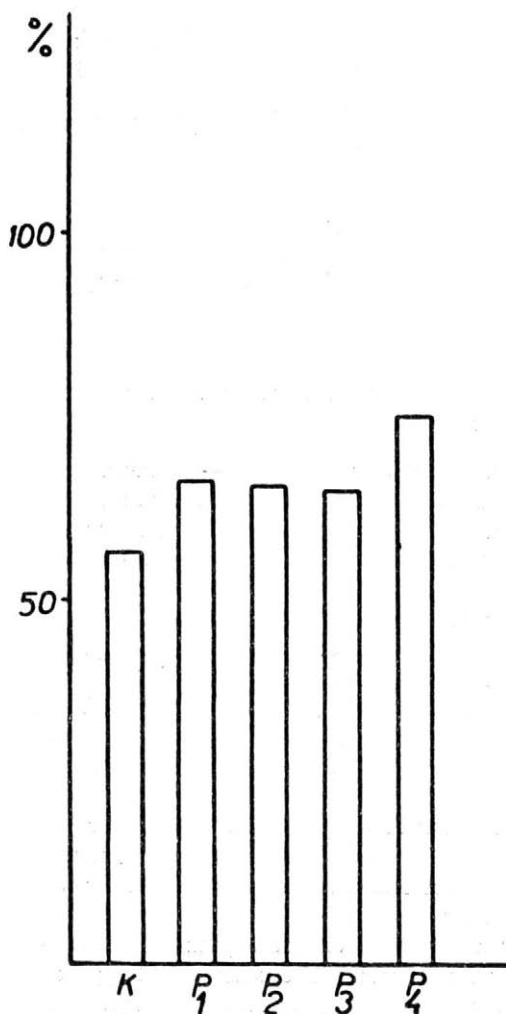
□ oplodnené  
■ neoplodnené

Graf 2. Percento oplodnených vaje z celkového počtu vaje naložených

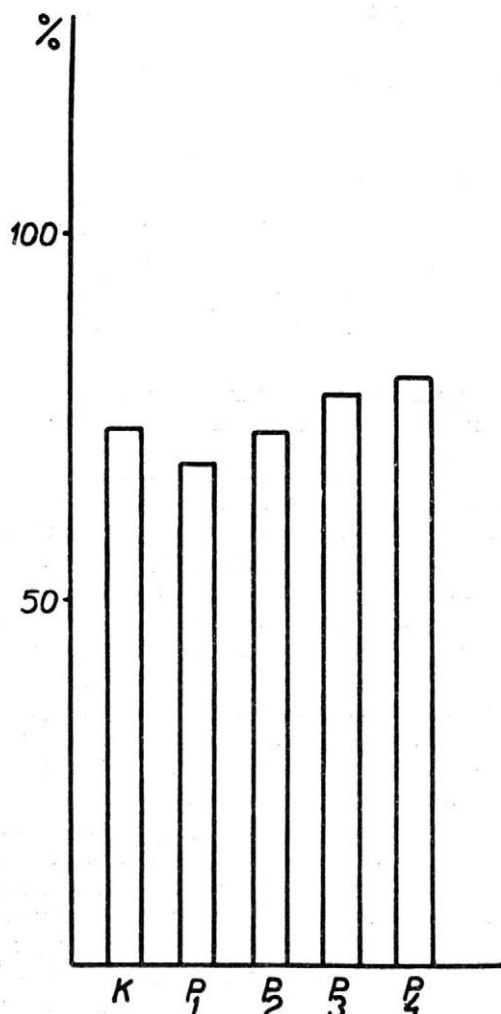
najefektívnejšie ukázala zmes stopových prvkov MEV-3a, t. j. pokusná skupina P<sub>4</sub>, kde bol počet vyliahnutých kurčiat o 6,9 % vyšší v porovnaní s kontrolnou skupinou. Podobne pozitívne pôsobila zmes ME-V („biologická forma“), kde sa pozorovalo o 4,2 % viac vyliahnutých kurčiat ako v kontrolnej skupine.

## SŮHRN

V poloprevádzkových pokusoch s nosnicami — biele leghornky — sledoval sa vplyv stopových prvkov na oplodnenie vajíčok, liahnivosť a životnosť zárodkov. Stopové prvky sa podávali vo forme minerálnych zmesí (pokusná skupina P<sub>2</sub> a P<sub>4</sub>), alebo v „biologickej forme“ (pokusná skupina P<sub>3</sub>), alebo jednotlivé (kobalt v pokusnej skupine P<sub>1</sub>) v krmive nosníc a kohútov v jednotlivých skupi-



Graf 3. Liahnutie v percentách z celkového počtu naložených vajíčok



Graf 4. Liahnutie v percentách z počtu oplodnených vajíčok

nách, okrem skupiny kontrolnej. V každej skupine sa v prebehu pokusu sledovalo a na liahnutie nasadilo priemerne 400 ks vajec. Oplodnenie vajec bolo priekazne vyššie v skupinách, ktorých nosnice dostávali v krmive prídavok zmesí stopových prvkov. Najväčší počet oplodnených vajec bol v pokusnej skupine s prídavkom minerálnej formy kobaltu, a to 96,7 % z počtu naložených vajec, čo je o 19,9 % viac ako v kontrolnej skupine, potom v pokusnej skupine P<sub>4</sub> — 93,4 %, čo je o 16,6 % viac v porovnaní s kontrolnou skupinou, ďalej v pokusnej skupine P<sub>2</sub> — 90,4 %, t. j. o 13,6 % viac v porovnaní s kontrolnou skupinou a v pokusnej skupine P<sub>3</sub> — 83,6 %, čo je o 6,8 % viac ako v kontrolnej skupine. Priaznivý vplyv použitých zmesí stopových prvkov a kobaltu sa pozoroval i v priebehu liahnutia podľa životnosti zárodokov, ako aj podľa počtu vyliahnutých kurčiat.

Počet vyliahnutých kurčiat vyjadrený na počet oplodnených vajec bol u skupiny P<sub>4</sub> o 6,9 % a u skupiny P<sub>3</sub> o 4,2 % vyšší v porovnaní s kontrolnou skupinou.

V práci preukázaný priaznivý vplyv na oplodnenia vajec a liahnutie kurčiat ako primárny fyziologický efekt stopových prvkov sa prejavil i v ďalších pozorovaniach na vyliahnutých kurčatách.

Došlo dňa 16. 7. 1964

## Literatúra

1. Veliký I.: Poľnohospodárstvo SAV, No. 4, 498-515, 1954. — 2. Veliký I.: Záv. zpráva SVŠT, 1956. — 3. Veliký I.: Záv. zpráva SAV, 1956. — 4. Veliký I.: Diz. práca, 1957. — 5. Veliký I.: Vet. čas. SAV, No. 1, 85-94, 1961. — 6. Veliký I.: Vet. čas. SAV, No. 5, 450-456, 1961.

## Микроэлементы в питании домашней птицы. — Действие смесей микроэлементов и кобальта на оплодотворение яиц и выводимость

В полупроизводственных опытах с несушками — белый леггорн — исследовалось влияние микроэлементов на оплодотворение яиц, выводимость и жизнеспособность зародышей. Микроэлементы подавались в форме минеральных смесей (опытная группа P<sub>2</sub> и P<sub>4</sub>, или в «биологической форме» (опытная группа P<sub>3</sub>), или в отдельности (кобальт в опытной группе P<sub>1</sub>) в корме несушек и петухов в отдельных группах, за исключением контрольной группы. В каждой группе в ходе опыта исследовалось и включалось в инкубацию в среднем 40 шт яиц. Оплодотворение яиц было достоверно выше в группах, в которых несушки получали в корме добавку смесей микроэлементов. Наибольшее число оплодотворенных яиц было в опытной группе с добавкой минеральной формы кобальта, а именно 96,7 % из числа инкубируемых яиц, что на 19,9 % больше по сравнению с контрольной группой, затем в опытной группе P<sub>4</sub> — 93,4 %, что на 16,6 % больше чем в контрольной группе, далее в опытной группе P<sub>2</sub> — 90,4 %, т. е. на 13,6 % больше в сравнении с контрольной группой и в опытной группе P<sub>3</sub> — 83,6 %, что на 6,8 % больше в сравнении с контрольной группой. Положительное влияние примененных смесей микроэлементов и кобальта наблюдалось также в процессе выведения как по жизнеспособности зародышей, так по числу вылупившихся цыплят.

Число вылупившихся цыплят в пересчете на число оплодотворенных яиц было у группы P<sub>4</sub> на 6,9, а у группы P<sub>3</sub> на 4,2 % выше в сравнении с контрольной группой.

Доказанное в работе влияние на оплодотворение яиц и выводимость цыплят в качестве первичного физиологического эффекта микроэлементов проявилось и в дальнейших наблюдениях вылупившихся цыплят.



## **Microelements in the Nutrition of Poultry — The Effect of a Mixture of Trace Elements and Cobalt on the Fructification of Eggs and on Hatching**

In semi-operational tests with laying hens — white Leghorns — the influence of trace elements on the fertilization of eggs, on hatchability, and on the vitality of germs was investigated. Trace elements were administered in the form of mineral mixtures (test groups P<sub>2</sub> and P<sub>4</sub>), or in "biological form" (test group P<sub>3</sub>), or singly (cobalt in test group P<sub>1</sub>) in the feeds of laying hens and cocks of the different test groups, with the exception of the control group. In the course of the test each group was observed, and an average of 400 eggs were set for hatching. The fertilization of eggs was significantly higher in the groups the laying hens of which had received a complement of a mixture of trace elements in their feeds. The largest number of fertilized eggs was found in the test group receiving cobalt in mineral form, i. e. 96,7 per cent of the eggs set for hatching, which is more by 13,6 per cent compared with the control group, then followed group P<sub>2</sub> — 90,4 per cent, i. e. by 13,6 per cent more compared with the control group, and test group P<sub>3</sub> — 83,6 per cent, which is more by 6,8 per cent than in the control group. The favourable effect of the applied mixtures of trace elements and cobalt were observed also in the course of hatching according to the vitality of germs as well as according to the number of hatched chicks.

The number of hatched chicks compared with the number of fertilized eggs in group P<sub>4</sub> was higher by 6,9 per cent, and in group P<sub>3</sub> it was higher by 4,2 per cent than in the control group.

The influence on the fertilization of eggs and on the hatching of chicks as a primary physiological effect of trace elements proved in this work appeared also in further observations of the hatched chicks.

## **Mikroelemente in der Geflügelernährung — Wirkung der Spurenelementen-Gemische und des Kobalts auf die Befruchtung der Eier und auf das Brüten**

Bei halbbetrieblichen Versuchen mit Legehennen — weißen Leghorn — verfolgte man den Einfluß der Spurenelemente auf die Befruchtung der Eier, die Brutfähigkeit und Vitalität der Keime. Spurenelemente wurden in Form von Mineralgemischen (Versuchsgruppe P<sub>2</sub> und P<sub>4</sub>), oder in „biologischer Form“ (Versuchsgruppe P<sub>3</sub>), oder einzeln (das Kobalt bei der Versuchsgruppe P<sub>1</sub>) im Futter der Legehennen und Hähne verabreicht, ausgenommen die Kontrollgruppe. Bei einer jeden Gruppe verfolgte man während des Versuches und setzte zum Ausbrüten durchschnittlich 400 Eier an. Die Befruchtung der Eier war bei Gruppen, wo den Legehennen in Futter eine Beigabe von Spurenelementen-Gemischen verabreicht wurde, signifikant höher. Die höchste Anzahl befruchteter Eier wies die Versuchsgruppe mit einer Beigabe von Mineralform des Kobalts auf, u. zw. 96,7 % der Anzahl angesetzter Eier; dies ist gegenüber der Kontrollgruppe um 19,9 % mehr. Es folgt die Gruppe P<sub>4</sub> — 93,4 %, was im Vergleich zur Kontrollgruppe 16,6 % ausmacht; bei der Versuchsgruppe P<sub>2</sub> beträgt die Anzahl befruchteter Eier 90,4 %, d. i. um 13,6 % mehr im Vergleich zur Kontrollgruppe, bei der Gruppe P<sub>3</sub> — 83,6 %, d. i. um 6,8 % mehr als in der Kontrollgruppe. Ein günstiger Einfluß der angewandten Gemische von Spurenelementen und Kobalt wurde auch im Verlauf des Ausbrütens nach der Vitalität der Keime, wie auch nach der Anzahl der ausgebrüteten Küken beobachtet.

Die Anzahl der ausgebrüteten Küken in Gegenüberstellung zur Anzahl der

befruchteten Eier war bei der Gruppe P<sub>4</sub> um 6,9 % und bei der Gruppe P<sub>3</sub> um 4,2 % höher im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Der in der Arbeit bewiesene Einfluß auf die Befruchtung der Eier und Ausbrütung der Kücken, als ein physiologischer Effekt der Spurenelemente, kam auch bei weiteren Beobachtungen der ausgebrüteten Kücken zum Vorschein.

**Doc. inž. Ivan Veliký, CSc.,**  
Slovenská vysoká škola technická,  
chemická fakulta,  
katedra mikrobiológie a biochémie,  
Bratislava, Kollárovo nám. 2.

■ Sterilita a nedostatečné anebo žádné příznaky a projevy říje u skotu zaměstňávají stále více nejen vědecké pracovníky, ale i nejširší chovatelskou a odbornou veřejnost. Tato sterilita je o to závažnější, že se začíná objevovat nejen u jednotlivých zvířat, ale že začíná postihovat skupiny zvířat v chovu anebo dokonce i celá stáda. Bylo by proto přiléhavé i označení tohoto stavu „problem herds“ anebo „problem animals“ (Vandeplasseche, 1957), i když tento autor pod těmito názvy míní stavy poněkud jiné etiologie.

Do této sterility zahrnujeme především případy období service pericly přesahující 3 měsíce. Je nesporné, že tyto stavy velmi citelně zasahují do exploatace skotu a tím se podstatně dotýkají rentability jeho chovu.

Nelze tvrdit, že příčiny tohoto stavu jsou vždy stejné, že jich neexistuje více, anebo že se nesumují.

Četné, tímto problémem se zabývající práce, uvažují o jeho vztahu k umělé inseminaci.

Také tato studie byla inspirována umělou inseminací a postřehy z inseminační praxe, i když se domnívám, že s umělou inseminací mají tyto stavy jen část společného.

## LITERÁRNÍ PŘEHLED

I když se zdá být otázka řízení pohlavních funkcí pochopena a zvládnuta (Gamčík a Sakala, 1960, Sakala, 1958), existuje řada autorů, kteří k plnohodnotné činnosti pohlavního systému u plemen pokládají za nezbytnou přítomnost plemeníka (Rommel, 1961, Flegmatov a Šipilov, 1956, Goranov a Nejčev, 1961, Studencov [cit. Sakala, 1958]).

K reflektorickému řízení pohlavních projevů a chování přiřazují někteří autoři i složku psychickou. Trautwein (1959) zřejmě *per analogiam* sexuální psychologie humánní odůvodňuje nezbytnost druhého pohlaví (same) k dosažení potřebné výše a intenzity jednotlivých pohlavních funkcí a pokládá za velmi naléhavé vyrovnat na tomto poli nedostatky, vyplývající z umělé inseminace, zvýšenou péčí o sexuálně fyzickou a psychickou stránku chovu zvířat. Stejného názoru je i Heinemann (1958), který chybění orgasmu při umělé inseminaci pokládá za vážný nedostatek, který vyvolává poruchy koordinace mezi ovariálními procesy a pohlavním chováním. Orgasmus není luxusní funkcí, nýbrž funkcí zakončující řetěz pohlavních procesů. Jeho chybění pak

vyvolává u některých plemenic psychosexuální poruchy. Důležitost orgasmu pro zabřeznutí a další pohlavní funkce zdůrazňují Goertler (1945), Asdell (cit. podle Döcke, 1962), Conradi (1949).

Ke zcela opačným závěrům dospívají Götze (cit. podle Döcke), Sokolowskyj (cit. podle Götze), kteří poukazují na to, že plemenice se při páření chová zcela pasivně, a proto existenci orgasmu odmítají. Stejného mínění je i Kaemmer (1955), který pro krátkost pohlavního aktu vylučuje orgasmus. Zvýšenou motilitu dělohy při páření vysvětluje přítomností cholinergické látky, která je obsažena v odměšku přidatných pohlavních žláz, a která svým účinkem na parasympatická zakončení způsobuje kontrakce dělohy.

Studiem sexuální psychologie domácích zvířat a zejména u skotu se zabýval i Leidl (1958); ten dospěl k závěrům, že podle dosavadních zkušeností nelze říci, že by se umělá inseminace projevila nepříznivě na pohlavním chování skotu, a že by se po stránce psychosexuální objevily nějaké poruchy. Objevily-li se kdy nějaké — a toto nebezpečí existuje i v budoucnu — pak je to vinou špatné selekce. Podle Wohanky (1962) se výkyvy v projevech říje objevují zcela běžně i v chovech s volným připouštěním. Avšak v těchto chovech s volným připouštěním neunikne anomálie v projevech říje pozornosti plemeníků.

Pohlavní chování je tedy zrcadlem zobrazujícím úroveň některých reprodukčních funkcí, a posloupenost těchto jednotlivých funkcí je vyjádřena určitými fázemi pohlavního cyklu. Každá z těchto fází je charakterizována určitými morfologickými změnami, ze kterých pak opět vyplývají změněné funkce angažovaných orgánů.

Porovnáme-li např. motilitu dělohy za říje a za stavu mimo říji, docházíme k poznání, že příznačným funkčním stavem tohoto orgánu je zvýšená pohybová aktivita ve vlnách ve směru od krčku děložního k rohům, což je stav vyskytující se pouze za vystupňovaného sexuálního citu. Tento stav (tj. říje) je nesporně vyvolán a ovlivňován zvýšenou hladinou estrogenů a cholinergických látek v organismu plemenice. Zvýšená hladina estrogenů zvyšuje dráždivost sexuálního centra v míše k účinku cholinergických složek hypothalamu a parasympatiku. V důsledku zvýšené hladiny cholinergických látek dochází přes hypothalamus ke stimulaci odměšování oxytocinu ze zadního laloku hypofyzy a vlivem oxytocinu ke kontrakcím dělohy, sensibilizované estrogeny. Účinkem oxytocinu dochází dále k brzdění účinku fermentu cholinesterázy, rozkládajícího acetylcholin. Tím se zvyšuje v okolí parasympatiku hladina acetylcholinu, a účinkem acetylcholinu se zpětně tlumí činnost fermentu rozkládajícího oxytocin. Vysoká hladina oxytocinu tlumí pak aktivitu žlutého tělíska, jak experimentálně prokázali po parenterálním podávání tohoto produktu zadního laloku hypofyzy Armstrong a Hanzel (1959) nálezem zmnožené vazivové složky ve tkáni žlutého tělíska a zkrácením intervalu mezi říjemi u jalovic. Tím se doplňuje kruh ovlivňující sexuální dění a sexuální projevy u plemenic.

Tyto skutečnosti jsou i dále dokládány experimentálně.

Současné jednorázové parenterální zvýšení hladiny estrogenů a cholinergických látek vyvolá zvýšenou pohyblivost dělohy typickou pro říji, avšak k vyvolání fyziologicky významného stavu pro reprodukci — ovulaci — nestačí. Cholinergické látky jsou totiž v krvi velmi rychle rozkládány, takže se musí podávat po delší dobu, aby mohly přes hypothalamus dosáhnout gonadotropního účinku hypofyzy a vyvolat ovulaci. Estrogeny bez cholinergenů ovulaci samozřejmě nevyvolají.

Zůstávají tedy obě řídicí skupiny — hormonální a nervová — ve své činnosti a na výsledcích tak závažných pro organismus trvale a nerozlučně spojeny. Jedna je závislá na druhé, obě nezačínají ve svém působení najednou, a přitom se obě vzájemně ovlivňují.

Mezi zevním prostředím a organismem a zejména mezi jeho systémem vnitřně sekretorickým je nepochybným prostředníkem nervový systém. Neurohumorální látky hypothalamu, vyprodukované pod vlivem nervových podnětů a řídicí výdej gonadotropinů jsou svými účinky na pohlavní aparát identické jak s adrenalinem, tak s acetylcholinem. A různým poměrem adrenalinu a acetylcholinu si můžeme vysvětlit rozdíly v sexuálních projevech různých druhů domácích zvířat (D o c k e, 1962).

Pohlavní projevy a sexuální činnost jsou tedy nesporně předznamenávány nejrozličnějšími vlivy okolí a zevního prostředí. Tyto vlivy jsou vědomě anebo podvědomě recipovány organismem. Recepce těchto vlivů probíhá přes řadu receptorů.

V nejjednodušším případě recipuje podnět, mající přímý a bezprostřední vztah k pohlavní činnosti, pohlavní aparát. Přes sexuální centrum v míše a malý reflexní oblouk dochází po recepci takového podnětu k odezvě v samotném pohlavním aparátu (erektce *clitoridis*, kontrakce dělohy). Při sumaci podnětů takto recipovaných jsou podněty vedeny výše až k hypothalamu, a do stimulace pohlavní činnosti se zapojuje endokrinní aparát (hypofýza). Složitější stimulace pohlavní činnosti může ještě nastoupit přes velký mozek (zrak, čich, sluch), ovšem opět přes hypothalamus. Můžeme proto oprávněně předpokládat, že sexuální centrum v hypothalamu je ovlivnitelné některou z těchto cest a že tedy i umělé podněty sumované při recepci v pohlavním aparátu mají v této křížovce nervového a humorálního systému za následek odezvy v pohlavních projevech u plemenic.

## VLASTNÍ PRÁCE

V obvodu plemenářského střediska V. bývalého okresu V. byly nápadné rozdíly ve výsledcích zabřezávání plemenic skotu mezi jednotlivými inseminacními technikami. Analyzováním počtu neříjících se plemenic v obvodech jednotlivých inseminacních technik bylo nápadné, že ve výsledcích zabřezávání a v počtu sterilních plemenic (přesněji řečeno jalových) a v počtu prvních inseminací měli lepší výsledky technici malých postav než technici velcí.

Při vysvětlování této skutečnosti se vnucovala domněnka, že podstatný podíl na těchto výsledcích má bezděčná masáž krajiny ventrální komisy při inseminacních zákrocích inseminacními technikami malých postav.

Pod dojmem takového výkladu rozdílnosti ve výsledcích inseminacní činnosti bylo přistoupeno u krav a jalovic s nedostatečnými projevy říje k pokusu o stimulaci pohlavních funkcí těchto plemenic expozicí krajiny ventrální komisy podobným podnětům, které působily na tuto krajinu při práci inseminacních techniků.

Bylo proto provedeno od r. 1958 do r. 1962 celkem 35 sérií masáží krajiny klitoris u plemenic různých chovatelů i chovů JZD v obvodu plemenářského střediska V. bývalého okresu V. (viz tabulku). Indikací k zákroku bylo anamnestické udání nedostavení se říje u plemenic déle než 3 měsíce po porodu, po gynekologickém vyšetření s vaječníky normálních velikostí a normální (tuhelastické) konzistence, bez útvarů imponujících jako patologické

stavy. K zákroku byly vybrány jen ty chovy, ve kterých svědomitý ošetřovatel anebo majitel splňovali předpoklad přesného provedení masáže, neboť po první masáži, kterou provedl autor sám, měli masáž provést ošetřovatelé anebo majitelé sami. Ze zákroku byly tedy vyloučeny všechny plemenice s onemocněními částí pohlavního aparátu, zjistitelnými tímto vyšetřením. První masáž byla provedena přibližně měsíc po tomto gynekologickém vyšetření. Opakované vyšetření, zejména útvarů jevicích se jako žlutá tělíska, nebylo provedeno záměrně, aby ať již relektoricky nebo mechanicky při opětovných vyšetřeních nebylo zasahováno do jejich spontánního vývoje.

Vlastní masáž přijímaly všechny plemenice stejným způsobem: charakteristickým prohýbáním v bedrech, odtahováním ocasu, někdy i zanecháním přijímání potravy a rytmickým svíráním zevního svěrače řitního projevovaly sexuální libido. Po různě dlouhé době první masáže (od 50 vt do 7 min) začaly plemenice klást odpor uhýbáním zádě a neklidem. Tato situace byla indikací k přerušení masáže.

Masáž byla prováděna přes stydké pysky buď jejich uchopením a masáží v místě ventrální komisury, nebo naolejovaným prstem lehce přímo *corporis clitoridis*. Technika masáže nebyla pro vyvolání říje rozhodující. Masáž byla prováděna jednou denně bez nějaké pravidelnosti. Počet jednotlivých masáží byl stanoven na dobu jednoho týdne, avšak z nejrůznějších příčin nebyl počet masáží dodržen, takže došlo ke zvýšení anebo ke snížení počtu masáží. Efekt masáže byl posuzován podle zápisu v inseminační kartě o připuštění a výsledek inseminace eventuálním vyšetřením inseminačním technikem na březost.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky u krav ošetřených masáží krajiny kolem *clitoris* jsou souborně uvedeny v připojené tabulce.

Otázka zkrácení service perody, respektive obnovení anebo zezřetelnění pohlavních funkcí není jen teoretického, ale zejména praktického významu.

Posouzení klinických nálezů u vyšetřovaných a ošetřovaných plemenic vyvolává domněnku, že projevy říje, jakožto manifestace pohlavní činnosti, unikají často pozornosti ošetřovatelů a chovatelů plemenic a jsou často jako tzv. acyklické stavy hodnoceny. Při pozornějším posuzování chování zvířete a změn na pohlavním aparátu by se jistě našly ve většině případech změny, které by dovozovaly vyloučit tyto stavy jako příčiny neplodnosti. Uznáme-li však z klinického hlediska slabou intenzitu říje jako symptom, pak je již příčina známa. Je však velmi nesnadné najít mezi těmito stavy nějaké dělítko a zejména po stránce morfologické a funkční postihnout jejich závislosti. Takováto neplodnost je na hranici zdánlivé neplodnosti (neúmyslně umělé), tkvící v nedokonalosti našich smyslů nebo vědomostí, a neplodnosti faktické, pramenící z nedostatečné funkce, ať již neznámé nebo nepostižitelné etiologie.

Značná část terénních případů neplodnosti je i odborníky v terénu, zejména v důsledku nedostatečného počtu opakovaných vyšetření, pokládána za ovariální acyklii.

