VĚDECKÝ ČASOPIS

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

3

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

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝCH
INFORMACÍ MZLVH

Vědecký časopis

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbory 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.

HOLÝ L.
HRIVNÁK J.

Vliv nízkých dávek estrogenů na libido, vaginální obraz a arborizační vlastnosti cervikálního hlenu u kastrovaných krav

Úroveň poznatků o účasti a působení estrogenních hormonů v průběhu fyziologického i patologického pohlavního cyklu u ženy i domácích zvířat donedávna nepřesahovalo rámec počátečních informací. Nedostatečné znalosti v tomto směru s velkou pravděpodobností způsobily, že terapeutické využití estrogenních hormonů při poruchách pohlavního cyklu bylo buď nedoceňováno nebo přeceňováno. Za této situace, zejména při neúspěších vyvolaných neuváženou aplikací samičích pohlavních hormonů, se jich téměř přestalo používat a terapeutické využití estrogenních látek při funkčních reprodukčních poruchách ustoupilo na delší dobu do pozadí.

Možnost použití estrogenní terapie poruch pohlavního cyklu u ženy i zvířat (Jefferies, Levy, 1959, Kotz, Herrmann, 1961, Jefferies a spol., 1964, Gibbons, 1961, Cairy, 1963, Belling a spol., 1964) je revidována teprve až v poslední době na základě moderních poznatků sexuální fyziologie. K těmto účelům slouží zejména teorie pozitivních a negativních zpětných vazeb (Möllendorff, 1962), které účinně zasahují do mechanismu řízení pohlavního cyklu, kdy ovariální estrogeny ovlivňují nejen činnost předního laloku hypofýzy, ale i funkci hypotalamu. Tak je umožněna informace řídících ústrojí o stavu orgánů řízených (Milovanov, 1961).

Vedle obecně známého významu estrogenů v průběhu pohlavního cyklu je třeba podotknout, že produkce estrogenů ve vaječníku je pod vlivem řady jemných biochemických procesů enzymatické povahy, které progresívně mění molekulární steroidní strukturu. Prekurzory estrogenních hormonů, včetně dehydroepiandrosteronu (DHA), 4-androstenedione a snad i testosteron, jsou všechny v různém stupni androgenně činné a mohou se uplatnit v rámci klinické manifestace některých funkčních poruch pohlavního cyklu (Jefferies a spolupracovníci a jimi citovaní autoři, 1964).

Relativní deficience každého zúčastněného enzymu v procesu tvorby estrogenních hormonů v ovariu může mít za následek pokles v produkci i kvalitě estrogenů. Podle lokalizace enzymatického defektu mohou mít vývojové typy estrogenních hormonů různou hodnotu a tím možná i odlišnou biologickou účinnost.

Enzymatická porucha v procesu tvorby samičích pohlavních hormonů může na druhé straně vést k hromadění adrogenně působících prekurzorů v organismu s následnými příznaky adrenogenicity a virilizace tak, jak ji třeba nalézáme v souvislosti s některými poruchami pohlavního cyklu, zejména v rámci syndromu ovariálních cyst.

I. Přehled výsledků ošetření ovariektomovaných krav prahovými dávkami estrogenů.

Č. P.	Kastrace provedena ve stádiu	Aplikace hormonu po kastraci za dní	Výsledek vyšetření před podáním AGOFOLLINU			Výsledek: Změny za 24—28 hodin po 1. aplikaci 0,25 mg AGOFOLLINU		
			Příznaky říje	Vaginální obraz	Arboriz. fenomén	Příznaky říje	Vaginální obraz	Arboriz. fenomén
1	syndromu ovariálních cyst	12	∅	0 X	—	∅	**XXX	Ta 2,4
2	syndromu ovariálních cyst	120	∅	0 X	—	∅	**XXXX	Ta 4
3	luteální fáze	62	∅	0 X	—	∅	***XXX	A 1
4	luteální fáze	37	∅	0 X	—	∅	**XXX	A 4
5	luteální fáze	20	∅	0 XX	A 1	∅	**XXX	A 2
6	říje	14	∅	0 X	A 1	∅	**XXX	Ta 4
7	anoestrie	26	∅	* X	—	∅	**XX	A 2
8	anoestrie	27	∅	* XX	A 4	∅	**XX	A 4
9	anoestrie	20	∅	0 X	—	∅	**XXX	A 1
10	anoestrie	20	∅	0 XX	—	náznak říje	***XXX	Ta 4
11	syndromu ovariálních cyst	9	∅	0 X	—	∅	hnis	—
12	syndromu ovariálních cyst	9	∅	* XX	—	∅	hnis	—

Vysvětlivky:

Příznaky říje: ∅ bez příznaků

Vaginální obraz:

0 = bledá sliznice
+ = bledě růžová sliznice
++ = růžová sliznice
+++ = sytě růžová sliznice
++++ = zarudlá sliznice

Změny v sekreci cervikálního hlenu:

X = bez hlenu
XX = mírné množství hlenu
XXX = hojné množství hlenu
XXXX = výrazné zahlenění

vyšetření po podání AGOFOLLINU						Poznámka
Změny za 48–56 hodin po 2. aplikaci 0,25 mg AGOFOLLINU			Změny za 72–80 hodin po 3. aplikaci 0,25 mg AGOFOLLINU			
Příznaky říje	Vaginální obraz	Arboriz. fenomén	Příznaky říje	Vaginální obraz	Arboriz. fenomén	
výrazné	***XXX	Ta 2,4	výrazné	***XXX	Ta 2,4	
výrazné	***XXX	Ta 4	výrazné	***XXX	Ta 4	
výrazné	**** XXXX	Ta 2	výrazné	**** XXXX	Ta 2	
∅	*** XXXX	Ta 2	∅	*** XXXX	Ta 2	vůbec bez zevních příznaků říje po 6 apl.
∅	*** XXXX	Ta 2,4	výrazné	*** XXXX	Ta 2	
∅	*** XXXX	Ta 4	∅	*** XXXX	Ta 4	říje po 4. aplikaci
∅	***XXX	A 3	∅	*** XXXX	Ta 2	říje po 4. aplikaci
∅	***XXX	A 4	∅	***XXX	Ta 4	říje po 4. aplikaci
výrazné	*** XXXX	Ta 4	výrazné	*** XXXX	Ta 4	
výrazné	*** XXXX	Ta 2	výrazné	*** XXXX	Ta 2	
∅	*** XXXX	Ta 2	výrazné	***XXX	Ta 2	
výrazné	**** XXXX	Ta 2	výrazné	**** XXXX	Ta 2	

Arborizační fenomény:

Ta 1 = typické rozvětvené, symetrické, zvlněné a růžicovité krystalky

Ta 2 = typické rozvětvené, zvlněné a longitudinální krystalky (plavuně)

Ta 3 = typické rozvětvené, přímé a růžicovité krystalky (kříže)

Ta 4 = typické rozvětvené, přímé a longitudinální krystalky (kapradě)

A 1 = čárkovitě a tečkovitě formované větvičky

A 2 = jemná větvičkovitá forma s jednoduchým členěním

A 3 = keříčkovitá forma členěná

A 4 = atypické, hrubé krystalizační formy

Předmětem naší práce v poslední době bylo studium problematiky vaječníkových cyst u krav. Jedním z problémů, které vyplynuly z komplexního studia této abnormity pohlavního cyklu byl rozpor mezi hyperfolikulinemickými vaginálními i arborizačními příznaky a doprovodnými symptomy anestrie, která byla zjištěna v 52,17 % případů (Holý, 1964). Vzhledem k tomu, že při vysvětlení uvedené skutečnosti se nelze spokojit jen se zařazením anestrických případů do hypotetické kategorie cyst luteálních nebo žlutého tělíska, snažili jsme se objasnit tuto otázku v experimentální studii.

MATERIÁL A METODY

Účelem práce bylo zjistit, jaké je asi množství estrogenů, potřebné k vyvolání typických vaginálních, arborizačních a říjových příznaků u skotu a zda se tyto symptomy objevují současně, nebo jeden na druhý navazují. Výsledek tohoto sledování by jednak mohl konkrétně přispět k objasnění otázky individuální citlivosti skotu vůči estrogenům a nakonec i k osvětlení rozporu mezi vaginálním hyperfolikulinickým nálezem a cystickou anerosií.

Pokusy byly prováděny na 12 ovariektomovaných kravách. Řada zvířat před kastrací trpěla vaječníkovými cystami (viz tab. I.), některá byla z chovu vyřazena pro dlouhotrvající bezříjivost. Jiné plemenice byly pohlavně zdravé a byly z chovu vyloučeny pro nízkou užitkovost.

Kastrace byla provedena na stojícím zvířeti z levé slabiny. Po operaci bylo každé zvíře ponecháno v klidu průměrně 30 dní (9 až 120), aby bylo možno vyloučit tubulární pohlavní ústrojí z vlivu gonadálních hormonů.

Při volbě vhodné dávky estrogenů jsme si byli vědomi, že u skotu je obecně hladina estrogenů poměrně nízká (Přibyl, 1954). Vycházeli jsme proto z pojednání Ferneve (1959), ale především z prací Asdella a spolupracovníků (1945), Hansela a Asdella (1952), Melamhyho a spolupracovníků (1957) a Moberga (1959), v nichž bylo prokázáno, že kastrovaným jalovicím a kravám dostačují k vyvolání říje mizivě nízké dávky estrogenů, opakovaně podávané po několik dní (0,099 mg až 0,2 mg). K použití minimálních dávek estrogenů nás vedly též některé novější zkušenosti z ženského lékařství (Jefferies a spolupracovníci, 1964) i z veterinární klinické praxe (Gibbons, 1961 ab, Belling, 1964), které vesměs poukazují na to, že při terapeutickém použití estrogenních hormonů dostačují dávky velmi nízké, aby upravily normální vztahy mezi hypofýzou a ovariem (Jefferies a spolupracovníci, 1964). Ku příkladu u skotu bylo zjištěno (Robertson, 1944, Reece, 1945, Andrews 1947, Cairy, 1948, 1963, Lindley, 1953, Craige, 1954, Ferney, 1959, Gibbons, 1961 ab, Belling, 1964), že v přísných indikacích a s ohledem na fázi cyklu zcela dostačují množství, která nepřesahují dávku několika mg. Velmi se osvědčily zejména přípravky depotních léčiv ve formě málo rozpustných krystalických suspenzí.

Před hormonální aplikací bylo každé zvíře vaginálně vyšetřeno, zjištěn stav cervikální sekrece i hodnoty její krystalizace a současně byly vyloučeny eventuální příznaky říje. K hormonálním injekcím byl použit AGOFOLUN-Spofa (estradiol-dipropionát, EDDP) v olejovém roztoku, v koncentraci 0,1 % a s obsahem 10 000 mj. v 1 mg. Základní použitá dávka byla 0,25 mg (2500 mj.) a byla indikována *i. m.* v krajině za lopatkou. Tyto jednotlivé dávky byly opakovány po 24—28 hodinách až do vyvolání typických hyperfolikulinemických příznaků.

Vaginální změny byly sledovány každých 24 hodin (po I. injekci i za 7—8 hodin), při čemž byl pomocí skleněné pipety současně odebírán cervikální hlen a po vyschnutí v roztěru zjišťovány jeho arborizační vlastnosti. Přítomnost říjových příznaků byla zjišťována průběžným, prakticky neustálým pozorováním pokusných zvířat na klinice.

VÝSLEDKY

Výsledky pokusů na 12 kastrovaných kravách jsou obsaženy v tab. I a lze je shrnout ve stručnosti takto:

Vliv *i. m.* aplikace 0,25 mg EDDP (2500 mj.) je při vaginálním vyšetření patrný již za 7—8 hodin a projevuje se sytější barvou poševní sliznice, její zvýšenou kluzkostí a leskem, i objevující se cervikální sekrecí, která jinak u kastrovaných zvířat bývá zpravidla zaniklá, nebo nepatrná a značně zahuštěná.

Za 24—28 hodin po aplikaci 0,25 mg EDDP se příznaky říje objevily toliko ojediněle (u jediného zvířete), avšak do této doby docházelo k výrazným změnám ve vaginálním obrazu, který byl charakterizován překrvením, prosáknutím, kluzkostí a vysokým leskem vaginální sliznice i portia a zvýšenou sekrecí typicky říjového, vazkého, čirého a táhlého hlenu ve všech případech (tab. I.).

Arborizační fenomén, zjišťovaný po 24—28 hodinách po I. aplikaci 2500 mj. EDDP, byl zaznamenán typicky folikulárního typu jen u 4 krav a byl většinou kapradinovitého vzhledu. U zbývajících zvířat byla zaznamenána atypická počáteční stadia krystalizace, charakterizovaná hrubými náznaky kapradin, keříčků a formacemi podobnými peříčkům, smrkovým větvičkám apod. (Obr. 1, 2, 3.).

Po druhém podání 0.25 mg EDDP (za 48—56 hodin po I. aplikaci a za 24 hodin po II. ošetření) byla říje zaznamenána toliko u 6 zvířat, zatímco vaginální obraz typický pro folikulární stadium (prosáknutí štěrbiny stydké, výtok hlenu, zbytnění, prosáklost, relaxace a kluzkost poševní stěny, hojná sekrece cervikálního hlenu), byl zaznamenán u všech krav. Po II. aplikaci (celkem po 0,5 mg estradiolu a 5000 mj.) byla již u většiny zvířat vyhraněná krystalizace. U 10 krav byl zjištěn typický arborizační fenomen kapradinovitého nebo plavuňovitého typu. Toliko u dvou zvířat bylo nutno k dosažení charakteristických krystalizačních změn v cervikálním roztěru podat dalších 0,25 mg EDDP.

Říjové příznaky se obecně objevovaly později než změny vaginální a arborizační. Zatímco u 6 krav byly zjištěny již po II. dávce Agofollinu (0,5 mg), dvě zvířata si vyžadovala dávku 0,75 mg a 3 po 1 mg. Jedna kráva nereagovala říjovými známkami ani po 6 opakovaných základních dávkách (1,5 mg) estrogenu.

DISKUSE

Ve shodě se zkušenostmi Asdella a spoluprac. (1945, Hansela a Asdella (1952) a Moberga (1959), i předkládaná práce jasně naznačuje, že skot je vůči estrogenním látkám velmi citlivý (Bertrand, Ferney, 1962), protože frakcionovaná podávání EDDP v dávce kolem 0,5 mg (5000 mj) vyvolávají typické vaginální a arborizační příznaky a množství kolem 0,75 mg

(7500 mj) až 1 mg vede u velké většiny zvířat k typickým říjovým změnám. Uvážíme-li toto množství hormonu vzhledem k váze krav, je účinnost dané látky u skotu velmi vysoká.

Z tohoto hlediska by bylo žádoucí zrevidovat dosavadní indikace a zejména dávkování estrogenních hormonů používaných při některých formách poruch plodnosti a uvést možnosti jejich použití na pravou míru vzhledem ke stadiu cyklu (Cairy, 1963) a ve smyslu některých posledních prací (Belling a spoluprac., 1964, Gibbons, 1961ab, Musil a kol., 1964). Jedině tak mohou estrogeny vést ke korekci ovariálních dysfunkcí a poruch plodnosti a) prostřednictvím zvýšení gonadotropní sekrece a zcitlivěním vaječníků k nízkým hladinám gonadotropinů s následnou stimulací ovulace, b) zlepšením prostředí cervikálního hlenu pro penetrující spermie a c) úpravou uterinního prostředí (v součinnosti s progresteronem) pro zdárný vývoj oplozeného vajíčka (Jefferies a spolupracovníci, 1964).

Z výsledků pokusů dále vyplynulo, že zatímco vaginální změny i cervikální sekrece podléhají estrogenním hormonům velmi rychle, říjová reakce zvířat se obecně zpožďuje a nastupuje značně individuálně. Tato skutečnost byla též zjištěna u ovcí (Gamčík, Ševčík, 1962) a nesouvisí pravděpodobně s tělesnou váhou a množstvím aplikovaného hormonu, ale spíše s různou dráždivostí nervového systému (Melampy a spolupracovníci, 1957).

Právě na základě těchto poznatků by bylo možno do jisté míry též osvětlit skutečnost, proč při ovariálních cystách je vaginální nález typicky folikulárního typu při absenci logicky očekávaných říjových příznaků. Je docela možné, že v cystických vaječnících se vytváří jen taková hladina estrogenních hormonů, která vyvolává typické vaginální změny, zatímco nestačí k centrálnímu podráždění. Nelze dále vyloučit, že nedostatky psychického podráždění jsou vyvolány strukturální změnou estrogenních látek způsobenou enzymatickou insuficiencí, která v rámci syndromu vaječníkových cyst může ovlivnit kvalitu sexuálních steroidů v organismu (Jefferies a spolupracovníci, 1964 a jimi citovaní autoři). Nakonec též není nemožné, že nadřazená centra se vůči chronickým dráždění estrogeny při vaječníkových cystách postupem času stanou refrakterní, takže příznaky říje se neobjevují.

SOUHRN

Vliv estradiol-dipropionátu (Agofollin-Spofa) na říjové příznaky, změny ve vaginálním obraze a arborizační vlastnosti cervikálního hlenu byl sledován u 12 ovariektomovaných krav.

Bylo zjištěno, že dávka 0,25 mg (2500 mj) Agofollinu vyvolává po 24—28 hodinách výrazné změny folikulárního typu ve vaginálním obraze i sekreci cervikálního hlenu ve všech případech. Typické arborizační nálezy byly v cervikálních hlenových roztěrech zaznamenány u 4 krav a říjové příznaky se objevily jen u jediného zvířete. Náznaky krystalizace byly v roztěrech cervikálního hlenu pozorovány u všech krav.

Po celkovém podání 0,5 mg (5000 mj) Agofollinu byl typický hyperfolikulinemický vaginální obraz zjištěn u všech krav. Arborizační fenomen, typický pro zvýšenou hladinu estrogenů v organismu byl pozorován u 10 zvířat. Toliko u dvou krav bylo nutné k vyvolání charakteristických krystalizačních útvarů celkové dávky 0,75 mg (7500 mj).

Říjové příznaky se objevovaly později než hyperfolikulinemické změny ve vagině i v cervikálních hlenovitých roztěrech. Po podání 0,5 mg estrogenu se říje objevila u 6 zvířat, 3 krávy vyžadovaly celkovou dávku 0,75 mg a další 3 množství 1 mg Agofollinu.

Je poukázáno na vysokou citlivost skotu vůči estrogenům, i na nutnost revize dosavadních indikací a dávkování estrogenních hormonů při léčbě funkčních poruch pohlavního cyklu u skotu.

V rámci současných poznatků o účinku estrogenních látek v průběhu fyziologického i patologického pohlavního cyklu u skotu i v rámci získaných poznatků je proveden pokus o vysvětlení rozporu mezi hyperfolikulinemickým obrazem vaginálním a krystalizačním a anestrickými příznaky při vaječníkových cystách u krav.

Došlo dne 5. 11. 1964

Literatura

1. Andrews F. N.: Endocrine Therapy in Veterinary Medicine. JAVMA, 1947, Vol. CX, s. 308. — 2. Asdell S. A., De Alba J. and Roberts J. S.: The levels of ovarian hormones required to induce heat and other reactions in the ovariectomized cow. J. of Animal Sci., 1945, 4, 277 and Cornell Vet., 1949, 39, 389. — 3. Belling T. H., Sid A. El Shafie: Estrone for Inducing Estrus in Dairy Cows. JAVMA, 1964, No. 9, Vol. 144, s. 998-1004. — 4. Belling T. H.: Bovine Ovarian Palpation. Vet. Medicine Small Anim. Clinician, 1964, Vol. 59, s. 161. — 5. Bertrand M. et Ferney J.: Endocrinologie sexuelle de la vache. Bull. de la société des sciences vétérinaires de Lyon, 1962, s. 177-201. — 6. Cairy C. F.: Proper use of hormones in reproductive Problems. Veterinarien, 1963, Vol. 23, No. 3, 1963. — 7. C. F. Cairy: Why hormone treatments sometimes fail. JAVMA, 112, 1948, s. 30. — 8. Craige A. H.: Sex hormones in Veterinary Practice. Vet. Med., 1954, s. 179. — 9. Ferney J.: Emploi des hormones sexuelles en thérapeutique et en zootechnie. Rev. de Méd. Vét. 22, 1959, s. 302. — 10. Gamčík P., Ševčík A.: Zmeny v cervikálnom hliene ovariektomovaných oviec po aplikácii agolutínu a agofolínu. Folia Vet., Košice, 6, 1962, s. 189. — 11. Gibbons W. J.: Infertility of Cattle. Modern. Vet. Pract. 42, 1961, No. 1, s. 30. — 12. Gibbons W. J.: Estrone in the treatment of anoestrus of cattle. Modern. Vet. Pract. 42, 1961, No. 3, s. 30. — 13. Hansel W., Asdell S. A.: The cause of bovine metestrous bleeding, J. Anim. Sci. 11, 1952, s. 346. — 14. Holý L.: Syndrom vaječníkových cyst u skotu z hlediska výskytu, etiologie, symptomatologie, diferenciální diagnostiky a etiotropní terapie choriongonadotropiny (Klinická studie). Kand. diss. práce, Brno, 1964. — 15. Jefferies W. M., Levy R. P.: Treatment of ovarian dysfunction with small doses of cortisone or hydrocortisone. J. Clin. Endocrinol. 19, 1959, s. 1062. — 16. Jefferies W. M., Michelakis A. M., Weir W. C.: Use of small doses of estrogens in Ovarian dysfunction. Fert. Steril, 15, 1964, No. 3, s. 317. — 17. Kotz H. L., Herrmann W. A.: A review of the endocrine induction of human ovulation III. Estrogen. Fert. Steril. 12, 1961, s. 197. — 18. Lindley C. D.: Comparison of treatment for anestrum in dairy cattle. Vet. Med. XLVIII, 1953, s. 263. — 19. Melampy R. M., Emmerson M. A., Rakes J. M., Hanka L. J., Eness P. G.: The effect of progesterone on the estrous response of estrogen-conditioned ovariectomized cows. J. Anim. Sci. 16, 1957, s. 967. — 20. Milovanov V. K.: Současný stav poznatků o řízení pohlavní činnosti samic. Životnovodstvo, č. 8, 1961. — 21. Moberg R.: Změny v cervikálním hlenu ovariektomovaných jalovic po aplikaci pohlavních hormonů. Veterinární kongres, Madrid, 1959, Ref. Veterinářství, 10, 1959, s. 403. — 22. Möllendorff W.: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Díl 7. Hypothalamus. Springer Verlag, Berlin-Göttingen, Heidelberg, 1962. — 23. Musil D. a kol.: K otázce využití Agostilbenu v léčbě anestrie. V tisku, 1964. — 24. Přibyl E.: Klinické a laboratorní stanovení říje a ovulace. Veterinársky časopis, 3, 1954, No. 1., s. 7. — 25. Reece R. P.: Hormonal therapy in relation to veterinary practice. JAVMA, CVI, 1945, No. 17, s. 191. — 26. Robertson A.: Sex hormones in theory and practice. Vet. Rec. 56, 1944, No. 13, s. 101.

Влияние низких доз эстрогенов на внешние признаки охоты, вагинальную картину и на аборизационные свойства цервикальной слизи у кастрированных коров

У 12 кастрированных коров авторы исследовали влияние эстрадиол-дипропионата (Агофоллин-Спофа) на внешние признаки охоты, изменения вагинальной картины и на изменения цервикальной слизи.

Применение 0,25 мг (2500 м. е.) Агофоллина вызвало изменения вагинальной картины и секрецию цервикальной слизи у всех животных. Типический арборизационный диагноз был установлен в мазках цервикальной слизи 4 коров, у 10 коров такой диагноз был получен после применения 0,5 мг, а у 2 коров оказалось необходимым применение 0,75 мг эстрогена.

Внешние признаки охоты проявились позже, чем гиперфолликулинемические изменения во влагалище и в мазках цервикальной слизи. После применения 0,5 мг эстрогена охота появилась у 6 животных, после 0,75 мг — у 3 и после применения 1 мг Агофоллина у дальнейших коров.

Авторы указывают на высокую чувствительность крупного рогатого скота к эстрогенам, на необходимость проверки до сих пор применяемых указаний и дозировки эстрогенов при лечении функциональных нарушений полового цикла у крупного рогатого скота.

The Influence of Low Doses of Estrogens on Libido, Vaginal Picture and Arborization Properties of Cervical Mucus in Ovariectomized Cows

In 12 ovariectomized cows the influence of estradiol - propionate on sexual desire, vaginal picture and changes in cervical mucus has been followed.