V řadě případů sterility z nedostavení se říje je totiž ošetřovatelem hlášená sterilita odstraňována často pozorným přešetřením plemenice inseminačním technikem a vyvrácena zabřeznutím plemenice po provedené inseminaci za zjištěné tiché říje. V řadě jiných případů je opět veterinární službou odstraňována sterilita hlášená inseminačním technikem jako acyklie. Je proto



| Pořadové číslo | Majitel     | Rekvalifikace na vojenských                    |                                                |                           | Stáří plemenníků při maslích a označení | Datum posledního porodu | Přiblížení porodu a puerperia | Rje mzi posledním porodem a maslím | Délka anestrus od posledního porodu do masla | Délka anestrus od posledního porodu do masla | 1. den masla, doba masla, chování při maslích | Počet masla | Datum rje                | Datum inseminace po maslích | Počet dnů od první masla do rje | Zabíjení po maslích a bázov, Další spotas. rje | Měsíc vyšetření na bázov, event. poznámky |
|----------------|-------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------|-------------------------|-------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------|
|                |             | Větlost                                        | Povrch                                         | Blatiznost                |                                         |                         |                               |                                    |                                              |                                              |                                               |             |                          |                             |                                 |                                                |                                           |
| 1              | Novák M. R. | oba nepr. ševsky                               | několik útvarů velkých čoký                    | tuhoel.                   | 15 r. č. 129                            | 30. 8. 1957             | norm.                         | —                                  | 6 měsíců                                     | —                                            | 26. 2. 1958 2 min.                            | 5           | 3. 3. 1958               | 4. 3. 1958                  | 5                               | jal. —                                         | —                                         |
| 2              | Picha P.    | větší lísk. ořech, podél. oválné               | povrch mírně nerovný                           | tuhoel.                   | 13 r. č. 14                             | 13. 2. 1958             | norm.                         | —                                  | 3 měsíce 2 dny                               | —                                            | 15. 5. 1958 1,5 min.                          | 6           | 24. 5. 1958              | 24. 5.                      | 9                               | —                                              | srpen 1958                                |
| 3              | Vojta P.    | oba kaštanu, levý menší                        | levý vejč. folik. velk. hrachu                 | tuhoel.                   | 12 r. č. 127                            | 15. 2. 1958             | norm.                         | —                                  | 3 měsíce 7 dnů                               | —                                            | 23. 5. 1958 3 min.                            | 7           | 18. 6. 1958              | 18. 6.                      | 26                              | —                                              | říjen 1958                                |
| 4              | Přichová D. | oploštělá ševsky, levý menší                   | povrch obou nerovný                            | tuhoel.                   | 11 r. č. 90                             | 3. 10. 1957             | norm.                         | —                                  | 4 měsíce 2 dny                               | —                                            | 7. 2. 1958 2,5 min.                           | 4           | 13. 2. 1958              | 13. 2.                      | 6                               | —                                              | březen 1958                               |
| 5              | Štech M.    | levý větší bobu, pr. ševsky                    | pr. vejč. št. št. velk. hrachu                 | tuhoel.                   | 5 r. č. 99                              | 30. 11. 1957            | norm.                         | —                                  | 1. 5 měs. 13 dnů 2. 12 min.                  | 1. — 2. 6 měs. 2. 23. 11. 1958 4 min.        | 1. 13. 5. 2. 23. 11. 1958 4 min.              | 5           | 1. 23. 5. 2. 9. 12. 1958 | 24. 5. 9. 12. 1958          | 10 16                           | 1. jal. 2. —                                   | únor 1959                                 |
| 6              | Soukup K.   | levý kaštanu, pr. bobu, vejce                  | oba mírně nerovný                              | tuší                      | 10 r. č. 82                             | 21. 9. 1957             | norm.                         | 21. 1. 1958 insem.                 | —                                            | 6 měsíců 14 dnů                              | 5. 7. 1958 3 min.                             | 7           | —                        | —                           | —                               | —                                              | v listopadu 1958 skácena ov.              |
| 7              | Piera K.    | oba ševsky                                     | levý tuhý útvar do velk. hrachu                | tuhoel.                   | 14 r. č. 195                            | 24. 3. 1958             | norm.                         | —                                  | 4 měsíce 3 dny                               | —                                            | 27. 7. 1958 3 min.                            | 6           | 7. 8. 1958               | —                           | 10                              | —                                              | jesky                                     |
| 8              | Míkeš K.    | 1. ševsky pr. větší                            | pr. útvar velk. čoký 1. mírně nerovný          | málo pohybl. mírně bobat. | 15 r. č. 118                            | 10. 7. 1957             | norm.                         | 6. 3. a 8. 4. 1958 insem.          | —                                            | 3 měsíce 12 dnů                              | 23. 7. 1958 1 min.                            | 6           | —                        | —                           | —                               | —                                              | v prosinci 1958 skácena ov.               |
| 9              | JZD K.      | oba většinou bobu                              | oba mírně nerovný                              | tuhoel.                   | 2,5 r. č. 336                           | 23. 4. 1958             | norm.                         | —                                  | 3 měsíce 2 dny                               | —                                            | 2. 9. 1958 2 min.                             | 7           | 9. 9. 1958               | —                           | 7                               | —                                              | jesky                                     |
| 10             | Hájek K.    | 1. ovál. lísk. of., pr. malé ševsky            | pr. folik. velk. hrachu 1. mírně nerovný       | tuhoel.                   | 8 r. č. 189                             | 9. 5. 1958              | norm.                         | —                                  | 5 měsíců 1 den                               | —                                            | 10. 10. 1958 4 min.                           | 5           | 18. 10. 1958             | —                           | 8                               | —                                              | jesky                                     |
| 11             | Míkeš K.    | oba malého oploš. kaštanu                      | oba nerovný povrch                             | tuhoel.                   | 10 r. č. 16                             | 20. 5. 1958             | norm.                         | —                                  | 4 měsíce 21 dnů                              | —                                            | 10. 10. 1958 2,5 min.                         | 8           | 20. 10. 1958             | —                           | 10                              | —                                              | jesky                                     |
| 12             | Picha Ch.   | 1. většinou bobu, pr. ovál. lísk. ořechu       | oba několik útvarů velk. hrachu                | tuhoel.                   | 12 r. č. 81                             | 21. 5. 1958             | norm.                         | —                                  | 4 měsíce 21 dnů                              | —                                            | 5. 10. 1958 3 min.                            | 5           | 13. 10. 1958             | 13. 10.                     | 8                               | jal. —                                         | —                                         |
| 13             | JZD K.      | 1. malé ševsky, pr. větší bobu                 | 1. několik nup. útvarů od velk. čoký až hrachu | tuhoel.                   | 2 r. č. 236                             | 9. 5. 1958              | norm.                         | —                                  | 4 měsíce 14 dnů                              | —                                            | 22. 11. 1958 7 min.                           | 6           | 30. 11. 1958             | —                           | 8                               | —                                              | jesky                                     |
| 14             | JZD K.      | pr. kaštanu 1. protáhlé ševsky                 | levý na pólech útvar velk. hrachu              | tuhoel.                   | 2 r. č. 363                             | jakovice                | —                             | 21. 6. 1958 insem.                 | —                                            | 4 měsíce                                     | 22. 11. 1958 3 min.                           | 6           | 30. 11. 1958             | —                           | 8                               | —                                              | jesky                                     |
| 15             | JZD K.      | 1. bobulí vejce, pr. oploš. kaštanu            | pr. nerovný, útvar velk. čoký                  | tuhoel.                   | 3 r. č. 265                             | 12. 5. 1958             | norm.                         | 21. 8. 1958 insem.                 | —                                            | 3 měsíce 18 dnů                              | 6. 12. 1958 3,5 min.                          | 5           | 11. 12. 1958             | —                           | 5                               | —                                              | jesky                                     |
| 16             | Brů M. R.   | oba protáhlé vejce bol.                        | oba nerov. štáhlé vejce bol.                   | tuhoel.                   | 16 r. č. 155                            | 21. 2. 1958             | norm.                         | 27. 8. 1958 insem.                 | —                                            | 3 měsíce 5 dnů                               | 2. 12. 1958 4,5 min.                          | 7           | 13. 12. 1958             | 13. 12.                     | 11                              | —                                              | březen 1958                               |
| 17             | Hauzer A.   | oba vět. bobu                                  | oba nerov.                                     | tuhoel.                   | 13 r. č. 101                            | 3. 10. 1957             | norm.                         | 25. 3. 1958 insem.                 | —                                            | 6 měsíců                                     | 23. 9. 1958 2 min.                            | 8           | 16. 10. 1958             | 16. 10.                     | 23                              | —                                              | leden 1959                                |
| 18             | Šimák M. B. | větší ovál. lísk. ořech                        | 1. folikul. velk. malého hrachu                | tuhoel.                   | 10 r. č. 139                            | 23. 8. 1958             | norm.                         | 1. 6. 11. 50 2. 23. 1. 59 insem.   | 1. 2 měs. 17 dnů 2. 5. 50 insem.             | 1. 10. 1. 1959 2. 10. 1. 1959                | 1. 23. 1. 2. 10. 1. 1959                      | 7           | 23. 1. 1959              | 23. 1. 10. 6.               | 13 4                            | jal. —                                         | —                                         |
| 19             | Brych B. H. | oba vět. bobu                                  | pr. na před. polu nerov.                       | tuhoel.                   | 10 r. č. 379                            | 30. 6. 1958             | norm.                         | 1. 2. 23. 2. 1959 insem.           | 7 měsíců 12 dnů 6 měsíců 27 dnů              | 1. 12. 2. 1959 2. 25. 9. 1959                | 1. 23. 2. 1959 2. 30. 9. 1959                 | 8 5         | 23. 2. 1959              | 23. 2. 30. 9.               | 11 5                            | jal. —                                         | —                                         |
| 20             | JZD V. B.   | 1. fazole pr. bobu                             | oba nerov.                                     | tuhoel.                   | 10 r. č. 193                            | 5. 11. 1958             | norm.                         | —                                  | 3 měsíce 14 dnů                              | —                                            | 21. 2. 1959 1 min.                            | 5           | 26. 2. 1959              | 26. 2.                      | 5                               | —                                              | březen 1959                               |
| 21             | Picha S.    | pr. protáhlé ševsky, 1. ovál. lískového ořechu | oba několik folik. velk. čoký                  | tuhoel.                   | 14 r. č. 105                            | 10. 9. 1957             | norm.                         | —                                  | 8 měsíců                                     | —                                            | 10. 5. 1958 2,5 min.                          | 7           | 20. 5. 1958              | 20. 5.                      | 10                              | jal. 28. 6. 1958                               | — září 1959                               |
| 22             | Fenc V. B.  | 1. kaštanu, pr. oploš. ševsky                  | oba nerovný                                    | tuhoel.                   | 8 r. č. 6                               | 25. 12. 1958            | norm.                         | —                                  | 3 měsíce 3 dny                               | —                                            | 28. 3. 1959 3,5 min.                          | 7           | 7. 4. 1959               | —                           | 9                               | —                                              | jesky                                     |
| 23             | JZD V. B.   | oba oploš. kaštanu                             | místy nerovný                                  | tuhoel.                   | 13 r. č. 101                            | 12. 12. 1959            | norm.                         | —                                  | 5 měsíců 1 den                               | —                                            | 13. 5. 1959 1,5 min.                          | 7           | 30. 5. 1959              | —                           | 17                              | —                                              | —                                         |
| 24             | Tomán K.    | 1. vel. bobu, pr. ševsky                       | pr. na pólu útvar velk. hrachu                 | tuhoel.                   | 10 r. č. 20                             | 27. 3. 1959             | norm.                         | —                                  | 3 měsíce 31 dnů                              | —                                            | 21. 6. 1959 5 min.                            | 8           | 5. 7. 1959               | 5. 7.                       | 14                              | jal. 3. 10. 1959                               | — jal. —                                  |
| 25             | Konvička K. | oba vět. bobu                                  | oba nerovný                                    | tuhoel.                   | 12 r. č. 41                             | 31. 10. 1958            | norm.                         | občas známka tiché rje             | 13 měsíců 10 dnů                             | —                                            | 5. 12. 1959 4 min.                            | 5           | 10. 12. 1959             | 10. 12.                     | 5                               | —                                              | jesky 1960 skácena o.                     |
| 26             | Švec V.     | oba fazole                                     | mírně nerovný                                  | tuší                      | 13 r. č. 475                            | 13. 4. 1959             | norm.                         | 3. 8. a 24. 8. 1959 insem.         | —                                            | 3 měsíce 9 dnů                               | 3. 12. 1959 3 min.                            | 7           | —                        | —                           | —                               | —                                              | —                                         |
| 27             | Brabec T.   | 1. ševsky, pr. kaštanu                         | 1. na pólu folikul. velk. hrachu               | tuhoel.                   | 14 r. č. 112                            | 30. 7. 1959             | norm.                         | —                                  | 4 měsíce 25 dnů                              | —                                            | 25. 12. 1959 2,5 min.                         | 8           | 6. 1. 1960               | 6. 1.                       | 11                              | jal. —                                         | —                                         |
| 28             | Švitek V.   | oba velkého bobu                               | nerovný                                        | tuhoel.                   | 3 r. č. 913                             | 20. 10. 1960            | norm.                         | —                                  | 3 měsíce 13 dnů                              | —                                            | 2. 2. 1960 4,5 min.                           | 6           | 10. 2. 1960              | —                           | 8                               | —                                              | jesky                                     |
| 29             | Kvěčková V. | oba ovál. ořechu                               | oba mírně nerovný                              | tuší                      | 16 r. č. 513                            | 20. 6. 1959             | norm.                         | —                                  | 3 měsíce 23 dnů                              | —                                            | 13. 10. 1959 5 min.                           | 7           | 21. 10. 1959             | 21. 10.                     | 8                               | jal. —                                         | březen 1960 skácena o.                    |
| 30             | JZD B.      | 1. fazole pr. bobu                             | nerovný                                        | tuhoel.                   | 7 r. č. 0121                            | 10. 10. 1961            | norm.                         | —                                  | 5 měsíců 14 dnů                              | —                                            | 24. 3. 1962 4 min.                            | 4           | 28. 3. 1962              | 29. 3.                      | 4                               | —                                              | červen 1962                               |
| 31             | JZD B.      | oba větších bobu, pr. větší                    | útvar velk. hrachu a čoký                      | tuhoel.                   | 7 r. č. 130                             | 13. 9. 1961             | norm.                         | —                                  | 7 měsíců                                     | —                                            | 24. 3. 1962 3 min.                            | 4           | 28. 3. 1962              | 28. 3.                      | 4                               | —                                              | červen 1962                               |
| 32             | JZD B.      | oba bobu                                       | oba nerovný                                    | tuhoel.                   | 1½ r. bez                               | jakovice                | —                             | —                                  | —                                            | —                                            | 24. 3. 1962 2,5 min.                          | 6           | 30. 3. 1962              | 30. 3.                      | 6                               | —                                              | červen 1962                               |



otázka sterility na podkladě acyklie velmi relativní, i když by tato relativita neměla existovat.

S rozšiřováním a rozvíjením umělé inseminace je otázka sterility na podkladě odchýlných funkcí celého aparátu angažovaného na reprodukci velmi naléhavá. Otázka plnohodnotné funkce, jakou je kvalitní říje, není ve volném chovu nebo při připouštění z ruky takového významu. Plemeník dokáže svými smysly a instinkty úspěšněji diferenciaciálně diagnosticky zasahovat z hlediska časové a vůbec principiální vhodnosti než člověk v řízeném chovu, a asymptomatická sterilita neexistuje.

K úspěšnému zásahu člověka do rozmnožování skotu jsou proto potřebné mnohem výraznější symptomy pohlavní připravenosti než pro plemeníka. Proto nezbyvá než do tohoto nezřetelnování zapojit všechny mechanismy zapojené při přirozené kohabitaci.

Při analyzování jednotlivých fází pohlavního aktu je nesporné, že zevní pohlavní ústrojí, a zejména krajina *clitoridis*, jsou při kohabitaci vystaveny mechanickému podráždění pyjem býka. Toto podráždění se odráží ve stimulaci činnosti vnitřních pohlavních orgánů včetně činnosti pohlavních žláz na podkladě mechanismů uváděných vpředu.

Stimulování pohlavní činnosti při koitu je mimo jiné demonstrováno erekcí *clitoridis*.

Při umělé masáži této krajiny je rovněž markantní erekce tohoto homologa pyje, nehledě i k ostatnímu změněnému chování plemenice. Tato analogie mezi projevy sexuálního libida při koitu a při masáži, a výsledky masáže v podobě říje a připuštění nás opravňují k závěru, že takováto lokalizace mechanických podnětů je schopna stimulovat pohlavní činnost.

Méně průkazně (pro malý počet případů) podepírá mechanismus této stimulace konstatování, že u případů suspektního patologického nálezu (čís. v tabulce 6, 8, 26 a 29) byl efekt masáže zcela bez účinku.

Porovnáme-li klinický nález před provedením masáže, anamnézu o posledním porodu a 4 případy podezřelého klinického nálezu (č. 6, 8, 26 a 29), můžeme uzavřít, že kladný efekt masáže můžeme očekávat jen od organismu neatakovaného chorobným procesem v pohlavním aparátu. Nezodpovězena zůstává ještě otázka, jak hodnotit ty případy negativního výsledku masáže v manifestaci říje, kdy je klinický nález na vaječnících bez chorobných změn. Zde by bylo nutné zásadně rozhodnout otázku klinické poznatelnosti zdravotního stavu dalších cest *viae cerebrum* — *hypothalamus* — *ovarii*, respektive dalších angažovaných komponent neurohumorálního komplexu.

Proto 9 nezabřeznutí z 20 případů připuštění je možno vysvětlit nevhodnou dobou inseminování vzhledem k ovulaci, neboť časová vhodnost připuštění je okolností, která má svou důležitost. A zatím jsme nedokázali ve všech případech volit tuto dobu alespoň tak vhodně jako plemeník.

## SOUHRN

U 32 krav a jalovic s nedostatečnými anebo údajně chybějícími příznaky říje byla prováděna jednou denně průměrně po dobu 6 dnů (4–8) masáž krajiny klitoris. Jednotlivá masáž trvala od 50 vteřin do 7 minut. Indikací k ukončení masáže byl odpor plemenice.

Celkem bylo provedeno 35 sérií masáží, z toho u 3 plemenic ve dvou různých pohlavních cyklech. Pro laika zřetelná říje po masáži se dostavila jen

u plemenic bez chorobných změn na vaječnicích, a to v 31 případech (86 %), v průměru za 9 dnů (4–26 dnů). Nedostavila se ve 4 případech u plemenic s poruchami vaječníku ( $\approx 12\%$ ). Z 20 připuštěných krav byla prokázána gravidita v 11 případech ( $\approx 54\%$ ) s inseminačním indexem 1,8.

Vyvolání říje lze vysvětlit cestou pohlavní aparát-hypothalamus-hypofyza-ovaria, kdy se uvolňují cholinergické látky a oxytocin, jejichž vlivem se tlumí aktivita žlutého tělíska. Nižší aktivitou žlutého tělíska se zvýší hladina estrogenních látek a tím se zvyšuje citlivost sexuálního centra a manifestuje říje.

Vděčnou indikací k masáži jsou stavy bez organických změn na reprodukčním aparátu, zejména na vaječnicích.

Praktický význam masáže klitorisu spočívá ve zkrácení extrémně dlouhé service periody zezřetelněním anebo evokací projevů říje. Zárok není technicky náročný a může být po předchozí instruktáži prováděn kterýmkoliv odborně zdatným a svědomitým ošetřovatelem.

Došlo dne 9. 10. 1964

## Literatura

1. Asdell S. H.: cit. podle Döcke, 1962. — 2. Armstrong D. T., Hansel W.: *Journal Dairy Sci.* 42, 3, 533-542, 1959. — 3. Azimov G. I., Kricin D. J., Popov N. F.: *Fyziológia hosp. zv.* Bratislava 1958. — 4. Conradi H.: *Monatshefte f. Vet. Med.*, 4, 1, 1949. — 5. van Demark N. L.: *Zuchthygiene, Fortpflanzungsstör.*, Besamung d. Haustiere, 4, 1-12, 1960. — 6. Döcke F.: *Archiv f. Exp. Vet. Med.*, 56, 1205-1307, 1962. — 7. Döcke F.: *Veterinární medicína*, 7, 6/7, 457-467, 1962. — 8. Flegmatov N. A., Šipilov V. S.: *Veterinarija*, 12, 53-61, 1956. — 9. Gamčík P., Sakala J.: *Sterilita hov. dobytka*, SVPL Bratislava 1960. — 10. Goertler V.: *Tierärztl. Zeitschr.* 213, 19, 1945. — 11. Goranov Z., Nejčev O.: *Naučni trudove*, Sofia 9, 161-167, 1961. — 12. Götze R.: cit. podle Döcke. — 13. Heinemann F.: *Zuchthyg., Fortpflanzungsstör.*, Besamung d. Haustiere, 2, 235-265, 1958. — 14. Hubenov M.: *Zuchthyg., Fortpflanzungsstör.* Besam. d. Haustiere, 5, 6, 402-408, 1961. — 15. Kaemmerer K.: *Monatsh. f. Tierheilk.*, 7, 87, 1955. — 16. Leidl W.: *Tierzüchter*, 10, 333-336, 1958. — 17. Prachoff R.: *Wiener tierärztl. Monatsschr.*, 45, 114, 1958. — 18. Rommel W.: *Monatshefte f. Vet. Med.*, 16, 19-25, 1961. — 19. Radford P.: *Vet. Rec.* 73, 40, 968-972, 1961. — 20. Rieck G. W.: *Sterilita asintomatica nel bovino*. *Clin. vet.* 86, č. 2, str. 73, č. 5, str. 258, 1963. — 21. Sakala J.: *Veterinářství*, VIII, 6, 221, 1958. — 22. Sokolovskij W.: cit. podle Götze. — 23. Trautwein K.: *Zuchthyg., Fortpflanzungsstör.*, Besamung d. Haustiere, 3, 193-204, 1959. — 24. Ullner W.: *Tierärztl. Umschau*, 15, 7, 210-214, 1960. — 25. Vandeplassche M.: *Wiener tierärztl. Monatsschr.* 8, 449, 1957. — 26. Wohanka K.: *Zuchthyg., Fortpflanzungsstör.*, Besamung d. Haustiere, 6, 5, 315-336, 1962.

**Рефлексные вызовы охоты у некоторых особей крупного рогатого скота с малозаметными или как будто отсутствующими признаками охоты**

У 32 коров и телок с недостаточными или как будто отсутствующими признаками охоты в течение 6 дней (4–8) 1 раз в день проводился массаж клитора. Отдельный массаж длился от 50 секунд до 7 минут. Сигналом для прекращения массажа было сопротивление животного.

Всего было проведено 35 серий массажей, в том числе у 3 племенных коров в двух разных половых циклах. Для неспециалиста заметная охота после массажа наступила только у племенных коров без болезненных изменений яичников, а именно в 31 случае (86 %), в среднем через 8 дней (4–26 дней). В 4 случаях у племенных коров с нарушениями яичников охота не наступила ( $\approx 12\%$ ). Из 20 слученных коров беременность была доказана в 11 случаях ( $\approx 54\%$ ) с индексом осеменения 1,8.

Вызывание охоты можно объяснить путем: половой аппарат — гипоталамус — гипофиза — яичники, когда освобождаются холинергические вещества и окситоцин, под

влиянием которых тормозится активность желтого тела. Более низкой активностью желтого тела повышается уровень эстрогенных веществ, а тем самым повышается чувствительность сексуального центра, после чего появляются признаки охоты.

Хорошей индикацией для массажа являются состояния без органических изменений полового аппарата, в особенности яичников.

Практическое значение массажа клитора заключается в сокращении чрезмерного длинного сервис-периода, благодаря усилению или вызову признаков охоты. Это вмешательство с технической точки зрения не требовательное и после соответствующего инструктажа может быть проведено любым опытным и добросовестным скотником.

### **Reflexive Provoking of the Rut in some Individuals of Cattle with slightly distinct or apparently missing Signs of the Rut**

A massage of the clitoris region was being carried out in 32 cows and heifers with insufficient or allegedly missing signs of the rut once a day on an average for six days (4—8). One massage lasted from 50 sec. to 7 min. An indication for stopping the massage was the refusing attitude of the breeding animal.

On the whole 35 series of massages were carried out with 3 of them in 3 breeding animals of two different stages of the sexual cycle. The rut evident for a layman arose in the breeding animals without pathologic changes of the ovaries only, and that in 31 cases (86 %) on an average in 8 days (4—26 days). The rut did not arise in 4 cases in the breeding animals with lesions of the ovaries (12 %). The gravidity was proved in 11 cases out of 20 covered cows (54 %) with an insemination index 1,8.

Provoking the rut can be explained by the genital organs — hypothalamus — hypophysis — ovaries — route when cholinergic matters and oxytocin are released lowering the activity of the corpus luteum. The level of oestrogenous matters is raised by the lower activity of the corpus luteum and by this the sensibility of the sexual centre is raised and the rut manifests itself.

A suitable indication for massaging are the conditions without any lesions of the reproductive organs especially of the ovaries.

The practical sense of the clitoris massage consists in shortening the extremely long service-period by making the rut more distinct or by provoking its manifestation. The measure is not technically difficult to be carried out and may be performed by any professionally able and conscientious attendant after previous instruction.

### **Reflektorisches Hervorrufen der Brunst bei einigen Rinder-Individuen mit wenig deutlichen oder anscheinend fehlenden Brunstmerkmalen**

Bei 32 Kühen und Färsen mit ungenügenden oder angeblich fehlenden Brunstmerkmalen wurde einmal täglich durchschnittlich in einer Dauer von 6 Tagen (4—8) eine Massage der Clitorisgegend durchgeführt. Einzelne Massagen dauerten von 50 Sekunden bis 7 Minuten. Die Indikation für die Beendigung der Massage war der Widerstand des Tieres.

Insgesamt wurden 35 Massage-Serien durchgeführt, davon bei drei Muttertieren in zwei verschiedenen Geschlechtszyklen. Die für einen Laien erkennbare Brunst nach der Massage trat nur bei Muttertieren ohne krankhafte Veränderungen an den Eierstöcken, u. zw. in 31 Fällen (86 %), durchschnittlich in 8 Tagen (4—26 Tagen) ein. In 4 Fällen (= 12 %) bei Muttertieren mit Eierstock-Störungen trat die Brunst nicht ein. Von 20 zugelassenen Kühen wurde in 11 Fällen (= 54 %) die Gravidität mit einem Inseminationsindex 1,8 nachgewiesen.

Das Hervorrufen der Brunst kann auf dem Wege Geschlechtsorgane — Hypothalamus — Hypophyse — Ovarien erklärt werden, wo cholinergische Stoffe und Oxytozin freiwerden; durch ihren Einfluß wird die Aktivität des Corpus luteum gehemmt. Durch eine geringere Aktivität des Corpus luteum wird das Niveau der östrogenen Stoffe erhöht, wodurch sich die Empfindlichkeit des Geschlechtszentrums erhöht und die Brunst zum Vorschein kommt.

Eine günstige Voraussetzung für die Massage sind Zustände ohne organische Veränderungen des Vermehrungsorganes, vor allem der Eierstöcke.

Die praktische Bedeutung der Clitoris-Massage beruht auf der Verkürzung der extrem langen Service period durch die Konkretisierung oder Provokation der Brunstäußerungen. Der Vorgang ist technisch nicht anspruchsvoll und kann nach vorhergehender Instruktae von dem oder jenem tüchtigen und gewissenhaften Wärter durchgeführt werden.

**MVDr. Jaroslav Hintnaus,**  
Vysoká škola zemědělská Praha,  
Provozně-ekonomická fakulta  
Č. Budějovice,  
Katedra veterinárních disciplín



■ Rod *Actinobacillus* Brumpt byl ustaven již v roce 1910, ale v současné době je tradován oficiálně pouze v Bergeyově (1957) systému. Tato skutečnost není nikterak náhodná. Jednotlivé druhy jsou až na *Actinobacillus mallei* nedostatečně prostudovány, rodová specifita spočívající na polymorfii zárodků není zcela přesvědčivá a popisované drůzy nelze v laboratoři spolehlivě reprodukovat. Z těchto důvodů se jeví potřeba dnešní vědomosti o aktinobacilech podstatně rozšířit a najít zejména takové znaky, které by přispěly k diferenciaci uvnitř rodu i navenek, tj. v rámci celé čeledi *Brucellaceae*. Usnadnila by se tím hlavně diagnostika vzácnějších případů a materiálu nejasné provenience, určení podezřelých kmenů z obsahu zažívadél nebo dýchacích cest, ale též reidentifikace starších, méně typických kultur ze světových sbírek. My sami jsme nastoupili uvedenou cestu druhem *Actinobacillus lignieresii*, kterému je věnována tato práce.

## LITERÁRNÍ PŘEHLED

První údaje o „*Aktinobacilu*“ pocházejí od Lignièrese a Spitze (1902, 1904), kteří jej studovali během větší enzootie aktinobacilózy u skotu v Argentině. Za rozhodující vlastnosti objeveného původce označili diplokokový, tyčinkový až streptobacilární tvar, gramnegativní tinkci, nepohyblivost a fakultativní vztah ke vzdušnému kyslíku. Z ostatních znaků uvedli pouze nepatrnou aktivitu v mléce, zkvašování glukózy, tvorbu indolu, špatný růst na bramboru a neschopnost zkapalňovat želatinu. Biologické pokusy na domácích i laboratorních zvířatech byly většinou úspěšné, ale typické mikrobiální drůzy se nacházely pouze u morčat, ovcí a skotu. Z diagnostického hlediska je pozoruhodná zvláště reakce morčecích samců na *i. p.* zavedení kultury, neboť vzniklá periorchitida připomínala Straussův fenomén, známý z vyšetřování na *malleus*.