The dosis of 0,25 mg (2500 I. U.) of Agofollin caused changes in vaginal picture and in the secretion of cervical mucus in all animals. Typical crystallization fenomen (arborization test) occurred in 4 cows, in 10 animals after the dosis of 0,5 mg and in 2 after the application of 0,75 mg of estrogen.

Sexual desire occurred later than the changes in vagina and in the cervical mucus. Following the application of 0,5 mg of estrogen the sexual desire occurred in 6 animals, in 3 after the application of 0,75 mg and in 3 after the application of 1 mg.

The results show great sensitivity of cattle against exogenous estrogens. It is therefore necessary to revise the indications and dosage of estrogens in therapy of functional disorders in sexual cycle in cattle.

Der Einfluß von niedrigen Oestrogendosen auf Libido, Vaginalbild und Arborisationseigenschaften des Zervikalschleimes bei kastrierten Kühen

Von den Autoren wurde bei zwölf kastrierten Kühen der Einfluß von Oestradiol - Propionat auf die äußeren Sexualsymptome, auf das Vaginalbild und auf die Veränderungen des Zervikalschleimes verfolgt.

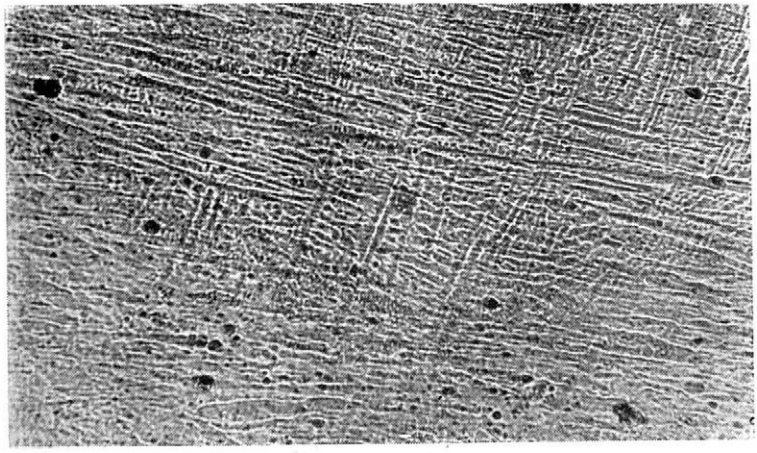
Die Dosis von 0,25 mg (2500 I. E.) von Agofollin hat die Veränderungen im Vaginalbild und die Sekretion des Zervikalschleimes in allen Fällen verursacht. Das typische Arborisationsphänomen wurde bei 4 Kühen, nach der Applikation von 0,5 mg bei 10 Kühen festgestellt und bei 2 Kühen war die Gesamtapplikation von 0,75 mg Oestrogen nötig.

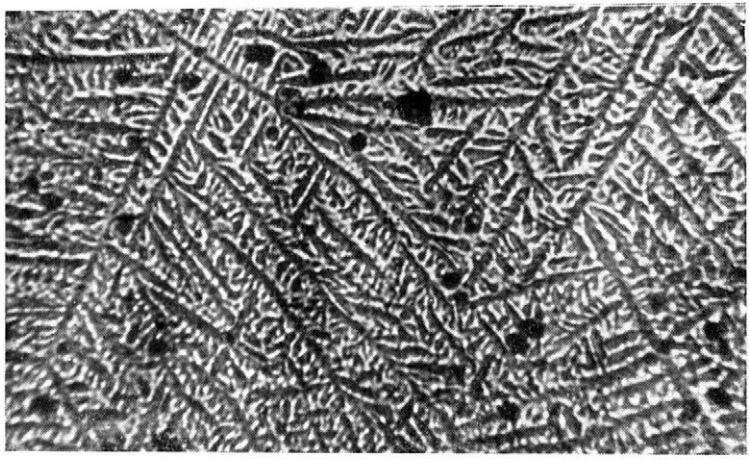
Die Sexualsymptome folgten später als die Veränderungen in der Vagina und im Zervikalschleim. Nach der Applikation von 0,5 mg Oestrogen hat sich die Brunst bei 6 Kühen, nach 0,75 mg bei 3 und nach der Dosis 1,0 mg bei weiteren 3 Kühen eingestellt.

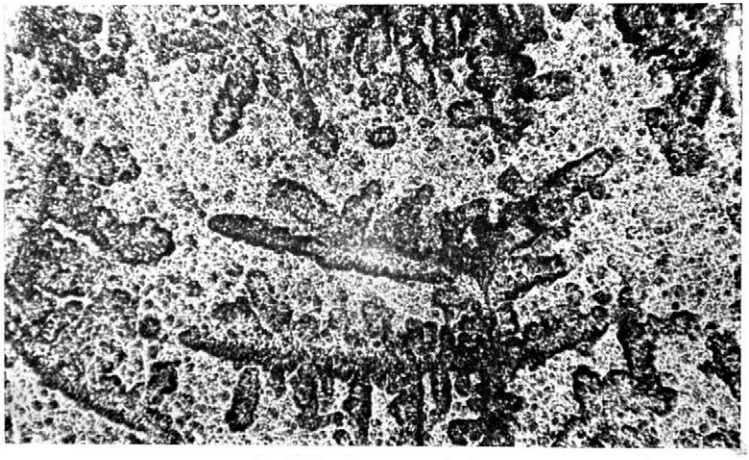
Von den Autoren wird auf die hohe Empfindlichkeit des Rindes zum Oestrogen und auf die Notwendigkeit der Revision von bisherigen Indikationen und der Oestrogendosierung bei der Heilung der Fuktionsstörungen des Geschlechtszyklus beim Rind hingewiesen.

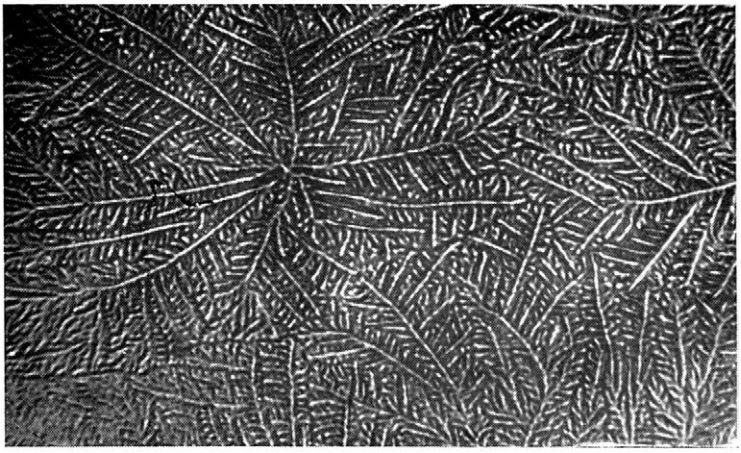
Prom. vet. lékař Luboš Holý, Sc. C.
MVDr. Josef Hrivnák,
Vysoká škola zemědělská,
veterinární fakulta,
katedra porodnicko-gynekologická,
Brno, Palackého 1-3

Obr. 1. První náznaky krystalizace za 24 hodin po podání 0,25 mg Agofollinu. (1a — lineární, 1b — větvičkovité, 1c, 1d — kapradinovité).

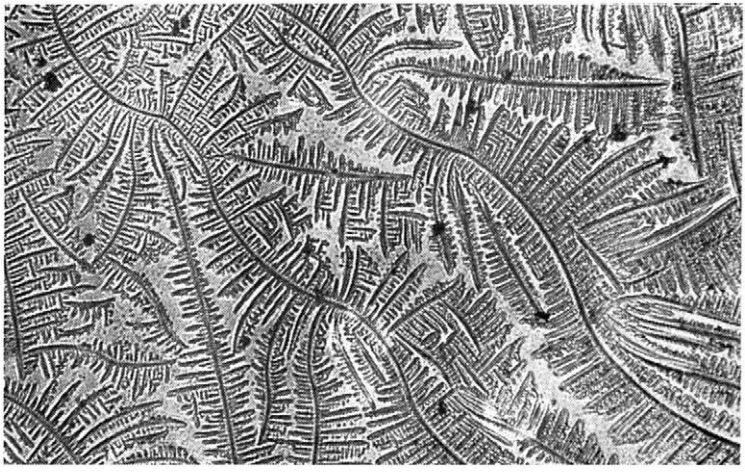


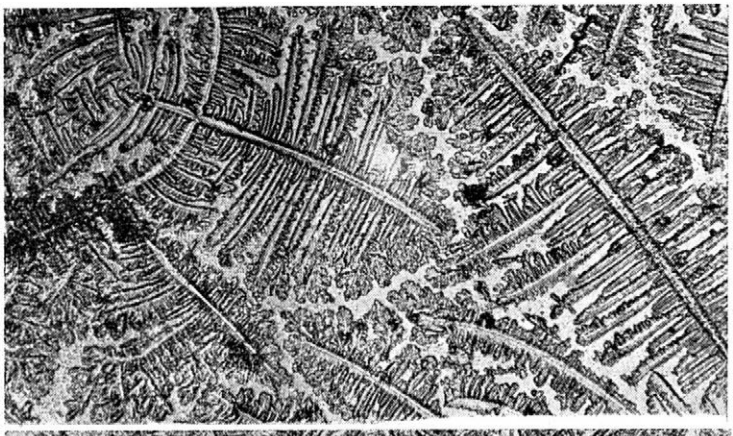




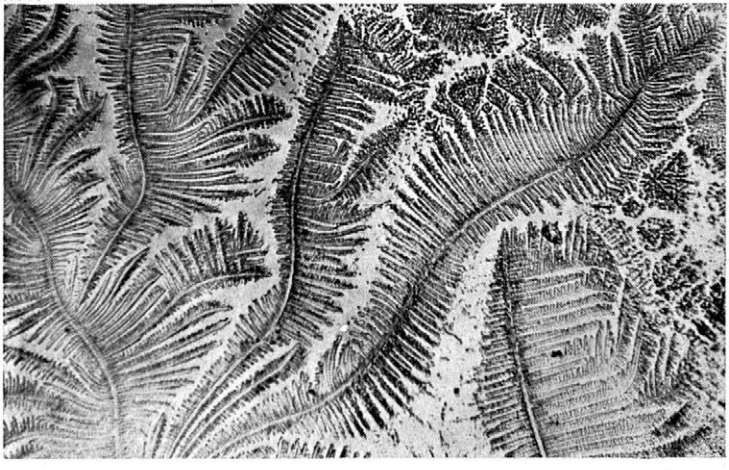


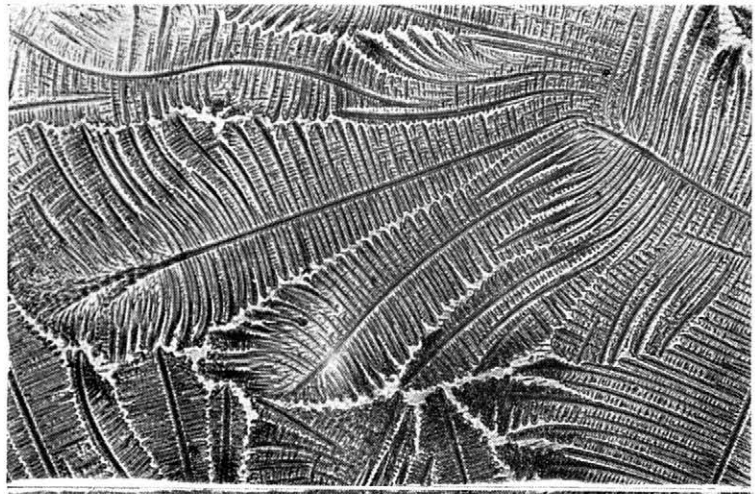
Obr. 2. Pokročilejší vývojové krystalizační struktury za 24 hodin po 2. podání 0,25 mg (2500 mj) Agofollinu. 2a, 2b — přechodný typ k plavuňovité formaci, 2c, 2d — přechodný typ ke kapradinovitým obrazcům.

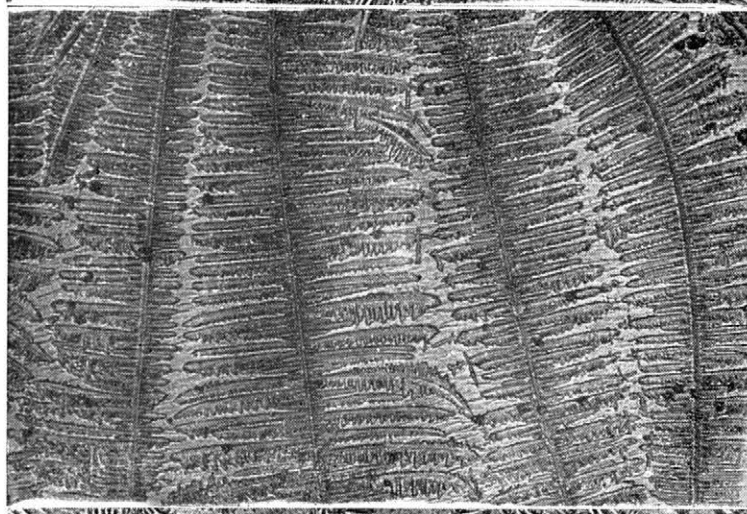




Obr. 3. Typické krystalizační struktury vytvořené po 3. aplikaci 0,25 mg (celkem 7500 mj) Agofollinu. 3a, 3b — charakteristické plavuňovité, 3c, 3d — typické kapradinovité formace.







GILKA F.

Příspěvek k afekcím sliznice předžaludků u telat

Při pitvě telat postižených subakutní až chronickou dyspepsií byla občas zjišťována od stáří asi 10 dnů akutní ložisková *proventriculitis* s krváceninami a poruchy v keratinizaci epitelu v podobě ložiskově či difúzně zhrublého papilárního reliéfu sliznice se ztluštělou šedobílou výstelkou, někdy infiltrovanou krví nebo žlutavě šedým výpotkem. Tyto afekce se predilekčně vyskytovaly na sliznici ruminální, bachor byl většinou dilatován a na sliznici pilířů byly defekty. Povaha těchto změn z hlediska formální geneze je předložena v tomto příspěvku.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Superficiální chronickou proventrikulitis u telat uvádí Joest (7) ve vztahu ke škodlivinám v obsahu předžaludků. Případy avitaminózy A, hyperkeratózy a úplavice uvedl u dvou telat Cohrs (1) s popisem povahy zjišťovaných změn, které považoval za příčinu průjmů. Šlo o parakeratózu a hyperkeratózu s větší či menší vakuolární degenerací v horní části *stratum spinosum* s následnou leukocytární infiltrací. Dále uvedl případ dvoudenního telete, kterému chyběl vitamin A v játrech a které nemělo změny na předžaludcích.

Případ hyperkeratózy a soor bachoru u odstaveného telete popsal Matthias (9), který považoval rohovatění epitelu za reakci na pronikání plísní. Helmboldt a kol. (5), Dutt a kol. (3) popsali histopatologické změny při hypovitaminóze A, z nichž jako patognomonické se vyskytovaly metaplasie epitelu v interglandulárních vývodech *parotis*. Změny na sliznici předžaludků vůbec neuvádějí. Noller a kol. (10) uvedli v práci o vlivu různých diet na předčasné odstavování vznik ruminálních hyperkeratóz, erozí a plaků u telat, která přijímala s nechutí volně předložené seno při krmení starterem.

METODIKA

Byly vyšetřeny excise ze 14 telat vybraných z 31 pitvaných mláďat vykazujících uvedené afekce; z toho u 7 telat byly excise fixovány bezprostředně po smrti. Preparáty byly barveny hematoxylin-eosinem, trichromem, některé Malloryho hematoxylinem a metodou PAS.

NÁLEZY

V předložené tabulce je možno zjistit frekvenci změn ve třech zemědělských družstvech ve vztahu k věku a stručný popis sekčního nálezu.

U všech mikroskopicky vyšetřených případů šlo o parakeratózu, méně často o hyperkeratózu sliznic bachoru a čepce, komplikovanou hlavně u parakeratóz sekundárním zánětem.

Afekce měly u všech telat v podstatě stejný charakter a genezi. Na výstelce papil a lišt se objevily nejdříve známky intracelulárního perinukleárního, později intercelulárního edému a parakeratóza, která se nevyskytovala bez edému v hlubších vrstvách výstelky; parakeratóza byla nacházena na větších úsecích sliznice, většinou však ložiskově, a zejména na apikálních částech dosáhla zároveň s edémem největší intenzity.

Buňky ze *stratum spinosum* jevily známky kavitární degenerace, kavitární alterace a spongiózy. Do zvětšujících se dutin v buňkách výstelky a intercelulárních štěrbin vcestovaly polynukleáry z propria, jejíž cévy vykazovaly peristatickou hyperemii až kapilární stasu a leukocytózu. Nahloučením polynukleárů vznikly mikroabcesy a proteolýzou větší dutiny ve zduřelém epitelu, který nabyl mnohanásobné tloušťky. Polynukleáry vytvářely běžně v hlubších parakeratotických vrstvách četné Munroovy mikroabscesy, které popřípadě splynuly v souvislou vrstvu někdy značně tlustou. Tato leukocytární demarkace a proliferace dalších mladších, ale rovněž nedokonale rohovatějících vrstev vedla někdy ke vzniku dvou neúplně zrohovělých eosinofilně se barvících parakeratotických vrstev s mezivrstvou z polynukleárů.

U několika případů bylo možno pozorovat i ložiskové koagulační nekrózy buněk *strati spinosi* s akantolytickým uvolněním zakulacených zduřelých buněk. Hyperkeratóza bez přítomnosti jader buněčných ve *stratum corneum* byla zjištěna jen ložiskově a řídce; mezi parakeratózou až hyperkeratózou byly různé plynulé přechody. Při sklonu k hyperkeratóze bylo obvykle zjišťováno vyvinutější *stratum granulosum*, které jinak při parakeratóze s menším vytvářením eleidinu chybělo. Došlo-li k silné exsudaci v *l. propria*, objevily se ve štěrbinách a dutinách epitelu i vakuolách jednotlivých zduřelých buněk kromě leukocytů erytrocyty a fibrin, v *l. propria* bylo často pozorováno i podminování *stratum basale*, nejčastěji serózní, ale i hemoragické a fibrinózní, což vedlo po deskvamaci ke vzniku eroze. Někdy postoupily nekrotizující zánětlivé procesy až do submukózy, takže vznikly ulcerace sahající až k *tunica muscularis*.

V šesti případech byly zjištěny ložiskově především v buňkách *stratum germinativum* postižených intracelulárním edémem a spongiózou jednotlivé i četné, různě velké eosinofilní cytoplazmatické inkluse uložené ve vakuole často blízko případně srpkovitě deformovaného jádra. Jejich masa nebyla homogenní, ale vykazovala několik světlých bodů (zrn) uložených v eosinofilně se barvící hmotě. Výstelka byla v těchto případech infiltrována polynukleáry a makrofágy s těmito fagocytovanými inklusemi. V jednom případě byly zjištěny jen 2 intranukleární inkluse typu Cowdry A. Parakeratóza však postihovala sliznici i mimo tyto vyjmenované inkluse.

Kromě toho bylo možno občas vidět v cytoplazmě i homogenní paraplazmatické koagulační bílkovinné inkluze nebo expulsované jadérko. V deskvamujících parakeratotických vrstvách se vyskytovaly u několika telat kvasinky, plísně a masy mikrobů.

DISKUSE

Jak je vidět z tabulky pitevních výsledků, vyskytovaly se často popsané afekce v některých zemědělských závodech.

Výskyt toxické dyspepsie po napití kolostra vedl chovatele některých družstev k mylnému závěru, že je příčinou uhynutí napití se mateřského mléka, a tudíž k dietetickým zásahům, které se snažily předčasně zčásti nebo zcela nahradit mateřské mléko „dietními" směsmi, v nichž tvořily součást šroty,

I. Přehled nálezů.

Č. p.	Závod	Stáří dnů	Průjem po narození	Hlavní nemoc	Komplikace	Poznámka
34/64	Ne.	7	1. den	*Dysp.*	*Ruminitis*, defekty *abom.*, *aspir. pneum.*	Kvasinky v parakeratotickém epitelu
37/64		14	1. den	*Dysp.*	*Ruminitis*, defekty *abom*, *pneum.*	Usmrceno ve stadiu hypotense, prostrace
66/64		19	nebyl	*Dysp.*	*Ruminitis*, obstipace slezu	Usmrceno, zvrací hnilobný obsah
97/64		16	4. den	*Omph.*	*Ruminitis*, defekty *abom.*	Recidiva průjmu
99/64		15	4. den	*Dysp.*	Dilatace bachoru a slezu (šrotem) *pneum.*	2 recidivy průjmu, usmrceno
102/64		11	5. den	*Dysp.*	Dilatace bachoru mlékem, defekty *abomas.*	
106/64		16	9. den	*Omph.*	*Ruminitis*, defekty *abomas.*, obstipace *rumin.*	
112/64		20	4. den	*Omph.*	*Ruminitis* a kvasná dysp., v bachoru šrot	
119/64		30		*Dysp.*	Kvasná dyspepsie s hyperkeratózou	Radiární hemoragie v nadledvinkách
120/64		16	7. den	*Dysp.*	*Ruminitis*, defekty *abomas.*, kvasná dysp.	
121/64		11	2. den	*Dysp.*	*Ruminitis*, defekty *abomas.*, *pneum.*	2 inkluze typu Cowdry A, 1 recidiva diarhei
122/64		60	6. den	*Pneum.*	Obstipace a dilatace bachoru	Krváceniny a trombózy sinů nadledvinek
123/64		21	9. den	*Dysp.*	Obstipace bachoru, defekt *abomas.*, *pneum.*	Lož. erozivní dyskeratóza mukózy esofageální
125/64		27	6. den	*Dysp.*	Obstipace bachoru, *cholangiopathia fibrocyst.*	Kachexie
127/64		48	7. den	*Pneum.*	Obstipace bachoru	
6/62	B.	14		*Dysp.*	*Ruminitis*, *pneum.*	Usmrceno. Metaplasie v duktu *gl. mandibularis*
33/64		8	2. den	*Omph.*	*Ruminitis*, defekty *abomas.*, invad. céka	Příčinou smrti *ileus*
98/64		9	3. den	*Dysp.*	*Ruminitis*, defekty *abomas.*	Od narození *anorexie*
103/64		9	2. den	*Omph.*	*Ruminitis*, defekty *abomas.*	Usmrceno. *Eosin. cytopl.* inkluze v epitelu
111/64		19	2. den	*Dysp.*	*Ruminitis*, defekty *abomas.*, hnilobná dyspepsie	bachorovém a nález kvasinek saprofytických
30/62	So.	10	6. den	*Dysp.*	*Ruminitis*	
34/62		10		*Dysp.*	*Ruminitis*	*Eos. cytopl.* inkluse ve *str. germinativum*
77/63		28	4. den	*Dysp.*	*Ruminitis*, defekty *abomas.*, obstipace *abom.*	*Eos cytopl.* inkluse ve *str. germinativum*
79/63		14	2. den	*Dysp.*	*Ruminitis*, defekty *abomas.*, trombóza v. mes.	Úhyn na pitev. stole. Saprof. kvasinky

Mimoto vyšetřeno ještě dalších 7 případů z různých zemědělských závodů ve věku 10, 12, 60, 9, 10, 6 a 7 dnů s podobnými nálezy, z toho u 6denního a 10denního telete rovněž s nálezem eos. inkluzí.

Význam zkratek: *Dysp.* = dyspepsie akutní i chronická se známkami klinické gastroenteritidy.
Omph. = *omfalitis (omfaloflebitis).*
Pneum. = pneumonie (lobulární kat. jako komplikace, lobární jako hlavní onemocnění).
Defekty *abomas.* (katarální i peptické eroze a vředy).

otruby, lněné semeno a podobné, škrob a celulózu obsahující složky. Podle literárních sdělení Nollera a kol. (10) dovede tele utilizovat cukr, maltózu a škrob až po 6 týdnech života a vegetabilní proteiny až po 26—30 dnech.

U určitého počtu telat našli jsme v předžaludcích také stelivo nebo jen mléko, takže příčinou dilatace bylo pravděpodobně nemírné hltavé pití mléka, při kterém se část tekutin dostává do bachoru (6). Tyto okolnosti vedly k předčasné dilataci předžaludků a dále k mikrobiálnímu rozkladu jeho obsahu. Hnilobná a kvasná dyspepsie a stagnace obsahu způsobovala chronický průjem a intoxikaci a recidivy u vyléčených telat. Z našeho mikroskopického vyšetření vyplynulo, že dystrofické změny epitelu jsou primární, zatím co zánět vzniká sekundárně. U většiny telat převládala různě vyvinutá parakeratóza.