Formální zařazení nového druhu do systému provedl teprve o několik let později Brumpt (1910), avšak z poměrně bohaté charakteristiky připojil jen velmi stručnou morfologii zárodků a drůz.

Další zájem o *Actinobacillus lignieresii* lze pozorovat až po první světové válce, nepochybně v souvislosti s obecným nástupem biochemických hledisek v mikrobiologii. Tak Bosworth (1923) zjistil u 17 kmenů zkvašování glukózy, fruktózy, galaktózy, maltózy, laktózy a sacharózy, nepotvrdil však kladnou reakci na indol. Stejných výsledků dosáhli u více než 15 kmenů Davies a Torrance (1930), kteří uvádějí navíc jen zkvašování manitu a xylózy, ale pro-

kázali též negativní výsledek v salicinu, sorbitu, inulinu, adonitu, inositu a dulcitu. Tito autoři započali již s průzkumem antigenní struktury a 11 vyšetřených kmenů zhodnotili jako serologicky jednotné.

Velmi značnou pozornost věnoval těmto zárodkům Vawter (1933), který izoloval a prověřil celkem 18 kmenů. V biochemickém ohledu zjistil též zkvašování rafinózy a dosti opožděně i glycerinu, zatímco fermentace xylózy byla nepravidelná a u arabinózy zcela negativní. Téměř současně uveřejnil své práce o aktinobacilech také Thompson (1933, 1933 a), jemuž se podařilo určit správnější rodové postavení v systému, a pokud se týká druhu *Actinobacillus lignieresii*, tedy i zvrátit možný názor o antigenní shodě jeho kmenů. Tehdejší poznatky uzavřel o rok později Haupt (1934), který obohatil druhový popis ještě o zkvašování dextrinu, dále o negativní výsledek fermentace škrobu a rhamnózy, ale především o zápornou reakci na nitrity.

Velmi zajímavou epizodu v historii jmenovaného druhu představovala více než dvacetiletá koexistence s pravděpodobně identickým zárodkem *Bacterium purifaciens*, který izoloval a pojmenoval Christiansen (1917). Tento autor nepochybně přehlédli dosti stručný Lignièresův a Spitzův (1902) údaj o poměrně vzácných, ale existujících případech aktinobacilózy též u ovčí, a spolu s doměle objevenou „pyemií“ vyhradil samostatné místo i jejímu původci. Pod stejnou etiologií uvedli své práce na malém počtu ovčí ještě Magnusson (1929) a Jowett (1931), aniž by mohli nový druh podstatněji diferencovat. Na myšlenku srovnání obou popisů přišel teprve Wramby (1940), jehož kladné závěry ze tří ovčích kmenů potvrdil na větším materiálu Tunncliffe (1941) a Taylor (1944). Je ovšem na škodu, že se ani jeden z nich nemohl opřít o laboratorní přezkoušení Christiansenových kmenů, avšak Magnusson projevil osobním příspěvem Tunncliffovi (1941) svůj souhlas, a od té doby se název *Bacterium purifaciens* v literatuře již neobjevuje.

Z dalších autorů, kteří učinili svá pozorování na ovčích, je třeba jmenovat Haystona (1948), jenž zaznamenal více než 50 případů aktinobacilózy. Jednotlivé kmeny sice podrobněji neanalyzoval, ale kromě zkvašování glukózy, sacharózy a manitu zjistil také dobrý růst na Mc Conkeyově agaru se žlučí.

Další moderně pojatou studii ovčích a bovinních kmenů uveřejnili posléze až Ristic et al. (1956). Do vyšetření zahrnuli materiál různé provenience a vedle známých vlastností sledovali též patogenitu pro kuřecí embryo, citlivost na antibiotika, ureázovou aktivitu apod. Z jejich výsledků stojí za zmínku hlavně variabilní fermentace xylózy, fruktózy, sacharózy a mannózy, zejména však nejednotnost v tvorbě indolu, redukci nitrátů a rozkladu močoviny. Všechny kmeny byly citlivé na aureomycin, teramycin a chloramfenikol, ale celkem rezistentní na penicilin. Kuřecí embryo, očkováná do chorioallantoického vaku, uhynula při větších dávkách kultury během pěti dní. V práci jsou zhodnocena jako nejspolehlivější objekt pro kladný pokus s aktinobacilem, a to především ve srovnání s tradičními laboratorními zvířaty.

Velmi důležitá fakta zjistili u 29 bovinních kmenů Till a Palmer (1960), když prodloužili inkubační dobu pestré řady na 21 dní. Takovým způsobem se jim podařilo prokázat mnohem širší enzymatické spektrum, a v některých případech byl atakován též sorbit, inulin, adonit a dulcit, které se dosud uváděly jako vysloveně negativní. Vyšetřované kmeny redukovaly metylenovou modř, dávaly různě silnou reakci na katalázu a produkovaly sirovedík, na druhé straně však neměnily nitráty, netvořily čpavek a obě zkoušky v MRT — VP

mediu byly negativní. Aglutinační a precipitační technika odhalila v celém souboru nejméně tři antigenní typy.

Poslední a současně největší příspěvek k charakteristice druhu *Actinobacillus lignieresii* uveřejnil Phillips (1960, 1961), který mimo 225 bovinních a ovčích kmenů izoloval také 31 kultur z bachorové šťávy skotu. V rozsahu známých diagnostických znaků potvrdil zhruba výsledky předešlých autorů, ale morfologické i biochemické studie ještě dále rozšířil. Za významné vlastnosti druhu označil zejména uspořádání některých buněk do tvarů Morseova kódu a častou produkci škrobu z glukózy nebo maltózy. Je zajímavé, že se vyhnul diskusi o klíčovém postavení redukce nitrátů a necituje ani nejdůležitější systematickou literaturu. Sledoval zřejmě jen odhalení zdroje aktinobacilů v bachorové šťávě, což se mu podle jeho tvrzení také skutečně podařilo.

## ÚČEL PRÁCE

Ačkoliv jsou závěry všech zmíněných autorů velmi srozumitelné, ve svém celku vyvolávají naprosto neočekávanou představu, podle níž je *Actinobacillus lignieresii* v každém ohledu variabilní. Příčinou této diskrepance je rozdílný postup ve výběru živných půd, nestejně hodnocení výsledků a hlavně nesprávný způsob jejich interpretace. Vynecháním dokladných tabulek a namnoze nemístnou stručností se zaměřil početní vztah mezi kladnými a zápornými reakcemi, ale co je pro tento druh snad ještě důležitější, unikla pravděpodobná komplexnost v projevu některých znaků. Tímto způsobem došlo ke zdánlivému nesouladu mezi jednotlivými pracemi navzájem a objevilo se i tvrzení (Ristic et al., 1956), že je třeba starší z nich opravit, neboť pokulhávají za skutečným stavem věci. Jelikož pak dvě z posledních studií (Till a Palmer, 1960 — Phillips, 1960) uvádějí též různé dílčí výsledky u těchže kontrolních kmenů, pokusili jsme se v předkládané práci:

1. podat věrnější obraz druhu *Actinobacillus lignieresii*,
2. zdokonalit, tj. zpřesnit a usnadnit jeho diagnostiku a
3. vyložit některé literární neshody a určit směr dalšího výzkumu.

## MATERIÁL A POUŽITÉ METODY

Jednotlivé kmeny *Actinobacillus lignieresii* jsme izolovali během roku 1963, a to z „aktinomykózních“ změn u skotu, léčeného na chirurgické klinice zdejší fakulty. Až dosud jsme jich prostudovali 31, ale dalších pacientů neustále přibývá, takže rozhodující vlastnosti druhu můžeme opřít o téměř dvojnásobný počet záchytů. Jako kontrol bylo použito 2 kmenů *Actinobacillus lignieresii* NCTC č. 4189 a 4975, poskytnutých velmi ochotně londýnskou sbírkou.\*)

Pro získání primokultur z hnisu nebo výjimečně také z granulomatózní tkáně jsme využili zejména Vawterových (1933) zkušeností, které se týkají přípravy materiálu k očkování, výběru vhodných půd a souběžné mikroaerofilní inkubace. V morfologické části nás vedle tkáňových preparátů a kolonií na krevním agaru zajímaly především nověji popisované odchylky v barvitelnosti podle Grama a uspořádání mikrobiálních buněk v zorném poli (Phillips, 1960). Fermentační schopnosti a chemické reakce byly vyšetřovány většinou za

\*) Za laskavé přenechání kmenů vyslovujeme pracovníkům National Collection of Type Cultures v Londýně svůj srdečný dík!

použití standardních příruček (Pelczar et al., 1957 — Raška et al., 1958), takže připojujeme spíše jen poznámky k některým půdám nebo pracovním postupům.

Tekuté medium pro pestrrou řadu obsahovalo 1 % tryptose peptonu, 0,5 % NaCl, 0,1 %  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1 % příslušného uhlohydrátu (u celulózy proužek Whatmanova papíru č. 1) a bromthymolovou modř jako indikátor kyselosti (Difco Manual, 1953). Půda byla zastavena na pH 7,4 a po vnesení kapky bujonové kultury inkubována při 37° C po dobu 14–28 dní.

Tvorbu indolu jsme určovali v 1 % tryptonové vodě, která byla po pětidenní inkubaci protřepána éterem a převrstvena malým množstvím Ehrlichova činidla.

Ke zjištění produkce sírovodíku byl očkovan masopeptonový bujon s přísadou 0,01 % cystinu, a jako indikátor sloužil reagenční papírek s octanem olovnatým. Pozorovací doba činila pět dní.

Pro zkoušku s metylovou červení a k detekci acetylmetylkarbinolu jsme použili jednotného MR — VP media, připravovaného podle Kauffmannova (1954) předpisu, v němž jsme za blíže neurčený pepton dosadili *Difco proteose*. VP test byl prováděn za použití Barritova reagens, které se nám osvědčilo lépe než starší postupy s kreatinem.

K průkazu ureázové aktivity jsme po předběžných pokusech zvolili tektou modifikaci Christensenovy půdy s močovinou. Po naočkování čerstvou kulturou se dostavily výsledky většinou již druhého dne.

Redukce nitrátů na nitrity byla vyšetřována v masopeptonovém bujonu s přísadou 0,1 %  $\text{KNO}_3$ , a to směsí kyseliny sulfanilové a alfa naftylaminu.

Na tvorbu škrobu z glukózy nebo maltózy se usuzovalo ze zbarvení 24 hod. kultury (MPA s 1 % příslušného cukru) po jejím převrstvení Lugolovým roztokem ve zředění 1:10 (Phillips, 1960).

Citlivost na různá antibiotika byla zkoušena běžnými tabletami fy Spofa.

Pro biologické pokusy jsme použili 6–10 namátkově vybraných kmenů, které byly očkovány v podobě 24 hod. bujonových kultur zvířatům. Sledovali jsme celkem 18 králíků (à 1 ml s. c., i. v. nebo i. p.), 12 morčat (à 0,5 ml s. c. nebo i. p.) a 40 myší (à 0,5 ml s. c. nebo i. p.). Po event. uhynutí byly kadvary pitvány a bakteriologicky vyšetřeny, což platí též o utracených kusech na konci šestidenní pozorovací doby.

## POKUSNÁ ČÁST

Ve vzorcích hnisu jsme nacházeli velmi drobné aktinobacilózní drůzy, které vynikaly již při prohlížení stlačeného preparátu (obr. 1), nebo ještě lépe po několikaminutové preparaci 5 % KOH ve fázovém kontrastu (obr. 2). Jejich typickou vlastností jsou kyjovité výběžky a celková gramnegativní tinkce barvených preparátů.

Při kultivaci jsme vystačili s masivním naočkováním hnisu na krevní agar a jeho inkubací při 37° C za aerobních podmínek. Stejně dobrého růstu lze však dosáhnout i anaerobně, což má význam hlavně pro uchovávání kmenů v polotekutém mediu.

Jednotlivé kolonie na masopeptonovém agaru znázorňuje obr. 3. Drobnější z nich jsou více méně konvexní, okrouhlého tvaru a značného lesku, zatímco

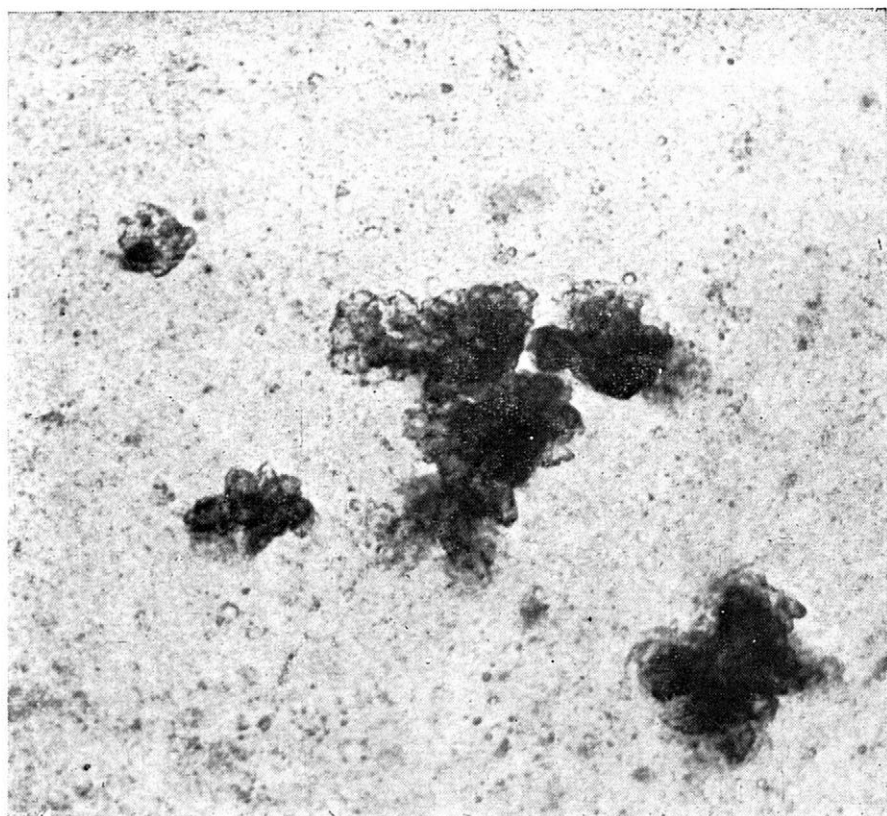
I. Variabilní diagnostické znaky u vyšetřených kmenů *Actinobacillus lignieresii* (inkubační doba 14 dní).

| Diagnostický znak                | Číslo kmene |           |        |        |        |        |        |            |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|----------------------------------|-------------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                                  | NCTC 4189   | NCTC 4975 | 237/63 | 238/63 | 239/63 | 241/63 | 242/63 | 243/63     | 252/63 | 253/63 | 254/63 | 260/63 | 263/63 | 264/63 | 269/63 | 274/63 | 275/63 | 276/63 | 288/63 | 306/63 | 308/63 | 309/63 | 310/63 | 311/63 | 312/63 | 317/63 | 322/63 | 324/63 | 327/63 | 330/63 | 343/63 | 355/63 | 395/63 |
| Arabinóza                        | +8          | +14       | +4     | +6     | +6     | -      | +7     | -          | +4     | +6     | +11    | +9     | +7     | +8     | +8     | +6     | +9     | +5     | +7     | +9     | +9     | +9     | +7     | +14    | +8     | +14    | +9     | +6     | +9     | +6     | +5     | +5     | +9     |
| Rhamnóza                         | -           | +14       | -      | -      | +      | -      | +7     | -          | -      | +6     | +14    | -      | +14    | +6     | +6     | -      | -      | +      | -      | -      | -      | -      | +14    | -      | -      | -      | +14    | +8     | -      | -      | -      | -      | -      |
| Galaktóza                        | +           | +         | +      | +      | +      | -      | +      | -          | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      |
| Mannóza                          | +           | +         | +      | +      | +      | +      | +      | -          | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | -      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      |
| Maltóza                          | +           | +         | +      | +      | +      | +      | +      | +          | +      | +      | +      | +14    | +      | +      | +14    | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +14    | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      |
| Mannit                           | +           | +         | +      | +      | +3     | +      | +      | +14        | +14    | +      | +14    | +14    | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +      | +14    | +      | +      | +      | +14    | +      | +      | +      | +14    |
| Laktóza                          | +5          | +8        | +4     | +3     | +6     | +6     | +      | +          | +      | +      | +      | +      | +5     | +3     | -      | +4     | +      | +14    | +5     | +      | ±6     | +      | +4     | +4     | ±6     | ±4     | +4     | +6     | +      | +4     | +      | +      | -      |
| Trehalóza                        | -           | -         | +7     | -      | -      | -      | -      | -          | -      | -      | -      | -      | -      | ±8     | -      | -      | -      | +      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      |
| Rafinóza                         | -           | -         | +7     | +11    | +      | ±8     | +5     | +          | +      | +6     | +4     | +      | +10    | ±6     | +3     | ±6     | +4     | +      | +5     | +      | ±6     | +6     | +6     | ±6     | ±11    | ±4     | +      | +6     | -      | -      | ±14    | -      | -      |
| Škrob                            | +           | +12       | -      | -      | +6     | -      | +7     | -          | -      | +9     | ±14    | +6     | +14    | +8     | -      | -      | ±14    | -      | -      | +4     | -      | -      | +10    | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      |
| Dextrin                          | +8          | +9        | -      | -      | +3     | +8     | +      | +          | +      | +3     | +6     | +      | +      | +6     | ±8     | -      | +4     | +5     | -      | +      | -      | +6     | +4     | +10    | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      |
| Glycerin                         | -           | -         | -      | +      | +6     | +3     | -      | -          | +      | +9     | +      | +      | -      | -      | -      | +      | -      | ±14    | -      | -      | -      | +9     | -      | -      | -      | -      | +      | -      | +      | -      | -      | +5     | -      |
| Inulin                           | -           | -         | -      | -      | +6     | -      | -      | -          | -      | +6     | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | +4     | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      |
| Adonit                           | -           | -         | -      | -      | -      | -      | -      | -          | -      | -      | -      | +6     | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      |
| Dulcít                           | -           | -         | -      | -      | +6     | -      | -      | -          | +      | +5     | -      | +      | -      | ±8     | -      | -      | -      | -      | -      | ±14    | -      | -      | +4     | -      | -      | -      | +      | -      | -      | -      | -      | -      | -      |
| Sorbit                           | +5          | -         | -      | -      | -      | -      | +10    | -          | -      | -      | ±14    | -      | -      | +11    | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | +14    | -      | -      | -      | -      | +14    | -      | -      | -      | +5     | -      |
| Salicin                          | -           | -         | +      | +      | +      | +      | -      | -          | +      | +      | +      | -      | +      | +6     | -      | +      | -      | +      | -      | -      | -      | -      | +7     | +      | -      | -      | +4     | -      | +      | +      | -      | -      | +      |
| Růst na Endově agaru             | -           | -         | -      | -      | -      | -      | -      | -          | +      | -      | -      | -      | -      | -      | +      | -      | +      | -      | +      | +      | +      | +      | +      | -      | -      | -      | +      | +      | -      | -      | +      | +      | -      |
| Iridace na MPA                   | -           | -         | -      | -      | -      | -      | -      | -          | -      | -      | -      | -      | -      | +      | -      | -      | -      | -      | +      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | +      | -      | -      | -      | +      | -      |
| Změny v mléce                    | -           | -         | -      | -      | -      | -      | -      | pept.<br>± | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      |
| Redukce metylenové modři v mléce | -           | ±         | ±      | -      | ±      | ±      | -      | -          | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | -      | ±      | -      | -      | -      | ±      | ±      | -      | -      | -      | ±      | ±      | ±      | -      | ±      | ±      |
| Tvorba škrobu z maltózy          | +           | ±         | ±      | +      | +      | +      | +      | -          | +      | +      | +      | ±      | ±      | +      | +      | -      | +      | +      | +      | ±      | ±      | ±      | ±      | -      | -      | ±      | ±      | +      | ±      | -      | -      | +      | ±      |

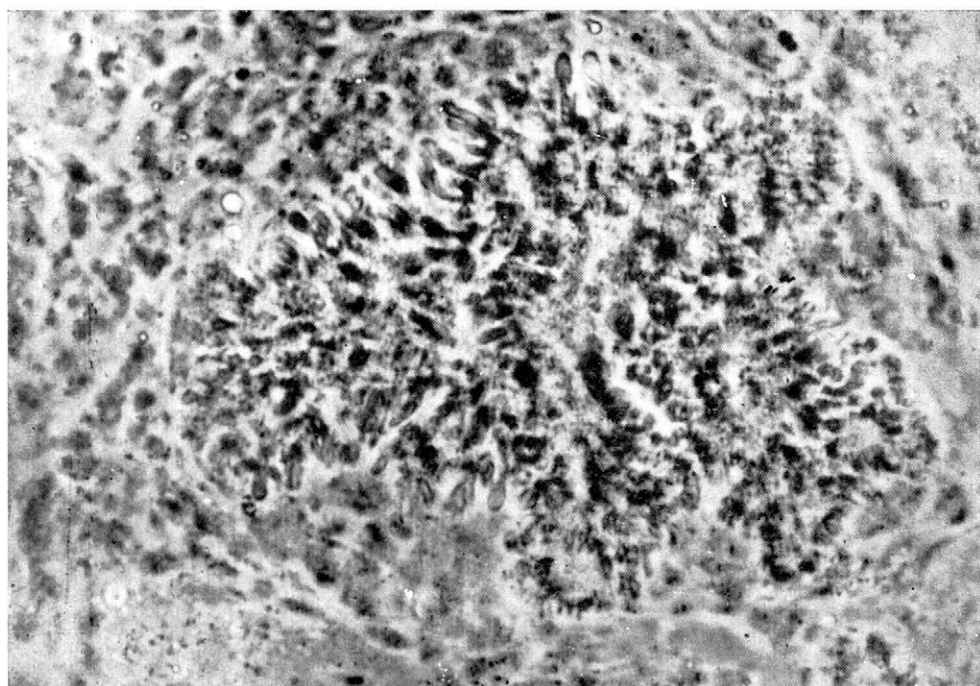
Vysvětlivky: Bergey's Manual (1957) uvádí u substrátů ad a) kladný, u substrátů ad b) záporný výsledek při desetidenní inkubaci.



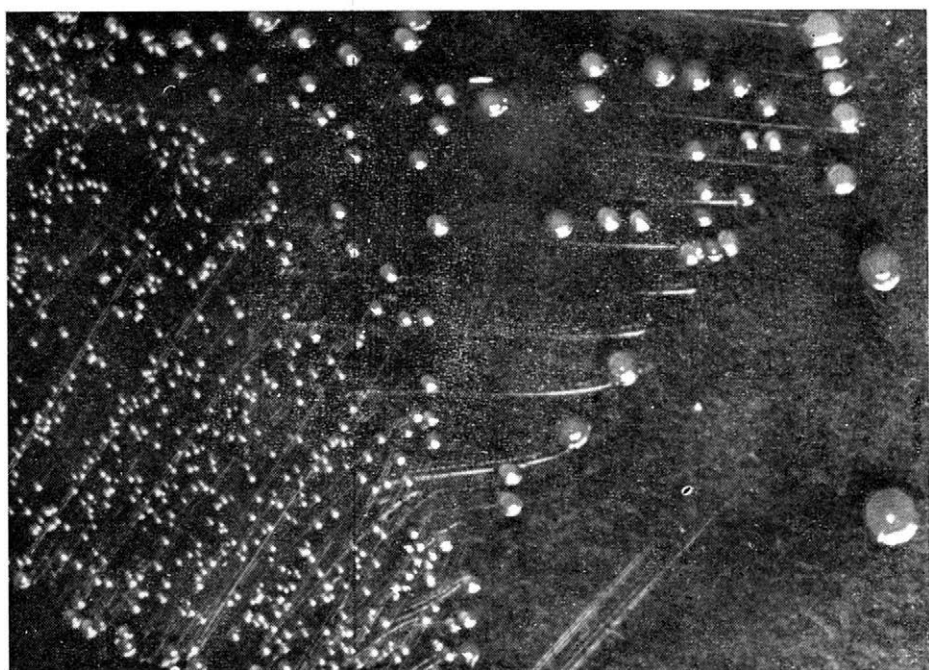




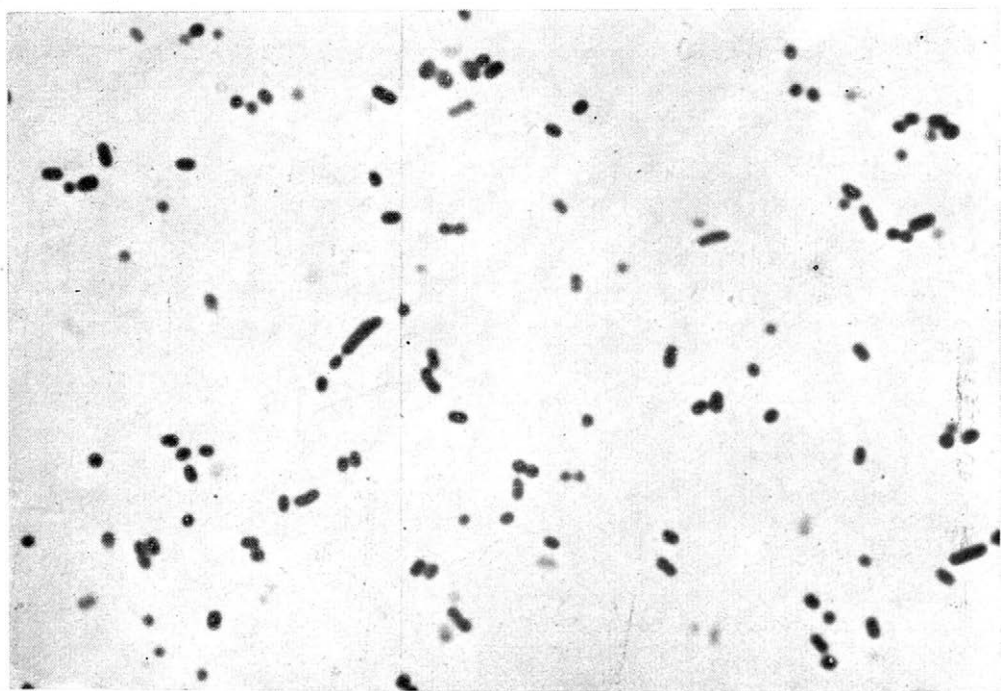
Obr. 1. Aktinobacilózní drúzy. Fázový kontrast, zvětšení 1 : 500. Foto dr. J. Holman.



Obr. 2. Roztlačená aktinobacilózní drúza po preparaci v 5 % KOH. Fázový kontrast, zvětšení 1 : 1000. Foto dr. J. Holman.



Obr. 3. 24 hod. kultura *Actinobacillus lignieresii* na MPA. Zvětšení 1:2. Foto dr. L. Groch.



Obr. 4. Preparát ze 24 hod. kultury *Actinobacillus lignieresii* vyrostlé na MPKA. Gram, zvětšení 1:2500. Foto dr. J. Holman.

větší periferně situované ztrácejí na pravidelnosti a mění se i na průřezu. Jejich střed je poněkud vyvýšený a kromě toho mohou mít ještě valovitě zdvižený okraj. Pokud nemluvíme o event. trpasličích formách, měří v průměru 1–3 mm, ale při prodloužené inkubaci a řídkém rozsevu se zvětšují až na dvojnásobek. Jsou šedavého vzhledu, takže v procházejícím světle prosvítají nebo v různém stupni iridují. Na krevním agaru nevznikají během obvyklé pozorovací doby žádné změny, ale po dalším 7–10denním pobytu v laboratoři dochází ke zřetelnému ataku červených krvinek pod koloniemi a v jejich nejbližším okolí. Na Endově agaru bývají výsledky 2–3denní inkubace dosti rozdílné. Někdy, zejména v primokultuře vyrostou drobné kolonie tmavočervené barvy a kovového lesku, vroubené specificky bledě červenofialovou zónou, jindy je naopak celý porost zarůžovělý a sotva patrný, nebo zcela chybí. Pro většinu čerstvě izolovaných kmenů je příznačnou určitá viskozita, která se však během opakovaných přesevů pozvolna vytrácí.

V masopeptonovém bujonu můžeme vidět již druhého dne buď difusní zákal nebo vločkovitý růst při jedné straně zkumavky.

Nejčastější tvary aktinobacilových zárodků ukazuje obr. 4. Jde o gram-negativní tyčinky různé délky a zaoblených konců, jejichž celkem pravidelný šířkový rozměr činí 0,4–0,6  $\mu$ . Nehledě na jistou tendenci k bipolaritě mohou být seskupeny také do tvarů Morseova kódu nebo do různě dlouhých řetízků. Mikroby jsou nepohyblivé a bez zřetelných pouzder.

Fermentační schopnosti vůči uhlohydrátům, vícemocným alkoholům a glykosidům byly hodnoceny s ohledem na pozvolné okyselování naočkovaných kontrol (bez testovaného substrátu) již ke 14. dni, přestože jsme z vlastního zájmu inkubovali všechny pestré řady po dobu plných 4. týdnů. Ke konstantním výsledkům docházelo v xylóze, glukóze, fruktóze, maltóze, sacharóze, mannitu a celobióze, které byly zkvašovány během dvou dní nebo výjimečně (maltóza a mannit) opožděně, zatímco inosit a celulóza zůstaly bez jakýchkoliv změn. Rozdílné chování jednotlivých kmenů v ostatních uhlohydrátech znázorňuje tab. I, která uvádí též variabilitu dalších vlastností.

Výčet všech užitých biochemických testů by si vyžádal ještě mnoho místa, protože jsme sledovali na 75 různých znaků. Považujeme však za důležité uvést alespoň ty zkoušky, které daly jednoznačné výsledky.

Z kladných závěrů je to především velmi zřetelná redukce nitrátů a intenzivní rozklad močoviny, zjistitelné již po 24hod. inkubaci, dále různě silná, ale pozitivní reakce na sirovodík a katalázu, jasná redukce metylenové modři v bujonu, dobrý vývoj na agaru s 0,5 % taurocholátu sodného a pozorovatelný růst v želatině.

Naproti tomu jsme nemohli zaznamenat ani jediný případ tvorby indolu, čpavku, acetylmetylkarbinolu a pigmentu, stejně jako využívání citrátového uhlíku, zkapalnění želatiny nebo koagulovaného hovězího séra, ale negativně vyzněla i zkouška s metylovou červení, alkalizace bujonu a kultivace na bramboru.

Ve vztahu k antibiotikům byly jednotlivé kultury nejcitlivější na chloramfenikol, poněkud méně na streptomycin, případně aureomycin a prakticky rezistentní na penicilin.

Zvířata zastavená do biologického pokusu přežívala očkování náhodně vybranými kmeny beze škody, vyjma sporadických případů u myší, které uhynuly po i. p. aplikaci.

Ve starších nebo i nejnovějších pracích o druhu *Actinobacillus lignieresii* nacházíme mnoho protichůdných nebo nejasných údajů, které vyžadují naléhavého přezkoušení a vysvětlení. Týká se to hlavně klíčového postavení redukce nitrátů, ale také diferenciálně významné produkce indolu, rozkladu močoviny, zkvašování uhlohydrátů, tvorby katalázy apod.

Pokud jde o redukci nitrátů, tedy jsou naše údaje v ostrém rozporu zejména s nálezy Tilla a Palmera (1960), kteří své negativní výsledky blíže nediskutují. Poněvadž tito autoři zhodnotili záporně i kontrolní sbírkové kmeny NCTC č. 4189 a 4975, jež naopak Phillips (1960) a my sami shledáváme výrazně kladnými, považujeme tuto otázku za vyřešenou.

Tvorba indolu byla prokázána Lignièresem a Spitzem (1904) a na větším materiálu ještě Thompsonem (1933a), ale všechna novější sdělení opřená o početné kmeny i dokonalejší postupy tento výsledek opravují. My sami jsme tuto reakci zkoušeli také v masopeptonovém bujonu a v jeho kombinaci s tryptonem včetně různého pH, avšak bez zřetelnějšího úspěchu. Nepatrně zarůžovělou vrstvičku, jež vzniká u některých kmenů při pozorování proti umělému světlu, si nedovolujeme s ohledem na kontroly vůbec uvažovat a pro svou mizivou intenzitu nemůže vzbudit žádného diagnostického zájmu.

Rozklad močoviny zkoušeli v minulosti pouze Ristic et al. (1956) a Phillips (1960, 1961), a to s velmi rozdílným výsledkem. Okolnost, že druhý z autorů používal méně citlivé Christensenovy půdy, nás vedla k přezkoušení některých z jeho negativních kmenů, na nichž jsme svůj správný odhad také v plném rozsahu potvrdili. Naše jednoznačně kladné závěry o ureáze jsou tedy dobře podloženy a souhlasí také s Risticem et al. (1956), kteří pracovali s obdobným médiem jako my.

Zkvašování uhlohydrátů, vícemocných alkoholů a glykosidů bylo u druhu *Actinobacillus lignieresii* vždy „a little doubtful“ (Topley a Wilson, 1955), ale vysvětlení tohoto jevu stále nepřicházelo nebo se situace dále komplikovala. Poslední zajímavé sdělení publikovali v roce 1960 Till a Palmer, kteří prodloužili inkubaci pestré řady na 21 dní a zjistili zkvašování takřka u všech 28 testovaných substrátů. Z tohoto důvodu jsme založili také méně běžné kontroly a výsledek se skutečně dostavil. Prokázané okyselení peptonového základu mikrobními kulturami je v bakteriologické diagnostice patrně dosud neznámým nebo neuvažovaným fenoménem, který může hrát významnou úlohu všude tam, kde je nezvykle velké procento fermentovaných uhlohydrátů a ve zbylých (jakoby kontrolních) zkumavkách je růst tak slabý, že se zmíněný jev nemůže prokazatelně uplatnit.

Na zakončení diskusní části nutno zaujmout ještě postoj k výsledkům těch autorů, kteří pracovali na úrovni současné vědy a odhalili u jednoho nebo nejvýše 4 kmenů opačné vlastnosti. To je zejména případ Hauptův (1934) a Ristic et al. (1956), z nichž poslední uvádějí na příklad kombinaci: redukce nitrátů —, indol + a ureáza —. Podle našeho názoru jde zatím o vzácnou výjimku a projev variability (pestrosti forem a funkcí), s níž se v biologii běžně počítá. Hodnocení jednotlivých kmenů nebo malých kolekcí vyžaduje tedy značné opatrnosti, má být komplexní a nesmí svádět k předčasné generalizaci.

Z celkové tematiky o aktinobacilech zůstává ještě mnoho úseků nerozpracovaných nebo se mnohé teprve otevírají. Pro veterinární medicínu mají nesporný význam na příklad Phillipsovy (1961) nálezy aktinobacilů v ba-



chorové šťávě zdravého skotu, ale samostatné práce si vyžadají také nové vztahy mezi již známými druhy, případně studium aktinobacilů teprve nedávno objevených.

## SOUHRN

Autor shrnul dosavadní údaje o vlastnostech druhu *Actinobacillus lignieresii* a s ohledem na sporná data o jeho nejvýznamnějších diagnostických znacích založil samostatnou studii, která by tyto nesrovnalosti vysvětlila. Pracoval s 31 čerstvě izolovanými kmeny z aktinobacilózních změn u skotu a dvěma kontrolními kmeny NCTC (č. 4189 a 4975), které vyšetřoval standardními nebo v oficiální literatuře uváděnými metodami (Pelczar et al., 1957 — Raška et al., 1958 — Difco Manual, 1953).

Půda pro pestrá řada obsahovala 1 % Difco tryptose, 0,5 % NaCl, 0,1 %  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1 % testovaného substrátu a bromthymolovou modř jako indikátor kyselosti. Konečné pH bylo zastaveno na 7,4, inkubační teplota činila 37° C a výsledky odečteny po 14 dnech. K průkazu redukce nitrátů sloužil masopeptonový bujon s přísadou 0,1 %  $\text{KNO}_3$ , ke tvorbě indolu 1 % tryptonová voda a pro zjištění ureázové aktivity tekutá modifikace Christensenovy půdy s močovinou. U těchto medií bylo pH upraveno na optimální 7,2 a hodnocení testů prováděno od druhého dne inkubace.

### Dosažené výsledky:

1. Zkvašování uhlohydrátů, vícemocných alkoholů a glykosidů odpovídalo vcelku literárním údajům (Bergey's Manual, 1957), které ovšem nutno hodnotit komplexně. Navíc lze dodat ještě kladné výsledky u xylózy, fruktózy a celobiózy, případně negativní závěr u celulózy. Bylo zjištěno, že peptonový základ pestré řady je v důsledku mikrobiální činnosti pozvolna a s různou intenzitou okyselován (až na pH 6,0), takže delší inkubace než 14 dní (někdy i dříve) může vést bez kontroly k naprosto chybným dedukcím.

2. Všechny studované kmeny redukovaly během 24 hodin nitráty na nitrity a rozkládaly močovinu, zatímco tvorba indolu nebyla potvrzena ani po pětidenní inkubaci. Reakce na  $\text{H}_2\text{S}$  a katalázu byly dosti nevyrovnané, ale u všech kmenů dobře zjištělné. Namátkově vybrané kmeny se ukázaly pro králíky (*s. c.*, *i. p.*, *i. v.*) a morčata (*s. c.*, *i. p.*) jako nepatogenní, a téměř neškodné byly také pro bílé myši (*s. c.*, *i. p.*).

3. V diskusní části je učiněn pokus o odhalení příčin různých nejasností při vyšetřování na ureázu a případně indol v minulosti, zdůrazněna nutnost komplexního přístupu v hodnocení jednotlivých kmenů a nastíněny cesty dalšího výzkumu.

Došlo dne 7. 10. 1964

## Literatura

1. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Breed R. S., Murray E. G. D., Smith N. R., 1957. VII. vyd. Baltimore. Str. 414-418. — 2. Bosworth T. J., 1923: Jour. Comp. Path. and Therap., sv. 36, str. 1-22. — 3. Brumpt E., 1910: Précis de Parasitologie. I. vyd. Paris. Str. 489. — 4. Davies G. O. a Torrance H. L., 1930: Jour. Comp. Path. and Therap., sv. 43, str. 216-233. — 5. Difco Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents. 1953. IX. vyd. Detroit. Str. 350. — 6. Haupt H., 1934: Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde, sv. 67, str. 513-524. — 7. Hayston J. H., 1948: Austr. Vet. Jour., sv. 24, str. 64-66. — 8. Christensen M., 1917: Maanedskr. f. Dyrlaeger, sv. 29, str. 449. Cit. Hauduroy P. et al., 1953: Dictionnaire des Bacteries Pathogènes. II. vyd. Paris. Str. 378-379. — 9. Jowett W.,

1931: Jour. Comp. Path. and Therap., sv. 44, str. 202-208. — 10. Kauffmann F., 1954: Enterobacteriaceae. II. vyd. Kopenhagen. — 11. Lignières J. a Spitz G., 1902: Bull. de la Soc. Cent. de Méd. Vét. Str. 487-537. — 12. Lignières J. a Spitz G., 1904: Ztblt. f. Bakt., I. Abt., Orig. sv. 35, str. 452-458. — 13. Magnusson H., 1929: Jour. Comp. Path. and Therap., sv. 42, str. 73-91. — 14. Pelczar M. J. et al., 1957: Manual of Microbiological Methods. New York, Toronto, London. Str. 315. — 15. Phillips J. E., 1960: Jour. Path. and Bact., sv. 79, str. 331-336. — 16. Phillips J. E., 1961: Jour. Path. and Bact., sv. 82, str. 205-208. — 17. Raška K. et al., 1958: Mikrobiologické vyšetřovací metody. Praha. Str. 747. — 18. Ristic M. et al., 1956: Am. Jour. Vet. Res., sv. 17, str. 555-562. — 19. Taylor A. W., 1944: Jour. Comp. Path. and Therap., sv. 54, str. 228-237. — 20. Till D. H. a Palmer F. P., 1960: Vet. Rec., sv. 72, str. 527-534. — 21. Thompson L., 1933: Jour. of Bact., sv. 26, str. 221-227. — 22. Thompson L., 1933: Jour. Inf. Dis., sv. 52, str. 223-229. — 23. Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity. Wilson G. S. a Miles A. A., 1955. IV. vyd. London. str. 472. — 24. Tunncliffe E. A., 1941: Jour. Inf. Dis., sv. 69, str. 52-58. — 25. Vawter L. R., 1933: Cornell Vet., sv. 23, str. 126-149. — 26. Wramby G., 1940: Skand. Vet. Tidskr. sv. 30, str. 1228-1242.

### К характеристике вида *Actinobacillus lignieresii*

Автор подытожил нынешние данные по свойствам вида *Actinobacillus lignieresii* и, принимая во внимание спорные данные по его самым важным диагностическим признакам, провел самостоятельное изучение, которое объяснило бы эти неясности. Он работал с 31 свежевыделенными штаммами из актинобациллезных изменений у крупного рогатого скота и с двумя контрольными штаммами NCTC (№ 4189, 4975), которые изучал путем стандартных или в официальной литературе приводимых методов (Pelczar et al., 1957 — Raška et al., 1958 — Difco Manual — 1953).

Среда для пестрого ряда содержала 1 % Difco tryptose, 0,5 % NaCl, 0,1 %  $\text{N}_2\text{HPO}_4$  1 % испытуемого субстрата и бромтимолсиний в качестве индикатора кислотности; pH автором установлено на 7,4, инкубационная температура составляла  $37^\circ\text{C}$  и результаты подытоживались после двух недель. Для доказывания редукции нитратов послужил мясопептоновый бульон с примесью 0,1 %  $\text{KNO}_3$ , для образования индола 1% триптоновая вода и для определения уреазовой активности жидкая модификация среды Христенсена с мочевиной; pH этих сред установлено на оптимальных 7,2, и оценку тестов производили со второго дня инкубации.

#### Результаты:

1. Сбраживание углеводов, многоатомных спиртов и гликозидов в общем отвечает данным литературы (Bergey's Manual, 1957), которые необходимо, однако, оценивать комплексно. Сверх того можно добавить лишь положительные результаты у ксилоты, фруктозы и целлобиозы, или же отрицательный вывод в целлюлозе. Автор определил, что пептоновая основа пестрого ряда вследствие микробной деятельности медленно и с различной интенсивностью окисляется (до pH 6,0), так что более длинная, чем 2 недели инкубация (иногда даже раньше), может вести без контроля к совершенно ошибочным дедукциям.

2. Все изучаемые штаммы редуцировали в течение суток нитраты на нитриты и разлагали мочевины, между тем как образование индола не было доказано даже после пятидневной инкубации. Реакции на  $\text{H}_2\text{S}$  и каталазу проявились разно сильными, но у всех штаммов хорошо определяемыми. Штаммы, взятые без выбора, явились непатогенными для кроликов (s. c., i. p., i. v.) и для морских свинок (s. c., i. p.) и почти безвредными для белых мышей (s. c., i. p.).

3. В дискуссионной части автором сделан опыт по обнаружению источника ошибок при изучении на уреазу, а при случае на индол в прошлом, далее автор подчеркнул необходимость комплексного подхода к оценке отдельных штаммов и наметил пути дальнейшего исследования.

### A Contribution to the Characteristics of Species *Actinobacillus lignieresii*

The author summarized the up-to date information on the properties of the species *Actinobacillus lignieresii*, and with respect to data in dispute on its most important diagnostical features opened an independent study to clear up the matter. He worked both with 31 freshly isolated strains from actinobacillosis in cattle and



with two control strains NCTC (no 4189 and 4975), which he examined by standardized methods (Pelczar et al., 1957 — Raška et al., 1958 — Difco Manual, 1953), or by those introduced in official literature.

The medium for detection of the fermentative ability contained Difco tryptose 1 per cent, NaCl 0,5 per cent,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,1 per cent, 1 per cent substrate tested and bromthymol blue as an indicator of acidity. The final pH was stopped at 7,4, incubation temperature was  $37^\circ\text{C}$  and the results were read after 14 days. For a proof of the nitrate reduction broth with the addition of 0,1 per cent  $\text{KNO}_3$ , for the production of indol 1 per cent tryptone water and for detection of urease activity the liquid modification of Christensen's medium with urea were used. The final pH of these media was adjusted to optimal 7,2 and the test estimations were carried out since the second day of incubation.

#### Results:

1. Fermentation of carbohydrates, polyatomic alcohols and glycosides corresponded, in the whole, to literary data (Bergey's Manual, 1957) which of course are to be seen as a complex. Apart from that, the results in xylose, fructose and cellobiose were positive, cellulose was not attacked. It has been established that peptonic base of medium becomes gradually and with various intensity acid (up to pH 6,0) as a result of microbial activity, so that the incubation of longer than two weeks (sometimes even earlier) can lead without control to entirely erroneous deductions.

2. All the studied strains reduced nitrates into nitrites and decomposed the urea, while the production of indole was not confirmed even after 5 days of incubation.  $\text{H}_2\text{S}$  and catalase reactions were of various power, but in all strains easy to determine. The strains of random choice were non pathogenic for rabbits (s. c., i. p., i. v.) and for guinea pigs (s. c., i. p.), and nearly innocuous for white mice (s. c., i. p.).

3. In the discussion part an attempt is made to discover the sources of errors arising in the examination of urease, eventually of indol in the past, the necessity of complex estimation of singular strains is emphasized and further ways in research are pointed out.

### Beitrag zur Charakteristik der Art *Actinobacillus lignieresii*

Der Autor faßte die bisherigen Angaben über die Eigenschaften der Art *Actinobacillus lignieresii* zusammen und mit Rücksicht auf die fraglichen Angaben über ihre diagnostisch wichtigsten Merkmale gründete er eine selbstständige Studie, welche diese Unklarheiten auflösen könnte. Er arbeitete mit 31 frisch isolierten Stämmen aus aktinobacillösen Veränderungen beim Rind und mit zwei Kontrollstämmen NCTC (Nr. 4189 und 4975), die er mit standarden oder in der offiziellen Literatur angeführten Methoden untersucht hatte (Pelczar et al., 1957 — Raška et al., 1958 — Difco Manual, 1953).

Der Nährboden für die bunte Reihe enthielt 1 % Difco Tryptose, 0,5 % NaCl, 0,1 %  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1 % des geprobten Substrates und Bromthymolblau als Säureindikator. Das pH wurde am 7,4 eingestellt, die Inkubationstemperatur betrug  $37^\circ\text{C}$  und die Resultate wurden nach 14 Tage abgelesen. Zum Nachweis der Nitratreduktion diente Fleischbouillon mit Zusatz von 0,1 %  $\text{KNO}_3$ , zur Indolbildung 1 % Tryptone-wasser und zur Feststellung der Ureaseaktivität die flüssige Modifikation des Harnstoffnährbodens nach Christensen. Das pH dieser Medien wurde auf das optimale 7,2 eingestellt und die Testablesung wurde vom zweiten Inkubationstage an durchgeführt.

#### Resultate:

1. Die Spaltung der Kohlenhydrate, vielwertigen Alkohole und der Glykoside entsprach im ganzen den literarischen Angaben (Bergey's Manual, 1957), die natürlich komplex zu werten sind. Darüber kann man nur positive Ergebnisse bei Xylose, Fructose und Zellobiose, event. noch der negative Versuch in Zellulose beifügen. Es wurde festgestellt, daß der Pepton-Grundsubstrat für die bunte Reihe infolge der Mikrobentätigkeit allmählich und mit verschiedener Intensität gesäuert wird (bis zu pH 6,0), sodaß eine mehr als 14 Tage dauernde Inkubation (manchmal auch früher) kann ohne Kontrolle zu unbedingt falschen Deduktionen führen.

2. Alle untersuchten Stämme reduzierten im Laufe von 24 Stunden Nitrate auf Nitrite und zersetzten den Harnstoff, während eine Indolbildung auch nach fünf-

tägiger Inkubation nicht nachgewiesen wurde. Die  $H_2S$ - und Katalasereaktionen zeigten sich als verschieden stark, jedoch bei allen Stämmen gut feststellbar. Die stichweise ausgewählten Stämme waren unpathogen für Kaninchen (s. c., i. p., i. v.) und Meerschweinchen (s. c., i. p.) und fast unschädlich für weiße Mäuse (s. c., i. p.).

3. Im Diskussionsteile versuchte man die Fehlerquellen bei Untersuchungen nach Urease event. nach Indol in der Vergangenheit zu entdecken, man betonte die Notwendigkeit eines komplexen Zutrittes in der Wertung einzelner Stämme und es wurden Wege für weitere Forschung entworfen.

**MVDr. inž. agr. Oldřich Mráz,**

Vysoká škola zemědělská,  
veterinární fakulta,  
ústav pro mikrobiologii a imunologii,  
Brno, Palackého 1-3

■ Kultivace virových kmenů mimo původní hostitele přináší pro virologickou práci celou řadu výhod a usnadnění a je velkým přínosem i pro boj proti virovým nákazám. Kultivace viru na tkáňových kulturách je předpokladem pro mnoho dalších prací virologických a řešení některých otázek by bez kultivace virů na tkáňových kulturách bylo zcela nemožné.

O kultivaci viru psinky na tkáňových kulturách píše jako jeden z prvních autorů Mitscherlich v r. 1938 (14). Jeho pokusy s pomnožením viru psinky však nebyly úspěšné.

V r. 1951–52 se pokoušeli o kultivaci viru psinky na tkáňových kulturách rovněž Dedié a Klapötke (5, 6) pomocí metodiky fragmentů různé tkáně psů na skle, fixovaných v koagulátu. Touto metodikou se zdařilo pomnožovat virus psinky.

Hopper (9) pracuje s různými systémy tkáňových kultur a za použití různých tkání. Virus psinky adaptovaný na chorioalantoidní blány kuřecích embryí se dobře pomnožoval na kulturách ledvin sajících fretek, zatímco neadaptovaný virulentní kmen se na těchto kulturách pomnožoval jen omezenou dobu. Na tkáňových kulturách nevytvářel virus psinky markantní změny, třebaže došlo k jeho pomnožení.

Lasfargues a spol. (12) referují o kultivaci viru psinky na tkáňových kulturách kuřecích embryí a o tvorbě cytoplasmatických inklusí v buňkách po infekci virem. V další práci Lasfargues a spol. (13) popisují metodiku pro kultivaci viru psinky na tkáních kuřecích embryí, kde se autorům vždy podařilo prokázat virus, který si uchoval své patogenní vlastnosti.

Podrobnou práci o kultivaci viru psinky na tkáňových kulturách psích ledvinných buněk publikuje v r. 1958 Rockborn (17). Používá jednovrstevných kultur psích ledvinných buněk, získaných trypsinací kory ledvinné štěňat. Po infekci primárních kultur terenním kmenem viru psinky zjišťuje autor první cytopatický efekt (dále jen CPE) za 42 dny. V postupných pasážích viru se tato doba zkracuje až na 2 dny. Virus vytváří CPE ve formě zvětšení buněk, vytváří se jemná granulární struktura cytopasmy, vakuoly, mnohojaderné buňky po celé ploše kultury. Virus se pomnožil do titru asi  $10^{-3}$ . Během 56 pasáží tohoto viru na tkáňových kulturách se stává tento virový kmen avirulentní (Rockborn, 18), ale antigenní vlastnosti viru jsou plně uchovány, takže je možno tento virový kmen použít k aktivní imunizaci. Titr viru během pasážování stoupl na TK ID<sub>50</sub>  $10^{-5,5}$ .

Cabasso a spol. (3) referují o kultivaci viru psinky na tkáňových kulturách kuřecích embryonálních buněk. Autoři používají kmen adaptovaný na chorioalantoidní blány kuřecích embryí. Pasáže provádějí během 5–7 dní, virus se pomnožoval do titru  $10^{-3}$  –  $10^{-4,5}$  aniž by vytvářel na infikovaných kulturách CPE. Identitu viru prokázali autoři neutralizačním testem na kuřecích embryích a při imunizaci fretek zjistili dobrou imunizační aktivitu pasážovaného viru. V další práci píší Cabasso a spol. (4) o stabilizaci viru psinky z tkáňových kultur a o jeho lyofilizaci, avšak bez bližšího popisu použitého stabilizačního roztoku. Dále uvádí podrobné výsledky vakcinace psů tímto kmenem viru psinky.

Vantsis (19) píše o vhodnosti různých systémů tkáňových kultur pro kultivaci viru psinky. Jako nejvhodnější tkáň uvádí fretčí ledviny, psí plíce a rovněž psí ledviny. Za záchytu viru z akutního onemocnění zvířat psinkou se podaří izolovat virus, který vytvoří za 3–4 dny CPE na tkáňových kulturách, z pokročilých stadií onemocnění vytváří izolovaný virus změny mnohdy až za 3–4 týdnů.

O izolaci a kultivaci viru psinky na tkáňových kulturách referují rovněž Bittle a spol. (2) v r. 1961. Autoři používají infekčního kmene viru psinky, který na jednovrstevných tkáňových kulturách psích ledvinných buněk vytváří charakteristický CPE a to v prvé pasáži během 18 dní a teprve po 21 pasážích viru se zkracuje tato doba na 9 dní. Titrací viru obdrželi TK ID<sub>50</sub>  $10^{-2,7}$ . Velmi záhy došlo ke ztrátě patogenity viru, pasážovaného na tkáňových kulturách pro psy. Autoři však pokládají za sporné používat virus psinky z tkáňových kultur psích ledvinných buněk jako atenuovaného kmene pro přípravu vakciny pro možnost eventuální kontaminace ledvinné tkáně štěňat jinými viry.

Karzon a spol. (10) píší o kultivaci viru psinky, adaptovaného na chorioalantoidní blány kuřecích embryí na tkáňových kulturách kuřecích embryonálních buněk, kde dochází k pomnožení viru za tvorby typického CPE za 2–3 dny po infekci. Ke kultivaci používají autoři media obohaceného o hovězí amniotickou tekutinu. V další práci referuje Karzon (11) o použití infekčního media z kultivace viru psinky na tkáňových kulturách jako psinkového antigenu pro reakci vazby komplementu.

V předložené práci uvádíme některé naše výsledky při kultivaci viru psinky na tkáňových kulturách kuřecích embryonálních buněk.

## MATERIÁL A METODIKA

**Virus.** Bylo použito viru psinky kmene Onderstepoort, adaptovaného na chorioalantoidní blány kuřecích embryí (Haig – 8)\*). Běžně se pasáže tento virový kmen na chorioalantoidních blánách kuřecích embryí 8–9denních, kde se během 5–6 dnů inkubace při 36°C vytvářejí rozsáhlé změny ve formě foků, většinou čárkovitého tvaru, které při aplikaci nižších ředění viru splývají v celé hřebeny změn a blány bývají difusně ztlustělé.

Pro testovou infekci štěňat bylo použito viru psinky kmene Greifswald\*\*), adaptovaného na CNS psů (Bindrich – 1). Pasážujeme jej intracerebrální

\*) Virový kmen Onderstepoort nám poskytl MVDr. A. Žuffa z n. p. Bioveta Nitra.

\*\*) Kmen viru psinky Greifswald nám poskytl prof. Bindrich z Forschungs-institut für Tierseuchen – Insel Riems, NDR.

infekcí štěnat, u nichž dochází k exitu většinou během 7.—9. dne po infekci za silných nervových příznaků.

**Tkáňové kultury.** Bylo použito tkáňových kultur kuřecích embryonálních buněk (dále jen TK KEB) ve stacionární kultivaci typu jednovrstevných primárních kultur. Příprava těchto kultur byla prováděna způsobem podle Dulbecco a spol. (7) a Youngnera (20) ve vlastní modifikaci. Byla trypsinována 8—12denní kuřecí embrya 0,2% trypsinem vlastní výroby\*). Získaná buněčná suspence byla připravena do růstového media (Earleho roztok solí s 0,3 % laktalbumin hydrolyzátem, 10 % inaktivovaného telecího séra, upraveno 7,5 %  $\text{NaHCO}_3$  na  $\text{pH} = 7,4$ ) v densitě  $8-10 \times 10^5$  buněk v 1 ml. Pro nasazení kultur bylo použito Rouxových lahví o obsahu 1200 nebo 300 ml a zkumavek. Kultury KEB dorostly na úplnou vrstvu během 24—48 hodin při inkubaci při  $37^\circ \text{C}$ .