Kausální genese těchto změn zdá se být komplexní povahy, jak vyplývá z těchto úvah: Dystrofické změny by mohly být ovlivněny předpokládanou sníženou resorpcí vitamínu A i zásob vitamínu A u telat s prujmem, jak vyplývá z výsledku výzkumu Cohrse (1), Sellerse a kol. (12), Jonese a kol. (8), Dvořáka a kol. (2). Velký význam ve vývinu změn má jistě časový faktor, jednak při spotřebě vitamínu A při průjmu v náročných tkáních, jednak při chemickém dráždění výstelky z rozloženého obsahu, což by potvrzovalo úvahy Joestovy (7), jednak při mechanickém dráždění z předčasného požívání hrubých celulózových vláken, jak zjistil Hall (4).

Úlohu času ve vývinu změn vyzdvihuje i poznámka Cohrse o dvoudenním dobře vyvinutém teleti bez vitamínu A v játrech, které nemělo změny na předžaludcích.

Endogenní hypovitaminémii A z porušeného uvolňování vitamínu A z jater, mimo jiné při toxických stavech, je nutno také brát v úvahu, jak vyplývá z výzkumu Popperových a kol. (11). Tomu by nasvědčovaly dva případy dyspepsií s parakeratózou a hyperkeratózou epitelu předžaludků, z nichž jeden měl hladinu vitamínu A v játrech 85 m. j. v 1 g (kromě toho i iniciální metaplasii epitelu duktu *gl. submaxillaris)* a druhý 25 m. j. v 1 g, což je dostatečné množství vyskytující se u zdravých telat.*) Úvaha o uplatnění mechanického dráždění při vzniku popsaných změn vyplývá z predilekce změn na pilířích, orální a aborální stěně vaků bachorových a z výskytu reaktivních změn na výstelce apikálních částí sliznice.

U cytoplazmatických eosinofilních inklusí bylo možno pozorovat i náznaky domnělého vývojového cyklu v podobě zvětšování a jejich uvolňování do lumina bachoru a čepce. Nepravidelný nález inklusí u několika případů nevylučuje účast virů na těchto afekcích. Z uvedeného se však zdá, že jde spíš o sekundární jev, tj. že se tato agens uplatní na měněcenné výstelce.

SOUHRN

1. U případů chronického průjmu a recidiv vyléčené dyspepsie v raném období života byly zjišťovány u telat při pitvě dilatace a popřípadě obstipace předžaludků s hnilobnou a kvasnou dyspepsií s eventuálními známkami ložiskového zánětu a katarálních erozí a vředů na změněné výstelce.

2. Primární afekcí výstelky byly vždy ložiska parakeratóz vznikající na bázi intracelulárního a intercelulárního edému a nekrobiotických změn.

Méně často se vyskytovaly vedle paraketaróz i čisté hyperkeratózy, přičemž bylo možno pozorovat přechody k pravým hyperkeratózám.

*) Stanovení hladiny vitamínu A v játrech provedl MVDr Dvořák z našeho ústavu.

3. Sekundárně vznikala na dystrofické výstelce purulentní infiltrace, popřípadě různě silně vyvinutý zánět v *l. propria*, který v některých místech vyústil v zánět nekrotizující. Částečnou nebo úplnou deskvamací výstelky podminované exsudátem vznikly eroze a vředy.

4. Teprve na takto preformovaných změnách se uplatnily kvasinky, plísně a bakterie jednak jako saprofyté v deskvamujících vrstvách, jednak jako patogenní agens sekundárně pronikající do propria.

5. U malého počtu telat byly zjištěny vedle paraplazmatických inkluzí i cytoplazmatické eosinofilní inkluse ve vakuolách často juxtanukleárních, které by mohly být způsobeny přítomností virusů v buňkách *strati germinativi*.

V jednom případě byly zjištěny 2 inkluse typu Cowdry A.

6. Je diskutována kausální geneze těchto změn ve vztahu ke kvasné a hnilobné dyspepsii v předžaludcích následkem stagnace obsahu předčasně dilatovaného bachoru.

Došlo dne 7. 10. 1964

Technická spolupráce Jarmila Poštulková.

Literatura

1. Cohrs P.: Hyperkeratose des Pansens, A-avitaminose und Kälberruhr. Berl. und Münchener tierärztl. Wochenschrift, 1942, s. 209. — 2. Dvořák M., Kožušník Z.: Vitamin A v játrech telat. Veterinársky časopis 1962, 11 : 49. — 3. Dutt B., Vasudevan B.: Clinical syndromes and histopathological changes in vitamin A deficiency in cow calves. Indian Vet. J., 1962, 39 : 584. — 4. Hall S. A.: Gastric dyspepsia in calves. The Vet. Rec. 1962, 74 : 814. — 5. Helmboldt C. F., Jungherr E. L., Eaton H. D., Moore L. A.: The pathology of experimental hypovitaminosis A in young dairy animals. Am. J. Vet. Res., 1953, 14 : 343. — 6. Holub A.: K fysiologii výživy telat v raném postnatálním údobí. Veterinářství, 1962, 12 : 197. — 7. Joest E.: Spezielle pathologische Anatomie der Haustiere, 1919, I., Berlin. — 8. Jones T. J., Hough R. M., Gerard W. T.: Vitamin A studies in the dairy calf. Canad. Vet. J., 1962, 3 : 248. — 9. Matthias D.: Soor des Pansens bei einem Kalbe. Tierärztl. Rundschau, 1941, 47 : 477. — 10. Noller C. H., Dickson J. A., Hill D. L.: Value of hay and rumen inoculation in an early-weaning system for dairy calves. J. Dairy Sci., 1962, 45 : 197. — 11. Popper H., Steigmann F., Dyniewicz Hattie A.: The influence of antioxydative and dispersing agent on vitamin A absorption: therapeutic implications in endogenous hypovitaminemia A. Gastroenterology, 1948, 10 : 987. — 12. Sellers K. C., Eden E.: The effect of „white scours" on the absorption of vitamin A by calves. J. Comp. Path., 1949, 59 : 205.

К вопросу аффекций слизистой оболочки преджелудков у телят

1. У случаев хронического поноса и рецидивов излеченной диспепсии в раннем периоде жизни у телят при вскрытии были установлены расширения, а при случае запор преджелудков с гнилостной и бродильной диспепсией с возможными признаками очагового воспаления и катаральных эрозий и даже язв на измененном эпителии.

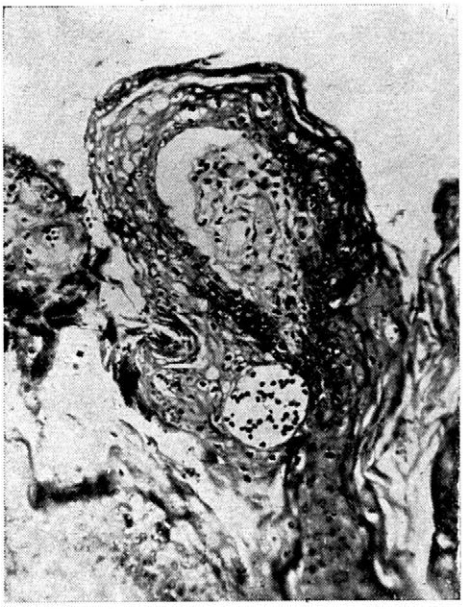
2. Первичными аффекциями эпителия всегда были очаги паракератоза, возникающие на базе интрацеллюлярного и интерцеллюлярного эдема и некробиотических изменений.

Реже, наряду с паракератозом, появлялись и чистые гиперкератозы, причем можно было наблюдать переходы к настоящим гиперкератозам.

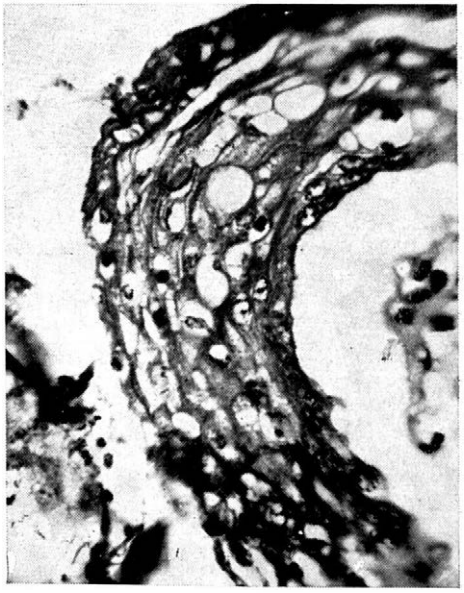
3. Вторично на дистрофическом эпителии образуется гнойная инфильтрация, а при случае в разной степени воспаление в проприуме, которое в некоторых местах перешло в некрозное воспаление. Частичной или полной десквамацией эпителия, минированной эксудатом, возникли эрозии и язвы.

4. Только на таким образом переформированных изменениях образовались дрожжевые грибки и бактерии, с одной стороны, как сапрофитные в десквамационных слоях, с другой стороны, как патогенные агенты, вторично проникающие в проприум.

5. У небольшого числа телят, наряду с параплазматическим включением, были установлены и цитоплазматически эозинофильные включения в вакуолах часто юкстануклеарных, которые могли бы быть вызваны наличием вирусов в клетках слоя зарождения.

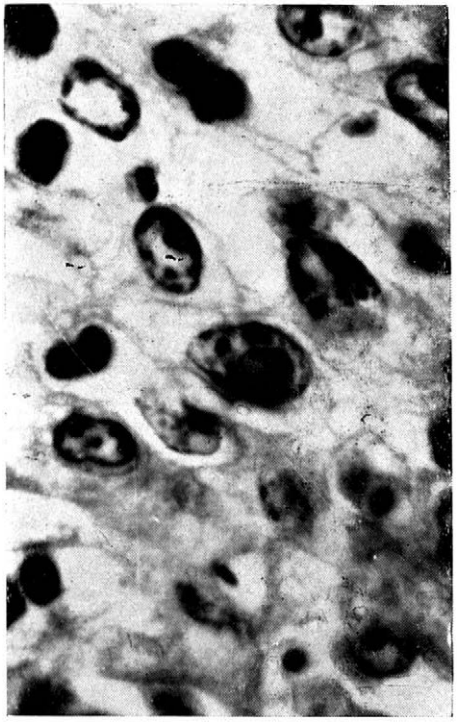


Obr. 4. Papila bachorová (tangenciální řez) s dystrofií výstelky, Munroovým mikroabscesem a subepiteliálním exsudátem. V *propria peristasa* a polynukláry. Tele S 34/64, 9denní. Trichrom 2,5 X 20

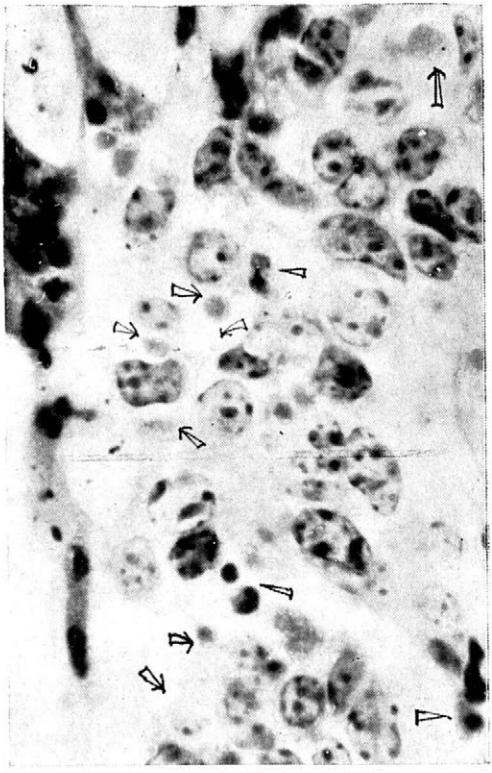


Obr. 5. Detail z předchozího obrazu. Subepiteliální serózní exudát, ve výstelce spongióza, kavitární alterace a degenerace. Trichrom 2,5 X HI 60

Obr. 6. Deskvamující parakeratotická vrstva infiltrovaná polynukleáry. Mezi deskvamujícími buňkami četné kvasinky. Tele S 34/64, 9denní Trichrom 2,5 X HI 60



Obr. 7. Intranukleární inkluse typ Cowdry A v buňce ze *stratum spinosum*, vedle polynukleár. Tele S 121/64. HE (Susa), 6,3×HI 90



Obr. 8. Četné různě velké cytoplazmatické eosinofilní inkluze → v buňkách *strati germinativi*, současně v epitelu fagocyty. ▷ Tele 61/63, 10denní. HE, 4×HI 90

В одном случае было установлено 2 включения типа Cowdry A.

6. Также обсуждается каузальный генезис этих изменений по отношению к бродильной и гнилостной диспепсии вследствие стагнации содержания преждевременного расширенного рубца.

Contribution to the Affections of the Mucosa of Proventriculi in Calves

1. Dilatations and occasionally obstipations of the proventriculi with putrefactive and fermentative dyspepsia with eventual signs of focal inflammation and catarrhal erosions up to ulcers in the changed lining were being ascertained in the dissection of calves in the cases of chronic scours and repeated healed dyspepsia in the early stage of their life.

2. The foci of parakeratoses arising as a consequence of the intracellular and intercellular oedema and necrobiotic changes were always the primary affections of the lining.

Less often also pure hyperkeratoses appeared besides the parakeratoses in such a case it was possible to observe the turn to the true hyperkeratoses.

3. Secondarily the purulent infiltration, eventually the inflammation of variously developed intensity in the propria arose in the dystrophic lining; in some places it resulted in the necrotizing inflammation. Erosions and ulcers arose by the partial or total desquamation of the lining with the exudate lying under it.

4. Only on the changes performed in this way, the moulds, yeasts and bacteria could grow partly as the saprophytes in the desquamating dead layers, partly as the pathogenic agents secondarily penetrating into the propria.

5. In a small number of the calves besides the paraplasmatic inclusions also the cytoplasmatic eosinophilic inclusions in the often juxtanuclear vacuoles were ascertained that might have been caused by the presence of viruses in the cells of the strati germinativi.

In one case two inclusions of the type Cowdry A were ascertained.

6. The causal genesis of these changes is discussed in relation to the fermentative and suppurative dyspepsia due to the stagnation of the contents of the prematurely dilatated rumen.

Beitrag zu Affektionen der Vormägen-Schleimhaut bei Kälbern

1. Bei Fällen des chronischen Durchfalls und der Rezidiven der geheilten Dyspepsie in frühem Lebensalter stellte man bei Kälbern bei der Sektion Dilatationen und eventuell Obstipationen der Vormägen mit einer Fäulnis- und Gärungsdyspepsie mit eventuellen Merkmalen einer Fokalentzündung und katarrhaler Erosionen bis Geschwüren auf dem veränderten Epithel fest.

2. Die primäre Affektion des Epithels waren stets Herde von Parakeratosen, die auf der Basis des intrazellularen und interzellularen Oedems und der nekrobiotischen Änderungen entstanden. Reine Hyperkeratosen kamen seltener vor, wobei man Übergänge zu echten Hyperkeratosen bemerken konnte.

3. Auf dystrofischem Epithel entstand sekundär eine purulente Infiltration, eventuell eine verschieden stark entwickelte Entzündung der propria, die an einigen Stellen sich zu einer nekrotisierenden Entzündung entwickelte. Durch eine teilweise oder vollkommene Desquamation des durch ein unter dem Epithel sich befindenden Exsudates entstanden Erosionen und Geschwüre.

4. Erst an solchen präformierten Änderungen machten sich Schimmelpilze und Bakterien geltend, und zwar einerseits als Saprophyten in den desquamierenden toten Schichten, andererseits als pathogenes Agens, welches in die propria sekundär durchdringt.

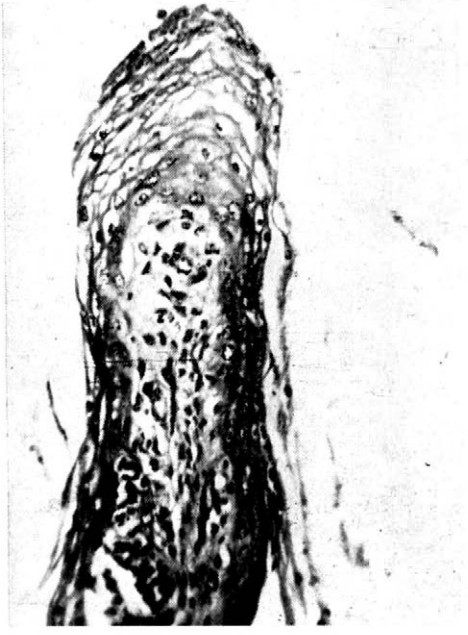
5. Bei einer geringen Anzahl von Kälbern fand man neben paraplasmatischer Inklusionen auch zytoplasmatische eosinophile Inklusionen in oft juxtanuklearen, Vakuolen, die durch die Anwesenheit von Viren in den Zellen des Strati germinativi verursacht werden könnten.

In einem Falle wurden zwei Inklusionen des Types Cowdry A. festgestellt.

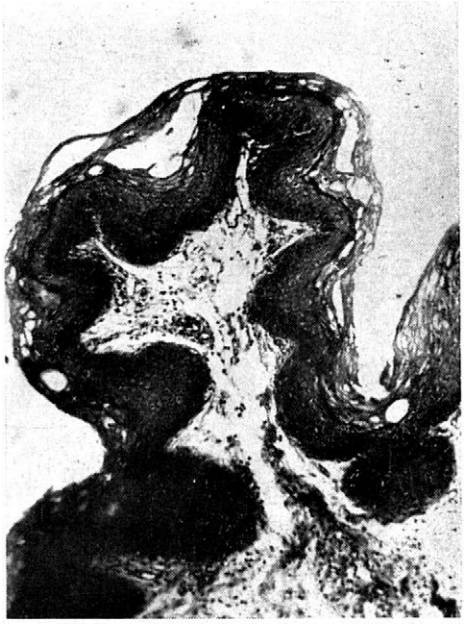
6. Die kausale Genese dieser Änderungen in Beziehung zur Gär- und Fäulnis-Dyspepsie infolge der Stagnation des Gehaltes des vorzeitig dilatierten Pansens wird diskutiert.

MVDr. František Gilka,
Výzkumný ústav veterinárního lékařství,
Brno-Medlánky

Obr. 1. Papila bachorová s hyperkeratózou výstelky. Tele S 66/64, 20denní. Trichrom. pův. zv. 4×20



Obr. 2. Papila bachorová s parakeratózou výstelky, v epitelu iniciální polynukleárová infiltrace. Tele S 34/64, 9denní. Trichrom, pův. zv. 4×20



Obr. 3. Sliznice žlabu jícnového s parakeratózou, část výstelky deskvamuje, vznikla nová rovněž parakeratotická vrstva. Tele 6/62, 14denní. Trichrom 2,5×10

LADZIANSKA K.
KRČMÉRY V.
KLEIBL K.

Príprava trichofytínu z Trichophyton verrucosum Bodin 1902

Trichophyton verrucosum Bodin 1902 je najčastejším pôvodcom bovinnej trichofýcie. V súvislosti s ňou dochádza k častej infekcii osôb, prichádzajúcich do styku so zdrojmi infekcie v poľnohospodárskych závodoch. Je preto vhodné používať k príprave alergénu pre bovinnú trichofýciu *T. verrucosum.*

Pokúsili sme sa pripraviť trichofytín z *T. verrucosum,* ktorý by mal vlastnosti preparátov vyrábaných v zahraničí a dal by sa použiť ako diagnostikum hlbokých, alebo v dôsledku maltretácie nejasných prípadov, eventuálne aj na desenzibilizáciu exponovaných ľudí a zvierat.

MATERIÁL A METÓDY

KMENE A KULTIVÁCIA

K príprave sme použili vždy čerstvo izolované kmene *T. verrucosum,* izolované zo zvierat z rôznych oblastí ČSSR. Zoškraby z trichofytických lézií teliat boli inokulované na Sabouraudov glukózový agar s antibiotikami (20 j/ml PNC, 40 j/ml STM, 0,5 mg/ml cycloheximidu). Po 14-dennej inkubácii pri 34 ^{0} C boli primokultúry *T. verrucosum* preočkované na Grützov sladový agar (malt extract pulv. OXO Ltd Londýn, 1 g = 1,25 g liq. extr. malt, *proteose peptone Difco) (5).* Po trojtýždennej inkubácii boli kmene na 6 mesiacov uložené v tme pri izbovej teplote. Po uplynutí tejto doby sa kultúry veľmi starostlivo oddelili od agaru a použili na prípravu trichofytínu.

PRÍPRAVA TRICHOFYTÍNU

K zhromaždenej mase mycélia *T. verrucosum* sa pridalo rovnaké množstvo fenolizovaného putrovaného fyziologického roztoku (0,5 % fenolu, pH — 7,2) a potrebné množstvo sterilného morského piesku. Táto zmes sa za stáleho chladenia rozotierala v trecej miske dve hodiny, pričom nadobudla pastovitú konzistenciu. Po tejto dobe sa k zmesi pridalo dostatočné množstvo sklenených guličiek a podrobili sme ju opakovanému zmrazovaniu a rozmrazovaniu. Tento postup podľa B i l l a u d e l l a (1) a našich vlastných skúseností (2) vedie k šetrnému získaniu účinných imunopreparátov.

Použili sme 25—28-násobné zmrazenie na —40^0 C (objem masy bol 200 ml, teplota prostredia —40^0 C sa udržovala 1,5 hod. po zmrazení) a ná-

sledné náhle rozmrazenie prí +30 za stáleho trepania. Po skončení tejto procedúry bola zmes centrifugovaná najprv 10 minút pri 2500 obr./min. a potom 45 minút pri 6000 obr./min. Žltohnedý hustý opalizujúci supernatant sa silne ochladil (na -18^0 C) a po častiach sa k nemu pridávalo celkove 10-násobné objemové množstvo absolútného metanolu ochladeného na -8^0 C. Postupne dochádzalo k vyvločkovaniu šedobieleho trichofytínu. Zmes sa uložila na 48 hodín pri -18^0 C a potom sa centrifugovala 30 minút pri 4500 obr./min. Zo sedimentu sa opatrne vo vakuu odparil zbytok metanolu, sediment sa rozpustil v *aqua pro injectione* na 2% roztok, ktorý sa lyofilizoval v množstve po 0,4 ml.

Chemické analýzy ukázali, že preparát obsahuje 1,15 až 1,26 % dusíka (Kjeldahl) a 82—85 % uhlohydrátov (antrón). Dával tiež pozitívnu reakciu Folinovú, čo indikuje prítomnosť peptidov alebo proteínov.

Podľa predbežných výsledkov nami pripravený trichofytín dáva menej nešpecifických reakcií ako komerčné trichofytíny pripravené z *T. mentagrophytes*. Porovnávacie štúdie budú uvedené v osobitnom zdelení.

DISKUSIA

Komerčné trichofytíny bývajú najčastejšie vodné extrakty z mycélia s určitým obsahom kultivačnej pôdy, sú to teda akési autolyzáty. Boli preto urobené pokusy pripraviť purifikovaný trichofytín extrakciou mycélia trichlóroctovou kyselinou, dietylénglykolom, cetavlonom, jontomeničmi atď. Takto sa získavajú preparáty prevážne peptido-polysacharidovej povahy (3,6).

Naše predbežné výsledky ukazujú, že je možné opakovaným zmrazovaním a rozmrazovaním (3) pripraviť trichofytín z *T. verrucosum*. Použitie fyzikálnych metód prípravy biopreparátov (1,2), medzi ktoré možno zaradiť i striedavé zmrazovanie a rozmrazovanie, majú voči metódám, používajúcim na tieto ciele chemikálie, značné výhody v šetrnosti pracovného postupu, čím sa zachováva imunobiochemická aktivita biopreparátov. Nami pripravený preparát z *T. verrucosum* sa ukázal byť prevážne polysacharidovej povahy s určitým obsahom peptidického materiálu. Podobá sa teda ostatným preparátom pripraveným dosiaľ z dermatofytov rodu *Trichophyton*.

SÚHRN

Bol pripravený trichofytín z *T. verrucosum* pomocou opakovaného zmrazovania a rozmrazovania a zrážania metanolom. Preparát je prevážne polysacharidovej povahy a má dobré imunologické vlastnosti.