**Infekce tkáňových kultur.** Pro záchyt viru bylo použito 10 % suspenze chorioalantoidních blan po infekci kuřecích embryí virem psinky. V dalších pasážích na TK KEB byla prováděna infekce mediem z předcházející pasáže. Infekční medium bylo navrstveno na tkáňové kultury po slití růstového media, ponecháno nejméně 30 minut při  $37^\circ \text{C}$ , bylo slito a na kultury navrstveno zachovné medium (Earleho roztok solí s 0,3 % laktalbumin hydrolyzátem buď bez séra nebo s 2 % ovčího séra, upraveno 7,5 %  $\text{NaHCO}_3$  na  $\text{pH} = 7,4$ ). Po 5—6denní inkubaci bylo infekční medium z kultur odebráno a uchováno v mrazicím pultě při  $-35^\circ \text{C}$ .

**Průkaz viru na kuřecích embryích.** Byl prováděn infekcí 8—9denních kuřecích embryí infekčním mediem z TK KEB v postupném ředění po 0,2 ml na kolabovanou chorioalantoidní blánu. Po inkubaci 5—6 dní byly chorioalantoidní blány odebírány a změny posouzeny a hodnoceny. Titry viru byly vypočítány podle Reeda a Muencha (16).

**Neutralizační test.** Byl proveden metodou postupného ředění antisera a stabilní dávky viru. Směs virus a ředění sera byla inkubována 60 minut při  $20^\circ \text{C}$  a potom aplikována po 0,2 ml na kolabovanou chorioalantoidní blánu 8—9denních kuřecích embryí. Spolu byly založeny kontroly viru a protipsinkového séra.

**Imunisace psů.** Byla prováděna aplikací media z infikovaných TK KEB štěnatům z naprosto zdravého chovu ve stáří nejméně 3 měsíce. Testová infekce byla prováděna intracerebrální infekcí virem Greifswald. Denně byla měřena teplota a sledován zdravotní stav štěnat.

## VÝSLEDKY

Byla provedena úspěšná kultivace viru psinky kmene Onderstepoort (Haig — 8) na tkáňových kulturách kuřecích embryonálních buněk. Pro technické a organizační potíže byla tato práce několikrát přerušena a vždy muselo být začato s novými pasážemi. Zdařilo se tak několikrát kultivovat novou linii tohoto virového kmene z výchozího materiálu — 10 % suspence chorioalantoidních blan kuřecích embryí na TK KEB. Linie viru na TK KEB byly vedeny do 8., 18., 9., resp. 28. pasáže.

Souhlasně s výsledky Cabassa a spol. (3) jsme u všech kultivovaných linií viru dosud nepozorovali změny na buňkách infikovaných TK KEB. Nedochozelo ani k rozdílům  $\text{pH}$  media infikovaných kultur od kultur kontrolních.

\*) Trypsin připravoval RNDr. Gustav Petr, Bioveta v Terezíně, n. p. Terezín.

Přítomnost viru byla prokazována jen nepřímo infekcí chorioalantoidních blan kuřecích embryí médiem z TK KEB. Tím jsme zjišťovali pomnožení viru vždy nejméně o 1 týden později po odběru media z infikovaných TK KEB.

Z každé pasáže viru na TK KEB v první linii byl proveden průkaz viru na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí neředitelným médiem z TK a byly hodnoceny změny, které byly stejně výrazné a stejného charakteru jako po infekci suspence viru pasážovaného na kuřecích embryích. Aplikace normálního media z kontrolních, neinfikovaných tkáňových kultur nevyvolala žádné změny na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí. Titrace viru provedená ze 4. pasáže této linie dala KE ID<sub>50</sub> větší než  $10^{-3}$  v 0,2 ml. Z technických důvodů musela být práce přerušena v 8. pasáži viru a po několikaměsíční přestávce se již nepodařilo navázat na tyto pasáže a proto byl proveden nový záchyt a nové pasáže viru obdobným způsobem jako v první linii.

Nové pasáže nově založených linií viru psinky na TK KEB dávaly v průkazu viru nebo v titracích viru na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí obdobné výsledky jako předcházející linie. Ani v jednom případě nedošlo po infekci TK KEB virem psinky ke změnám na buňkách, ve srovnání s kontrolními kulturami. Titry se pohybovaly od KE ID<sub>50</sub>  $10^{-2,0}$  do  $10^{-4,5}$ .

#### NEUTRALIZAČNÍ TEST

Pro průkaz identity viru kultivovaného na TK KEB byl proveden neutralizační test na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí. Pozitivní sérum protipsinkové bylo vyrobeno imunizací psa virem Greifswald a prověřeno v neutralizačním testu na kuřecích embryích virem Onderstepoort z pasáží viru na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí, kde bylo dosaženo titru většího než 1 : 640.

Neutralizační účinek tohoto séra při použití viru z neředitelného media TK KEB po infekci virem psinky byl přibližně stejný jako za použití viru psinky z pasáže na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí, KE ND<sub>50</sub> = 1 : 640. Normální sérum mělo KE ND<sub>50</sub> s virem psinky z TK KEB menší než 1 : 20.

#### IMUNIZACE ŠTĚNAT

Ze 7. pasáže viru Onderstepoort na TK KEB byla provedena imunizace štěnat aplikací neředitelného media z infikovaných TK KEB po 2,5 ml subkutánně 4 štěňatům, 5. štěně sloužilo jako kontaktní kontrola (všech 5 štěnat pocházelo z jednoho vrhu). Po jednom týdnu byla provedena testová infekce všech štěnat intracerebrální aplikací viru Greifswald (20 % suspence mozku štěněte z intracerebrální pasáže tohoto viru). Současně byla infikována 4 štěňata dalšího vrhu.

Nevakcinovaná kontaktní kontrola uhynula za silných nervových příznaků 6. den po infekci, zatímco ostatní štěňata vakcinovaná zůstala bez klinických příznaků (i bez teplotní reakce). Všechna štěňata z druhého vrhu infikovaná virem Greifswald byla po typickém klinickém průběhu psinky usmrcena 9. den po infekci; u všech štěnat došlo k silné teplotní reakci a k vytvoření typických nervových příznaků a štěňata byla usmrcena na vrcholu klinického obrazu choroby.

Z tohoto pokusu můžeme předběžně říci, že virus Onderstepoort, kultivovaný na TK KEB, je schopen vyvolat po aplikaci štěňatům dobrou imunitu.



K vytvoření imunity dochází záhy, již za 1 týden po aplikaci viru byla štěňata plně odolná proti značně vysoké testové infekci virulentním materiálem (dávka použitá k infekci obsahovala přibližně  $10^5$  ID<sub>50</sub> viru).

Z tohoto pokusu lze rovněž usuzovat na to, že mechanismus imunizace bude stejný jako virem Onderstepoort z pasáže na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí, jak o tom referují Cabasso a spol. (3, 4) a Piercy (15).

## DISKUSE

Zdařila se kultivace viru psinky na TK KEB, aniž by virus vytvářel na těchto kulturách CPE, třebaže se pomnožoval. Dosažené titry viru z TK, ověřené na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí jsou poněkud nižší než u viru adaptovaného na kuřecí embrya. Je tu především otázka času odběru media z infikovaných kultur, která může silně ovlivnit množství zachyceného viru uvolněného do media. Tím se mohou rovněž vysvětlit kolísavé titry viru z jednotlivých pasáží na TK KEB. Jistě ovlivňuje pomnožení viru i kvalita tkáňových kultur použitých pro pasážování, zvláště zde, kde zatím není možná kontrola pomnožení viru pomocí pozorování změn na buňkách (CPE).

Po několika úspěšných záchytech a kultivacích viru psinky kmene Onderstepoort na TK KEB se nám zatím nezdařil průkaz CPE na těchto kulturách souhlasně s údaji Cabasso a spol. (3). Avšak v dosavadní práci jsme nepoužívali takového kultivačního prostředí pro virus psinky, jak je popisuje Karzon a spol. (10).

Ve své práci jsme se zatím nezabývali podrobně histologickým vyšetřením infikovaných TK KEB (např. na tvorbu inkluzí v buňkách apod.).

Pro stabilizaci viru psinky z tkáňových kultur a pro možnost jeho dlouhodobé úchovy jsou další práce zaměřené na vhodný způsob úpravy prostředí pro lyofilizaci. Dalším hlavním úkolem je hlubší prověření možnosti použití viru kultivovaného na TK KEB pro aktivní imunizaci proti psince.

## SOUHRN

Je popsána kultivace viru psinky na tkáňových kulturách kuřecích embryonálních buněk. Virus nevytváří na těchto tkáňových kulturách cytopatický efekt a průkaz pomnožení se provádí na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí. Po aplikaci viru z neředěného media tkáňových kultur kuřecích embryonálních buněk se vytváří u štěňat solidní imunita.

Došlo dne 16. 7. 1964

## Literatura

1. Bindrich: Arch. Exp. Vet. Med. IV, 98-115, 1951. — 2. Bittle et al.: Cornell Vet. 51, 359-369, 1961. — 3. Cabasso et al.: PSEB&M 100:551-554, 1959. — 4. Cabasso et al.: Am. j. vet. res. 23:394-402, 1962. — 5. Dedié et al.: Exp. Vet. Med. IV:137-146, 1951. — 6. Dedié et al.: Arch. exp. vet. med. 6:57-64, 1952. — 7. Dulbecco et al.: J. exp. med. 99:167-182, 1954. — 8. Haig: Onderstepoort J. Vet. res. 27:19-53, 1956. — 9. Hopper: J. comp. path. 69:78-86, 1959. — 10. Karzon et al.: Science 130:1708-1709, 1959. — 11. Karzon et al.: Am. JVR 22:1069-1075, 1962. — 12. Lasfargues et al.: C. R. Soc. de Biol. 146:1711-13, 1952. — 13. Lasfargues et al.: C. R. Soc. de Biol. 146:1713-15, 1952. — 14. Mitscherlich: DTW 32, 46:497-502, 1938. — 15. Piercy: Vet. Rec. 73:479-480, 1961. —

16. Reed-Muench: Am. j. hyg. 27:493-497, 1938. — 17. Rockborn: Arch. f. Virusforsch. 8:485-492, 1958. — 18. Rockborn: Nature 184:822, 1959. — 19. Vantais: Vet. Rec. 71:99-100, 1959. — 20. Youngner: PSEB&M 85:202-205, 1954.

### **Культивирование вируса чумы собак на тканевых культурах**

Описывается культивация вируса чумы собак на тканевых культурах куриных эмбриональных клеток. Вирус не образует на этих тканевых культурах цитопатического эффекта, и доказательство размножения производится на хориолантоисных оболочках куриных эмбрионов. После применения вируса из неразведенной среды тканевых культур куриных эмбриональных клеток у щенят образуется солидный иммунитет.

### **Cultivation of the Virus of Distemper in Tissue Cultures**

There is a description of the cultivation of the virus of distemper in tissue cultures of chicken embryo cells. In these tissue cultures the virus does not create any cytopathic effect, and the proof of multiplication is carried out on chorioallantoid membranes of chicken embryos. After application of the virus from the undiluted medium of tissue cultures of embryonal cells of chicken a solid immunity evolves in puppies.

### **Kultivierung des Staupevirus auf Gewebekulturen**

Die Kultivierung des Staupevirus auf Gewebekulturen der Kücken-Embryonalzellen wird beschrieben. Das Virus bildet auf diesen Gewebe-Kulturen keinen zytopathischen Effekt und der Beweis der Vermehrung wird auf chorioalantoiden Häuten der Kückenembryonen durchgeführt. Nach der Applikation des Virus aus unverdünntem Medium der Gewebekulturen der Kücken-Embryonalzellen wird bei Hundewelpen eine solide Immunität erreicht.

**MVDr. Eduard Jiran,**

Technická spolupráce Hana Junková  
a Ivana Štrosová,  
Bloveta n. p., Terežín

■ Klinická a laboratorní diagnostika traumatických reticuloperitonitid naráží v četných případech na potíže. Je to onemocnění, u něhož je třeba počítat se značnou rozmanitostí patologických procesů. Proto každá metoda zpřesňující diagnózu může být cenná. Dosavadní hematologická diagnostika se opírá o zjištění neutrofilie s případným posunem doleva a leukocytózu (Moser, 1951; Hrdlička, 1953; Sander, 1955; Rademacher, 1960; Schalm, 1956; Carroll a spol., 1958) a jiní. Naše zkušenosti jakož i práce Kingreye (1955), Luedke a Hokansona (1961) a Slaniny (1962) ukazují však, že v četných případech tato diagnostika nepřináší dostatečně kladné výsledky, které by byly použitelné pro diagnózu. Mnohdy totiž, i když jde o akutní traumatickou reticuloperitonitidu není současně neutrofilie. Diferenciál poskytuje méně než 50 % správných diagnostických výsledků (Luedke a Hokanson, 1961).

Podstatným přínosem pro tyto případy by bylo zjištění Luedke a Hokansona (1961), kteří prokazují patologické změny v leukocytech. Tyto změny nalézají v případech, kdy žádné jiné prokazatelné změny nejsou. Přisuzují totiž jejich zjištění diagnostický význam. U zdravých krav udávají průměrně 2–13 %, maximálně 15 % patologických buněk. U 18 krav s traumatickým zánětem předžaludků a pobřišnice prokazují v počátku onemocnění při objevení se prvních klinických příznaků 13 až 63 % patologických buněk. Po 24 hodinách udávají 24–90 %. U 13 z 18 vyšetřovaných krav zjistili zvýšené zastoupení abnormálních leukocytů v prvních 24 hodinách onemocnění, což označují jako ascendentní degenerativní index.

Cílem naší práce je ověřit jejich zjištění v našich podmínkách a použít je k případnému zpřesnění diagnostiky traumatické reticuloperitonitidy.

## VLASTNÍ PRÁCE A VÝSLEDKY

Provedli jsme krevní vyšetření u 50 zdravých červenostrakatých krav a u 50 zdravých dánských červínek. Dále jsme vyšetřili 72 nemocných zvířat s nejrůznějšími vnitřními chorobami, z toho 48 stížených traumatickým onemocněním. Sledovali jsme počet leukocytů, leukogram a patologické bílé krvinky. Krev byla odebrána z *veny jugularis* do lahviček s odparkem Wintrobova roztoku. Počítání krvinek bylo prováděno baničkovou metodou v Bürkeově komůrce. Krevní nátěry na podložních sklech byly barveny podle Pappenheima a bylo prohlíženo 200 bílých krvinek z každého nátěru. Zdůrazňujeme, že je

| Diagnóza                                                 | Počet př. | Lc                  | LEUKOGRAM v % |             |    |             |             |            |             |
|----------------------------------------------------------|-----------|---------------------|---------------|-------------|----|-------------|-------------|------------|-------------|
|                                                          |           |                     | Seg.          | Eo          | Ba | Ly          | Mo          | Ty         | Ml          |
| Zdravé čstr. krávy                                       | 50        | 6600<br>4300—9100   | 32<br>22—42   | 5<br>1—12   | 0  | 60<br>46—67 | 2<br>1—6    | 1<br>0—3   | 0           |
| Zdravé dánské červinky                                   | 50        | 8100<br>5300—10500  | 35<br>17—54   | 4<br>0—15   | 0  | 58<br>36—81 | 2<br>0—8    | 1<br>0—4   | 0           |
| <i>Reticuloperitonitis traum. circ. acuta</i>            | 25        | 8800<br>2600—12400  | 60<br>12—71   | 2<br>0—10   | 0  | 31<br>26—66 | 4<br>0—10   | 2<br>0—16  | 1<br>0—6    |
| <i>Reticuloperitonitis traum. circ. chronica</i>         | 7         | 7750<br>6000—14500  | 50<br>39—77   | 2<br>0—4    | 0  | 42<br>12—56 | 4<br>0—5    | 2<br>0—3   | 0<br>0—5    |
| <i>Peritonitis traum. diffusa, hepatitis et lienitis</i> | 9         | 11490<br>4500—34000 | 58<br>39—73   | 2,3<br>0—14 | 0  | 29<br>16—56 | 1<br>0—4    | 7<br>2—19  | 2,7<br>0—6  |
| <i>Pericarditis traum.</i>                               | 5         | 7400<br>5100—9500   | 65<br>51—70   | 1<br>0—3    | 0  | 26<br>23—35 | 5<br>3—6    | 1,5<br>0—2 | 1,5<br>1—3  |
| <i>Pneumonia traum.</i>                                  | 2         | 8650<br>6300—11000  | 61<br>54—68   | 2,5<br>2—3  | 0  | 19<br>19—20 | 2<br>0—4    | 9<br>3—18  | 6,5<br>2—12 |
| Akutní indigesce                                         | 4         | 6000<br>2200—12300  | 58<br>48—70   | 2<br>1—3    | 0  | 34<br>25—37 | 3,2<br>3—4  | 2<br>0—5   | 0,8<br>0—1  |
| <i>Gastroenteritis —<br/>— intoxikace</i>                | 9         | 7450<br>3800—11200  | 58<br>34—79   | 3,5<br>0—10 | 0  | 29<br>12—59 | 4,5<br>1—13 | 2<br>1—6   | 3<br>0—5    |
| Invaginace                                               | 1         | 4800                | 58            | 0           | 0  | 31          | 4           | 3          | 4           |
| <i>Sepsis puerperalis</i>                                | 4         | 8300<br>2600—21300  | 52<br>42—71   | 0           | 0  | 15<br>11—22 | 0           | 22<br>9—31 | 11<br>6—22  |
| Puerperální hemoglobinurie                               | 4         | 8900<br>6300—13900  | 65<br>53—78   | 2<br>1—3    | 0  | 27<br>18—42 | 1<br>0—2    | 4<br>1—9   | 1<br>0—2    |
| <i>Tetanus post partum</i>                               | 2         | 4000<br>4000        | 22<br>9—36    | 0           | 0  | 60<br>0     | 2<br>0      | 10<br>2—19 | 6<br>2—11   |

třeba dbát na velmi dobrou kvalitu krevních nátěrů. U všech leukocytů jsme sledovali tyto patologické známky:

- a) vakuolizaci cytoplazmy
- b) rupturu buněčné membrány
- c) nepravidelnosti jádra
- d) toxickou granulaci
- e) změnu barvitelnosti cytoplazmy (Döhlova tělíska)

a celkové % patologických buněk. Patologické formy se vyskytují s nepatrnou výjimkou hlavně v neutrofilních granulocytech. Výsledky jsou zachyceny v tabulce I.

| Patologické formy leukocytů v % |                       |                       |                      |                | Celkové %<br>pat. buněk |
|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------|-------------------------|
| Vakuoly<br>v cyt.               | Ruptura<br>buň. blány | Nepravidelná<br>jádra | Toxická<br>granulace | Změna<br>barvy |                         |
| 0,8<br>0-2,5                    | 1,3<br>0-3            | 0,4<br>0-2            | 0,3<br>0-2           | 0,25<br>0-1    | 3,05 ± 1,02             |
| 2,12<br>0-5                     | 1,5<br>0-5            | 0,56<br>0-2           | 0,88<br>0-3          | 0,56<br>0-2    | 5,62 ± 2,44             |
| 1,5<br>0-7                      | 2,7<br>0-5            | 0,7<br>0-10           | 6<br>0-30            | 3<br>0-8       | 13,9 ± 7,0              |
| 0,4<br>0-3                      | 1,5<br>0-6            | 1<br>0-3              | 3,6<br>0-10          | 2,1<br>0-6     | 8,60 ± 2,80             |
| 2,4<br>0-7                      | 5,2<br>0-18           | 5,2<br>0-18           | 4,2<br>3-32          | 11,3<br>0-14   | 28,30 ± 12,8            |
| 1,2<br>0-4                      | 4,4<br>0-11           | 1,6<br>0-5            | 6,6<br>0-8           | 8,2<br>0-14    | 22,00 ± 7,10            |
| 3<br>2-4                        | 7<br>4-10             | 1,5<br>0-3            | 8,5<br>7-10          | 8<br>6-10      | 28,00 ± 8,40            |
| 1<br>0-1                        | 5<br>2-6              | 1<br>0-2              | 1<br>0-2             | 2<br>1-3       | 10,00 ± 2,50            |
| 4,2<br>1-14                     | 5<br>3-17             | 0,3<br>0-2            | 7,5<br>2-20          | 1<br>1-6       | 18,00 ± 5,20            |
| 1                               | 17                    | 1                     | 3                    | 0              | 22,00 ± 0               |
| 8<br>1-13                       | 12<br>6-17            | 26<br>11-31           | 32<br>6-42           | 9<br>3-15      | 87,00 ± 13              |
| 3<br>0-4                        | 6<br>2-9              | 2<br>0-3              | 11<br>3-19           | 0              | 22,00 ± 5,5             |
| 4<br>0                          | 4<br>2-7              | 11<br>10-12           | 5<br>2-9             | 0<br>0         | 24,00 ± 1,0             |

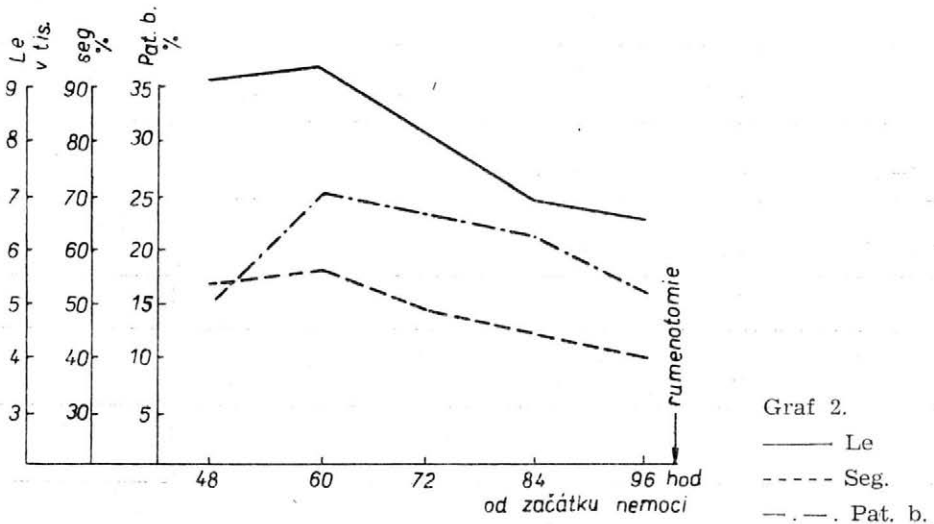
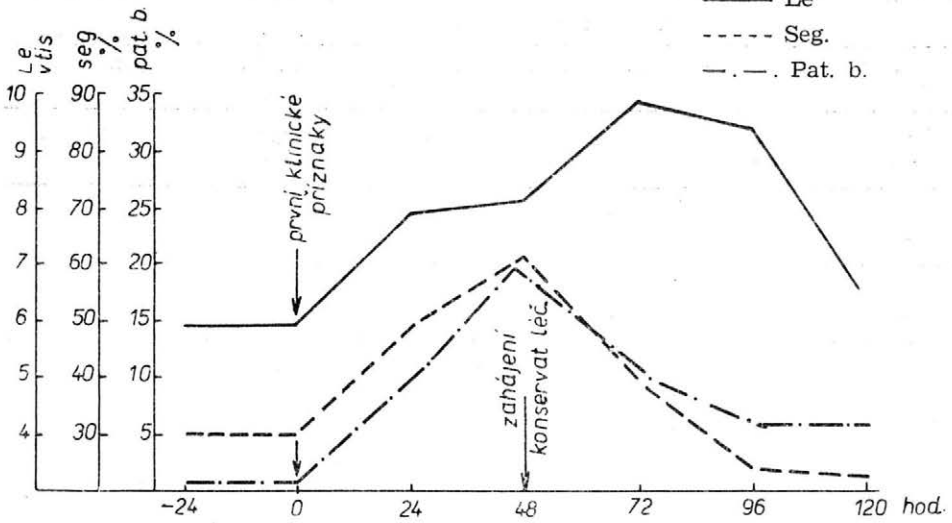
Dále jsme sledovali dynamiku výskytu patologických forem leukocytů u jalovice s experimentálně vyvolanou akutní cirk. traumatickou retikuloperitonitidou (graf 1).

Podobně graf 2 znázorňuje dynamiku bílého krevního obrazu u krávy s akutní traumatickou cirk. retikuloperitonitidou.

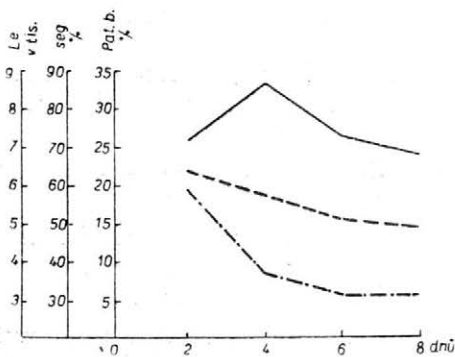
Na dalším grafu 3 sledujeme dynamiku výskytu patologických forem Le v průběhu choroby — intoxikace 3 krav lihovarskými výpalky. Průběh onemocnění byl vzájemně velmi podobný a skončil uzdravením zvířat.

V grafu 4 vyznačujeme hodnoty patologických forem leukocytů u zdravého červenostrakatého a dánského skotu a při různých formách traumatického procesu

Graf 1.

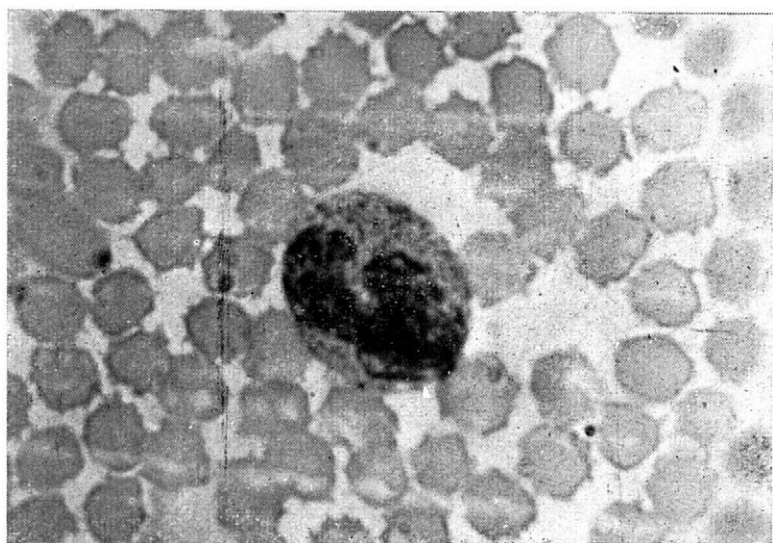


Graf 2.

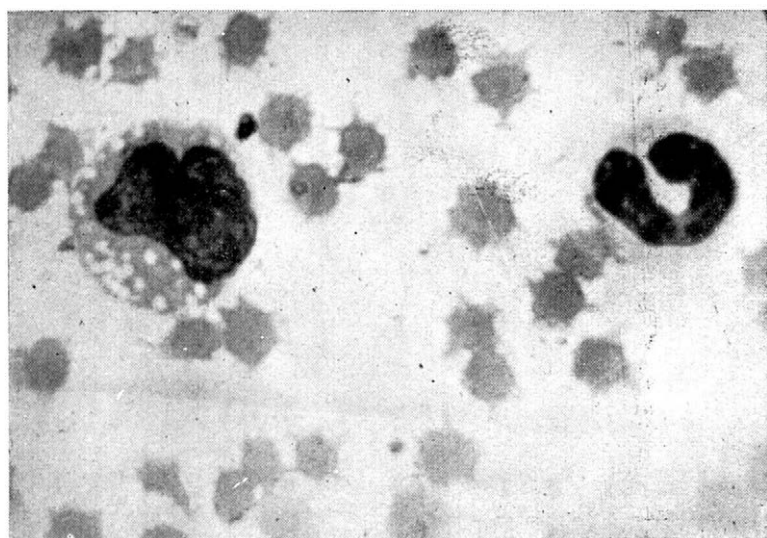


Graf 3.