Došlo dňa 29. 10. 1964

Literatúra

1. Billaudelle H.: Z. Immunitätsforsch. 119, 295, 1960. — 2. Krčméry V.: Antigény zo Salmonella cholerae suis. Čs. epid. mikrobiol. imunol. (v tlači). — 3. Langer J.: Čs. derm. 25, 293, 1950. — 4. Liška J.: Čs. derm. 31, 276, 1956. — 5. Schabinski G.: Grundriß der medizinischen Mykologie, VEB Gustav Fischer Verl., Jena 1960. — 6. Sedlák V.: Čs. derm. 25, 3, 1950.

Приготовление трихофитина из
Trichophyton verrucosum Bodin 1902

Из *Trichophyton verrucosum* был приготовлен трихофитин путем повторного замораживания и размораживания и свертывания метанолом. (Мицелий растирается с песком, 25--28 раз замораживается при — 40° С. После центрифугирования густой супернатант преципитируется 10-кратным количеством охлажденного абсолютного метанола. Осадок после растворения в aqua pro injectione лиофилизируется). Препарат носит в основном характер полисахарида и обладает хорошими иммунологическими свойствами.

Preparing of the Trichophytin from Trichophyton verrucosum Bodin 1902

Trichophytin was prepared from Trichophyton verrucosum using repeated freezing, thawing and condensing by means of methanole. (We grind the mycelium with sand, freeze it 25 to 28 times at —40° C. The thick supernatant is precipitated after the centrifugation with the ten-fold quantity of the cooled absolute methanole. The sediment lyophilizates after solving in aqua pro injectione.) The preparation is predominantly of polysaccharide nature and has good immunologic properties.

Zubereitung von Trichophytin aus Trichophyton verrucosum Bodin 1902

Das Trichophytin wurde aus Trichophyton verrucosum durch wiederholtes Gefrierverfahren und Enteisen und Fällung mittels Methylalkohol zubereitet. (Das Myzelium wird mit Sand zerrieben, das Gefrierverfahren (auf —40° C) 25—28mal wiederholt. Nach dem Abschleudern wird der Supernatant mit einer zehnfachen Menge abgekühlten absoluten Methylalkohol präzipitiert. Das Sediment wird nach der Auflösung in aqua pro injectione lyophilisiert). Das Präparat zeichnet sich durch einen größtenteils Polysaccharid-Charakter aus und besiztz gute immunologische Eigenschaften.

Klára Ladzianska, prom. biolog,
Ústredný štátny veterinárny ústav,
Bratislava, Pri botanickej zahrade 3
Inž. Vladimír Krčméry, CSc.,
Ústav hygieny, Bratislava,
ul. Čsl. armády 40
MUDr. Karol Kleibl,
Kožné odd. nemocnice, Skalica

MRAKIČ F.

Nová koproovoskopická sedimentačná metóda na vyšetrovanie motoličnatosti prežúvavcov

Bežné laboratorné metódy pri koproovoskopickom vyšetrovaní na fasciolózu nedávajú vždy celkom uspokojivé výsledky, ktoré sú odlišné od pitevných a bitúnkových nálezov. Pri ich výbere snažíme sa dosiahnúť čo najväčšiu efektívnosť, pri čom volíme metódy jednoduché, nie náročné na čas, priestor, pracovné sily a materiál.

Z týchto dôvodov vyhovovala metóda opakovaného premývania, ktorá ako pomerne jednoduchá, časove, priestorove a materiálne nenáročná je v bežnej laboratornej praxi zaužívaná, schválená v druhom diele Zborníka veterinárnych predpisov MZLVH v r. 1962. Výsledky dosahované touto metódou sú pomerne dobré, ak je spracovaný trus v čerstvom stave a keď sa vajíčka motolice (*Fasciola hepatica L.*) nachodia vo vyšetrovanom truse v značnom množstve. Metóda má nevýhodu v tom, že preparáty zhotovené na mikroskopické vyšetrenie bývajú často husté a zvyšky rastlinných častíc v prehliadanom preparáte môžu prekrývať vajíčka parazitov. Určité úpravy sedimentačnej metódy priniesli poznatky z prác Chylu (1954), Brezu a kol. (1958) a Hovorku a Brezu (1959). Používanie navrhnutej úpravy naráža na určité ťažkosti preto, že pri konečnom zlievaní sedimentu ľahko dochádza k rozvíreniu a vajíčka sa odplavujú. Práca si vyžaduje zručnosť alebo rutinu, čo je pri hromadnom vyšetrovaní trusu a najmä pri sezónnosti pracovných sil ťažko dosažiteľné.

Vychádzajúc z týchto poznatkov preskúšal som bežné vyšetrovacie koproovoskopické metódy. Snažil som sa odstrániť závady schválenej laboratornej metódy, časove a materiálne sprístupniť vyšetrovacie postupy pri laboratórnom spracovaní a mikroskopickom vyšetrovaní trusu. Pri spracovávaní vzoriek pridržiaval som sa údajov dostupnej literatúry, ktorá je uvedená na konci tejto práce.

METODIKA

Práca pri vyšetrovaní trusu bola rozdelená na predpokusy, vlastné pokusy a overovanie výsledkov. Na vyšetrovanie bol použitý trus hovädzieho dobytka a oviec, pozitívny na motoličnatosť pečene (*Fasciola hepatica*), získaný z nitrianského bitunku a tiež trus z hromadného odberu zasielaný na koprologické vyšetrenia SLD Nitra.

V predpokusoch boli preverené laboratórne dostupné koprologické vyšetrovacie metódy, a to koproovoskopické sedimentačné a flotačné metódy. Pred za-

vedením chemických roztokov do pracovného postupu pri vlastných pokusoch bol preskúšaný účinok na vajíčka motolice.

Podľa dosiahnutých výsledkov v predpokusoch bola zostavena séria vlastných pokusov a vyvíjaná snaha po vylepšení laboratórnych postupov, po odstránení závad a po uplatnení vlastných poznatkov z laboratórnej diagnostiky. Pri pokusoch bola vypracovaná nová koproovoskopická sedimentačná metóda, zistená pri nej záchytnosť vajíček motolíc a jej porovnanie s výsledkami laboratorne predpísanej metódy.

Vyšetrovaný materiál bol spracovaný v predpokusoch v skupinách po 5 vzorkách, pri vlastných pokusoch po 10 vzorkách a pri overovaní pokusov boli zostavené skupiny o veľkom počte vzoriek. Pre nedostatok pozitívneho trusu (čo do počtu) bol pozitívny trus miešaný s negatívnym. Dosiahlo sa tak veľkého počtu vzoriek s rôznym stupňom výskytu vajíčok motolice. Podľa výsledkov vyšetrenia bežne prevádzanou laboratorne predpísanou sedimentačnou metódou boli vzorky trusu rozdelené do skupín s priemerným nálezom vajíčok do 1, potom nad 1 — do počtu 4 — a na koniec nad 4 — v jednej vzorke trusu. Pred laboratórnym spracovaním bola každá vzorka premiešaná a odobraté na vyšetrenie po 3 g trusu.

DOSIAHNUTÉ VÝSLEDKY

PREDPOKUSY

K predpokusom bol použitý hustý kašovitý čerstvý trus hovädzieho dobytka. Preskúšané boli bežné sedimentačné, flotačné prípadne kombinované metódy, a to laboratorne predpísaná metóda upravená podľa Benedeka, potom metódy podľa Chylu, Hovorku, Brezu, ďalej flotačné metódy s nasýteným roztokom potaše (K_2CO_3), s roztokom vodného skla a na koniec sedimentačno-flotačné metódy, a to sedimentácia podľa laboratorne predpísanej metódy a flotácia nasýteným roztokom potaše a vodného skla.

Predpokusy dokázali, že prevedené flotačné metódy dávajú husté preparáty a záchytnosť vajíčok fasciol je pomerne menšia než u laboratorne predpísanej metódy. Skracovanie sedimentačnej doby sa neosvedčilo a môže byť jednou z podstatných príčin neuspokojivých výsledkov. Predĺžovanie sedimentácie má za následok zvýšenie množstva sedimentu, ktorý môže prekrývať vajíčka parazitov a mikroskopické vyšetrovanie je veľmi namáhavé.

Rastlinné častice a anorganické zvyšky z posledného sedimentu snažil som sa odstrániť chemickým a fyzikálnym spôsobom. Po prevedených skúškach ostal ako najspoľahlivejší fyzikálny spôsob, a to precedenie cez hustejšie sítko alebo cez viac vrstiev gáz, prípadne flotácia rastlinných zvyškov.

VLASTNÉ POKUSY

K vlastným pokusom bol použitý čerstvý a odstáty trus do 1 mesiaca pri teplote 10—15° C. Pri vyšetrovaní bobkovitého trusu Vajdovou metódou na pľúcnu červivosť nachodil som často v prípade motoličnatosti i vajíčka fascioly. Využijúc tejto skúsenosti nechal som vyluhovať posledný vypláchnutý sediment zachytený na gáze. Ďalej som pozoroval, že vodovodná chlórovaná voda vytvára

po stenách pohára množstvo bubliniek, na ktorých by sa mohli pri sedimentácii zachytiť vajíčka motolice a viac nesedimentovať. Rozhodol som sa preto vykonať pokusy s odstátou a čerstvou vodovodnou vodou.

Pokus I. a II.: precedenie posledného sedimentu cez vrstvu 5 gáz, použitá čerstvá a odstáta vodovodná voda.

1. Kontrolné vyšetrenie trusu lab. predpísanou metódou, priem. nález vajíčok 4,1/5,1
2. Zvyšky sedimentu na gázach ponechané vyluhovať 2 dni, priemer. nález vajíčok 2,6/1,8
3. Zvyšky sedimentu na gázach ponechané vyluhovať 1 deň, priemer. nález vajíčok 26,2/44,4
4. Zvyšky sedimentu na gázach ponechané vyluhovať 6 hodín, priemer. nález vajíčok 29,3/44,3
5. Zvyšky sedimentu na gázach ponechané vyluhovať 4 hodiny, priemer. nález vajíčok 33,1/56,2
6. Zvyšky sedimentu na gázach ponechané vyluhovať 2 hodiny, priemer. nález vajíčok 12,4/19,6

Precedením posledného sedimentu cez vrstvu 5 gáz a následným vyluhovaním tých istých gáz dosiahol som pozoruhodných výsledkov. Výsledky v pokuse I. boli 3—8krát lepšie a pri použití odstátej vodovodnej vody 3—11krát lepšie ako v kontrolnej skupine.

Aby som vylúčil zmeny, ktoré nastávajú pri dlhšom vyluhovaní zvyškov sedimentu, pokúsil som sa ich zastaviť fixovaním trusu a vajíčok roztokom formalínu, jodidu draselného a lugolovho roztoku. Najprv vyskúšal som vhodnú koncentráciu uvedených roztokov.

Pokus III.: sedimentačná metóda ako v pokuse II/5 s čiastočnou fixáciou vajíčok

1. Kontrolné vyšetrenia trusu lab. predpísanou metódou, priemer. nález vajíčok 6,1
2. Na fixovanie použitý 10% formalinový roztok po dobu 10 min. priemer. nález vajíčok 43,6
3. Na fixovanie použitý 2% roztok KJ po dobu 5 minút priemer. nález vajíčok 4,8
4. Na fixovanie použitý 25% lugol. roztok po dobu 2 minúty priemer. nález vajíčok 47,4

Pokus IV.: sedimentačná metóda ako v pokuse II/5 s čiastočnou fixáciou vajíčok lugol. roztokmi o rôznych koncentráciách.

1. Kontrolné vyšetrenia trusu lab. predpísanou metódou, priem. nález vajíčok 5,6
2. Na fixovanie použitý 24% lugol. roztok po dobu 2 minúty, priemer. nález vajíčok 47,2
3. Na fixovanie použitý 22% lugol. roztok po dobu 2 minúty, priemer. nález vajíčok 55,5
4. Na fixovanie použitý 20% lugol. roztok po dobu 2 minúty, priemer. nález vajíčok 61,2
5. Na fixovanie použitý 18% lugol. roztok po dobu 2 minúty, priemer. nález vajíčok 91,2
6. Na fixovanie použitý 16% lugol. roztok po dobu 2 minúty, priemer. nález vajíčok 62,7

Pre trus hustokašovitý najlepšie so osvedčil 18% lugolov roztok s dobou fixácie 2 minúty (18 dielov Solutio Lugoli a 82 dielov odstátej vody). K fixácii bolo požívané dvojnásobné množstvo fixačného roztoku než trusu. Vajíčka

motolíc pri čiastočnej fixácii si zachovávajú svoj tvar a špecifickú váhu. Mierne sa ofarbia do žltohneda, čo je pre mikroskopovanie s kontrastne zafarbenými rastlinnými zvyškami veľmi výhodné. Fixovanie formalínom je tiež účinné, ale vajíčka strácajú výrazné zafarbenie. Dodatočné farbenie rastlinných zvyškov (pozri bod 7. návodu) a vajíčok je málo výrazné, zhotovený preparát menej kontrastný a mikroskopické vyšetrovanie sťažené.

Do druhej skupiny pokusov bol zaradený riedky trus pozitívny na pečeňovú motolicu získaný pred mesiacom a udržiavaný v chladnej (10—15° C), stredne vlhkej miestnosti.

Pokus V.: sedimentačná metóda ako v pokuse II/5 s čiastočnou fixáciou vajíčok lugol. roztokom o rôznych koncentráciách.

1. Kontrolné vyšetrenie lab. predpísanou metódou priemer. nález vajíčok 4,3
2. Na fixovanie použitý 24% lugol. roztok po dobu 2 min., priemer. nález vajíčok 17,8
3. Na fixovanie použitý 22% lugol. roztok po dobu 2 min., priemer. nález vajíčok 19,8
4. Na fixovanie použitý 20% lugol. roztok po dobu 2 min., priemer. nález vajíčok 18,5
5. Na fixovanie použitý 18% lugol. roztok po dobu 2 min., priemer. nález vajíčok 16,6
6. Na fixovanie použitý 16% lugol. roztok po dobu 2 min., priemer. nález vajíčok 15,6

Pokus VI.: sedimentačná doba ako v pokuse II/5 s čiastočnou fixáciou vajíčok lugol. roztokom v koncentrácii 20—22% s rôznou dobou fixácie.

1. Kontrolné vyšetrenia trusu lab. predpísanou metódou, priemer. nález vajíčok 4,9
2. Na fixovanie použitý 22% lugol. roztok po dobu 0,5 min., priemer. nález vajíčok 12,8
3. Na fixovanie použitý 22% lugol. roztok po dobu 1 minúty, priemer. nález vajíčok 18,7
4. Na fixovanie použitý 22% lugol. roztok po dobu 2 minút, priemer. nález vajíčok 18,4
5. Na fixovanie použitý 22% lugol. roztok po dobu 3 minút, priemer. nález vajíčok 11,1
6. Na fixovanie použitý 22% lugol. roztok po dobu 4 minút, priemer. nález vajíčok 4,5
7. Na fixovanie použitý 20% lugol. roztok po dobu 0,5 minút, priemer. nález vajíčok 13,4
8. Na fixovanie použitý 20% lugol. roztok po dobu 1 minúty, priemer. nález vajíčok 29,7
9. Na fixovanie použitý 20% lugol. roztok po dobu 2 minúty, priemer. nález vajíčok 19,2
10. Na fixovanie použitý 20% lugol. roztok po dobu 3 minúty, priemer. nález vajíčok 14,3
11. Na fixovanie použitý 20% lugol. roztok po dobu 4 minúty, priemer. nález vajíčok 7,6

Pri koproovoskopickom vyšetrení riedkeho trusu najlepšie sa osvedčil na fixovanie vajíčok motolice 20% lugolov roztok s 1-minútovou fixačnou dobou. Pri spracovaní starého trusu sú dosahované výsledky novou metódou až o 60 % horšie než pri laboratornom spracovaní čerstvého trusu.

Nevýhodou novej metódy bola 4-hodinová sedimentačná doba. Pokúsil som sa závadu odstrániť dokonalejším premývaním a cedením cez gázy. Postup zvolil som podobný ako v predchádzajúcich pokusoch, avšak sediment bol

vyšetrovaný po čiastkách, a to po precedení cez 5 gáz, potom novozískaný sediment z tých istých gáz po 4-hodinovom odstáti a na koniec bola vrstva gáz obrátená na ruby, sediment z nej vymačkaný do pohára a po usadení vyšetrený. Získal som tak niekoľko frakcií sedimentu a hodnotil výsledky.

Pokus VII.: vyšetrenie frakcií sedimentu

1. Kontrolné vyšetrenia lab. predpísanou metódou,	priemer. nález vajíčok	4,4
2. Vyšetrenie trusu ako v pokuse VI/8		
vyšetrenie sedimentu po precedení	priemer. nález vajíčok	24,-
vyšetrenie nového sedimentu po 4hod. sedimentácii,	priemer. nález vajíčok	5,2
vyšetrenie zvyškov sedimentu na gázach,	priemer. nález vajíčok	2,-
	spolu	31,2
3. Vyšetrenie ako v bode 2., dokonalejšie premytie a precedenie sedimentu		
vyšetrenie sedimentu po precedení,	priemer. nález vajíčok	29,-
vyšetrenie nového sedimentu po 4hod. sedimentácii,	priemer. nález vajíčok	2,2
vyšetrenie zvyškov sedimentu na gázach,	priemer. nález vajíčok	1,-
	spolu	32,2

Pokus VII. dokázal, že pri dokonalejšom premývaní a precedení posledného sedimentu možno novou metódou zistiť asi 90 % z celkového počtu zistiteľných vajíčok a že od zdĺhavej 4-hodinovej sedimentácie možno upustiť. Iba pri dubióznych prípadoch alebo pri veľmi malom počte vajíčok v truse možno 4-hodinovú sedimentáciu doporučovať, v takom prípade pri dokonalejšom premytí a precedení sedimentu možno dosiahnúť záchytnosť vajíčok až 97,5 %.

Ďalšou nevýhodou novej metódy, i keď zriedkavo u riedkeho trusu, boli hrubšie zvyšky rastlinných častíc v sedimente, ktoré v zhotovenom preparáte by mohli prekrývať vajíčka motolice. Pokúsil som sa závadu odstrániť flotáciou rastlinných častíc zo sedimentu. Vyskúšal som nasýtené a postupne riedené roztoky uhličitanu draselného (K_2CO_3), síranu sodného (Na_2SO_4), sírnatanu sodného ($Na_2S_2O_3$), síranu horečnatého ($MgSO_4$), chloridu sodného ($NaCl$) a Brezov roztok. Najvhodnejším sa ukázal riedený nasýtený roztok síranu horečnatého s 10-minútovou flotačnou dobou (státim).

Pokus VIII.: čiastočná flotácia rastlinných zvyškov zo sedimentu.

Pozitívny sediment na vajíčka motolice rozdelil som na približne rovnaké časti. Každú časť som mikroskopicky prehliadol a zistil počet vajíčok (prvé číslo). Sedimenty s vajíčkami vlial som do skúmaviek, po upravení množstva vody nad sedimentom dolial som flotačný roztok, po uplynutí flotačnej doby zistil som počet vajíčok v sedimente (druhé číslo).

1. Flotácia nasýteným roztokom $MgSO_4$ riedeného vodou v pomere 7 : 1,	priemer. nález vajíčok	3,-/1,6
2. Flotácia nasýteným roztokom $MgSO_4$ riedeného vodou v pomere 6 : 2,	priemer. nález vajíčok	5,2/5,-
3. Flotácia nasýteným roztokom $MgSO_4$ riedeného vodou v pomere 5 : 3,	priemer. nález vajíčok	4,1/4,-
4. Flotácia nasýteným roztokom $MgSO_4$ riedeného vodou v pomere 4 : 4,	priemer. nález vajíčok	4,-/2,8

Pokus VIII. a ďalšie skúšky dokázali, že najvhodnejším flotačným roztokom je riedenie nasýteného roztoku $MgSO_4$ s vodou v pomere 5,5 : 2,5 (5,5 dielov nasýteného roztoku $MgSO_4$, 2,5 dielov vody). Slabšie koncen-

trácie flotačného roztoku nedostatočne vyplavovali zvyšky rastlinných častíc zo sedimentu, silnejšie koncentrácie značne deformovali i poškodzovali vajíčka. Po použití uvedeného roztoku zachovávajú si vajíčka štruktúru, farbu majú citrónovožltú, málo sú deformované, majú hranatooblý tvar a od iných útvarov v sedimentu sa dajú ľahko rozpoznať. Keď roztok nad sedimentom zlejeme a k sedimentu dolejeme vodu, vajíčka motolice nadobudnú svoj pôvodný tvar.

OVEROVANIE POKUSOV

Overovanie novej koproovoskopickej sedimentačnej metódy som robil:

1. Na truse s malým počtom vajíčok motolice (*Fasciola hepatica*), kde laboratorne predpísanou sedimentačnou metódou bol priemerný nález vajíčok do 1—.

2. Na truse so stredným počtom vajíčok, pri ktorom priemerný nález vajíčok na vzorku bol nad 1— do 4—.

3. Na truse s väčším počtom vajíčok, kedy priemerný nález vajíčok na vzorku bol nad 4—.

Overovanie I.

1. Kontrolná skupina trusu hovädzieho dobytka, vyšetrená lab. predpísanou metódou, počet vzoriek 56, priemerný nález vajíčok 0,3
2. Tá istá skupina trusu, vyšetrená novou koproovoskopickou metódou, priemerný nález vajíčok 2,77
3. Kontrolná skupina trusu oviec, vyšetrená lab. predpísanou metódou, počet vzoriek 74, priemerný nález vajíčok 0,43
4. Tá istá skupina trusu oviec, vyšetrená novou koproovoskopickou metódou priemerný nález vajíčok 3,92

Overovanie II.

1. Kontrolná skupina trusu hovädzieho dobytka, vyšetrená lab. predpísanou metódou, počet vzoriek 154, priemerný nález vajíčok 2,2
2. Tá istá skupina trusu hovädzieho dobytka, vyšetrená novou koproovoskopickou metódou priemerný nález vajíčok 17,71
3. Kontrolná skupina trusu oviec, vyšetrená lab. predpísanou metódou, počet vzoriek 196, priemerný nález vajíčok 3,32
4. Tá istá skupina trusu oviec, vyšetrená novou koproovoskopickou metódou priemerný nález vajíčok 25,96

Overovanie III.

1. Kontrolná skupina trusu hovädzieho dobytka, vyšetrená lab. predpísanou metódou, počet vzoriek 186, priemerný nález vajíčok 4,49
2. Tá istá skupina trusu hovädzieho dobytka, vyšetrená novou koproovoskopickou metódou priemerný nález vajíčok 32,67
3. Kontrolná skupina trusu oviec, vyšetrená lab. predpísanou metódou, počet vzoriek 204, priemerný nález vajíčok 4,8
4. Tá istá skupina trusu oviec, vyšetrená novou koproovoskopickou metódou priemerný nález vajíčok 33,84

POPIS NOVEJ KOPROOVOSKOPICKEJ SEDIMENTAČNEJ METÓDY

1. Na vyšetrenie použijeme aspoň 3 g dobre premiešaného trusu a vložíme ho do trecej misky.

2. K trusu v trecej miske pridáme približne dvojnásobné množstvo 18 alebo 20% lugolovho roztoku, trus tĺčikom dobre rozotrieme a necháme pôsobiť 2 alebo 1 minútu. Pri hustom truse použijeme 18% lugol. roztok s fixáciou 2 minúty, pri riedkom truse 20% lugol. roztok s fixáciou 1 minúta. Dobu fixácie treba presne dodržať!

3. Obsah trecej misky precedíme cez sitko do sedimentačného pohára. Treciu misku opláchneme odstátou vodou z vodovodu a výplašky premiešané tĺčikom precedíme do sedimentačného pohára. Toto opakujeme, kým nie je trecia miska dobre opláchnutá a sedimentačný pohár s cedítkom skoro naplnené. Potom obsah v cedítku premiešame, cedítko nadvihneme a necháme tekutinu stiecť. Ďalej opatrne ponoríme cedítko do tekutiny v sedimentačnom pohári, obsah v cedítku znova pomiešame a nadvihneme. Toto opakujeme za sebou aspoň tri krát.

4. Obsah v sedimentačnom pohári necháme stáť najmenej 10 minút a po odstáti opatrne zlejeme roztok nad sedimentom!

5. Pohár dolejeme odstátou vodovodnou vodou, obsah v pohári necháme sedimentovať 5 minút a tekutinu nad sedimentom zlejeme. Toto opakujeme 3—5 krát, kým nie je tekutina nad sedimentom číra.

6. Posledný sediment precedíme cez vrstvu 5 gáz do druhého sedimentačného pohára. Malým množstvom odstátej vody opláchneme zvyšky sedimentu v prvom pohári a precedíme cez vrstvu gáz do druhého sedimentačného pohára. Toto opakujeme a splaškami z prvého pohára polievame na obvode sediment na gázach, kým nezaplníme druhý sedimentačný pohár. Potom spojíme okraje gáz, vzniklý balíček so sedimentom nadvihneme, po chvíli opatrene ponoríme do tekutiny v druhom sedimentačnom pohári, nadvihovanie a ponáranie balíčka opakujeme za sebou aspoň tri krát. Balíček na koniec mierne vyžmýkame a odstranime. Obsah v druhom sedimentačnom pohári necháme sedimentovať 5 minút. V dubióznych prípadoch, najmä keď v truse predpokladáme veľmi málo vajíčok, neodstraňujeme vrstvu gáz, ale po vyšepopísanom precedení ponecháme balíček gáz so sedimentom sedimentovať v spomenutom druhom sedimentačnom pohári 4 hodiny a potom odstránime popísaným spôsobom vrstvy gáz.

7. Tekutinu nad sedimentom zlejeme a sediment vlejeme do skúmavky na farbenie. Zbytky sedimentu z pohára oplachujeme malým množstvom vody niekoľko krát za sebou, vlievame do skúmavky a zafarbíme. Na farbenie je lepšie použiť modré farbivá (atrament, metylénová modrá 0,5 ccm na 10 ccm roztoku, doba farbenia najmenej pol hodiny).

8. Tekutinu nad sedimentom zlejeme a zafarbený sediment nanesieme na podložné alebo ešte lepšie na hodinové sklíčko, na ktoré je možné i zvyšok sedimentu zo skúmavky spláchnuť. Na koniec zhotovíme bežným spôsobom preparát na mikroskopické vyšetrenie.

9. Ak v skúmavke (bod 7.) ostáva pomerne mnoho sedimentu (nad 0,5 ccm, vrstva viac ako 1 mm), odstránime značnú časť rastlinných zvyškov flotáciou. Po zliatí tekutiny nad sedimentom dolejeme k sedimentu odstátej vody do mierky 2,5 ccm a pridáme 5,5 ccm nasyteného roztoku síranu horečnatého ($MgSO_4$).

Necháme stáť 10 minút a roztok nad sedimentom zlejeme. Zo sedimentu zhotovíme preparát na mikroskopické vyšetrenie, ako bolo popísané v bode 8. Keď pridáme k sedimentu 4—5 násobné množstvo vody, deformácia vajíčok prestane. Deformácia vajíčok je tak malá, že sa dajú vajíčka ľahko rozpoznať a posledný úkon nie je potrebné prevádzať.

SÚHRN

1. Zistili sme, že bežne používaná laboratorne predpísaná koproovoskopická sedimentačná metóda je v porovnaní s inými metódami pomerne dobrá na vyšetrovanie čerstvého trusu stredne a silno motoličnatosťou postihnutého dobytka. Pri hromadnom vyšetrovaní trusu, pri vyšetrovaní staršieho trusu viac ako 8 dní a najmä pri slabom zamorení vajíčkami motolíc môže dávať nie celkom spoľahlivé výsledky.

2. Opisujeme novú koproovoskopickú sedimentačnú metódu s čiastočnou fixáciou trusu 18—20% lugolovým roztokom. Na odstránenie prebytočných rastlinných častíc zo sedimentu zaviedli sme cedenie suspenzie cez 5 gáz a flotáciu zvýškov rastlinných častíc. Ďalej prevedené boli úpravy cedenia trusu a sedimentu, úpravy dĺžky sedimentačných dôb a spôsobu farbenia.

3. Overovacie pokusy novej koproovoskopickej sedimentačnej metódy boli prevedené na 870 vzorkách hovädzieho a ovčieho trusu. Ukázali, že počet vajíčok (*Fasciola hepatica*) vo vyšetrovanom truse bol 7,77 krát väčší než počet vajíčok zistený laboratorne predpísanou koproovoskopickou sedimentačnou metódou.

Došlo dňa 25. 5. 1964

*

Technická spolupráca Margita Cviková.

Literatúra

1. Benbrook A., Sloss M. W.: Veterinary Clinical Parasitology. The Iowa State College Press Ames, Iowa USA 1948. — 2. Benedek L., Nemeséri L.: Die mikroskopische Diagnose der Leberegelseuche. Acta veterinaria ungarica 3, Budapest 1953. — 3. Borchert A.: Lehrbuch der Parasitologie für Tierärzte. S. Hirtzel Verlag, Leipzig 1958. — 4. Breza, Lübke, Marek, Roško: K laboratornej diagnostike fasciolózy. Veterinárni medicína III, 12, 1958, str. 963-969. — 5. Breza M.: Skúsenosti s novým flotačným roztokom pri helmintoovoskopickej diagnóstike dikroceliózy oviec. Folia veterinaria VF Košice VI, 2, 1962, str. 61-70. — 6. Breza M.: Helmintoovoskopická diagnostika fasciolózy a dikroceliózy prežúvavcov pomocou novej flotačno-sedimentačnej metódy. Folia veterinaria VF Košice, v tlači. — 7. Hovorka J.: Helmintologická diagnostika. I. laboratorná diagnostika helmintóz. SAV Bratislava 1954. — 8. Hovorka J., Breza M.: Koproovoskopické vyšetrovanie hovädzieho dobytka a oviec na fasciolózu. Veterinářství 9, 1959, str. 325-327. — 9. Chyla M.: Vyhodnotenie ovoskopických metód pri diagnostike Fasciola hepatica. Dipl. práca HÚ SAV Košice 1954. Cit. podľa Brezu a kol. — 10. Kol. autorov: Sborník veterinárních předpisů. II. diel. MZLVH Praha 1962. — 11. Nemeséri L., Holló F.: Állatorvosi parazitológiai diagnosztika. Budapest 1961.

Новый копроовоскопический седиментационный метод для обследования фасциолеза жвачных

1. Нами было установлено, что обычно применяемый лабораторно предписанный копроовоскопический седиментационный метод, по сравнению с другими методами, сравнительно хорош для обследования свежих фекалий средне и сильно пораженных фасциолезом крупного рогатого скота. При массовом обследовании фекалий, при обследовании фекалий старше 8 дней, и главным образом при слабом заражении яйцами фасциол этот метод дает не очень надежные результаты.

2. Мы описываем новый копроовоскопический седиментационный метод с частичной фиксацией фекалий 18—20 % щелочным раствором. На устранение излишних растительных частиц из седимента мы ввели фильтрацию суспензии через 5 слоев марли и флотацию остатков растительных частиц. Далее были проведены усовершенствования фильтрации фекалий и седимента, изменения продолжительности седиментации и способа окраски.

3. Контрольные опыты нового копроовоскопического седиментационного метода проводились на 870 образцах фекалий крупного рогатого скота и овец. Оказалось, что число яиц *Fasciola hepatica* в обследуемых фекалиях было в 7,77 раза больше, чем число яиц, установленное при помощи лабораторного предписанного копроовоскопического седиментационного метода.

A New Coproovoscopical Sedimentation Method for Investigating the Liver-Fluke Disease in Ruminants

1. We found out, that in comparison with other methods the currently used coproovoscopical method ordered for laboratories is comparatively convenient for the investigation of the fresh faeces of cattle suffering to a mean and severe extent from the liver-fluke. The method may yield results not quite reliable in the mass-investigation of faeces, in the investigation of faeces older than 8 days and especially with a weak infestation by eggs of the liver-flukes.

2. We describe the new coproovoscopical sedimentation method using partial fixation of faeces by 18—20 % Lugol solution. We introduced the filtration of the suspension through 5 pieces of gauze to remove the excessing plant particles from the sediment, and the flotation of the rests of the plant particles. Further, some modifications of the filtration of faeces and of the sediment, the arrangements of the length of the sedimentation times and of the dyeing method were introduced.

3. The corroboration experiments of the new coproovoscopical sedimentation method were carried out with 870 samples of cattle and sheep faeces. They revealed, that the number of the eggs (Fasciola hepatica) in the tested faeces was 7,77 times higher than the number of the eggs found by the coproovoscopical sedimentation-method ordered for laboratories.

Neue koproovoskopische Sedimentationsmethode zu Untersuchungen der Leberegelseuche bei Wiederkäuern

1. Es wurde festgestellt, daß die allgemein benützte und vorgeschriebene Labormethode der koproovoskopischen Sedimentation im Vergleich mit anderen Methoden für Untersuchungen von frischen Exkrementen der mit Leberegeln mittelmäßig und stark befallenen Wiederkäuer verhältnismäßig gut geeignet ist. Bei Massenuntersuchungen von Exkrementen und bei Untersuchungen von mehr als 8 Tage alten Exkrementen und insbesondere bei schwacher Verseuchung mit Leberegeleiern kann diese Methode zu nicht ganz verläßlichen Resultaten führen.

2. Es wird eine neue koproovoskopische Sedimentationsmethode mit einer teilweisen Fixation der Exkremente mit 18—20%tiger Lugollösung beschrieben. Zur Beseitigung der überflüßigen pflanzlichen Bestandteile führten wir das Absieben der Suspension durch 5 Gaze und die Flotation der pflanzlichen Partikelchen ein. Ferner wurden Modifikationen des Absiebens von Exkrementen und Sediment, die Modifikationen der Sedimentationszeitdauern und Färbungsmethode durchgeführt.

3. Kontrollversuche mit der neuen koproovoskopischen Methode wurden mit 870 Mustern von Rind- und Schafexkrementen durchgeführt. Diese Untersuchungen ergaben einen um das 7,77fache höheren Gehalt an Fasciola-hepatica-Eiern in den analysierten Exkrementen als bei den Untersuchungen mit der im Labor-vorgeschriebenen koproovoskopischen Sedimentationsmethode festgestellt wurde.

MVDr. František Mrakič,

Ústredný štátny veterinárny ústav,
Stanica laboratórnej diagnostiky,
Nitra, Jašíkova 6

ŽÁK O.
ŽUFFA A.

Imunogenita inaktivovanej vakcíny proti pasterelóze hydiny pripravenej z kultúr získaných hĺbkovou kultiváciou

■ Úmerne s požiadavkami na rozvoj chovu hydiny a budovaním veľkofariem vzrastajú i nároky na stupeň ich zaistenia proti nákazlivým chorobám. So súčasnými metódami imunoprofylaxie sa vystačí pri more a difterii hydiny. Spôsob ochranného očkovania proti pasterelóze nie je naproti tomu u nás dodnes na požadovanej úrovni.

LITERÁRNY PREHĽAD

Vo všeobecnosti je kvalita protipasterelových očkovacích látok — podobne ako u iných bakteriálnych nákaz s už vyriešenou imunoprofylaxiou — závislá na vlastnostiach použitého vakcinačného kmeňa, kvalite a spôsobe spracovania kultúry. Rôznosť a nesnadné určenie sérotypov pasterel (Chute a spol. 1962), ich variabilná antigéna mozaika (Ochi 1952), všeobecne slabá antigénna aktivita (Dudek 1958) a závislosť imunogénnych vlastností kultúry na viacerých faktoroch technologického rázu mali však na následok, že až v poslednej dobe sa zaznamenal podstatnejší pokrok v imunoprofylaxii tejto nákazy (Chute 1962). Prispelo k tomu určenie frekvencie sérotypov pasteurel (Carter 1955, 1957b, 1958, 1959, 1961, 1963, Bain 1957, Namioka, Murata 1961, Perreau a spol. 1962b, Heddleston 1962) a potvrdenie už Pristleyom (1936) zdôrazňovaného významu kapsulárného antigénu pre imunogenitu kmeňa (Carter 1957a, 1958, 1961, F. A. O, Recomandations 1959, Carter, Bain 1960). Značne vzrástli i možnosti zvýšiť koncentráciu antigénu v kultúre pomocou úpravy média a spôsobu kultivácie (Jordan 1952, Sterne, Hutchinson 1958, Bain 1959). Zvlášť vhodným, avšak v príprave veterinárnych biopreparátov doteraz nedostatočne využívaným spôsobom kultivacie (Perreau 1961) je množenie zárodkov hĺbkovou metódou vo fermentačných tankoch, ktoré poskytuje baktériam životné prostredie blízke prirodzeným podmienkam (Kozák a spol. 1960). Kultúry získané hĺbkovou metódou prevyšujú statické a trepačkové množstvom antigénu a kultivácia sama je ekonomicky výhodnejšia (Weyland 1960).

Veľký význam sa pripisuje spôsobu spracovania kultúry na vakcínu. Boli pripravené vakcíny inaktivované rozličným spôsobom, viazané na rad adjuvancií, počnúc $Al(OH)_3$ a končiac natrium-alginátom, avšak až využitím olejov (Heddleston a spol. 1958, 1959) sa získali vakcíny požadovaných imunogénnych kvalít.

Z prehľadu literatúry vyplývajú nasledujúce hlavné zásady, ktoré sa musia rešpektovať pri príprave vakcíny proti pasterelóze hydiny.

- kmeň musí byť virulentný, sérotypu A (resp. A+D), výrazne kapsulogénny, čerstvo izolovaný alebo pasážovaný cez vnímavé zvieratá,
- kultúra má byť náležite hustá, s vysokým počtom zárodkov tvoriacich na pevnej pôde mukoidné kolónie,
- kultivačné prostredie musí zaručovať stabilitu fáze a podmienky pre rýchly rast a množenie zárodkov,
- inaktivácia musí byť šetrná, aby nedošlo k poškodeniu imunizujúceho antigénu a použité adjuvans musí zaručiť dlhodobú stimuláciu antigenicity inokula, bez poškodenia tkáne alebo organizmu.

U nás vyrábané druhy vakcín proti pasterelóze hydiny sú na $Al(OH)_3$ adsorbované alebo naviac v oleji emulgované (Malík 1961, Malík, Brauner 1962) trepačkové kultúry pasterel z výrobných (polyvalentná vakcína) alebo z terénneho materiálu čerstvo izolovaných kmeňov (autogénna vakcína). Charakter kultúr, najmä u autogénnych vakcín, však v mnohých prípadoch nezaručuje splnenie uvedených zásad.

Po získaní kmeňa zo zahraničia, ktorý sa podľa údajov odovzdávajúcého ústavu vyznačoval dobrými imunogénnymi vlastnosťami, sme chceli zistiť, nakoľko je možné ovplyvniť imunogenitu vakcíny použitím kultúr pripravených metódou hĺbkovej kultivácie, spôsobom ich inaktivácie, prípadne väzbou na gelové resp. lipoidné adjuvans. O dosiahnutých výsledkoch referujeme v tejto práci.

MATERIÁL A METÓDY

Pracovali sme s kmeňom „Juhoslávia" a domácim terénnym kmeňom 523. Kultúry sme pripravovali submerzným spôsobom v celokovových fermentoroch s užitočným obsahom 8 lt pri 560 obr./min. miešadla typu Vortex a prívodu 10 lt vzduchu za minutu nad hladinu. Ako násady sme použili 8 hodinové kultúry z trepačiek. Živným médiom bol v prvých pokusoch bujon na mäsopeptónovej bázi s prídavkom extraktu kvasníc, neskoršie semisyntetické médium z kazeinhydrolyzátu a dialyzátu kvasníc obohatené o niektoré aminokyseliny a polysacharidy. (Technickou stránkou hĺbkovej kultivácie pasterel, zložením živných médií, dotáciou kultúry živinami a prejavmi rastu zárodkov sa zaoberáme v inej práci). Kultúry sme inaktivovali teplom pri 56^0 C, 0,15 M formolom, resp. 0,13 M fenolom a adsorbovali na gel $Al(OH)_3$ v pomeru 8 dielov $Al(OH)_3$, 13 dielov kultúry, alebo emulgovali v oleji M-1 pomocou emulgátoru KOSS domácej provenniencie (150 dielov kultúry, 145 oleja, 10 emulgátoru). Imunogenitu pripravených vakcín sme, po kontrole neškodnosti a sterility, hodnotili na základe výsledkov vyvolávajúcich infekcií vakcinovaných myší, holubov a kurčiat. Imunizačná dávka, inokulovaná *s. c.*, obnášala u voľných a na $Al(OH)_3$ viazaných bakerínov 0,2 ml pre myši, 1 ml pre holuby a 2 ml pre trojmesačné kurčatá, u olejových vakcín 0,2 ml pre myši, resp. 1 ml pre hydinu. Vyvolávajúcu infekciu sme vykonali u myší za 2 a u holubov a kurčiat za 3 týždne po jednorázovom očkovaní, resp. za 2 týždne po revakcinácii. Infekčná dávka pre všetky zvieratá činila 10^3 LD_{50} lyofilizovaného virulentného kmeňa 523. Kontroly hynuli behom 24—72 hodin po *s. c.* infekcii.

VÝSLEDKY

V prvom orientačnom pokuse sme porovnávali imunogenitu komerčnej polyvalentnej vakcíny s vakcínami pripravenými z kultúr získaných hĺbkovou kultiváciou kmeňa Juhoslávia a 523 (kmeň totožný s infekčným kmeňom). Živné médium (mäsopeptonový bujon používaný pre statické a trepačkové kultúry) nebolo pre potreby pasterel v podmienkach hĺbkovej kultivácie nijak zvlášť upravené. V obidvoch prípadoch sme kultúry spracovali na fenolový bakterín a na formoladsorbátovú vakcínu. Vakcína pripravená z kmeňa Juhoslávia vykazovala približne 5—8 násobne vyšší imunizačný efekt v porovnaní s kmeňom 523 i komerčnou vakcínou, pričom formoladsorbát bol imunogénne účinnejší než fenolový bakterín (tab. I.).

Lepšia imunogenita formoladsorbátovej vakcíny z kmeňa Juhoslávia, v porovnaní s polyvalentnou vakcínou, sa potvrdila i v ďalšom pokuse (tab. II.). Preto sme ďalej pracovali výhradne so submerznými kultúrami tohoto kmeňa.

V treťom pokuse sme zisťovali význam spôsobu inaktivácie a účinok adjuvancií na imunogenitu vakcíny. Kultúry sme inaktivovali teplom alebo formolom a adsorbovali na $Al(OH)_3$ alebo emulgovali v oleji. Obe adsorbátové a olejová vakcína, pripravená z teplom inaktivovanej kultúry, dali približne rovnaké výsledky (imunizovali 55—60 % kurčiat), kým olejová vakcína z formolizovanej kultúry vykazovala slabší imunizačný účinok (tab. III). U väčšiny zvierat, ktoré prežili vyvolávajúcu infekciu, zisťovali sa pri pitve po olejových vakcínach v mieste vpichu zbytky oleja a nekrózy až do 2 a pol mesiaca *p. v.*

I. Porovnanie imunogenity vakcín z terénneho kmeňa 523, vakcinačného kmeňa Juhoslávia a polyvalentnej komerčnej vakcíny.

Druh vakcíny	Kmeň	Spôsob kultivácie	Doba kultivácie v hod.	Počet kurčiat	Výsledok vyvolávajúcej infekcie	% imunných kurčiat
Formol $Al/OH/_3$ adsorbát	523	HK	16	14	1/14	7,1
Fenolový bakterín	523	HK	16	15	1/15	6,6
Formol — $Al/OH/_3$ adsorbát	Juh.	HK	16	16	8/16	50,0
Fenolový bakterín	Juh.	HK	16	15	3/15	20,0
Polyvalentné adsorbát	Zmes	trep.	18	10	1/10	10,0
Nevakcinované kontroly				10	–/10	—

Vysvetlivky:

HK — hĺbková kultivácia
trep. — kultivácia v trepačke

Pozn.: V rubrikách „Výsledok vyvolávajúcej infekcie" v tabuľkách 1—5 je v čitateli uvedený počet kurčiat, ktoré infekciu prežili, v menovateli celkový počet infikovaných kurčiat.

II. Porovnanie imunogenity polyvalentnej komerčnej vakcíny a vakcíny z kmeňa Juhoslávia pestovaného hĺbkovou kultiváciou.

Druh vakcíny	Kmeň	Spôsob kultivácie	Počet kurčiat	Výsledok vyvolávajúcej infekcie	% imunných kurčiat
Formol $Al(OH)_3$ adsorbát	Juh.	HK	11	6/11	54,5
	Zmes	Trepačka	10	1/10	10,0
Nevakcinované kontroly			10	–/10	–

Pozn.: Ako kultivačné médium sa použil mäsopeptónový bujon.

III. Vplyv adjuvancií a spôsobu inaktivácie kultúry na imunizačný efekt vakcíny.

Kultúra	Druh adjuvancia	Spôsob inaktivácie	Dávka a spôsob aplik.	Počet kurčiat	Výsledok vyvolávajúcej infekcie	% imunných kurčiat
Kmeň Juh. pomnožený v mäsopept. bujone	olej	Teplom 56 °C	1 ml i. m.	19	11/19	57,8
		Formolom	1 ml i. m.	19	6/19	31,5
	$Al(OH)_3$	Teplom 56 °C	2 ml s. c.	20	11/20	55
		Formolom	2 ml s. c.	20	12/20	60
Nevakcinované kontroly				15	–/15	–

Za účelom ďalšieho zlepšenia imunogenity vakcíny, čoho sa podľa nášho predpokladu dalo dosiahnúť jednak zvýšením koncentrácie baktérií v kultúre, jednak zlepšením kvality kultúry, nahradili sme mäsopeptónový bujón semisyntetickou živnou pôdou na bázi kazeinhydrolyzátu, obohatenou o rastové faktory a polysacharidy; tým sme dosiahli zvýšenie počtu živých zárodkov na vrchole logaritmickej fázi množenia priemerne o 1 log. Získanú kultúru sme inaktivovali formolom; časť z nej sme spracovali na adsorbátovú vakcínu priamo, druhú časť po 100 % zahustení pomocou sedimentu získaného odstredením primeraného množstva kultúry pri 35 000 obr./min. na prietokovej odstredivke Sharples.

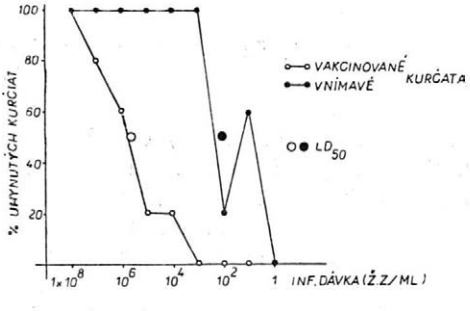
Každou vakcínou sme zaočkovali skupinu holubov a kurčiat a polovicu z nich za 14 dní revakcinovali. Vyvolávajúcu infekciu sme vykonali za 14 dní po revakcinácii. Ako vyplýva z výsledkov uvedených na tab. IV., lepšiu imunizačnú účinnosť vykazovala nezahustená vakcína, a to po jedno-, i dvojrázovom očkovaní; na holuboch sa nezistili preukázne rozdiely v imunogenite oboch vakcín.

IV. Vplyv zvýšenia koncentrácie baktérií a revakcinácie na imunizačný efekt vakcíny.

Druh vakcíny	Úprava vakcíny	Dávka v ml	Počet dávok	Počet zvierat	Výsledok vyvolávajúcej infekcie	% imúnnych zvierat
	Kurčatá					
Formolovaný $Al(OH)_3$ adsorbát (kmeň Juhoslávia, kultivovaný v kazeinhydrolyzátovom médiu)	—	2	1	9	7/9	77,7
	—	2	2	10	10/10	100
	Zahustená o 100 %	1	1	10	5/10	50
	Zahustená o 100 %	1	2	10	7/10	70
	Nevakcinované kontroly			10	–/10	—
	Holubi					
	—	2	1	15	4/15	26,6
	—	2	2	14	6/14	42,8
	Zahustená o 100 %	1	1	14	6/14	42,8
	Zahustená o 100 %	1	2	14	6/14	42,8
	Nevakcinované kontroly			14	–/14	—

Aby sme zistili koľko LD_{50} znáša vakcinovaná hydina, očkovali sme 40 kurčiat nezahustenou vakcínou použitou v 4. pokuse a za 3 týždne sme ich infikovali súčasne s 40 neočkovanými kontrolami odstupňovanými dávkami kultúry v skupinách po 10 zvierat (na každé riedenie kultúry 5 vakcinovaných a 5 vnímavých kurčiat). Priebeh hynutia v obidvoch skupinách znázorňuje gr. 1. LD_{50} predstavovalo pre vakcinované kurčatá cca $1 \times 10^{5,7}$, pre vnímavé 1×10^2 zárodkov.