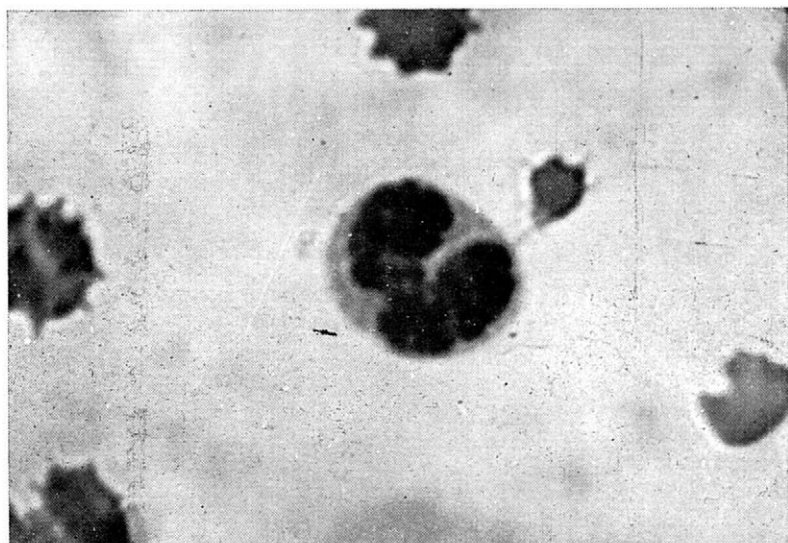




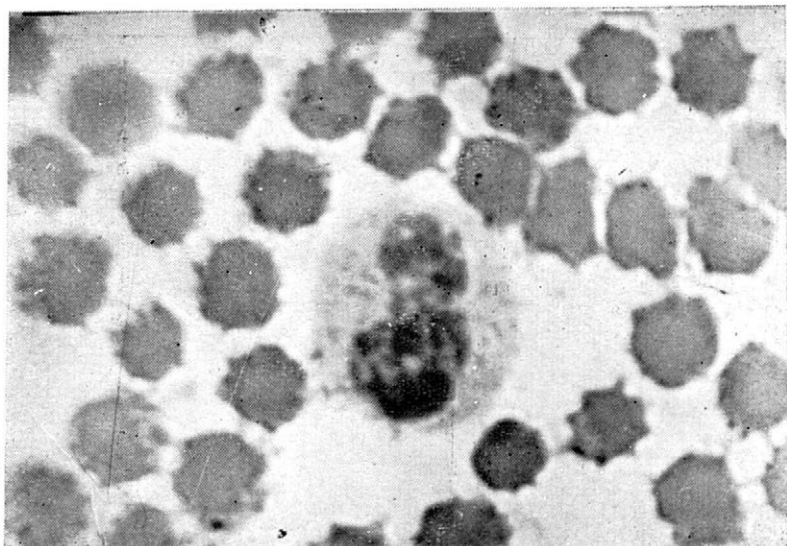
Obr. 1. Toxická granulace při septickém stavu



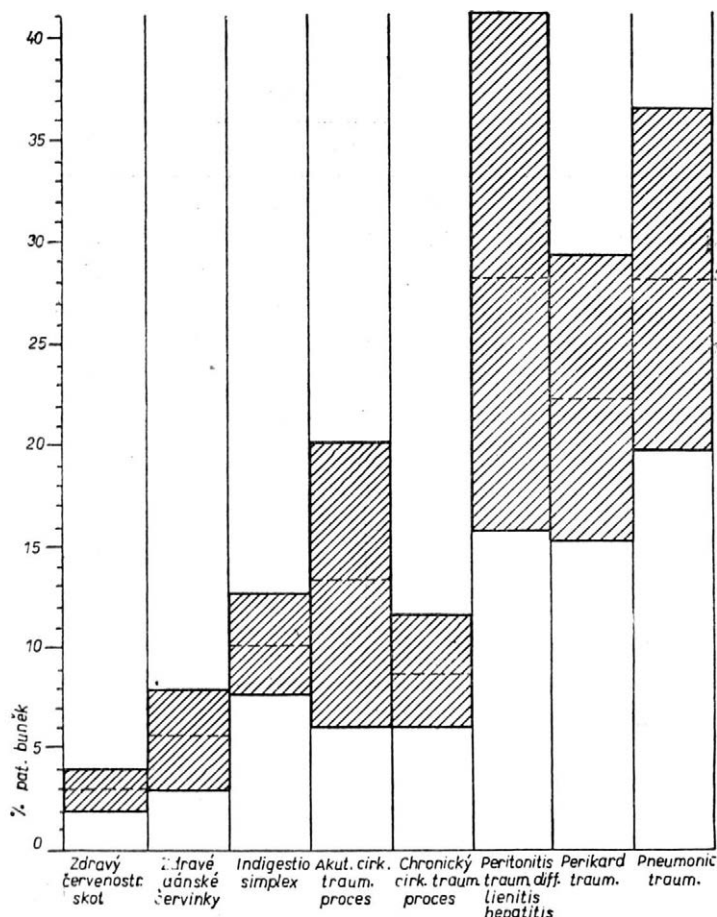
Obr. 2. Vakuolizace cytoplasmy při traumatické hepatitidě



Obr. 3. Zduřelé jádro neutrofil. segmentu při puerperální hemoglobinurii



Obr. 4. Toxická granulace a rozpad jádra neutrofilní tyčky při tetanu  
Foto J. Drápalová



Graf 4.

a *indigestio simplex*, s přihlédnutím ke směrodatné odchylce od aritmetického průměru, která je vyznačena.

V tabulce II je pak uveden bílý krevní obraz s málo přesvědčivými nálezy pro traumatickou retikuloperitonitidu u 13 krav s diagnózou *reticuloperitonitis traumatica* z celkového počtu 48 námi vyšetřených zvířat a % patologických forem.

## DISKUSE

Procento patologických buněk nepřesáhlo u zdravých červenostřskotů 5 %. Zjistili jsme v průměru  $3,05 \pm 1,02$  % (1–5) patologických leukocytů. Rozdílné výsledky proti Luedke a Hokansonovi (1961) vysvětlujeme rozdílnou plemennou příslušností jimi vyšetřovaných krav. Naše zkušenosti s dánskými červinkami to potvrzují. Zjišťujeme u nich v průměru  $5,62 \pm 2,44$  % (3–8) patologických buněk v leukogramu. Tento rozdíl při statistickém zhodnocení se jeví jako významný, ve srovnání se stejným souborem červenostřskotů.

Při hodnocení tabulky I je zřejmé, že intenzita zánětlivého procesu a tím i dřevový podnět jsou rozhodující pro výši procenta patologických buněk

| Číslo | Diagnóza                                             | Le<br>v tis. | Leukogram |       |        | Pat. buňky<br>v % |
|-------|------------------------------------------------------|--------------|-----------|-------|--------|-------------------|
|       |                                                      |              | seg.      | tyčky | ml. f. |                   |
| 1.    | <i>reticuloperitonitis traum. circ. acuta</i>        | 2600         | 32        | 0     | 0      | 40*               |
| 2.    | <i>reticuloperitonitis traum. circ. acuta</i>        | 5600         | 38        | 2     | 0      | 17                |
| 3.    | <i>reticuloperitonitis traum. circ. acuta</i>        | 6100         | 31        | 1     | 2      | 11                |
| 4.    | <i>reticuloperitonitis traum. circ. acuta</i>        | 7100         | 38        | 0     | 0      | 14                |
| 5.    | <i>reticuloperitonitis traum. circ. acuta</i>        | 12400        | 31        | 0     | 0      | 16                |
| 6.    | <i>reticuloperitonitis traum. circ. acuta</i>        | 5900         | 29        | 3     | 1      | 5                 |
| 7.    | <i>reticuloperitonitis traum. circ. acuta</i>        | 6500         | 28        | 2     | 0      | 7                 |
| 8.    | <i>reticuloperitonitis traum. circ. acuta</i>        | 7000         | 37        | 1     | 1      | 5                 |
| 9.    | <i>reticuloperitonitis traum. circ.<br/>chronica</i> | 10400        | 39        | 1     | 1      | 9                 |
| 10.   | <i>reticuloperitonitis traum. diffusa</i>            | 6300         | 28        | 2     | 2      | 19                |
| 11.   | <i>reticuloperitonitis traum. diffusa</i>            | 5300         | 39        | 5     | 0      | 34                |
| 12.   | <i>reticuloperitonitis traum. diffusa</i>            | 4300         | 36        | 7     | 1      | 10                |
| 13.   | <i>reticuloperitonitis traum. diffusa</i>            | 3500         | 12        | 16    | 6      | 4                 |

\* pacient krátce před porodem.

v leukogramu. Při septickém stavu (*sepsis puerperalis* po ruptuře dělohy) jsme zjistili  $87 \pm 13$  % patologických buněk. Dále jsme zjišťovali vysoké procento patologických buněk při traumatické *hepatitis* a *lienitis*  $28,3 \pm 12,8$  %, traumatické pneumonii  $28,0 \pm 8,4$  %, při tetanu (puerperální)  $24,0 \pm 1,0$  %, puerperální hemoglobinurii  $22,0 \pm 5,5$  %, *pericarditis traumatica*  $22,0 \pm 7,1$  % a při invaginaci 22 %. Rovněž při akutní *indigestio simplex* (šlo o krávy, které byly operovány a nález na čepci byl zcela negativní, včetně srůstů apod.) bylo zjištěno zvýšené procento patologických leukocytů  $10,0 \pm 2,5$  %, které při intoxikacích vystupují až na  $18,0 \pm 5,2$  %. Při akutním traumatickém cirk. procesu na pobřišnici jsme zjistili  $13,9 \pm 7,0$  % a při chronickém jen  $8,6 \pm 2,8$  % patologických buněk. Ve srovnání s Luedkem a Hokansonem (1961) je nápadně všeobecně nižší procento patologických buněk v našich výsledcích. Příčiny jsme částečně vysvětlili u kontrolní skupiny krav a dále tím, že většina případů byla zachycena a hematologicky vyšetřena až čtvrtý den nebo i později, kdy dochází nejen k poklesu leukocytů a segmentů, ale také k úbytku patologických forem, jak je zachyceno na grafu 2. To souhlasí se zjištěním Luedke a Hokansona (1961) u krav 4.—8. den po úspěšné rumenotomii.

Při statistickém zhodnocení grafu 4. se nám jeví jako vysoce významný rozdíl mezi hodnotami patologických forem leukocytů u zdravého červenostřakatého skotu a u krav stížených akutní cirk. a difúzní retikuloperitonitidou a traumat. lienitidou a hepatitidou, perikarditidou a pneumonií. Rozdíl mezi zdravými kravami a kravami s *indigestio simplex* a chronickou traumatickou retikuloperitonitidou můžeme hodnotit jen jako statisticky významný, což z klinického hlediska jako pomoc při stanovení diagnózy musíme brát s určitou rezervou. S těmito potížemi se můžeme setkat rovněž při vyhodnocení výsledků

výskytu patologických forem leukocytů při subakutních traumatických cirk. procesech, pro což svědčí výsledky na grafu 2, které ukazují nejprve vzestup a pak trvalý pokles patologických leukocytů. Není rovněž vzájemného rozdílu mezi *indigestio simplex*, chronickou traumatickou peritonitidou a akutní traumatickou cirk. retikuloperitonitidou. V tomto směru nemůžeme tedy očekávat zpřesnění diferenciální diagnostiky.

Při celkovém posouzení patologických forem leukocytů (graf 3. a 4.) je neutrofilie doprovázena současně zvýšením procenta patologických buněk. S ustupující neutrofilii ubývá rovněž patologických forem leukocytů v leukogramu. Nejčastější formou patologických buněk je toxická granulace v neutrofilech. Nemůžeme říci, že by ta která forma byla specifická pro určité onemocnění.

Z celkového počtu 48 vyšetřených zvířat trpících traumatickým procesem jsme nezjistili neutrofilií a posun do leva u 13 případů, tj. 27,1 % (viz tabulku II.). Při sledování patologických forem leukocytů v těchto případech jsme však v 10 ze 13 zjistili zvýšené procento patologických buněk, a to v rozsahu 7–40 %. U zbývajících tří případů nebylo zaznamenáno zvýšení. V těchto 10 případech bylo sledování procenta výskytu patologických forem leukocytů diagnosticky cennou pomůckou při stanovení diagnózy traumatického zánětu předžaludků u skotu, jelikož bylo možné vyloučit klinickým vyšetřením jiné zánětlivé procesy v organismu a indigesci.

## SOUHRN

Patologické leukocyty se objevují v krvi jako průvodní jev zánětlivého a toxického procesu. Jejich výskyt není specifický pro traumatická onemocnění, ale zjistili jsme je též u 4 případů akutní indigesci, u 4 případů gastroenteritidy, u 4 případů puerperální hemoglobinurie, u 2 případů tetanu a u 1 případu invaginace a u 4 případů puerperální sepse.

Bylo vyšetřeno 48 krav nemocných traumatickým procesem, z nichž leukocytosa a neutrofilie byla zjištěna u 35 kusů, tj. 72,9 % a výskyt zmnožených patologických forem leukocytů u 45 kusů, tj. 93,7 %.

Jen patologické formy s lymfocytózou byly zjištěny u 10 případů, tj. 20 %.

Jen u 3 případů (6,3 %) nebyla zjištěna ani leukocytóza s neutrofilii ani výskyt zvýšeného procenta patologických forem leukocytů.

Došlo dne 29. 7. 1964

## Literatura

1. Carroll a spol.: JAVMA, 132, 248, 1958. — 2. Hrdlička: Dis. VF Brno, 1952. — 3. Komárek: Veterinární časopis XI, 3, 286, 1962. — 4. Kingrey: JAVMA, 127, 12, 477, 1955. — 5. Luedke a Hokanson: JAVMA, 138, 9, 487, 1961. — 6. Moser: Schweiz. Arch. Tierheilk. 10, 693, 1951. — 7. Rademacher, Rademacherová: Vet. medicina 5, 12, 893, 1960. — 8. Sander: Mh. Tierheilk. 7, 180, 1955. — 9. Schalm: Diseases of Cattle 380, Evanston 1956. — 10. Slanina: Veterinární časopis XI, 5, 463, 1962. — 11. Spáčil: Veterinární medicina 5, 12, 893, 1960.

## **Роль патологических лейкоцитов в диагностике травматического ретикулперитонита у крупного рогатого скота**

Патологические лейкоциты появляются в крови в качестве сопроводительного явления воспалительного и токсического процесса. Появление их неспецифично для травматических заболеваний, но они были нами установлены также в четырех случаях острой индигестии, у четырех случаев гастроэнтерита, у четырех случаев пuerперальной гемоглобинурии, у двух случаев столбняка, у 1 случая инвагинации и 4 случаев пuerперального сепсиса. Было обследовано 48 коров, болевших травматическим процессом, в числе которых лейкоцитоз и нейтрофилия были установлены у 35 голов, т. е. у 72,9 %, а появление множественных патологических форм лейкоцитов у 45 голов, т. е. у 93,7 %.

Только патологические формы с лимфоцитозом были установлены у 10 случаев, т. е. у 20 %.

Только у трех случаев (6,3 %) не были установлены ни лейкоцитоз с нейтрофилией, ни появление повышенного процента патологических форм лейкоцитов.

### **The Significance of the Pathological Leucocytes in Diagnosing the Traumatic Reticuloperitonitis in Cattle**

The pathological leucocytes appear in the blood accompanying the inflammatory and toxic processes. Their occurrence is not specific for the traumatic diseases, but we have found them in 4 cases of acute indigestion, in 4 cases of gastroenteritis, in 4 cases of puerperal haemoglobinuria, in 2 cases of lockjaw and in 1 case of invagination and 4 cases of puerperal sepsis, too. 48 cows were examined suffering from traumatic process and in 35 cases out of them leucocytosis and neutrophilia was recognized i. e. 72 %. 45 cows showed increased pathological forms of leucocytes as much as 93,7 %.

Pathological forms with the lymphocytosis only were ascertained in 10 % i. e. 20 %.

In 3 cases only (6,3 %) neither leucocytosis with neutrophilia nor the occurrence of a higher percentage of the pathological forms of leucocytes were ascertained.

### **Die Bedeutung der pathologischen Leukozyte für die Diagnostik der traumatischen Reticuloperitonitide beim Rind**

Pathologische Leukozyten kommen im Blut als eine Begleiterscheinung des Entzündungs- und toxischen Prozesses vor. Ihre Anwesenheit ist für traumatische Erkrankungen nicht spezifisch; wir konnten sie jedoch auch bei vier Fällen der akuten Indigestion, bei vier Fällen der Gastroenteritide, bei vier Fällen der puerperalen Hämoglobinurie, bei zwei Fällen des Tetanus und bei einem Fall der Invagination und vier Fällen der puerperalen Sepsis feststellen. Man untersuchte 48 Kühe mit traumatischem Prozeß, wobei die Leukozytose und Neutrophilie bei 35 Stück, d. h. 72,9 % und das Vorkommen vermehrter pathologischer Leukozytenformen bei 45 Stück d. h. 93,7 % ermittelt wurde.

Pathologische Formen mit Lymphozytose allein wurden in 10 Fällen d. h. 20 % festgestellt.

Nur bei 3 Fällen (6,3 %) wurde weder die Leukozytose mit Neutrophilie noch das Vorkommen einer erhöhten Prozentzahl pathologischer Leukozytenformen festgestellt.

**Bohumír Hofírek, prom. vet. lékař,  
Doc. MVDr. Tibor Lax, CSc.,  
Miroslav Foltýn, prom. vet. lékař,  
Vysoká škola zemědělská, veterinární  
fakulta, II. interní klinika,  
Brno, Palackého 1.**



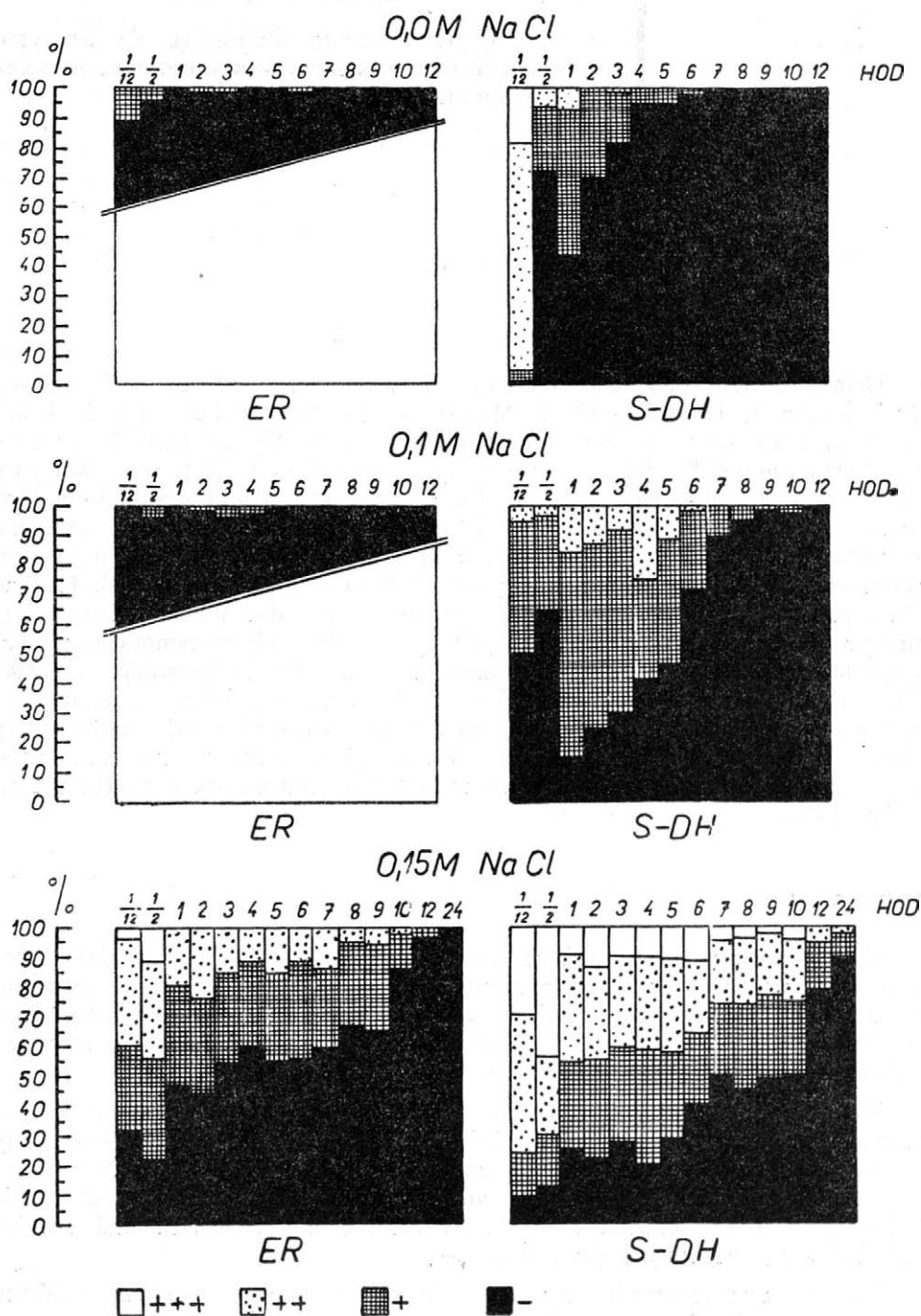
■ Účinok osmotického tlaku na cicavčie spermie skúmal už rad autorov (Gellhorn 1, Dubinčik 2, Milovanov 3, Anderson 4, Emmens 5, Salisbury, Knodt a Bratton 6, Swanson 7, Pursley a Herman 8, Blackshaw a Emmens 9, Smidt, Meyer a Herman 10, Bishop 11, 12, 13, Mann 14, Wales a White 15, Chang 16). Bishop volil u spermii býka ako ukazovateľa odpovede na rôzne koncentrácie kuchynskej soli motilitu a spotrebu  $O_2$ , Mann (14) u spermii barana zase fruktolýzu. Okrem kuchynskej soli sa v poslednom čase intenzívne skúma glycerol, využívaný — ako je známe — pri dlhodobom konzervovaní pomocou hlbokého zmrazovania. Náš prístup k štúdiu vplyvu osmotického tlaku na spermie exploatuje cytochemickú metódu na aktivitu endogenných reduktáz (ER aktivitu) a sukcínodéhydrogenázy (S-DH aktivitu), ktoré na rozdiel od iných metód majú tú prednosť, že podávajú informácie aj o rozdelení aktivity v rámci skúmanej bunecnej populácie. Práca pritom naväzuje na naše systematické štúdium aktivity endogenných reduktáz boviných spermii (Hrudka 17, 18, 19).

## METODIKA

Naše pozorovania sú urobené na individuálnych ejakulátoch alebo smesiach 3—5 ejakulátov od býkov inseminačnej stanice. Ejakuláty získané pomocou umelej vagíny boli ihneď po odbere vkladané po pollitrového pohára s vodou 18—20° C teplou a, ak sa pokus nezačal ihneď, spolu s ochranným vodným pláštom udržiavané v chladničke pri 4° C.

K pokusu bolo semeno rozdelené a riedené v pomere 1 : 4 nasledujúcimi roztokmi kuchynskej soli: 5,0, 3,0, 1,0, 0,3, 0,15, 0,1 M NaCl a 0,0 M, tj. dest. vodou. Účinok roztoku na aktivitu ER a S-DH spermii bol zisťovaný po 5, 30 a 60 minútach, potom v pravidelných jednotlivých intervaloch až do 12 hod. po zriedení semena. Zriedené i kontrolné (neriedené) semená boli behom sledovania udržiavané pri 24° C.

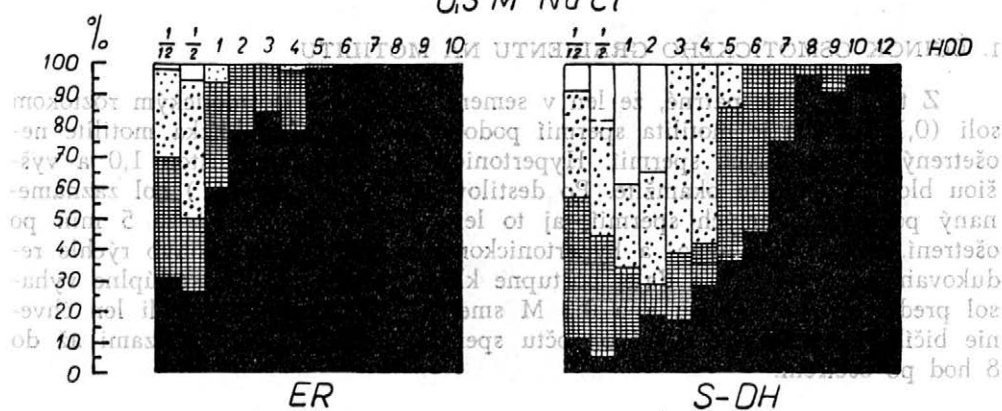
Motilitu sme hodnotili pomocou mikroskopu s termostatickým stolíkom, nastaveným na 37° C, a to v päťstupňovej škále. Použité cytochemické metódy a hodnotenie ich výsledkov sú popísané v predchádzajúcich prácach (Hrudka 18, 19).



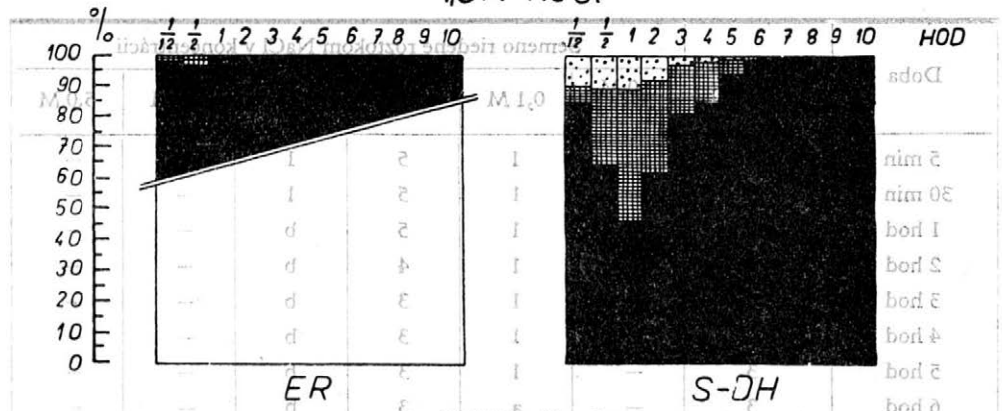
Graf 1. Vplyv rôznych koncentrácií NaCl na aktivitu endogenných reduktáz (ER) a sukcinodehydrogenázy (S-DH) byčích spermií pozorovaní behom 12 resp. 24 hod. po ošetrení. Rozdelenie aktivity v rámci bunkovej populácie a v jednotlivých časových intervaloch udávajú príslušné stĺpce.

Už v prvých pokusoch zistených na individuálnych ejakulatoch sme zistili jednoznačný vplyv osmotického gradientu na ER aktivitu. Tento vplyv sme overili na rade ďalších vzoriek i na smiešaných ejakulatoch od viacerých býkov.

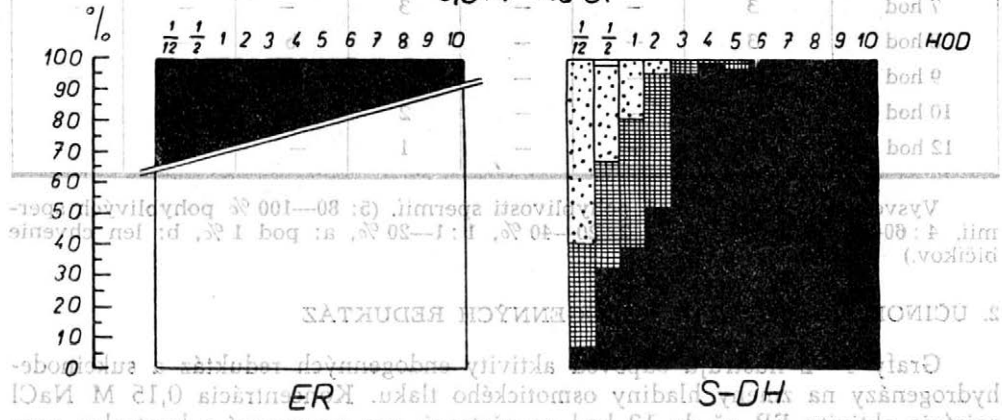
### 0,3 M NaCl



### 1,0 M NaCl



### 5,0 M NaCl



Graf 2. (Pokračovanie grafu 1)

## VÝSLEDKY

Už v prvých pokusoch robených na individuálnych ejakulátoch sme zistili jednoznačný vplyv osmotického gradientu na ER aktivitu. Tento vplyv sme overili na rade ďalších vzorkov i na smesiach ejakulátov od viacerých býkov.

### 1. ÚČINOK OSMOTICKÉHO GRADIENTU NA MOTILITU

Z tabuľky 1 je patrné, že len v semene zriedenom isosmotickým roztokom soli (0,15 NaCl) je motilita spermií podobná alebo veľmi blízka motilite neošetrených kontrolných spermií. Hypertonické roztoky s molaritou 1,0 a vyššou blokujú motilitu okamžite. Po destilovanej vode („0,0 M“) bol zaznamenaný pohyb ojedinelých spermií, aj to len v kontrole robenej za 5 min po ošetrení. Pri slabom hypo- a hypertonickom roztoku soli byl pohyb rýchle redukován o 80–90 % a ďalej postupne klesal. U 0,1 M roztoku úplne vyhasol pred siedmou hodinou a u 0,3 M sme od 606 min registrovali len chvenie bičikov u striedavo veľkého počtu spermií, ktoré trvalo s pauzami až do 8 hod po ošetrení.

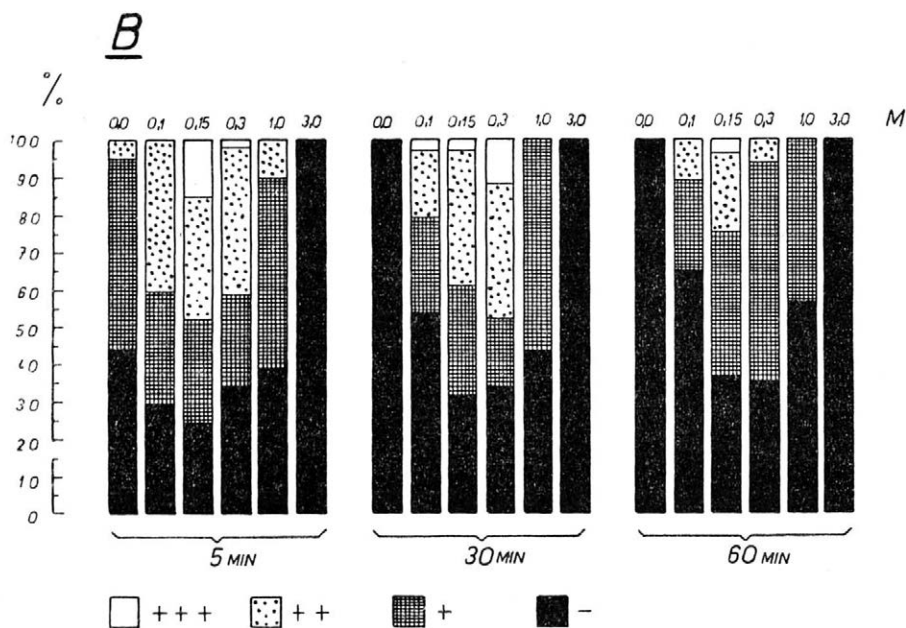
#### I.

| Doba   | Kontrolné semeno | Semenó riedené roztokom NaCl v koncentracií |       |        |       |       |       |
|--------|------------------|---------------------------------------------|-------|--------|-------|-------|-------|
|        |                  | 0,0 M aq. dest.                             | 0,1 M | 0,15 M | 0,3 M | 1,0 M | 5,0 M |
| 5 min  | 5                | 1                                           | 1     | 5      | 1     | —     | —     |
| 30 min | 5                | —                                           | 1     | 5      | 1     | —     | —     |
| 1 hod  | 5                | —                                           | 1     | 5      | b     | —     | —     |
| 2 hod  | 4                | —                                           | 1     | 4      | b     | —     | —     |
| 3 hod  | 4                | —                                           | 1     | 3      | b     | —     | —     |
| 4 hod  | 4                | —                                           | 1     | 3      | b     | —     | —     |
| 5 hod  | 3                | —                                           | 1     | 3      | b     | —     | —     |
| 6 hod  | 3                | —                                           | a     | 3      | b     | —     | —     |
| 7 hod  | 3                | —                                           | —     | 3      | —     | —     | —     |
| 8 hod  | 3                | —                                           | —     | 2      | b     | —     | —     |
| 9 hod  | 2                | —                                           | —     | 2      | —     | —     | —     |
| 10 hod | 2                | —                                           | —     | 2      | —     | —     | —     |
| 12 hod | 2                | —                                           | —     | 1      | —     | —     | —     |

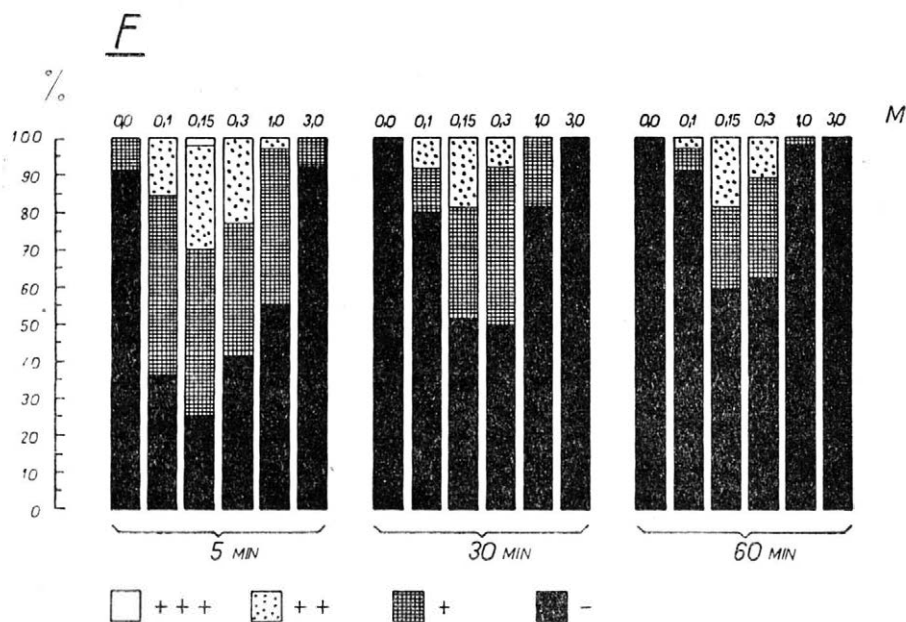
Vysvetlivky: 5—1: stupeň pohyblivosti spermií. (5: 80—100 % pohyblivých spermií, 4: 60—80 %, 3: 40—60 %, 2: 20—40 %, 1: 1—20 %, a: pod 1 %, b: len chvenie bičikov.)

### 2. ÚČINOK NA AKTIVITU ENDOGENNÝCH REDUKTÁZ

Grafy 1—2 ilustrujú odpoveď aktivity endogenných reductáz a sukcinodehydrogenázy na zmeny hladiny osmotického tlaku. Koncentrácia 0,15 M NaCl zaisťuje aktivitu ER až do 12 hod po ošetrení; pro porovnaní s kontrolou zpočiatku pôsobí dokonca stimulačne. Hypotonický roztok podmieňuje silnú inhibíciu; destilovanej vody vzdorujú len ojedinelé („rezistentné“) spermie. Naproti



Graf 3. Aktivita endogenných reduktáz spermií býka B pod vplyvom koncentrácie NaCl (M) 5,30 a 60 minút po ošetrení.



Graf 4. Aktivita endogenných reduktáz spermií býka F pod vplyvom koncentrácie NaCl (M) 5,30 a 60 minút po ošetrení.

tomu slabý hypertonický roztok (0,3 M) ukázal sa byť menej zhubný. Vyššie koncentrácie soli blokovali aktivitu okamžite.

### 3. ÚČINOK NA AKTIVITU SUKcinodehydrogenázy

Porovnávajúc aktivitu ER a S-DH (graf 1 a 2) zisťujeme, 1. že S-DH v každom prípade perzistuje dlhšie než ER, 2. že jej aktivita je vždy vyššia a konečne 3. že účinok osmotického gradientu na S-DH je presvedčivý i keď v každom prípade slabší než na ER. I tento raz v isosmotickom roztoku aktivita S-DH sa prechováva najdlhšie, viac než 24 hod od začiatku čistenia. V destilovanej vode sledujeme strmý pokles a vyhasnutie aktivity do 6 hodín, v silnom hypertonickom roztoku (5,0 M) je podobný pokles s vyhasnutím za 5 hodín.

### 4. ODPOVEDE ER AKTIVITY NA OSMOTICKÝ GRADIENT U SPERMII RÔZNYCH DONOROV

Pri porovnaní odpovede ER aktivity spermií od rôznych donorov sme zistili, že ejakuláty sa v tomto smere chovajú dosť rozdielne, vystupujú odchýlky jednak celkovej citlivosti na osmotický gradient a zriedovanie vôbec, jednak väčšej citlivosti buď na hypotonický alebo hypertonický roztok. Tieto rozdiely v odpovedi ejakulátov ilustrujú grafy 3 a 4. Tak napr. semeno býka F, (pozri graf 3) je všeobecne citlivejšie na skúšané roztoky soli než semeno býka B (pozri graf 4).

## DISKUSIA

Tolerancia oproti osmotickému gradientu sa u cicavčích spermií posudzuje obťažnejšie než je tomu u spermií vtákov alebo rýb, u tkanivových buniek alebo krivíniiek, kde kritérium zmien je zvrátenie, napučanie alebo cytolýza (B i s h o p 13). Naše vlastné pozorovania poukazujú na to, že destilovaná voda — ak jej účinok nadmerne nepredlžujeme — vyvoláva prekvapivo malé morfológické zmeny. Z toho vyplýva, že zrelá cicavčia spermia je fyziologicky aj morfológicky osobitá bunka. Jej nukleoplazma vzdoruje bežným vonkajším dezintegračným činiteľom pravdepodobne zásluhou vysokej kondenzácie a zvláštnej konzistencie jadrového materiálu, nadobudnutých v procese zrenia. Na druhej strane jej cytoplazmatická zložka je tak malá, že jej zmeny sa bez pomoci elektronového mikroskopu alebo jemnejších mikroskopických metód sotva dajú detegovať. Preto zmeny osmotického tlaku možno hodnotiť skôr podľa fyziologických ukazateľov ako je motilita a metabolická výkonnosť. Motilita ako vitalitný prejav je metodicky veľmi prístupná, za to však výsledky málo presné, na druhej strane posúdenie zmien podľa metabolickej aktivity je metodicky náročnejšie, dáva presné avšak len globálne hodnoty pre veľkú bunkovú populáciu včítane mikróbov. Pokiaľ je nám známe, cytochemická metóda k tomuto účelu užitá nebola. Naše predchádzajúce výsledky ukázali, že cytochemická reakcia na endogenné reduktázy je citlivým ukazateľom katabolického procesu a využili sme ju aj k tomuto štúdiu (H r u d k a 20).

Výsledky potvrdzujú predovšetkým úzky paralelizmus medzi motilitou a aktivitou endogenných reduktáz, pozorovaný nami tiež u normálneho a senescentného semena (H r u d k a, 19). Z toho možno usudzovať, že mechanizmy, ktoré rozpájajú motilitu od ER aktivity budú tak u senescentných ako osmotickým tlakom poškodených spermií totožné alebo blízke.



Potvrďzuje sa ďalej, že neadekvátny osmotický tlak postihuje najprv motilitu, po malom odstupe ER aktivitu, po dlhšom intervale S-DH aktivitu v závislosti od výšky tlaku. Aktivita S-DH perzistuje viac než 14 hod po zastavení motility.

Naše výsledky poukazujú na ďalší paralelizmus, ktorý existuje u spermii býka medzi ER aktivitou a konzumom kyslíka. Bishop (11) zistil, že pri riedení byčieho ejakulátu roztokom NaCl o rôznej molarite spermie vykazujú maximálny príjem  $O_2$  pri isosmotickej koncentrácii 0,15 M. Pri znížení koncentrácie na 0,075 M klesol príjem kyslíka o 34 %, pri zvýšení koncentrácie na 0,225 M o 10 %, pri 0,3 M o 74 %. Mann (14) pracoval s baraním materiálom a biochemickou metódou zistil, že hypertonický roztok NaCl postihuje fruktolýzu.

Z vlastného pozorovania i pozorovania výšuvodených autorov vyplýva, že vitálne procesy prebiehajú v dosť úzkych hraniciach osmotického tlaku. Tieto hranice ovšem môžu modifikovať iné činitele ako je napr. druh látky, ktorá osmotický tlak podmieňuje, stupeň zriedenia, alebo sprievodné pH. Emmens (5) na králičích spermiiach zistil, že pri nízkom pH (5,8–6,6) sú citlivejšie na hypotonické, pri vyššom pH (9,6–9,8) zase na hypertonické podmienky. Ináč je tomu u barana, býka a človeka, kde Blackshaw a Emmens (9) zistili, že bez ohľadu na pH hypertonické roztoky sú motilite menej škodlivé než media hypertonické.

Naše nálezy sú napokon v súhlase so zistením Gambleho (21), ktorý inhibičného účinku vysokých koncentrácií NaCl využíva ako aktívny faktor v antikoncepčných prípravkoch.

## SÚHRN

Skúmali sme vplyv osmotického gradientu na aktivitu endogenných reduktáz a sukcinodehydrogenázy spermii býka pomocou cytochemickej metódy. Bolo zistené, že

1. zmeny osmotického tlaku sa citlivo odrážajú v zmenách aktivity endogenných reduktáz,
2. zmeny aktivity enedogenných reduktáz odrážajú individuálnu toleranciu podľa ejakulátov a donorov,
3. aktivita sukcinodehydrogenázy vykazuje voči týmto zmenám väčšiu rezistenciu.

Došlo dňa 3. 10. 1964

## Literatúra

1. Gellhorn E. (1920): Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Spermatozoen. I. Mitteilung. Pflüger Archiv ges. Physiol. 185:262. — 2. Dubinčik J. (1934): The influence of physico-chemical factors on vitality of spermatozoa. Ginekologia, Nr. 3, 79 (citované u Bishopa, pozri 13). — 3. Milovanov V. K. (1934): Osnovy iskustvennogo osemenenija. Moskva-Leningrad, 1934. — 4. Anderson J.: The Semen of Animals and its Use for Artificial Insemination. Imperial Bureau of Animal Breeding and Genetics, Edinburg: Oliver a Boyd Ltd, 1944, p. 141. — 5.

Emmens C. W. (1948): The effect of variations in osmotic pressure and electrolyte concentration on the motility of rabbit spermatozoa at different hydrogen-ion concentration. *J. Physiol* 107, 129. — 6. Salisbury G. W., Knodt C. B. a Bratton E. W. (1948): The freezing point depression of bull semen and its relation to the diluter problem. *J. Anim. Sci.* 7:283. — 7. Swanson E. W. (1949): The effect of varying proportion of egg-yolk and sodium citrate buffer in bull semen diluter upon sperm motility. *J. Dairy Sci.* 132:345. — 8. Pursley G. R. a Herman A. H. (1950): Some effects of hypertonic and hypotonic solutions on the livability and morphology of bovine Spermatozoa. *J. Dairy Sci.* 33:220. — 9. Blackshaw A. W. a Emmens C. W. (1951): Interaction of pH, osmotic pressure and electrolyte concentration on the motility of ram, bull and human spermatozoa. *J. Physiol.* 114:16. — 10. Smidt J. T., Mayer D. T. a Herman A. H. (1953): Osmotic Pressure of Extended Bovine Semen during Storage. *Res. Bull. Mo. agric. Exp. Sta.* no. 538 (citované u Bishopa, pozri 13). — 11. Bishop M. W. H. (1954): Some aspects of the dilution effect in mammalian spermatozoa. *Studies of Fertility*, 6, 81. — 12. Bishop M. W. H. (1955): The Physiology of Bull Spermatozoa, Ph. D. Thesis. University of Cambridge. — 13. Bishop M. W. H.: v Marshall's Physiology of Reproduction, Vol. I. part 2 (editor A. S. Parkes) Longmans, Green a Co London, 1961. — 14. Mann T. (1958): Biochemical Basis of Spermicidal Activity. *Studies on Fertility*, 9:3. — 15. Wales R. G. a White I. G. (1958): The Interaction of pH, tonicity and electrolyte concentration on the motility of dog spermatozoa, *J. Physiol.* 141:273. — 16. Chang M. C. a T. Thorsteinsson (1958): Effect of Osmotic Pressure and Hydrogenion Concentration on the Motility and Fertilizing Capacity of Rabbits Spermatozoa. *Fertility and Sterility* 9:510-520. — 17. Hrudka F.: Cytochemická metóda na hodnotenie vitality spermií. *Biologia*, Bratislava, XVIII. 937 (1963). — 18. Hrudka F. (1964): Über die Dehydrogenaseaktivität und die endogene Reduktion in Bullenspermien. *Acta histochemica*, 19:1. — 19. Hrudka F. (1965): Cytochemical Demonstration of the Catabolic Activity in Spermatozoa by the Formazan Test. *J. Reprod. Fertil.*, London (v tlači). — 20. Hrudka F.: Cytochemické štúdium aktivity endogenných reduktáz I. Vplyv vypierania na aktivitu endogenných reduktáz a sukcinodehydrogenázy spermie býka. *Veterinární medicína*, 1. 1965, str. 41. — 21. Gamble C. J. (1953): *J. Amer. Med. Assoc.* 152, 1037.

## Цитохимическое изучение активности эндогенных редуктаз у спермиев. —

### II. Действие осмотического градиента на активность эндогенных редуктаз и сукцинодегидрагеназы спермиев быка

Исследовалось влияние осмотического градиента на активность эндогенных редуктаз и сукцинодегидрогеназы спермиев быка при помощи цитохимического метода.

Было установлено, что:

I. изменения осмотического давления сильно отражаются на изменениях активности эндогенных редуктаз,

2. изменения активности эндогенных редуктаз отражают индивидуальную толерантность отдельных эякулятов и доноров,

3. активность сукцинодегидрогеназы проявляет по отношению к этим изменениям большую устойчивость.

## **Cytochemical Study of the Endogenous Reductases in Sperms — II. Effect of the Osmotic Gradient upon the Activity of Endogenous Reductases and Succinodehydrogenase of Bovine Spermatozoa**

The effect of the osmotic gradient upon the activity of endogenous reductases and succinodehydrogenase of bull spermatozoa have been investigated by means of the cytochemical method.

The following has been stated:

1. Changes of the osmotic pressure are sensitively reflected in the changes of ER activity.

2. Changes of ER activity reflect the individual tolerance of sperm originating from different ejaculates and donors.

3. Succinodehydrogenase activity presents greater resistance to the changes of the osmotic pressure.

## **L'étude cytochimique de l'activité des réductases endogènes des spermatozoïdes. II. L'effet du gradient osmotique sur l'activité des réductases endogènes et des déshydrogénases succiniques des spermatozoïdes de taureaux**

Nous avons examiné l'influence du gradient osmotique sur l'activité des réductases endogènes et de la déshydrogénase succinique des spermatozoïdes de taureau, par la méthode cytochimique. Il a été vérifié que

1. les modifications de la pression osmotique se reflètent sensiblement dans les modifications de l'activité des réductases endogènes,

2. les modifications de l'activité des réductases endogènes reflètent la tolérance individuelle, suivant les éjaculations et les donneurs,

3. l'activité de la déshydrogénase succinique présente à l'égard de ces modifications une résistance plus grande.

## **Zytochemisches Studium der Aktivität endogener Reduktasen bei Spermien —**

## **II. Die Wirkung des osmotischen Gradientes auf die Aktivität endogener Reduktasen und der Sukzinodehydrogenase der Bullenspermien**

Der Einfluß des osmotischen Gradientes auf die Aktivität der endogenen Reduktasen und der Sukzinodehydrogenase der Bullenspermien mittels zytochemischer Methode wurde geprüft.

Es konnte festgestellt werden, daß:

1. Änderungen des osmotischen Druckes sich in den Änderungen der Aktivität endogener Reduktasen empfindlich abspiegeln,
2. Änderungen der Aktivität endogener Reduktasen die individuelle Toleranz nach den Ejakulaten und Spendern abspiegeln,
3. die Aktivität der Sukzinodehydrogenase gegenüber dieser Änderungen eine höhere Resistenz aufweist.

Doc. MVDr. František Hrudka,

MVDr. Alexandra Horáková,

Vysoká škola poľnohospodárská,  
veterinárská fakulta,  
Ústav histológie a embryológie, Košice

■ Anatomická stavba hleznového kloubu některých domácích savců je popsána poměrně podrobně. Hlezno koně popisují Stoss (1923), Kadletz (1932), Elcov & Safarov (1953) a Komárek (1955), hlezno prasete Eberhardt (1944), Kostyra (1960), Schreiber (1961) a hlezno psa Akaevskij (1917), Kadletz (1932) a Baum & Zietschmann (1936). Proti tomu literární údaje týkající se anatomie hlezna skotu jsou velmi stručné. Zvláště pak přihlídneme-li k nově navrhované veterinární anatomické nomenklatuře, která vychází z N. A. P. (1955, 1960) a jejíž termíny jsou voleny na základě poznatků morfologických, funkčních a především srovnávacích, pak i z tohoto hlediska je nutné podat rozbor anatomické stavby tohoto tak složitého kloubu.

Podle Montane a Bouredelle (1917) je anatomická stavba kloubu hleznového skotu obdobná jako u koně. Klimov (1950) a Sisson a Grossmann (1952) upozorňují na odchylný průběh některých vazů v kloubu hleznovém skotu vzhledem k utváření hlezna u koně. Martin a Schauder (1934), Ellenberger a Baum (1943), Dobberstein a Koch (1953), Nickel a spol. (1954), Vokken, Glagolev a Bogoljubskij (1961) a Akaevskij (1962) se omezují na stručný výčet těchto odchylek, přičemž si údaje jednotlivých autorů mnohdy odporují. Vokken a spol. (1961) upozorňují mimoto na objem kloubních dutin jednotlivých složek kloubu hleznového a na jejich vzájemnou komunikaci. Udává, že u novorozených telat jsou spolu spojeny kloubní dutiny všech zúčastněných kloubů hlezna a jejich objem činí asi 60–80 ccm. K oddělení kloubních dutin dvou distálně uložených kloubů (*articulatio centrotarsalis* a *articulationes tarsometatarsae*) dochází asi ve stáří kolem jednoho roku. U dospělých kusů činí objem spojených kloubních dutin proximálních dvou etází asi 120 až 140 ccm.

## MATERIÁL A METODIKA

Bylo prošetřeno celkem 16 hleznových kloubů skotu obojího pohlaví, ve stáří od tří týdnů do osmi roků. Klouby hleznové jsme preparovali v celku a postupně přetínali jednotlivé vypreparované vazy, takže bylo možno vzájemně oddělit jednotlivé kosti a prostudovat vazový aparát tohoto kloubu a sledovat odstup, průběh a úpon jednotlivých vazů.

Pro označení jednotlivých kloubů používáme termíny uvedené v návrzích pro *Nomina anatomica veterinaria* (Schaller et al. I. V. A. N. K.). Při označení kostí hlezna a vazů se přidržujeme prvé alternativy, navrhované v N. A. V. a to Gebenbauerovy srovnávací terminologie, neboť anthropotomické názvosloví neodpovídá tvaru těchto kostí u domácích savců a tedy ani zásadám nově navrhované veterinární anatomické nomenklatury. Z tohoto vyplynula i nutnost vytvoření názvosloví pro některé vazy hlezna. \*) Viz na str. 113.

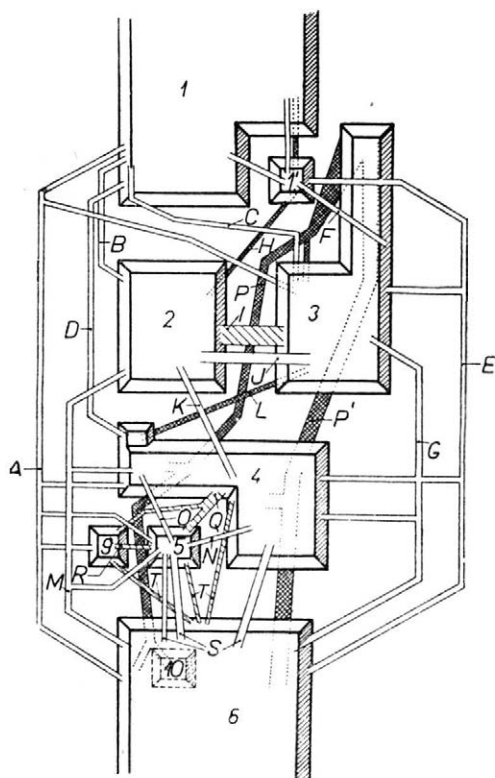
## VLASTNÍ POPIS

Klouby hlezna — *articulationes tarsi* jsou vytvořeny mezi kostmi bérce, kostmi hlezna a kostmi nártu. Jsou představovány následujícími klouby:

1. *Articulatio tarsocruralis* — spojuje kosti bérce s kostí hleznovou a s kostí patní.
2. *Articulationes intertarseae* — jsou klouby mezi kůstkami hlezna.
3. *Articulationes tarsometatarseae* — jsou klouby mezi distální řadou kůstek tarsálních a kostmi nártu.

### ARTICULATIO TARSOCCRURALIS

Kostní podklad tohoto kloubu je reprezentován kloubní maticí tibie, která je doplněna s laterální strany kostí kotníkovou a dále proximální kladkou kosti hleznové. Malá kloubní ploška kosti patní se kloubí s distálním úsekem kosti kotníkové. Rozsah flexe a extenze je v tom kloubu značný. Vokken a spol. (1961) udávají 50°.



Obr. 1. Schematické znázornění průběhu vazů hlezna skotu.

1 — tibia, 1' — os malleolare, 2 — talus, 3 — calcaneus, 4 — os tarsi centrale et IV, 5 — os tarsale II. et III., 6 — os metatarsale III. et IV., 9 — os tarsale I., 10 — os sesamoideum metatarsale, A-D — lig. collaterale mediale, A — pars tibiometatarsea, B — pars tibiotalaris, C — pars tibio-calcanea, D — pars tibiocentroquartalis, E-G — lig. collaterale laterale, E — pars fibulometatarsea, F — pars calcaneofibularis, G — pars calcaneometatarsea, H — lig. talofibulare plantare, I — lig. talocalcaneum interosseum, J — lig. talocalcaneum dorsale, K — lig. talocentroquartale, L — lig. calcaneocentroquartale plantare, M — lig. talocentrotarsometatarseum, N — lig. intertarseum dorsale, O — lig. tarsocentroquartale dorsale, P, P' — lig. plantare longum (jeho mediální a laterální větve), Q — lig. tarsi interossea, R — lig. intertarseum interosseum, S — lig. tarsometatarsea dorsalia, T — lig. tarsometatarsea interossea.