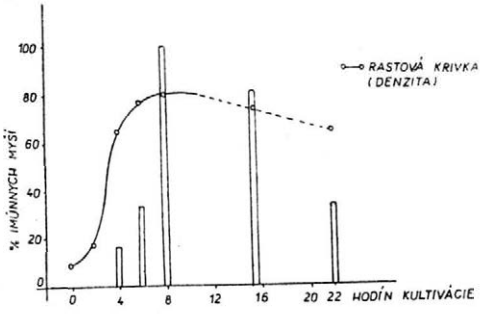
Doteraz uvedené výsledky poukazujú na to, že vakcína vyrobená z kultúr pripravených v semisyntetickom médiu je imunogénne aktívnejšia ako vakcína vyrobená z mäsopeptónových kultúr. Za účelom získania porovnateľných výsledkov v tomto smere sme pripravili kultúry submerznou metódou v oboch živných médiách. Počet živých zárodkov na vrcholu logaritmickej fázi množenia bol u kultúry v semisyntetickom médiu 6×10^{10}, v mäsopeptóno-



Gr. 1. Prežívanie imunizovaných kurčiat po infekcii rozličnými dávkami kultúry
Pozn.: LD_{50} sa vypočítalo po ukončení pokusu

V. Vplyv kultivačného média na imunogenitu vakcíny.

Druh vakcíny	Kultivačné médium	Počet dávok	Počet kurčiat	Výsledok vyvolávajúcej infekcie	% imúnnych kurčiat
Formolovaný $Al(OH)_3$ adsorbát (kmeň Juhoslávia)	Kazeinhydrolyzátové médium	1	10	7/10	70
		2	10	9/10	90
	Mäsopeptónový bujón	1	9	5/9	55,5
		2	9	7/9	77,7
Nevakcinované kontroly			9	–/9	–



Gr. 2. Imunogenita vakcín pripravených z kultúr v rozličnom štádiu rastu
Pozn.: Densita sa merala ako optická priepustnosť kultúry pri 575 mμ. Referenčným vzorkom bolo živné médium bez zárodkov

vom bujóne 7 X 10^9. Kultúry sme spracovali na formoladsorbátové vakcíny a očkovali 20, resp. 18 kurčiat; v každej skupine sme polovicu kurčiat revakcinovali. Jednorázové očkovanie vakcínou z kultúr z kazeinhydrolyzátového média imunizovalo 70 %, dvojrázové 90 % kurčiat, zatiaľ čo vakcína z kultúry z mäsopeptónového bujónu 55 resp. 77 % kurčiat (tab. V).

V pokusoch na myšiach sme zisťovali, v ktorej fázi rastu v submerzných podmienkach je kultúra najvhodnejšia pre výrobu vakcíny. Ukázalo sa, že 8hodinová kultúra imunizovala všetky, 6 a 22hodinová kultúra približne po 30 % myší proti 10^3 LD_{50}.

DISKUSIA

Po zistení, že kultúry pasterel získané súbmerznou kultiváciou sú vhodnejšie pre prípravu vakcíny proti hemorrhagickej septikémii hovädzieho dobytka ako kultúry statické (Sterne, Hutchinson 1958, Bain, Jones 1958, Perreau 1961) chceli sme si overiť, či sa analogické výsledky dajú dosiahnúť aj pri pasterelóze hydiny. Výsledky prvých pokusov ukázali, že pre imunogenitu vakcíny majú význam predovšetkým vlastnosti použitého kmeňa. Ak sa pripravujú kultúry z kmeňa s nízkou imunogénnou hodnotou, nedá sa účinnosť vakcín podstatne ovplyvniť spôsobom prípravy a spracovaním kultúr. Vo svetle tohoto zistenia stáva sa príprava autogénnych vakcín, ktorých výroba sa tak často vyžaduje, diskutabilná. Vakcína z kmeňa Juhoslávia bola účinnejšia nielen v porovnaní s vakcínou z kmeňa 523 ale i s polyvalentnou vakcínou, u ktorej je možno predpokladať, že obsahuje kmene rôznej antigenicity.

Imunogenitu vakcíny z kmeňa dobrých imunogénnych vlastností môžu ovplyvniť kvalita použitých kultúr a spôsob ich inaktivácie. Ukazuje sa, že pre kultiváciu pasterel pre vyrobné účely je najvhodnejšie semisyntetické médium a príprava kultúr submerzným spôsobom; pri použití semisyntetického média na princípe kazeinhydrolyzátu je možno ľahšie definovať požiadavky na obsah živín a ich dotáciu v priebehu kultivácie. Vyššia imunogenita vakcín vyrobených z kultúr získaných hĺbkovou kultiváciou môže vyplývať jednak z vyššieho počtu zárodkov v porovnaní s kultúrami statickými a trepačkovými, jednak z kvality kultúry samej. Rýchle dosiahnutie vrcholu logaritmickej fázi umožňuje získať kvalitatívne homogénnu biomasu.

Pri príprave vakcíny je potrebné rešpektovať zmeny, ku ktorým dochádza v priebehu rastu kultúry. Predbežné pokusy na myšiach nasvedčujú tomu, že pre získanie účinnej vakcíny je najvhodnejšia kultúra na vrcholu logaritmickej fázi rastu.

Nepozorovali sme preukazné rozdiely v imunogenite kultúr inaktivovaných formaldehydom a teplom. Slabá imunogenita fenolizovaného bakterínu, aký navrhli Bierer a spol. (1961) môže vyplývať skôr zo skutočnosti, že sme použili voľný neadsorbovaný bakterín, ako zo spôsobu jeho prípravy. To poukazuje na potrebu väzby pasterelových kultúr na vhodné adjuvanciá. Iyer a spol. (1955), Bain (1956), Heddleston a spol. (1958, 1959), Bain, Jones (1958), Chute a spol. (1962), Malík, Brauner (1962) a rad ďalších autorov pripisujú práve voľbe vhodného adjuvans mimoriadny význam pre získanie účinných protipasterelových vakcín, pričom za najvhodnejšie považujú adjuvanciá lipoidné. V našich pokusoch však účinnosť olejových vakcín nebola lepšia než vakcín adsorbátových. Je pravdepodobné, že príčinou toho je nižšia kvalita použitého domáceho oleja i emulgátoru, v porovnaní s olejami používanými pre tento účel v zahraničí. Potvrdzuje to i porovnanie účinnosti pasterelových vakcín vyrobených z adjuvancií domácej i zahraničnej proveniencie (Malík 1962). Na rozdiel od zahraničných skúseností pozorovali sme prolongovanú rezorbciu inokula a lokálne zmeny v tkáni až 2 a pol mesiaca po očkovaní. Od ďalších pokusov s lipoidnými vakcínami sme preto až dotiaľ, kým nebude k dispozícii domáci olej a emulgátor požadovaných kvalít, upustili.

O ďalšie skvalitnenie vakcíny na princípe formolového bakterínu adsorbovaného na $Al(OH)_3$, sme sa pokúsili jednak úpravou kultivačných médií, jednak koncentráciou antigénu pridaním bakteriálneho sedimentu do kultúry. Na rozdiel od Shirlawa (1957) sme dosiahli so zahustenou vakcínou horšie výsledky, ako s vakcínou nezahustenou. To nasvedčuje tomu, že časť imunizujúceho antigénu sa náchádza voľne v tekutej fázi kultúry. Rovnaké výsledky sme získali s vakcínou, ktorú sme zahustili odstránením väčšiny supernatantu. Potvrdil sa tak poznatok Delpyho (1952) o nutnosti zachovať pri príprave protipasterelovej vakcíny všetky zložky kultúry. Dvojrázovým očkovaním nezahustenou vakcínou sme dosiahli až 100 % prežívanie infikovaných kurčiat. Rovnaký pokus na holuboch dal menej uspokojivé výsledky. Príčinou toho môže byť jednak mimoriadna citlivosť holubov na pasterelovú infekciu, jednak pomerne vysoká infekčná dávka. Ak by sme pri hodnotení výsledkov na holuboch použili stejné merítko, ako Bierer a spol. (1961) pre svoje imunizačné pokusy na moriakoch, v ktorých už 50 % prežívanie proti minimálnej letálnej dávke hodnotí ako uspokojivé, môžeme i naše výsledky považovať za relatívne priaznivé.

Pre vyvolávajúcu infekciu vakcinovanej hydiny sme použili vysoké letálne

dávky. Podľa Bierera a spol. (1961) stačí 30 zárodkov na vyvolanie letálnej infekcie u vnímavého moriaka a za bežnú letálnu dávku pre kurča sa považuje okolo 10^2 zárodkov. V pokuse, v ktorom sme sledovali LD_{50} kultúry pre vnímavé a očkované kurčatá, stačilo na vyvolanie letálnej infekcie u nevakcinovaných zvierat približne 8—9 zárodkov. Pri tom ale niektoré zvieratá znášali 10 násobne a v iných pokusoch až 100 násobne vyšší počet zárodkov. Svedčí to pre veľké individuálne rozdiely vo vnímavosti kurčiat na infekciu pasterelami.

Získané výsledky ukázali, že účinnosť protipasterelovej vakcíny je závislá na imunogenite použitého kmeňa, zložení živného média a spôsobe kultivácie, čo určuje kvalitu získanej kultúry. Nepozorovali sa rozdiely v imunogenite vakcín pripravených z kultúr inaktivovaných rôznym spôsobom ani viazaných na gelové alebo lipoidné adjuvancia domácej proveniencie.

SÚHRN

V pokusoch na myšiach, holuboch a kurčatách sa zisťovala imunogenita vakcín proti pasterelóze hydiny pripravených rôznym spôsobom. Účinnosť vyrobených vakcín bola závislá na imunogenite použitého kmeňa, zložení živného média a spôsobe prípravy kultúr. Vakcína vyrobená z kultúry kmeňa Juhoslávia, pripravenej submerznou metódou v semisyntetickom médiu, inaktivovanej formolom a adsorbovanej na $Al(OH)_3$, chránila po jednorázovom očkovaní 75 %, po revakcinácii až 100 % kurčiat proti vysokej infekčnej dávke.

Došlo dňa 16. 11. 1964

Literatúra

1. Bain R. V. S.: Brit. Vet. J. 112, 115, 1956. — 2. Bain R. V. S.: Austral. Vet. J. 33, 119, 1957. — 3. Bain R. V. S.: Brit. Vet. J. 115, 365, 1959. — 4. Bain R. V. S., Jones R. F.: Brit. Vet. J. 114, 215, 1958. — 5. Bierer W., Vickers C. L., Valentine H. D.: JAVMA 138, 85, 1961. — 6. Carter G. R.: Amer. J. Vet. Res. 16, 481, 1955. — 7. Carter G. R.: Amer. J. Vet. Res. 18, 210, 1957a. — 8. Carter G. R.: ibidem 18, 437, 1957b. — 9. Carter G. R.: Brit. Vet. J. 114, 356, 1958. — 10. Carter G. R.: Amer. J. Vet. Res. 20, 175, 1959. — 11. Carter G. R.: Can. Vet. J. 2, 96, 1961. — 12. Carter G. R.: Can. Vet. J. 4, 61, 1963. — 13. Carter G. R., Bain R. V. S.: Vet. Rev. 6, 105, 1960. — 14. Delpy C. P.: Bull. Off. int. Épizoot. 38, 226, 1952. — 15. Dudek J.: ČSEMI 7, 263, 1958. — 16. Heddleston L. K.: Étude sur la pasteurellose V. Deux types de Pasteurella multocida doués d'un pouvoir immunogène et intervenant dans la pasteurellose aviaire. Réunion F. A. O. sur la septicémie hémorragique, Kuala-Lumpur, 29. 1. - 3. 2. 1962, Doc. No. 2. — 17. Heddleston K. L., Hall W. J.: Avian Dis. 2, 322, 1958. — 18. Heddleston K. L., Reisinger R. C.: Avian Dis. 3, 397, 1959. — 19. Chute H. L., O'Meara D. C., Gershman M.: Avian Dis. 6, 7, 1962. — 20. Iyer S. V., Gopalakrishnan K. S., Ramani K.: Indian Vet. J. 31, 379, 1955. — 21. Jordan R. M. M.: Brit. J. exp. Path. 33, 27, 1952. — 22. Kozák K., Kaláb D., Staroštík L.: Závěrečná zpráva výzkumného úkolu č. 4404-q, Brno 1960. — 23. Malík Z.: Poznatky z imunoprofylaxie pasterelóz zvierat; Referát pred-

nesený na Vedeckej konferencii v Košiciach 1961. — 24. Malík Z., Brauner I.: Vet. Čas. 11, 95, 1962. — 25. Namioka S., Murata M.: Cornell Vet. 51, 498, 1961. — 26. Ochi Y.: Bull. Off. int. Épizoot. 38, 226, 1952. — 27. Perreau P.: Rev. d'élev. Méd. Vét. Pays Trop. 14, 133, 1961. — 28. Perreau P., Vallée A., Renault L.: Bull. Acad. Vét. France 35, 129, 1962 b. — 29. Perreau P., Renault L., Vallée A.: Bull. Acad. Vét. France 34, 295, 1962 a. — 30. Pristley F. W.: Brit. J. Exp. Path. 17, 374, 1936. — 31. Shirlaw J. F.: Brit. Vet. J. 113, 35, 1957. — 32. Sterne M., Hutchinson I.: Brit. Vet. J. 114, 176, 1958. — 33. Weyland H.: J. South Afr. Med. Asoc. 31, 7, 1960. — 34. Rapport de la Réunion F. A. O. sur la sépticémie hémorragique, Manille, Philippines. Recomandations, 1959.

Иммуногенность инактивированной вакцины против пастереллеза птицы, приготовленной из культур, полученных методом глубокой культивации

В ходе опытов на мышах, голубях и цыплятах устанавливали иммуногенность вакцин против пастереллеза птицы, приготовленных разным способом. Эффективность приготовленных вакцин зависела от иммуногенности примененного штамма, состава питательной среды и способа приготовления культур. Вакцина, приготовленная из культуры штамма Югославия субмерсионным методом в семисинтетической среде, инактивированной формолом и адсорбированной на $Al(OH)_3$, охраняла после разовой прививки 75 %, после повторного вакцинирования до 100 % цыплят против высокой инфекционной дозы.

Immunogenity of the Inactivated Vaccine against Avian Pasteurellosis prepared from Cultures obtained by the Deep Cultivation

Immunogenity of the vaccines against avian pasteurellosis prepared in various ways was being ascertained in experiments with mice, pidgeons and chickens. The immunogenity of the strain used, the composition of the media and the way of culture-preparing influence the efficacy of the vaccines produced. The vaccine made from the culture of the strain Yugoslavia prepared by the submersion-method in semisynthetic media which was inactivated by formole and adsorbed to $Al(OH)_3$ protected 75 p. c. of the chickens against the strong infective dose after the single vaccination and even 100 p. c. of the chickens after revaccination.

Die Immunogenität der mittels Tiefkultivation gewonnenen inaktivierten Vakzine gegen Pasteurellose des Geflügels

Durch Versuche an Mäusen, Tauben und Kücken wurde die Immunogenität der Vakzinen gegen die Pasteurellose des Geflügels festgestellt; diese Vakzinen wurden verschiedenartig hergestellt. Die Wirksamkeit der erzeugten Vakzinen war von der Immunogenität des angewandten Stammes, von der Zusammensetzung des Substrates und von der Art der Kulturen-Zubereitung abhängig. Die aus der Kultur

des Stammes Jugoslavien zubereitete Vakzine, die mittels der submersen Methode in semisynthetischem Medium hergestellt, durch das Formaldehyd inaktiviert und auf Aluminiumhydroxyd adsorbiert wurde, schützte nach einmaliger Impfung 75 %, nach Revakzination bis 100 % der Kücken gegen hohe Infektionsdosis.

MVDr. Otokar Žák,
MVDr. Alojz Žuffa, C. Sc.
Vývojové odd. Biovety n. p., Nitra

KRÁL E.

Narkóza halothanem u skotu

Halothan (2-bromo-2-Chlor-1, 1, 1,-trifluoro-aethanum) byl objeven v r. 1956 v laboratořích ICI Sucklingem a distribuován pod jménem Fuothan. V roce 1962 bylo přikročeno k jeho syntéze v ČSSR ve VÚFB, kde jej připravil doc. Hudlický (cit. 10). Přípravek se zavádí do distribuce pod jménem Narcotan.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Do veterinární mediciny uvedl halothan Hall (5) a Fischer s Jeningsem (4) (1958). Do dnešního dne je o použití halothanu ve veterinární medicině spec. u skotu málo prací.

Halothan je čirá bezbarvá tekutina, která v směsi s kyslíkem a se vzduchem za normální teploty a atmosférických podmínek není hořlavá ani výbušná. Má charakteristický nasládlý zápach. Bod varu je 50,2^0 C. Na světle se rozkládá. Proto je stabilizován přísadou tymolu a expeduje se v hnědých lahvích. Jako anestetikum je čtyřikrát účinnější než éter a dvakrát než chloroform.

Výhodou halothanu, zvláště z hlediska veteritární mediciny je jeho velká narkotická síla, nehořlavost a nevýbušnost ve směsi s kyslíkem a ta okolnost, že maso po halothanu nezapáchá. Výhodné je i to, že po přerušení inhalace hladina anestetika v krvi rychle klesá, takže zotavení po halothanové narkoze je rychlé.

Na kardiovaskulární systém působí ve smyslu vasodilatace, bradykardie a hypotenze. Bradykardie je méně výrazná, je-li při premedikaci podán atropin. Zvláště u koní je jeho použití nutné. Kent a Vasko (7) soudí, že srdce koně je zvláště citlivé pro halothan. Proto Fischer a Jennings (4), Westhues a Fritsch (11) doporučují halothan jen u zdravých koní. Dýchací cesty nejsou parami halothanu drážděny. Dýchání může být v některých případech zrychlené. V hluboké anestezii je dýchání ztlumeno a zpomaleno, až může nastat apnoe. Zástava dechu předchází zástavu srdce (1). Zvýšená opatrnost je nutná při podezření na onemocnění jater (1). Sekrece slin a hlenu halothan potlačuje. U skotu se však tento jev neprojeví (Jennings 4).

Halothan je možno aplikovat způsobem otevřeným, polootevřeným, polouzavřeným a uzavřeným. Z ekonomických důvodů je všeobecně doporučován způsob uzavřený (Ammann) (1). Velká narkotická síla halothanu dovoluje jím provádět i úvod do narkózy. Aby poměrně drahé narkotikum bylo šetřeno, doporučuje se úvod do narkózy dělat thiobarbituráty [Fischer, Jen-

nings (4), Westhues, Fritsch (11), Hall (5)] event. ataraktiky [Ammann (1), Berge, Müller (2), Hall (5)]. Nedoporučuje se premedikace morfiem a jeho analogy pro nebezpečí deprese dýchání.

Pro zavedení narkózy je třeba 4 % koncentrace; k udržování narkózy je třeba podle Murraye (9) 1—2 % koncentrace, podle Ammanna (1) 2,5—3,5 % koncentrace, přičemž možno přívod anestetika chvílemi přerušit. Standardní 4 % koncentrace dosáhneme při průtoku 5 l O_2 1 ml (144 kapek) anestetika za minutu při polootevřeném neb polouzavřeném způsobu (Racenberger 10). Při uzavřeném způsobu jsou poměry složitější, poněvadž koncentrace uvolněná v odpařovači neodpovídá přesně koncentraci v okruhu, avšak ani za těchto okolností koncentrace za přívodu halothanu nestoupá (6).

K halothanové narkóze se používá speciálních odpařovačů (Fluotec) neb vhodně adoptovaných běžných odpařovačů Pro veterinární medicínu jsou vhodné pro svou jednoduchost odpařovače založené na odkapávání narkotika do narkotizačního systému, kde se odpařuje. Jednoduchý a vhodný odpařovač pro halothan navrhl Markalous a spol. (8). Ze stříkačky Record se halothan vstřikuje na měděnou mřížku umístěnou v narkotizačním systému, z níž se halothan odpařuje.

Pro halothan neplatí klasické Guedelovo schéma platící pro éter. Typické stadium excitace chybí, reflex víčkový i rohovkový rychle mizí. Cenným příznakem při úvodu do klinického stadia narkózy je nystagmus a vymizení víčkového reflexu; později jsou pro posouzení hloubky narkózy důležité frekvence tepu, frekvence a hloubka dechu a tlak krevní. Anestezie halothanem vyžaduje stálé kontroly a řízení, poněvadž se snadno změlčuje nebo naopak příliš prohlubuje (Swinging Anesthesie).

VLASTNÍ PRÁCE

Ve svých pokusech jsme užívali československého Narcotanu Spofa. Narcotan byl podáván způsobem uzavřeným jednocestným.

K aplikaci anestetika způsobem uzavřeným bylo použito na klinice vyvinutého narkotizačního přístroje skládajícího se z kyslíkové bomby, průtokoměru, absorbéru a odpařovače, který je zapojen do narkotizačního systému. Jako odpařovač nám sloužila trubice 10 cm dlouhá o průměru 5 cm. V této trubici je válec z drátěné konstrukce, jehož stěnu tvoří hustě navlečené bavlněné nitky.

Do tohoto vlastního odpařovače je vyvedena hadička z umělé hmoty, která je napojena na zařízení, jímž se Narcotan dozuje. Toto zařízení se skládá z Record stříkačky 30 ml s dvěma výpustnými kohouty; jedním je možno průtok Narcotanu otevřít či uzavřít a druhý možno nastavit tak, že Narcotan prokapává rychlostí buď ½ či 1 ml za minutu. Jako druhého odpařovače bylo užito válce, v jehož dně byl zhotoven konický otvor uzavíratelný vysunutelným kuželem. Podle uvolnění tohoto kužele byl regulován průtok narkotika.

K premedikaci bylo užito *Atropinum sulphuricum* v dávce 40—50 mg *pro toto scut.* 30—45 minut před zavedením narkózy neb poloviční dávka *i. v.* těsně před aplikací chloralhydrátu.

K úvodu do narkózy bylo použito chloralhydrátu v 10 % roztoku v dávce 6—8 g/100 kg ž. v. *i. v.*

Užívali jsme endotracheální kanyly, jíž dáváme přednost před maskou. Těsnící tracheální kanyla umožňuje za všech okolností aplikaci anestetika, ale i podle potřeby aplikaci samotného kyslíku, event. i umělé dýchání a zabraňuje současně i aspiraci slin i žaludečního obsahu, což je velmi vážná a jinak těžko zvládnutelná komplikace.

Tracheální kanylu jsme zaváděli „naslepo" pomocí silnostěnné gumové hadice o průměru 5 cm a délce 60 cm, kterou jsme zasunuli do dutiny ústní a hltanu. Při hlavě natažené tak, aby byla v linii s krkem jsme zavedli po znecitlivění sliznice hrtanu sprayem 1 % Mesocainem do průdušnice nejprve gumovou sondu $1^1/_2$ cm silnou. Tato nám sloužila jako vodítko pro kanylu tracheální.

Po zavedení tracheální kanyly a utěsnění průdušnice jsme nechali vtéci do vlastního odpařovače 4 ml Narcotanu a zapojili kapací zařízení, aby do odpařovače vkapávalo 1 ml Narcotanu za minutu. Po vymizení víčkového reflexu zmenšili jsme průtok anestetika na ½ ml za minutu event. jsme přívod anestetika úplně přerušili. Tímto způsobem byla narkóza udržována $^1/_2$—1 hodinu.

Zpravidla za 7 minut po zahájení aplikace Narcotanu vymizel víčkový reflex a mohlo se začít se zákrokem. Spotřeba Narcotanu byla individuální. V našich pokusech jsme spotřebovali pro půlhodinovou narkózu kolem 15 ml Narcotanu, pro hodinovou narkózu až 20 ml Narcotanu. Narkóza byla dosti povrchní, ale pro chirurgické zákroky dostačující. Po přerušení přívodu narkotika narkóza rychle odeznívala, takže pacienti byli schopni za 10—15 až 20 minut vstát z operačního stolu.

Během 10 orientačních pokusů jsme sledovali tep, dech, teplotu a tlak krevní, který byl měřen přímou metodou, na *a. facialis* a spolu s dechem registrován. Současně během podávání Narcotanu jsme měřili transistorovým teploměrem teplotu v narkotizačním systému.

Tep, dech a tlak krevní vykazoval typické kolísání. Teplota jeví během $^1/_2$—1 hod. narkózy nepatrné výchylky.