Kloub je vybaven těmito vazy:

1. *Lig. collaterale mediale* — mediální postranní vaz (A—D) — odstupuje na *malleolus medialis* a rozpadá se na čtyři části:

a) *pars tibiometatarsea* (A) míří od *malleolus medialis* směrem distálním. V počátečním úseku je spirálovitě stočena a po mediální ploše hlezna probíhá již jako plochý útvar, který se upíná v průběhu na *os tarsi centrale et IV.*, *calcaneus*, *os tarsale II. et III.*, a *os tarsale I.*, které vzájemně spojuje a končí na mediálním obvodu *basis ossis metatarsalis III. et IV.*, k němuž připoutává též *os tarsale I.* Větev upínající se na *calcaneus* se dělí na povrchovou a hlubokou složku a obdává tak svalový žlábek pro šlachy svalu — *m. flexor dig. pedis longus*.

b) *pars tibiotalaris* (B) je nejkratší a míří od *malleolus medialis* přímo na proximální úsek mediální plochy talu, kde se upíná.

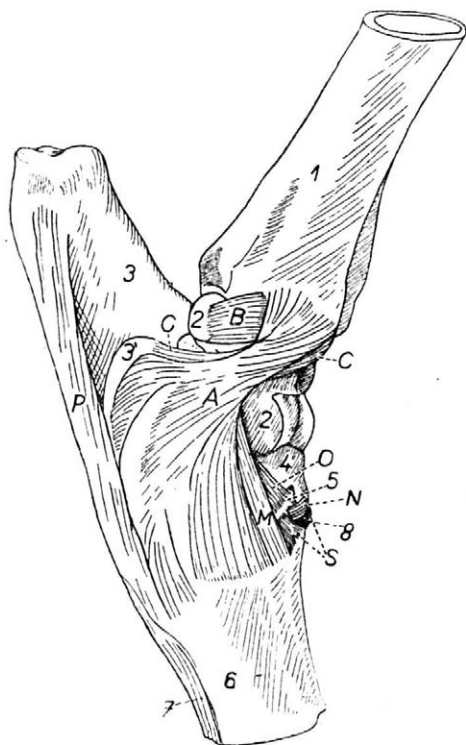
c) *pars tibiocalcanea* (C) probíhá od distálního úseku *malleolus medialis* na *sustentaculum tali* kosti patní.

d) *pars tibiocentroquartalis* (D) odstupuje rovněž na *malleolus medialis* a upíná se na vysokém plantárním výběžku kosti *os tarsi centrale et IV.*

Obě posledně jmenované složky se spolu při svém odstupu do značné míry spojují.

Obr. 2. Vazy hlezna skotu z mediální strany.

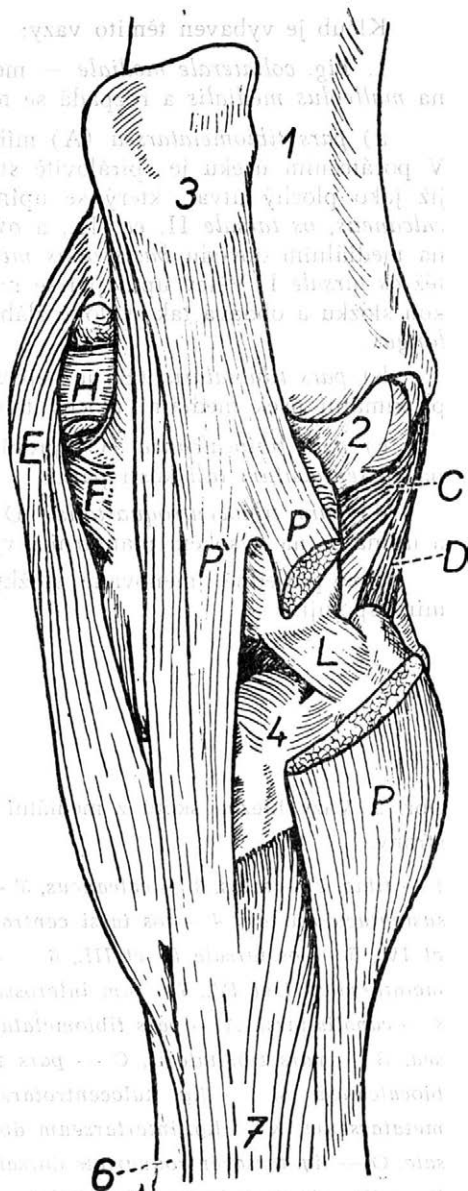
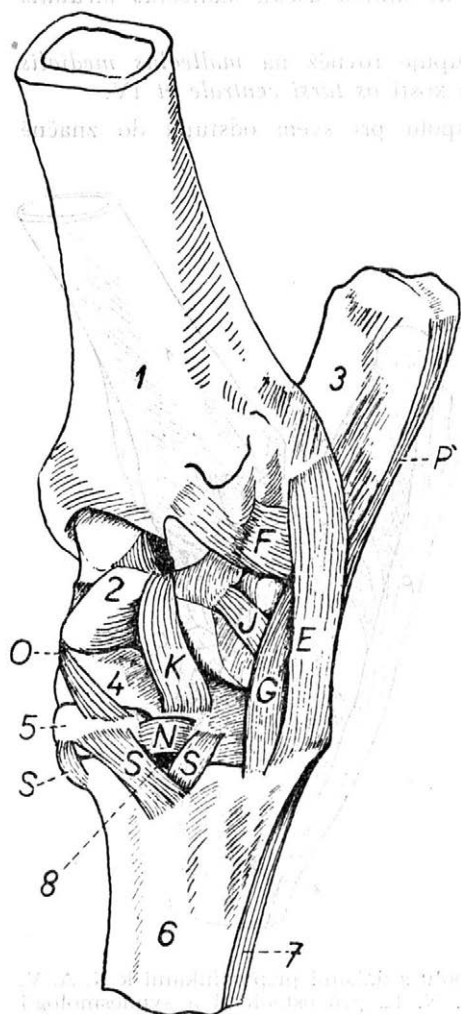
1 — tibia, 2 — talus, 3 — calcaneus, 3' — sustentaculum tali, 4 — os tarsi centrale et IV., 5 — os tarsale II. et III., 6 — os metatarsale III. et IV., 7 — mm. interossei, 8 — canalis tarsi, A — pars tibiometatarsea, B — pars tibiotalaris, C — pars tibiocalcanea, M — lig. talocentrotarso-metatarseum, N — lig. intertarseum dorsale, O — lig. tarsocentroquartale dorsale, P — lig. plantare longum (mediální větev), S — ligg. tarsometatarsea dorsalia.



\*) Návrh terminologie pro vazy hlezna, spolu s dalšími připomínkami k N. A. V. byl zaslán v květnu 1963 předsedovi I. A. V. N. K. pro osteologii a syndesmologii prof. O. Schallerovi.

Obr. 3. Vazy hlezna skotu — pohled dorsolaterální.

1 — tibia, 2 — talus, 3 — calcaneus, 4 — os tarsi centrale et IV., 5 — os tarsale II, et III., 6 — os metatarsale III. et IV., 7 — mm. interossei, 8 — canalis tarsi, E — pars fibulometatarsea, F — pars calcaneofibularis, G — pars calcaneometatarsea, J — lig. talocalcaneum dorsale, K — lig. talocentroquartale, N — lig. intertarseum dorsale, O — lig. tarsocentroquartale dorsale, P' — lig. plantare longum (laterální větev), S — ligg. tarso-metatarsea dorsalia.



Obr. 4. Vazy hlezna skotu z plantární strany.

1 — tibia, 2 — talus, 3 — calcaneus, 4 — os tarsi centrale et IV., 6 — os metatarsale III. et IV., 7 — mm. interossei, C — pars tibiocalcanea, D — pars tibiocentroquartalis, E — pars fibulometatarsea, F — pars calcaneofibularis, H — lig. talofibulare plantare, L — lig. calcaneocentroquartale plantare, P, P' — lig. plantare longum (mediální a laterální větev).

2. *Lig. collaterale laterale* — laterální postranní vaz (E—G) — se rozpadá ve tři složky:

a) *pars fibulometatarsea* (E) odstupuje na *os malleolare*. Probíhá distálně po laterální ploše hlezna, kde srůstá s kůstkami zde uloženými (*calcaneus*, *os tarsi centrale et IV.*) a končí na laterálním obvodu *basis ossis metatarsalis III. et IV.*

b) *pars calcaneofibularis* (F) odstupuje na kraniálním okraji kosti kotníkové a upíná se na dorsolaterální ploše kosti patní, plantárně od kloubní plošky pro skloubení s kostí kotníkovou.

c) *pars calcaneometatarsea* (G) je rozepjata mezi dorsodistálním úsekem kosti patní a dorsolaterálním úsekem základny hlavních kostí nártních. Ve svém průběhu srůstá s *os tarsi centrale et IV.*

Mezi *pars calcaneometatarsea* a *pars fibulometatarsea* probíhá s dorsální strany směrem distálním a plantárním šlachou svalu *m. peroneus longus*, která se vnořuje do žlábků na plantolaterální ploše kosti *os tarsi centrale et IV.* Proniká do kloubu hleznového, kde je uložena v kanálku, uzavřeném uvedeným žlábkem na kosti *os tarsi centrale et IV.* a obdobným žlábkem základny kostí nártních a upíná se na plantolaterální ploše první kosti zánártní.

3. *Lig. talofibulare plantare* (H) probíhá na plantární straně hlezna. Je rozepjata mezi kaudální plochou kosti kotníkové a proximální částí plantolaterálního okraje talu jako krátký, široký a plochý vaz.

#### ARTICULATIONES INTERTARSEAE

Představují skloubení jednotlivých kostí hlezna navzájem. Z těchto kloubů rozlišujeme:

I. *Articulatio talocalcanea* je kloub mezi kostí hleznovou a kostí patní. Kloubí se zde *facies articulares talaris* kosti patní s *facies articulares calcaneae* kosti hleznové. Kosti jsou spolu spojeny pomocí dvou vazů:

1. *Lig. talocalcaneum dorsale* (J) odstupuje na dorsolaterálním okraji talu a upíná se na dorsomediální plochu kosti patní mezi *facies articulares talaris* kosti patní.

2. *Lig. talocalcaneum interosseum* leží v *sinus tarsi*, plantárně od předchozího vazů, s nímž téměř splývá. Odstupuje v *sulcus tali* a končí v *sulcus calcanei*.

II. *Articulatio tarsi transversa* je kloub na jehož stavbě se podílí *talus*, *calcaneus* a *os tarsi centrale et IV.* *Trochlea tali distalis* zapadá do poměrně vyhloubené kloubní plochy kosti *os tarsi centrale et IV.*, takže v tomto úseku kloubu je možná poměrně značná flexe a extenze (podle Vokken a spol. 1961, 70<sup>0</sup>). Kloubní ploška distálního konce těla kosti patní se kloubí s jí odpovídajícím plantolaterálním úsekem kloubní plochy na *os tarsi centrale et IV.* Kosti zúčastněné na *articulatio tarsi transversa* jsou vzájemně spojeny těmito vazy:

1. *Lig. talocentroquartale* (K) probíhá z dorsální jamky talu na dorsální plochu kosti *os tarsi centrale et IV.* Je intimně spojeno s kloubním pouzdrům.

2. *Lig. calcaneocentroquartale plantare* (L) odstupuje na mediálním a distálním úseku opory hleznové kosti patní a upíná se na proximální výběžek kosti *os tarsi centrale et IV.*, jakož i na její plantární plochu.

3. *Lig. talocentrotarsometatarseum* (M) odstupuje na distálním úseku mediální plochy kosti hleznové, směrem distálním se rozšiřuje v plochý vaz a míří

po dorsomediální ploše kosti *os tarsi centrale et IV.* a *os tarsale II. et III.*, na něž se upíná, a zasahuje až na dorsomediální část základny kosti *os metatarsale III. et IV.*

III. *Articulatio centrotarsalis* slouží ke skloubení kostí *os tarsi centrale et IV.* s *ossa tarsalia*. Kloubní plošky uvedených kostí jsou vesměs ploché a pohyblivost na nich je omezena. Kostí jsou vzájemně spojeny vazy dorsálními — *lig. tarsi dorsalia*, vazy mezikostními — *lig. tarsi interossea* a plantárními — *lig. tarsi plantaria*.

#### DORSÁLNÍ VAZY:

1. *Lig. intertarseum dorsale* (N) je representováno vazem, který je rozepjat mezi *os tarsi centrale et IV.* a *os tarsale II. et III.* Na dorsální ploše kostí *os tarsi centrale et IV.* odstupuje v úseku, který odpovídá čtvrté kosti zánártní savců. Probíhá téměř horizontálně a upíná se na dorsolaterální obvod kosti *os tarsale II. et III.*

2. *Lig. tarsocentroquartale dorsale* (O) odstupuje z dorsomediálního obvodu *ossis tarsi centralis et IV.* a upíná se na dorsální plochu *ossis tarsalis II. et III.* Při svém úponu je intimně srostlé s úponovou šlachou *m. peronei tertii*.

#### MEZIKOSTNÍ VAZY:

V prostoru mezi *os tarsale I.*, *os tarsale II. et III.*, *os tarsi centrale et IV.* a základnou metatarsu, tedy v *canalis tarsi*, obdávají tepnu zde probíhající snopce vazivových vláken pokryté synoviální membránou. Tyto v souhrnu představují *ligg. tarsi interossea articulationis centrotarsalis* a kloubního spojení *articulationes tarsometatarsee*.

V úrovni tohoto kloubu jsou rozepjaty mezi středním sagitálním žlábkem na distální kloubní ploše kosti *os tarsi centrale et IV.* a plantolaterálním úhlem *ossis tarsalis II. et III.*, dále zasahují též na laterální obvod *ossis tarsalis I.*, dorsálně od úponu šlachy *m. peronei longi* (*ligg. tarsocentroquartalia interossea*). Dále existuje vazivové spojení mezi *os tarsale I.* a *os tarsale II. et III.* (*lig. intertarseum interosseum*).

#### PLANTÁRNÍ VAZY:

Vazivové spojení mezi jednotlivými kostmi kloubů hlezna na plantární straně je u skotu značně pevné. Svazky vazivových vláken zde vyplňují prostory mezi kůstkami a představují vlastně *ligg. tarsi plantaria*, která se však nedají jednotlivě izolovat a jsou součástí mohutného vazy — *lig. plantare longum*.

*Lig. plantare longum* (P, P') odstupuje na plantární ploše hrbolu patního a téměř v úrovni *sustentaculum tali* se rozděluje v laterální a mediální větev, mezi nimiž probíhá distálně společná šlacha svalů *m. flexor hallucis longus* a *m. tibialis posterior*. Laterální větev srůstá s plantární plochou těla kosti patní a zakončuje se především na plantárním obvodu *ossis tarsi centralis et IV.*, směrem distálním přechází až na plantární plochu základny metatarsu a srůstá zde s odstupem *m. interossei*. Mediální větev se upíná na *sustentaculum tali*, dále na platomediální plochu kosti *os tarsi centrale et IV.*, na plantomediální plochu základny metatarsu a *os sesamoideum metatarsale*. V této úrovni splývá s odstupem *m. interossei*.

#### ARTICULATIONES TARSOMETATARSEAE

Umožňují kloubní spojení kostí nártu s distální řadou kostí hlezna. Na tvorbě těchto kloubů se účastní *os tarsale I.*, *os tarsale II. et III.*, *os tarsi*

*centrale et IV.* na jedné straně a *facies articularis tarsea* základny kostí nártních na straně protilehlé. Kloubní dutina tohoto kloubu komunikuje s dutinou kloubního spojení třetí a čtvrté nártní kosti s *os sesamoideum metatarsale*, která je, jak uvádí Smith (1956), vrstlá do úponu *m. interosseus*. Kloub zpevňuje dorsální a mezikostní vazy:

#### DORSÁLNÍ VAZY:

*Ligg. tarsometatarsae dorsalia* (S) jsou tři vazy, rozepjaté mezi dorsální plochou kostí hlezna — *os tarsale II. et III.* a *os tarsi centrale et IV.* — a dorsálním obvodem základny kostí nártních. Vzhledem k tomu, že u skotu *os tarsale IV.* splynula s *os tarsi centrale*, odstupuje jeden z těchto vazů z takto vzniklé kosti — *os tarsi centrale et IV.* U starých jedinců jsou tyto vazy vyvinuty jako zesíleniny kloubního pouzdra téměř v celém dorsálním obvodu kloubů *articulationes tarsometatarsae*, takže jsou jednotlivě těžko diferencovatelné. Mezi středním a laterálním vazem zůstává prostor, kde proniká *a. tarsica perforans* do *canalis tarsi* (8). Mediální vaz srůstá intimně s úponem svalu *m. peroneus tertius*.

#### MEZIKOSTNÍ VAZY:

*Ligg. tarsometatarsae interossea* jsou součástí snopců vazivových vláken v *canalis tarsi*. Připevňují *os tarsale I.* a *os tarsale II. et III.*, jakož i *os tarsi centrale et IV.* k *basis ossis metatarsalis III. et IV.* Představují je svazky vazivových vláken, které odstupují na dně *canalis tarsi* a upínají se na dorsální a laterální plošky kosti *os tarsale I.*, dále na *os tarsale II. et III.* v oblasti jejího plantolaterálního úhlu, a do sagitálního žlábků distální kloubní plochy *ossis tarsi centralis et IV.*, který tvoří strop *canalis tarsi*.

#### SOUHRN

Morfologie hlezna skotu byla doplněna o podrobný popis vazů tohoto kloubu vzhledem k navrhované veterinární anatomické nomenklatuře pro osteologii a syndesmologii (Schaller et. al. I. V. A. N. K.).

Zvláštní pozornost jsme věnovali průběhu úponové šlachy svalu *m. peroneus longus* ve vztahu k vazovému aparátu hlezna. Dále byla zjištěna komunikace kloubní dutiny kloubního spojení sezamkové kosti — *os sesamoideum metatarsale* s kloubní dutinou kloubů *articulationes tarsometatarsae*.

Došlo dne 20. 3. 1964

#### Literatura

1. Akaevskij A. I.: Podvižnost articulationis tarsi domácích životných. Uč. zapiski Kazan. Vet. inst., 34: 79-117, 1917. — 2. Akaevskij A. I.: Anatomija domašních životných. Moskva 1962. — 3. Baum H., Zietzschmann O.: Anatomie des Hundes. Berlin 1936. — 4. Borovanský L., Žlábek K., Hromada J., Zrzavý J., Kos J.: Soustavná anatomie člověka. I. díl, Praha 1960. — 5. Dobberstein J., Koch T.: Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. Berlin 1953. — 6. Dvořák J.: Srovnávací slovník anatomických nomenklatur. Praha 1960. — 7. Eberhardt P.: Rentgenská slika zglobova ekstremiteta kod zdrave svinje. Vet. archiv. 8: 287-316, 1944. — 8. Elcov S. G., Safarov P. I.: Novyje dannye o topografii oblasti skakatelnogo sustava lošadi. Tr. Mosk. vet. akad.

18:101-104, 1953. — 9. Ellenberger W., Baum H.: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. Berlin 1943. — 10. Kadletz M.: Anatomischer Atlas der Extremitätengelenke von Pferd und Hund. Berlin, Wien 1932. — 11. Klimov A. F.: Anatomija domašnich životnych. Moskva 1950. — 12. Kolda J.: Srovnávací anatomie zvířat domácích. III. Nauka o kloubech, IV. Nauka o svalech. Brno 1952. — 13. Komárek V.: Příspěvek k anatomii kloubů končetin u koně. Sborník ČSAZV, Vet. med. 28:835846, 1955. — 14. Kostyra J.: Polaczenia kości w konczynach swini domowej. Cześć II. Polaczenia kości w kończynach miednicznej. Annales univ. M. Curie-Skłodowska Lublin-Polonia sect. DD 15:137-190, 1960. — 15. Martin P., Schauder W.: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Stuttgart 1934. — 16. Montane L., Bourdelle E.: Anatomie regionale des animaux domestiques. Paris 1917. — 17. Nickel R., Schummer A., Seiferle E.: Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. Bd. 1. Berlin, Hamburg 1954. — 18. Schaller O., Hughes H. V., Schreiber J., Frewein J., Sørensen E., Vau E.: Nomina anatomica veterinaria (Osteologia et Syndesmologia). Strojopis I. V. A. N. K. — 19. Schreiber J.: Der Bandapparat des Tarsus vom Schwein. W. T. M. 48/8:603-613, 1961. — 20. Sisson S., Grossman J. D.: The anatomy of the domestic animals. Philadelphia and London 1947. — 21. Smith R. N.: The proximal metatarsal sesamoid of the domestic ruminants. Is it the vestige of a second metatarsal? An. Anz. 103:241-246, 1956. — 22. Stoss A. O.: Anatomie und Kinematik der Gelenke der Pferdeextremitäten. Ztschr. f. Ges. Anat. 69, 1923. — 23. Vokken G. G., Glogolev P. A., Bogoljubskij S. N.: Anatomija domašnich životnych. Moskva 1961.

### Связочный аппарат скакательного сустава крупного рогатого скота

Морфологию скакательного сустава крупного рогатого скота автор дополнил подробным описанием связок этого сустава, принимая во внимание предложенную анатомическую номенклатуру для остеологии и синдесмологии (Schaller et al. I. V. A. N. K.).

Особое внимание автор обратил на описание концевой сухожилия мускула *m. peroneus longus* в отношении к связочному аппарату заплюсны. В дальнейшем автор обнаружил коммуникацию суставной полости суставного сочленения кости *os sesamoideum metatarsale* с суставной полостью суставов *articulationes tarsometatarsee*.

### The Ligaments of the Tarsal Joint in the Cattle

A morphology of the tarsal joint in cattle has been completed by a detailed description of ligaments of this joint with regard to the proposed veterinary anatomical nomenclature for osteology and syndesmology (Schaller et al. I. V. A. N. K.).

Special attention was devoted to the course of the tendon of *m. peroneus longus* and its insertion in relation to the ligaments of the tarsus. In this work there has been further described the communication of the joint cavity of *os sesamoideum metatarsale* with a joint cavity of *articulationes tarsometatarsee*.

### Der Bandapparat des Tarsus vom Rind

Die Morphologie des Tarsus vom Rind wurde mit der ausführlichen Beschreibung der Bänder dieses Gelenkes unter Berücksichtigung der vorgeschlagenen veterinär-anatomischen Nomenklatur für Osteologie und Syndesmologie (Schaller et al. I. V. A. N. K.) ergänzt.

Wir haben besondere Aufmerksamkeit dem Verlauf der Endsehne des *m. peroneus longus* in der Beziehung zum Bandapparat des Tarsus gewidmet. Es wurde die Kommunikation der Gelenkhöhle des *os sesamoideum metatarsale* mit der Gelenkhöhle der *articulationes tarsometatarsee* festgestellt.

**MVDr. Čeněk Červený,**

Vysoká škola zemědělská,

veterinární fakulta,

Anatomický ústav,

Brno, Palackého 1-3



|                                                                                                                                                                                                            |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Veliký I.: Mikroelementy vo výžive hydiny. — Účinnok zmesí stopových prvkov a kobaltu na oplodnenie vajec a liahnutie . . . . .                                                                            | 61  |
| Hintnaus J.: Reflektorické vyvolání říje u některých jedinců skotu s málo zřetelnými anebo zdánlivě chybějícími příznaky říje . . . . .                                                                    | 69  |
| Mráz O.: Příspěvek k charakteristice druhu <i>Actinobacillus lignieresii</i> . . . . .                                                                                                                     | 77  |
| Jiran E.: Kultivace viru psinky na tkáňových kulturách . . . . .                                                                                                                                           | 87  |
| Hofírek B., Lax T., Foltýn M.: Význam patologických leukocytů pro diagnostiku traumatické retikuloperitonitidy u skotu . . . . .                                                                           | 93  |
| Hrudka F., Horáková A.: Cytochemické štúdium aktivity endogenných reduktáz u spermií. — II. Účinnok osmotického gradientu na aktivitu endogenných reduktáz a succinodehydrogenázy býčích spermií . . . . . | 101 |
| Červený Č.: Vazový aparát hlezna skotu . . . . .                                                                                                                                                           | 111 |

## СОДЕРЖАНИЕ

Велики И.: Микроэлементы в питании домашней птицы. — Действие смесей микроэлементов и кобальта на оплодотворение яиц и выводимость (66). — Гинтнаус Я.: Рефлексные вызовы охоты у некоторых особей крупного рогатого скота с малозаметными или как будто отсутствующими признаками охоты (74). — Мраз О.: К характеристике вида *Actinobacillus lignieresii* (84). — Ииран Э.: Культивирование вируса чумы собак на тканевых культурах (92). — Гафирек Б., Лакс Т., Фолтын М.: Роль патологических лейкоцитов в диагностике травматического ретикулоперитонита у крупного рогатого скота (100). — Грудка Ф., Горакова А.: Цитохимическое изучение активности эндогенных редуктаз у спермиев. — II. Действие осмотического градиента на активность эндогенных редуктаз и сукцинодегидрагеназы спермиев быка (108). — Червены Ч.: Связочный аппарат скакательного сустава крупного рогатого скота (118).

## CONTENT

Veliký I.: Microelements in the Nutrition of Poultry. — The Effect of a Mixture of Trace Elements and Cobalt on the Fructification of Eggs and on Hatching (67). — Hintnaus J.: Reflexive Provoking of the Rut in some Individuals of Cattle with slightly distinct or apparently missing Signs of the Rut (75). — Mráz O.: A Contribution to the Characteristics of Species *Actinobacillus lignieresii* (84). — Jiran E.: Cultivation of the Virus of Distemper in Tissue Cultures (92). — Hofírek B., Lax T., Foltýn M.: The Significance of the Pathological Leucocytes in Diagnosing the Traumatic Reticuloperitonitis in Cattle (100). — Hrudka F., Horáková A.: Cytochemical Study of the Endogenous Reductases in Sperms. — II. Effect of the Osmotic Gradient upon the Activity of Endogenous Reductases and Succinodehydrogenase of Bovine Spermatozoa (109). — Červený Č.: The Ligaments of the Tarsal Joint in the Cattle (118).

## INHALT

Veliký I.: Mikroelemente in der Geflügelernährung. — Wirkung der Spurenelementen-Gemische und des Kobalts auf die Befruchtung der Eier und auf das Brüten (67). — Hintnaus J.: Reflektorisches Hervorrufen der Brunst bei einigen Rinder-Individuen mit wenig deutlichen oder anscheinend fehlenden Brunstmerkmalen (75). — Mráz O.: Beitrag zur Charakteristik der Art *Actinobacillus lignieresii* (85). — Jiran E.: Kultivierung des Staupevirus auf Gewebekulturen (92). — Hofírek B., Lax T., Foltýn M.: Die Bedeutung der pathologischen Leukozyte für die Diagnostik der traumatischen Reticuloperitonitide beim Rind (100). — Hrudka F., Horáková A.: Zytochemisches Studium der Aktivität endogener Reduktasen bei Spermien. — II. Die Wirkung des osmotischen Gradientes auf die Aktivität endogener Reduktasen und der Sukzinoxidhydrogenase der Bullenspermien (109). — Červený Č.: Der Bandapparat des Tarsus vom Rind (118).

## TABLE DES MATIÈRES

Veliký I.: Microéléments dans l'alimentation de la volaille. — Effet des mélanges d'oligo-éléments et de cobalt sur la fécondation des oeufs et l'éclosion (res. An/67, Al/67). — Hintnaus J.: Provocation reflexive des chaleurs chez certains sujets des bovins, avec des symptômes peu expressifs des chaleurs, ou faisant en apparence tout à fait défaut (res. An/75, Al/75). — Mráz O.: Contribution à la caractéristique du genre *Actinobacillus lignieresii* (res. An/84, Al/85). — Jiran E.: Cultivation du virus du mal de chien sur les cultures tissulaires (res. An/92, Al/92). — Hofírek B., Lax T., Foltýn M.: Importance des leucocytes pathologiques pour le diagnostic de la réticulo-péritonite traumatique des bovins (res. An/100, Al/100). — Hrudka F., Horáková A.: L'étude cytochimique de l'activité des réductases endogènes des spermatozoïdes. — II. L'effet du gradient osmotique sur l'activité des réductases endogènes et des déshydrogénases succiniques des spermatozoïdes de taureaux (110). — Červený Č.: Appareil ligamenteux de la malléole des bovins (res. An/118, Al/118).