Pro premedikaci atropinem *i. v.* trias zůstává nezměněn, tlak krevní vystupuje výrazně (až na 160), ale po 2—3 minutách se vrací k normálu. Po aplikaci chloralhydrátu zrychluje se tep (až na 120/min) i dech (až na 42/min), zatím co tlak krevní klesá (až na 90). V narcotanové narkóze jsme zaznamenali delší pokles krevního tlaku (až na 60) nepatrné zrychlení neb normální frekvenci tepu a výraznější zrychlení frekvence dechu a jeho změlčení proti normálu.

Orientačně provedený kardiografický záznam nevykazoval změn.

Teplota v narkotizačním systému stoupla za 30 minut narcotanové narkózy o 5—7° C.

DISKUSE

Souhlasně s Ammannem (1) pokládáme za nejvhodnější podávání halothanu v uzavřeném okruhu. Jako jiní autoři pokládáme ze nezbytnou premedikaci atropinem. Zatím co jiní autoři užívají k úvodu thiopentalu (1, 4, 11) či ataraktik (1, 2), dáváme my přednost chloralhydrátu. Vede nás k tomu jeho cena, která je proti barbiturátům i ataraktikům nižší, ale hlavně ta okolnost, že chloralhydrát neprodlužuje postnarkotický spánek jako to způsobují barbituráty a ataraktika. Užitím chloralhydrátu *i. v.* dosahujeme rychlého úvodu do narkózy,

menší spotřebu narkotika a přitom máme záruku rychlého probuzení. Porovnáme-li dobu od přerušení přívodu anestetika k povstání pacienta z operačního lůžka, jeví se nám tato v našich pokusech podstatně kratší (10—15—20 minut) proti době udávané např. Ammannem (1), Fischerem a Jenningsem (4) při premedikaci barbituráty, ataraktiky a analgetiky. Frekvence tepu i dechu jevila obdobné výkyvy jako v pokusech Bergeho a Müllera (2), i když ne v tom stupni. Jinak spotřeba narkotik a průběh narkózy Narcotanem v našich pokusech odpovídaly oněm v pokusech druhých autorů.

SOUHRN

Narcotan Spofa se nám plně osvědčil k narkóze skotu. Po premedikaci atropinem a úvodním znecitlivěním chloralhydrátem jej aplikujeme uzavřeným jednocestným způsobem, tracheální trubicí. Ceníme si u něj rychlý úvod do narkózy, a to, že nezpůsobuje zápach masa, a že se pacient z narkózy rychle probouzí.

Došlo dne 26. 11. 1964

Technická spolupráce František Ševčík, veterinární technik

Literatura

1. Ammann K., Suter P.: Erfahrungen mit der Halothannarkose beim Pferd, B. M. T. W. 77, 1964 : 1-5. — 2. Berge E., Müller H.: Intubationsnarkose beim Rind, B. M. T. W. 74, 1961 : 82-86. — 3. Fisher E. W., Jennings S.: A Closed Circuit Anaesthetic Apparatus for Adult Cattle and for Horses, Vet. Rec. 69, 1957 : 769-771. — 4. Fisher E. W., Jennings S.: The Use of Fluothane in Horses and Cattle, Vet. Rec. 70, 1958 : 587. — 5. Hall L. W.: Bromochlorotrifluoroethane (Fluothan): A new Volatile Anaesthetic Agent, Vet. Rec. 69, 1957 : 615-618. — 6. ICI, Anglie: Fluothane; Ein Fortschritt auf dem Gebiet der modernen Narkose. 46 s. — 7. Kent A., Vasko K. A.: Preliminary Report in the Effects of Halothane on Cardiac Action and Blood Pressure in the Horse, Am. J. Vet. Res. 23, 1962 : 248-249. — 8. Markalous P., Pautler S.: Přistřikovací odpařovač na Halothan, Rozhledy v chirurgii 17, 1963 : 268-270. — 9. Murray a spol.: Apparatus for Large Animal, JAVMA 143, 1963 : 272. — 10. Racenberger E., Markalous P., Pautler S., Zástava V.: Srovnání Halothanu VÚFB a jeho optického izomeru s Fluothanem ICI, Farmako-terapeutické zprávy 9, 1963 : 393-407. — 11. Westhues M., Fritsch R.: Die Narkose II. Sv. Berlin-Hamburg 1961, 404 s.

Наркоз галотаном у крупного рогатого скота

Был проверен галотан чехословацкого производства «Наркотан Спофа» у крупного рогатого скота. После предварительной обработки атропином и хлоралгидратом вышеупомянутый галотан вводился закрытым способом с применением одноходовой трахеальной канюли. Во время наркоза измерялась триада и непосредственно на лицевой артерии измерялось давление крови. После внутривенной предварительной обработки атропином триада остается без изменений, давление крови резко повышается, но по истечении 2—3 минут снова возвращается к исходному уровню. После применения хлоралгидрата пульс и дыхание учащаются и давление крови падает. При наркозе Наркотаном было отмечено дальнейшее снижение давления крови, слабое ускорение или нормальная частота пульса и отчетливое ускорение и умельчение дыхания по сравнению с нормой. Ориентировочно проведенная кардиографическая запись была без изменений. Температура в наркотизационной системе за 30 минут наркоза Наркотаном повысилась на 5—7° C.

The Halothane — Narcosis in Cattle

Halothane of Czechoslovak production "Narcotan Spofa" was tested in cattle. It was applied after the premedication with atropine and chloralhydrate by the closed way by the one-way tracheal tubule. Trias and the blood-pressure direct on the *arteria facialis* were measured in the course of the narcosis. Trias remains uninfluenced after the premedication using atropine *intra venam*, the blood-pressure rises expressively, but it returns to the initial value after 2—3 minutes. The application of chloralhydrate causes the acceleration of both pulse and breath-frequency, and the blood-pressure declines. A further fall of the blood-pressure in the course of the Narcotan-narcosis was noticed and a slight acceleration or a normal frequency of the pulse and a more expressive acceleration and shallowing of the breath in comparison with normal values. An orienting EKG-record showed no changes. The temperature in the narcotization-device during 30 min. of the Narcotan-narcosis rose by 5—7^0 C.

Die Narkose mit Halothan bei Rindern

Ein Halothan tschechoslowakischer Erzeugung „Narcotan Spofa" wurde an Rindern überprüft. Nach Prämedikation mit Atropin und Chloralhydrat applizierte man dieses Präparat mittels der geschlossenen Einweg-Methode durch eine Trachealkanüle. Während der Narkose wurde die Trias und auf direktem Wege an der A. facialis der Blutdruck gemessen. Nach Prämedikation mit Atropin i. v. bleibt die Trias unverändert, der Blutdruck steigt ausgeprägt an, kehrt jedoch nach 2—3 Minuten zum Ausgangswert zurück. Nach Applikation des Chloralhydrates wird der Puls und der Atem beschleunigt und der Blutdruck herabgesetzt. Bei der Narcotan-Narkose wurde eine weitere Herabsetzung des Blutdruckes, eine geringfügige Beschleunigung oder normale Pulsfrequenz und eine ausgeprägtere Beschleunigung und Oberflächlichkeit des Atems gegenüber dem Normalstand verzeichnet. Die orientierungsmäßig durchgeführte Kardiograph-Aufzeichnung wies keine Änderungen auf. Die Temperatur in dem Narkotisierungssystem stieg binnen 30 Minuten der Narcotan-Narkose um 5—7^0 C.

Prof. MVDr. Emanuel Král,

Vysoká škola zemědělská,
veterinární fakulta, katedra chirurgie,
ortopedie a rentgenologie,
Brno, Palackého 1-3

ŽÁK O.

Perzistence červenkových zárodků kmene WR 2 v orgánech myší a vývoj imunity

Zárodky červenky vepřů mohou dlouhodobě přežívat v orgánech zdravých, proti července neočkovaných nebo i imunních zvířat (Saxer 1954, Murase a spol. 1959, 1960, Kucsera 1958, 1961, Arsov 1962 a další). Nejčastěji se vyskytují v tonzilách, a to až v 67 % vyšetřených prasat (Goertler a Hubrig 1960). Teprve nedávno byla však věnována pozornost otázce, v jaké míře přežívají červenkové zárodky, které byly vpraveny do organismu při očkování živými, atenuovanými vakcinami.

V pokusech na myších zjistili Isopescu a spol. (1958), že zárodky červenkového kmene VR 2 dispergují do všech orgánů již během 4 dní *p. v.*; z většiny orgánů mizí během 21 dní, jen v slezině mohou perzistovat více než 30 dní. Tacu a spol. (1961, 1962) zjistili zárodky téhož kmene v různých orgánech myší již 1. den *p. v.* a dokazovali je ve většině orgánů ještě 63. den, u holubů 46. den. Tajima a spol. (1957), kteří pracovali s jiným atenuovaným červenkovým kmenem, izolovali zárodky z většiny orgánů očkovaných myší přibližně na 4. den, avšak na rozdíl od výsledků rumunských autorů dokazovali je ještě za 10 měsíců *p. v.* (Kuramasu a spol. 1963). K největšímu pomnožení zárodků došlo mezi 4. a 20. dnem, při čemž byly nejvyšší počty zjištěny v slezině a lymfatických uzlinách (Tajima a spol. 1957).

Rozdílné výsledky jednotlivých autorů nás vedly k tomu, abychom v rámci studia vlastností červenkového kmene WR 2, používaného u nás k výrobě živé červenkové vakciny (ŽČV), sledovali i jeho přežívání v jednotlivých orgánech očkovaných myší. Současně jsme se pokusili zjistit, zda vývoj a trvání imunity proti července po aplikaci ŽČV jsou časově závislé na disperzi a perzistenci vakcinačního kmene v hostitelském organismu.

MATERIÁL A METODY

Vakcinu představovala 48hodinová kultura kmene WR 2 v kazein-hydrolyzátovém mediu s dialyzátem kvasnic a 10 % pepticky natráveného koňského séra (KH medium). Vakcinační dávka 0,2 ml aplikovaná *s. c.* obsahovala průměrně 1×10^9 živých zárodků (ž. z.).

Myši: albinotické, různého pohlaví, průměrné váhy 16—18 g.

Postup při izolaci zárodků: Jednotlivé sterilně odebrané orgány byly homogenizovány v 3 ml 0,005 M fyz. roztoku a vyočkovány na 3 krevní agarové plotny (KA) připravené pomocí krevní agarové báze (Blood agar base Difco)

a do 3 zkumavek s 8 ml KH média. Porosty na agarech se posuzovaly po 48hodinové inkubaci v termostatu; v té době byl proveden výsev z KH média na KA, které se posuzovaly po dalších 24 hodinách. Izolované zárodky byly identifikovány makroskopickým posouzením vyrostlých kolonií a mikroskopickou prohlídkou barvených (podle Gramma) i nativních zárodků (ve fázovém resp. anoptrálním kontrastu). Za pozitivní jsme považovali izolace typických červenkových kolonií v S anebo R fázi na KA. V pochybných případech byly kultury z KA přeočkovány do KH média a po 48hodinové kultivaci naočkovány zředěné 10^{-1} v dávce 0,2 ml *s. c.* vždy dvěma myším, které byly po 14 dnech podrobeny vyvolávající infekci. Přežití infekce jsme považovali za důkaz přítomnosti vakcinačního kmene v inokulované kultuře.

Vyvolávající infekce: lyofilizovaná kultura virulentního kmene M-14 byla bezprostředně před použitím rehydratována v KH médiu; ředěná 10^{-2} byla aplikována v dávce 0,2 ml s. c., což odpovídalo cca 1.000 LD_{50}. Pro hodnocení výsledků byl použit jednak výpočet průměrné doby přežití podle Balčeva (1961), beroucí ohled i na průběh infekce v samých začátcích vývoje imunity, jednak výpočet procenta imunních myší.

VLASTNÍ POKUSY

Z celkového počtu 375 očkovaných myší jsme 185 použili na izolační pokusy a 190 na vyvolávající infekci. Vzhledem k značné pracnosti izolací jsme rozdělili pokus do několika sledů po 40—50 myších.

I. Distribuce červenkových zárodků v orgánech myší různou dobu po vakcinaci.

Orgán	dní po				
	1	2	3	4	5
Plíce	–/10	2/10	3/10	4/15	3/10
Srdce	1/10	4/9	4/10	10/15	8/10
Slezina	2/10	4/9	5/10	13/15	9/10
Játra	1/10	4/10	5/10	10/15	7/10
Ledvina	2/10	3/10	5/10	7/15	6/10
Kost, kostní dřeň	–/10	4/10	5/10	11/14	8/10
Sval	–/10	–/10	1/10	2/14	3/10
Močový měchýř	–/9	–/10	1/9	–/13	–/10
Mozek	–/10	–/10	–/10	–/15	–/10
Místo inokulace	10/10	10/10	9/10	15/15	9/10

Pozn.: V čitateli uveden počet izolací červenkových zárodků, v jmenovateli celkový počet vyšetřených orgánů.

V různých časových intervalech až do 6 měsíců po vakcinaci (tab. I.) jsme usmrcovali skupiny po 3—5 myších a z nich sterilně odebírali následující orgány: srdce, jeden lalok plic, asi $^1/_3$ jater, ledvinu, slezinu, podkoží se svalem v místě inokulace, stehenní kost, část gluteálního svalstva, močový měchýř a mozek. Výsledky izolačních pokusů jsou shrnuty do tab. I.

Počínaje 3. dnem *p. v.* jsme našli a doložili červenkové zárodky ve více než 50 % vyšetřených slezin, srdcí, jater, ledvin a kostních dření. Naproti tomu procento pozitivních izolací z plic a svalů se výrazněji zvýšilo až 7. den; v mozku, až na jednu výjimku, nebyly zárodky zjištěny po celé sledované období.

Červenkové zárodky vymizely nejdříve z plic a místa inokulace (kolem 15. dne), pak postupně z močového měchýře, svalů, srdce a jater. Ještě po 6 měsících *p. v.* byly dokázány u 45 % myší v slezině a u 30 % myší v kostní dřeni a ledvině.

Počet pozitivních izolací z jednotlivých orgánů, s výjimkou mozku a místa inokulace, jsme použili k výpočtu průměrného procenta nálezů červenkových zárodků v orgánech, tj. průměrné disperze zárodků v organismu myší v různých dnech *p. v.* (gr. 1). Největší rozšíření kmene WR 2 v organismu myší jsme zaznamenali na 7. až 15. den, kdy jsme červenkové zárodky izolovali téměř ze všech orgánů všech vyšetřených myší. Po 15. dni *p. v.* měl výskyt zárodků v ornismu myší zřetelně klesající tendenci.

Abychom se přesvědčili, do jaké míry se časově shoduje vývoj imunity a disperze červenkových zárodků do jednotlivých orgánů, podrobili jsme — současně s usmrcením myší pro izolační pokusy, — vždy další 4 myši vyvolávající infekci. Z dosažených výsledků jsme vypočítali průměrnou dobu přežití (tab. II).

vakcinaci							měsíců *p. v.*					
6	7	8	9	10	15	20	1	2	3	4	5	6
3/10	7/10	7/10	9/10	5/10	2/10	1/10	1/10	–/10	1/10	–/10	–/10	–/9
6/10	8/10	8/10	10/10	9/10	9/10	3/10	3/10	2/10	1/9	1/10	–/10	–/10
10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	8/10	7/9	7/10	5/10	6/9	4/9
6/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	4/10	3/10	5/10	–/9	1/10	–/10
10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	8/10	8/10	6/10	4/10	2/10	3/10
9/10	10/10	10/10	9/10	10/10	10/10	7/10	6/10	9/10	6/10	4/10	3/10	3/9
4/10	7/9	7/10	10/10	10/10	7/10	5/10	1/10	3/10	–/10	1/9	–/10	–/10
–/10	3/8	5/10	7/10	7/10	3/8	4/9	–/10	2/10	–/10	–/9	–/9	–/9
–/10	–/9	–/8	–/10	1/10	–/10	–/10	–/10	–/10	–/10	–/10	–/10	–/10
10/10	9/9	10/10	10/10	8/10	6/9	1/10	–/10	1/10	–/10	–/9	–/10	–/10

II. Vývoj imunity u myší po vakcinaci kmenem WR 2.

	Vyvolávající infekce za																		Kontrolní doba*	Imunní doba**
	dní po vakcinaci												měsíců *p. v.*							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	15	20	1	2	3	4	5	6		
Ø Doba přežití v dnech	3,04	3,5	4,7	6,4	6,7	8,2	11,4	11,2	12,3	12,3	12,3	12,3	12,3	11,4	12,3	12,3	11,2	12,0	4,15	12,3

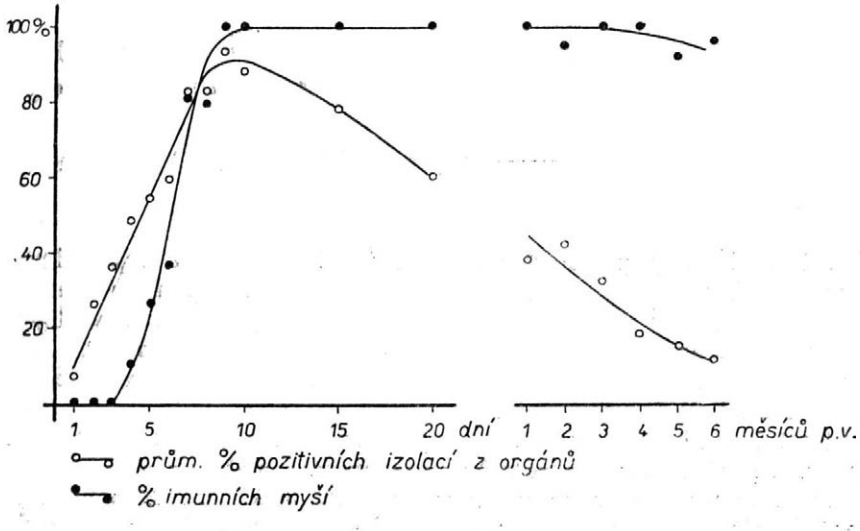
* Průměrná doba přežití u kontrolních, nevakcinovaných myší.
** Vypočítaná teoretická doba sledování úhynů; při dosáhnutí této Ø doby přežití jsou všechny myši v skupině imunní.

III. Výskyt červenkových zárodků v organismu myší a vývoj imunity v závislosti na počtu inokulovaných živých zárodků.

Počet ž. z. v dávce/myš	Dní po vakcinaci									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
4×10^8	8/0	25/0	29/0	54/33	37/0	92/100	87/100	91/100	96/100	N
4×10^6	12/0	21/0	14/0	37/0	56/66	54/66	75/66	100/100	91/100	92/100
4×10^5	5/0	0/0	42/0	35/0	25/0	37/0	75/100	74/100	87/66	96/100
4×10^4	12/0	0/0	4/0	17/0	17/0	40/0	21/0	50/33	58/66	70/100
4×10^3	9/0	0/0	17/0	12/0	40/0	5/0	24/0	30/0	48/33	12/66
4×10^2	8/0	4/0	0/0	0/0	0/0	12/0	12/0	0/0	0/0	21/0

Pozn.: V čitateli uvedeno průměrné procento izolací červenkových zárodků z orgánů 3 myší, v jmenovateli procento imunních myší.

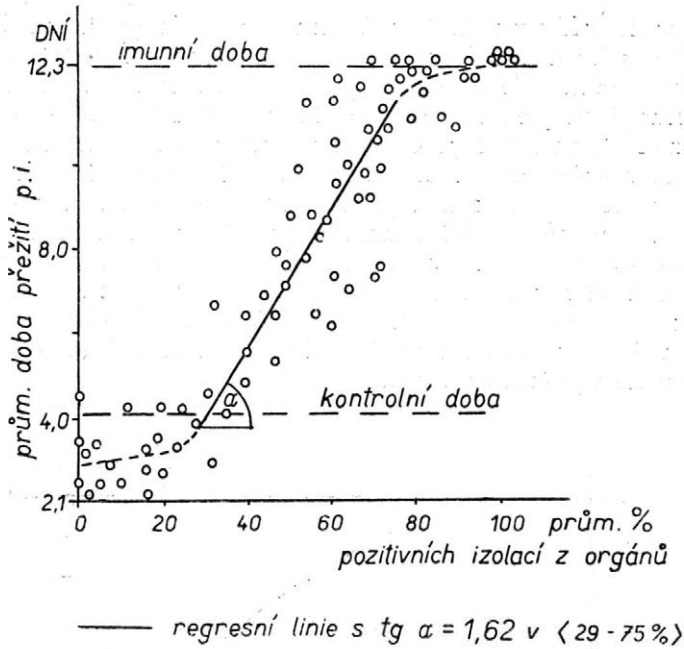
U myší infikovaných 1. a 2. den *p. v.* byla průměrná doba přežití kratší než u kontrolních, nevakcinovaných myší (kontrolní doba). Úplná chráněnost myší proti infekci byla v jednotlivých pokusech dosažena na 7. až 9. den *p. v.*; průměrná doba přežití se však počínaje 3. dnem *p. v.*, kdy byla stejná jako doba kontrolní, postupně prodlužovala. Infekci, uskutečněnou 6. den *p. v.* přežívaly myši v průměru o 4 dny déle než myši kontrolní. Toto prodloužení průměrné doby přežití však ovlivňuje skutečnost, že již 4. den *p. v.* bylo určité procento myší vůči infekci plně imunních (gr. 1). Infekci vykonanou 4. den *p. v.* přežilo celkově 10 % myší, na 6. den bylo proti infekci chráněno již téměř 40 %, na 7. den více než 80 % myší (v některých pokusech i 100 %) a na 9. den všechny myši ve všech pokusech. Většina (90—100 %) myší zůstala imunní i za 6 měsíců *p. v.*, přestože v době mezi 1. a 6. měsícem zřetelně klesal počet zárodků ve všech orgánech.



Gr. 1. Vývoj a trvání imunity a disperze červenkových zárodků do organismu myší po vakcinaci kmenem WR 2

Výsledky dosažené v uvedených pokusech nasvědčovaly tomu, že v prvních dnech po vakcinaci se imunita vyvíjí do jisté míry paralelně s disperzí zárodků do organismu myší. K ověření existence závislosti těchto dvou pochodů jsme uspořádali pokusy tak, aby k disperzi zárodků do organismu došlo pokud možno v různou dobu po inokulaci vakcíny. Očkovali jsme proto skupiny po 56—60 myší různými ředěními kultury (tab. III). V průběhu 10 dní *p. v.* jsme usmrtili každý den po 3 myších z každé skupiny a další 3 myši podrobili vyvolávající infekci. U usmrcených myší jsme zjišťovali přítomnost červenkových zárodků v plicích, slezině, ledvině, játrech, kostní dřeni, svalu a močovém měchýři. Dosažené výsledky shrnuje tab. III. Při inokulaci 4×10^6 ž. z. zárodky byly přítomny ve většině orgánů za 5 dní, po podání 4×10^4 ž. z. až za 9 dní, zatímco po podání 4×10^2 ž. z. byla většina orgánů do 10 dní zárodků prostá. Odolnost chránící nejméně 2 ze 3 očkovaných myší se vyvinula při inokulaci

Gr. 2. Závislost vývoje imunity během 10 dní po vakcinaci myší kmenem WR 2 na disperzi zárodků do organismu.
Pozn.: Shoda průměrné doby přežití s imunní dobou značí imunitu všech myší v sledované skupině.
Kontrolní doba: Průměrná doba přežití infekce u kontrolních, nevakcinovaných myší



zárodků 4 X 10^8 šestý, při inokulaci 4 X 10^6 a 4 X 10^5 pátý resp. sedmý a při inokulaci 4 X 10^4 a 4 X 10^3 až devátý resp. desátý den *p. v.* Všechny myši, které dostaly 4 X 10^2 zárodků, vyvolávající infekci podlehly. Výsledky vyvolávající infekce jsme mimo to přepočítali na průměrnou dobu přežití, již spolu s výsledky ostatních pokusů uvedených v této práci, jsme zanesli do gr. 2. Pokusili jsme se v něm o vyjádření závislosti vývoje imunity do 10 dní *p. v.* na rozšíření červenkových zárodků v organismu myší. Na osu x jsme vynášeli procenta pozitivních izolací v jednotlivých skupinách myší, na osu y průměrnou dobu přežití infekce, zjištěnou u druhé poloviny myší téže skupiny. Hodnoty vynesené do grafu vykazovaly v intervalu 29—75 % orgánů s pozitivní izolací lineární závislost, již bylo možno matematicky vyjádřit koeficientem lineární regrese 1,62. Současně se ukázalo, že v čase, kdy jsme zárodky nacházeli v méně než 30 % vyšetřovaných orgánů, byla průměrná doba přežívání infekce kratší u vakcinovaných než u kontrolních myší.

V době do 1 měsíce *p. v.* jsme z orgánů izolovali převážně S formy červenkových zárodků. Později převažovaly stále více R formy, transformující se však již po 2 pasážích na KA na čisté S formy.

DISKUSE

Výsledky našich pokusů dokazují, že předpokladem pro vývoj imunity po vakcinaci myší kmenem WR 2 je pomnožení zárodků v organismu očkovanců. Po inokulaci dostatečné dávky vakciny byly zárodky zjištěny, s výjimkou mozku, ve všech vyšetřovaných orgánech. Rychlost disperze do jednotlivých orgánů byla však menší než v analogických pokusech s tímtéž kmenem rumunských (Isopescu a spol. 1958) resp. s kmenem Chiran japonských (Tajima

a spol 1957) autorů. Rychlost disperze i nástup imunity byla závislá na počtu inokulovaných zárodků; po inokulaci malého počtu zárodků jsme pozorovali opoždění jejich disperze do většiny orgánů i vývoje imunity v porovnání s použitím velkého inokula. Pokles pozitivních izolací z jednotlivých orgánů v prvních 2—3 dnech po aplikaci malého počtu zárodků lze vysvětlit adaptací mikro- na podmínky makroorganismu, anebo obrannou reakcí makroorganismu. Toto pozorování je v souhlasu s výsledky kvantitativních studií Kuramasu a spol. (1963) s kmenem Chiran. Na rozdíl od výsledků Isopescu (1958) jsme dokazovali červenkové zárodky v některých orgánech, zvláště slezině, ledvině a kostní dřeni, podstatně delší dobu. Stálá klesající tendence a nízký počet pozitivních záchytů v 6. měsíci *p. v.* však poukazují na to, že pravděpodobně ani v těchto orgánech nepřežívá kmen WR 2 pravidelně 10 měsíců *p. v.*, jak bylo zjištěno u kmene Chiran (Kuramasu a spol. 1963).

Frekvence výskytu potvrdila predisposici některých orgánů, zvláště sleziny, ledvin a kostní dřeně pro usídlení červenkových baktérií. Jde o orgány, které Andreev (1950) a Spears (1954) považují za nejvhodnější pro zdařilou izolaci zárodků červenky vepřů. Tato predispozice se projevovala jak včasností pozitivních izolací, tak i dlouhodobou perzistencí bakterií v uvedených orgánech. Nepotvrdily se však údaje o častém nálezu červenkových zárodků v močovém měchýři (Isopescu a spol. 1958). Rychlé ubývání zárodků z plic, pozorované rovněž Isopescem a spol. (1958), souvisí pravděpodobně s nadbytkem kyslíku v plicní tkáni, který nepříznivě působí na mikroaerofilní červenkovou tyčinku.

Při sledování vývoje imunity se nám osvědčil propočet průměrné doby přežití podle Balčeva (1961) více, než běžně užívaný výpočet procenta imunních zvířat. Umožnil zhodnotit výsledky v období neúplné imunity i při nestejném počtu pokusných zvířat v jednotlivých skupinách. Rychlejší průběh onemocnění u myší, infikovaných v prvních 2 dnech *p. v.* poukazuje na to, že myši stejně jako prasata (Gheorgiu a spol. 1958) jsou v časném stádiu imunogeneze sensibilizovány. Propočet průměrné doby přežití také ukázal, že vliv vakcinace se pozitivně projevuje již za 48 a 72 hod. zřetelným prodloužením inkubační doby. Nemůžeme se však vyjádřit, zda prodloužení inkubační doby u myší infikovaných za 72 hodin *p. v.* a přežití 10 % myší infikovaných 96 hodin *p. v.* je výsledkem inhibice multiplikace viruletních zárodků ve smyslu interference nebo projevem časného stadia imunity. V našich pokusech nastupovala imunita v průměru o 1—2 dny později než uvádí Gheorghiu a spol. (1958).

Abychom zjistili závislost vývoje imunity na distribuci a persistenci červenkových zárodků v organismu myší, porovnávali jsme navzájem procenta izolací z jednotlivých orgánů i celkové průměry s průměrnou dobou přežití, případně procentem imunních myší. Určitou shodu jsme pozorovali mezi nálezem zárodků ve slezině a procentem imunních myší. Průkaznější výsledky jsme obdrželi při porovnání celkových průměrných distribucí zárodků ve všech orgánech jednotlivých skupin myší s průměrnou dobou přežití. Ukázalo se, že vývoj imunity probíhá v prvních 10 dnech *p. v.* v závislosti na průměrné disperzi zárodků do celého organismu, k níž dochází teprve po rozmnožení zárodků v orgánech RES v období 2—6 dní *p. v.* Nástup úplné chráněnosti předpokládá přítomnost červenkových zárodků v nejméně 80 % všech orgánů. Je však potřebné dodat, že zjištěná lineární závislost obou sledovaných veličin (průměrných a souhrnných) neznamená současně závislost jednotlivých dílčích hodnot; např. závislost

vývoje imunity na disperzi zárodků do svalů nebo ledvin by měla, pokud by ji bylo možné z výsledků našich pokusů matematicky vyjádřit, značně odlišný charakter.

V době mezi 1. a 6. měsícem *p. v.* se závislost mezi perzistencí zárodků v orgánech a trváním imunity nezjistila. Výskyt červenkových zárodků postupem času ve všech orgánech klesá, imunita však zůstává zachována. Dlouhodobá stimulace červenkovými zárodky perzistujícími po několik měsíců v orgánech RES, zanechává zřejmě i po jejich vymizení makroorganismus ve stavu přetrvávající imunity, která ani po 6 měsících (podle Kuramasu do 10 měsíců) nejeví výraznou klesající tendenci.

Zjištění převahy R nad S formami červenkových zárodků při izolacích za jeden a více měsíců *p. v.* i možnosti jejich transformace na S formy pasážemi na umělých půdách jsou shodná s údaji Kuramasu a spol. (1963). Na rozdíl od citovaných autorů vykazovalo téměř 50 % transformovaných S kultur přibližně stejnou imunogenitu jako výchozí kultura (Žák 1964).

SOUHRN

Po *s. c.* aplikaci živé červenkové vakciny z kmene WR 2 myším se rozšíří zárodky do celého organismu s výjimkou mozku. U většiny myší mohou být izolovány ze srdce, sleziny, jater a kostní dřeni již 4. den *p. v.*, pak postupně z ledvin, svalů, plic a močového měchýře. Zárodky perzistují nejkratší dobu v plicích a v místě inokulace (10—15 dní); ještě za 6 měsíců *p. v.* se u 30 až 45 % myší dokazují v slezině, ledvinách a kostní dřeni. V kulturách izolovaných z orgánů 1—6 měsíců *p. v.* nabývají převahu R formy zárodků nad S formami. Po 2 pasážích na krevních agarových plotnách získaly znovu čistý S charakter.

Imunita u očkovaných myší nastupuje za 7—9 dní. Po dvoudenním období sensibilizace, projevujícím se kratší průměrnou dobou přežití infekce než u kontrolních nevakcinovaných myší, vyvíjí se imunita souběžně s disperzí zárodků do organismu; mezi vývojem imunity, vyjádřeném průměrnou dobou přežití infekce a průměrnou disperzí zárodků do organismu bylo až do 10 dní *p. v.* možno zjistit lineární závislost. Při opoždění disperze po aplikaci malého počtu živých zárodků se opozdil i nástup imunity. Mezi perzistencí zárodků v orgánech v době 1—6 měsíců *p. v.* a trváním imunity nebyla podobná závislost dokázána.

Došlo dne 25. 11. 1964

Literatura

1. Andreev P. N.: 1950, cit. podle Isopescu. — 2. Arsov R.: Naučni trudove Sofija 10, 293, 1962. — 3. Balčev M.: Izv. Central. vet. Inst. zar. parazit. bolezni Sofija 1, 23, 1961. — 4. Gheorghiu I., Albu T., Stanca M., Eustafievici O.: Lucr. Sti. Inst. Ser. Vac. Past. Buc. 3, 129, 1958. — 5. Goertler V., Hubrig T.: Zbl. Vet. Med. 7, 364, 1960. — 6. Isopescu I., Busnita V., Mindras T.: Lucr. Sti. Inst. Ser. Vac. Past. Buc. 3, 63, 1958. — 7. Kucsera Gy.: Acta vet. Hung. 8, 129, 1958. — 8. Kucsera Gy.: MÁL 16, 409, 1961. — 9. Kuramasu S., Imamura Y., Sameshima T., Tajima Y.: Zbl. Vet. Med. 10, 362, 1963. — 10. Murase N., Suzuki K., Nakahara T., Araumi W., Hashimoto K.: Jap. J. Vet. Sci. 21, 113, 1959. — 11. Saxer E.: Schweiz. Arch. Thlk. 96, 151, 1954.

— 12. Spears H. N.: J. Comp. Pathol. Therap. 64, 152, 1954. — 13. Tacu D., Burducea O., Mindras T.: Lucr. Sti. Inst. Ser. Vac. Past. Buc. 5, 267, 1961. — 14. Tacu D., Isopescu I., Burducea O.: Lucr. Sti. Inst. Ser. Vac. Past. Buc. 3, 63, 1958. — 15. Tajima Y., Kuramasu S., Tajima M.: Zbl. Vet. Med. 4, 1, 1957. — 16. Žák O.: Referát přednesený na Vědecké konferenci v Nitře, 25. IX. 1964.

Устойчивость зародышей рожи штамма WR 2 в органах мышей и развитие иммунитета

После подкожного впрыскивания живой вакцины рожи штамма WR 2 мышам зародыши распространяются по всему организму за исключением мозга. У большинства мышей они могут быть изолированы из сердца, селезенки, печени и костного мозга уже на 4 день после вакцинации, затем постепенно из почек, мышц, легких и мочевого пузыря. Зародыши сохраняются самый короткий срок в легких и в месте прививки (10—15 дней); еще спустя 6 месяцев после вакцинации их можно установить в селезенке, почках и костном мозгу у 30—45 % мышей. В изолированных из органов культурах спустя 1—6 месяцев после вакцинации R формы зародышей начинают преобладать над S формами. После 2 пассажей на кровяных агаровых плитах они снова приобрели чистый S характер.

Иммунитет у вакцинированных мышей наступает спустя 7—9 дней. После двухдневного периода сенсибилизации, проявляющегося более коротким средним периодом выживания после инфекции, чем у контрольных невакцинированных мышей, иммунитет развивается параллельно с дисперсией зародышей в организме; между развитием иммунитета, выраженным средним периодом выживания после инфекции, и средней дисперсией зародышей в организме можно было установить линейную зависимость в пределах 10 дней после вакцинации. При запоздании дисперсии после введения небольшого числа живых зародышей запоздало и начало иммунитета. Между устойчивостью зародышей в органах в период 1—6 месяцев после вакцинации и продолжительностью иммунитета подобная зависимость не была доказана.

Persistence of the WR 2-Strain of the Germs of the Swine Erysipelas in the Organs of Mice, and the Development of Immunity

The germs spread into the whole body save the brain after the subcutaneous application of the live swine erysipelas vaccine of the WR 2-strain. The bacteria may be isolated from the heart, spleen, liver and bone-marrow of the majority of the mice as soon as the 4th day after the vaccination and then gradually from the kidneys, lungs and urinary bladder. The shortest period of the germs' persistence appears in the lungs and in the place of inoculation (10—15 days). As late as 6 months after the vaccination the germs can be proved in the spleen, kidneys and bone-marrow of the 30—45 p. c. of the mice. The R-forms of the bacteria predominate over the S-forms in the cultures isolated from the organs 1—6 months after the vaccination, but they become the pure S-forms again after two passages through the blood-agar plates.

The immunity in the vaccinated mice begins in 7—9 days and it develops paralelly with the dispersion of the bacteria into the organism following the two-days sensibilisation-period manifesting itself in the shorter surviving-time in comparison with the control, not vaccinated mice; there could be found out the linear relation up to the 10th day after the vaccination between the immunity development expressed by an average surviving-time after the infection and an average dispersion of the bacteria into the organism. With the delayed dispersion following the application of a small number of the live bacteria the commencement of the immunity was delayed, too. Such relation between the persistence of the bacteria in the organism during the first six months after the vaccination and the duration of the immunity could not be proved.

Die Persistenz der Rotlaufkeime des Stammes WR 2 in den Organen der Mäuse und die Entwicklung der Immunität

Nach einer subkutanen Applikation der lebendigen Rotlaufvakzine des Stammes WR 2 an Mäusen verbreiten sich die Keime im ganzen Organismus, mit Ausnahme des Gehirns. Bei der Mehrheit der Mäuse können die Keime aus dem Herz, der Milz, der Leber und aus dem Knochenmark bereits am 4. Tag nach der Vakzination, sodann nach und nach aus den Nieren, Muskeln, der Lunge und aus der Harnblase isoliert werden. Die Keime persistieren die kürzeste Zeit in der Lunge und auf der Inokulationsstelle (10—15 Tage); noch nach 6 Monaten nach der Vakzination können sie bei 30—45% der Mäuse in der Milz, den Nieren und im Knochenmark nachgewiesen werden. In den aus den Organen 1—6 Monate nach der Vakzination isolierten Kulturen erreichen die R-Formen die Überhand über den S-Formen. Nach 2 Passagen auf Blut-Agarplatten gewannen sie von neuem einen reinen S-Charakter.

Die Immunität bei geimpften Mäusen tritt nach 7—9 Tagen ein. Nach einer 2tägigen Sensibilisierungsperiode, die sich durch eine kürzere Durchschnittszeit des Überlebens der Infektion als bei nichtvakzinierten Kontrolltieren äußert, entwickelt sich die Immunität paralell mit der Dispersion der Keime in den Organismus; zwischen der Entwicklung der Immunität, die durch die Durchschnittszeit des Überlebens der Infektion ausgedrückt wird, und der durchschnittlichen Dispersion der Keime in den Organismus konnte man bis 10 Tage nach der Vakzination eine lineare Abhängigkeit feststellen. Bei einer Verspätung der Dispersion nach Applikation einer geringen Anzahl lebendiger Keime verspätete sich auch das Eintreten der Immunität. Zwischen der Persistenz der Keime in den Organen im Zeitraum von 1—6 Monaten nach der Vakzination und dem Andauern der Immunität konnte eine ähnliche Abhängigkeit nicht nachgewiesen werden.

MVDr. Otokar Žák,
Vývojové odd. Biovety n. p., Nitra

CIMR J.
KAŠPAR F.

Metoda opakovaného odběru krve z *venae portae* u selat

Sledování rychlosti a množství, v jakém se vstřebávají aminokyseliny ze zkrmovaných bílkovitých krmiv u selat ve stáří 14—56 dní si vyžádalo propracování metody opakovaného odběru krve z *v. portae.*

Použití Londonovy kanyly, jak jí použili Hromadová s Ondrouchem (1962) k odběru krve z *v. cava caudalis,* není u selat možné, jednak pro malý průměr jmenované cévy, ztěžující její nabodnutí jehlou pro odběr, jednak pro obtížné odpreparování žíly vrátnice (v jejíž těsné blízkosti je *arteria hepatica propria,* mízní uzliny a nervová vlákna).

Po neúspěšných pokusech s extravazální kanylací *v. portae* bylo přistoupeno k pokusům zavést extravazální kanylu k místu, kde *v. portae* vúsťuje do jater a je v marginální jaterní tkáni rozšířena (dále *sinus v. portae*), avšak opět bezúspěšně.

Na základě získaných zkušeností jsme přistoupili k použití intravazální kanyly, zavedené do *sinu v. portae.* Vycházeli jsme z metody užité Arsachem a Rerátem (1962), kteří zaváděli kanylu do *v. gastroduodenalis* a *v. portae* u větších prasat a z konzultací s prim. Hejhalem z Ústavu experimentální chirurgie v Praze—Krči. U selat však tato metoda nebyla bez podstatnějších změn vhodná pro velmi malý průměr uvedených cév.

METODIKA

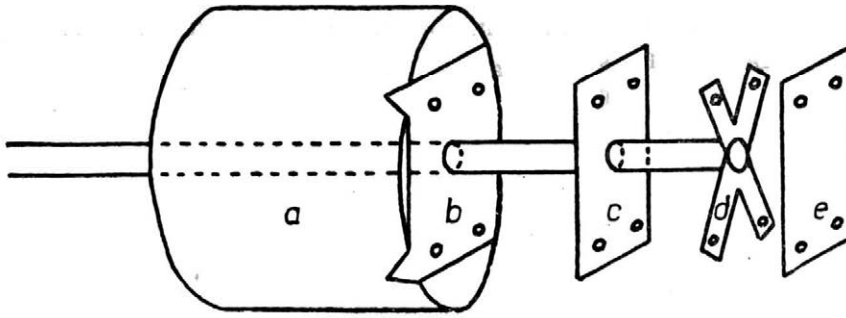
PŘÍPRAVA KANYLY

Ke zhotovení kanyly používáme polyetylenových hadiček o průměru 4 mm a 1 mm. Na silnější hadičku se příčně navaří terčík, který ji neprodyšně uzavírá. Navaření se provede tak, že se hadička na jednom konci podélně rozřízne dvěma na sebe kolmými řezy (v délce 1,5—2 cm), provlékne otvorem (nesmí být větší než průměr hadičky) ve čtverečku z polyetylenu (připraven z hadičky o větším průměru). Vzniklá ramena po rozříznutí hadičky se rozloží do kříže, překryjí dalším čtverečkem z polyetylenu. Vše se čtyřmi špendlíky (prochází přes ramena hadičky) připevní na větší korkovou zátku opatřenou hliníkovým plechem (hadička je provlečena otvorem v zátce) (viz obr. 1). Svaření polyetylenu se provede jeho přitlačením pomocí korkové zátky na přiměřeně zahřátou keramickou plošku (např. k obkládací dlaždici). Délku hadičky upravíme na 10—12 cm a navařenou plochu v kruh o průměru 10—12 mm, do něhož vypálíme 4 otvory pro fixaci kanyly u jater a otvor pro protažení tenké hadičky. Tenkou hadičku svaříme pomocí nahřátého ocelového drátku v jeden celek s výše popsaným dílem, a to svárem v místě jejího vyústění v kruhovém terčíku a v místě vyústění ze silnější hadičky. Svaření je třeba provést pečlivě, aby nedošlo k pozdějšímu rozpojení. Délku slabé hadičky upravíme tak, že za ploškou přečnívá 1—1,5 cm a silnější hadičku přesahuje asi 5 cm.

Před použitím kanylu sterilizujeme varem spolu s chirurgickými nástroji a před zavedením znovu ověříme její průchodnost.

ZNECITLIVĚNÍ

Operace se provádí v celkové úplné anestesi v pravé boční poloze. K narkóze se používá 5% roztoku Thiopentalu Spofa v dávkách 15—20 mg/kg ž. v. Selata (o váze 4—6 kg) snášela Thiopental dobře a spánek trvá 2—3 hodiny.



a) korková zátka,
b) hliníkový plech,
c) čtvereček z polyethylenu s otvorem
d) polyethylenová hadička
e) krycí čtvereček z polyethylenu

Obr. 1.

VLASTNÍ OPERACE

Po přípravě operačního pole je sele zarouškováno. Laparotomii provádíme řezem vedeným rovnoběžně s posledním žebrem ve vzdálenosti jednoho prstu. Řez začíná asi 2 cm od žebrových výběžků bederních obratlů, prochází za *cartilago xiphoidea* a končí 1 cm za *linea alba* na opačné straně. Svaly, fascie a peritoneum preparovány tupě, slabé krvácení stavěno peany, silnější cévy ligovány. Tenká a tlustá střeva se opatrně vyjmou a uloží ve sterilní gáze. Během operace je nutné jejich zvlhčování vlažným sterilním fyziologickým roztokem. Rety rány roztahuje pomocník tupými háky kraniálním a kaudálním směrem. Žaludek je manuálně odtahován kaudálně od jater.

Sinus v. portae asi 1 cm po jejím vůstění do jater je nabodnut slabou injekční jehlou a zjištěna krvácivost. Poté se zavede do sinu šikmo proti toku krve silnější injekční jehla č. 15 se zkráceným hrotem, aby nebyla zbytečně zraněna intima protilehlé stěny. O přítomnosti jehly v luminu *v. portae* svědčí spontánní odtok tmavé venózní krve jehlou. Po jejím vytažení se otvorem po jehle zavede anatomickou pinzetou slabý konec kanyly, dlouhý 1—1,5 cm, sestřižený v úhlu asi 45⁰. Ve slabé hadičce jsme měli pro snadnější zavedení kovový mandrin z ureterálního katetru „ch 3". Než je kanyla fixována, vyzkouší se její funkce nasátím krve z vnějšího konce injekční stříkačkou se slabou jehlou, zavedenou do slabé hadičky. Po nasátí se krev z kanyly vytlačí zpět antikoagulačním roztokem, kterým se kanyla vyplní a uzavře kovovým uzávěrem. Jako antikoagulantia jsme použili 3,8% roztoku *Natrii citrici pro injectione* (Spofa).

Fixaci kanyly provádíme přišitím navařeného terče dvojitým silonovým vláknem č. 1c třemi až čtyřmi uzlíkovými stehy k povrchové jaterní tkáni v okolí sinu. K vytržení takto fixované kanyly nedošlo v žádném případě. Při relaparotomii 14tý den po operaci bylo zjištěno dokonalé vhojení kanyly, jejíž vyjmutí bylo možné jen pomocí obtížné ostré preparace.

Kanyla je přiložena k viscerální ploše jater, volně vyvedena suturou v mediální rovině asi na 1 prst za *cartilago xiphoidea*, ohnuta kaudálním směrem a přichycena ke kůži jedním stehem dvojitým silonem.

Do dutiny břišní aplikujeme před uzavřením 600 000 j. penicilínu, střeva reponujeme do původní polohy. Peritoneum uzavíráme slabým catgutem č. 2a stehem napořád, svaly ve dvou etážích napořád catgutem č. 5c, kůži hustým uzlíkovým stehem hedvábím č. 7. Suturu všech vrstev je nutné provést pečlivě, neboť u tak rozsáhlého řezu je nebezpečí vzniku hernie. Pod kožní suturu zavádíme gázový drén napuštěný desinfekční mastí a ponecháváme pokud rána secernuje.

Suturu kryjeme plastickým obvazem Akutol sprey.

VLASTNÍ ODBĚR KRVE Z KANYLY

Konec kanyly s uzávěrem se dezinfikuje. Po vyjmutí uzávěru a zasunutí jehly do slabé trubičky se kanyla propláchne nepatrným množstvím roztoku *Natr. citr.* Na jehlu se nasadí prázdná stříkačka a odsaje se potřebné množství krve. Potom se opět kanyla naplní citrátem, na konci zaskřipne peanem nebo pinzetou (aby citrát nevytlačila krev) a uzavře

pevně kovovým uzávěrem. Někdy se vytvoří ve vnitřním konci kanyly trombus a v tom případě je třeba obnovit průchodnost silonovým nebo kovovým mandrinem.

S odběry je možno započít ihned po operaci (kontrolní odběr provádíme dokud je ještě zvíře v narkóze) a provádět je v libovolných intervalech. Podle našeho názoru mají na zábranu vzniku trombu v kanyle dobrý vliv častější odběry krve.

Po ukončení odběrového období likvidujeme kanyly tak, že volný zevní konec kanyly opatrně povytáhneme, dezinfikujeme a ustřihneme těsně u kůže. Zbývající část kanyly fixovaná na játrech se sama vtáhne do dutiny břišní. Píštěl po kanyle zakrytá mastí se hojí bez defektu. Pokud se jedná o hojení rozsáhlé sutury na stěně břišní docházelo, až na malé výjimky, k hojení *per primam intentionem.* Selata bývají převáděna do žíru, kde dorůstají do jatečné váhy bez komplikací.

Popsaným způsobem jsme operovali 9 selat ve stáří 14—30 dnů. Kanyly byly v průměru použitelné 16 dnů.

SOUHRN

V práci je popsána metodika zavedení intravazální kanyly do *venae portae,* umožňující opakované odběry krve u selat ve stáří 14—56 dní.

Došlo dne 19. 11. 1964

Literatura

Arsac M., Rérat A. (1962): Technique de fistulation de la veine portae chez le porc. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 2 (4), 335-343. — Hromadová Z., Ondrouch A. (1962): K problému dlouhodobého odběru krve u prasat. Vědecké práce ÚVÚŽV v Uhříněvsi, V. 149-161.

Метод повторного взятия крови из воротной вены у поросят

В работе описывается методика введения интравазальной канюли в воротную вену, дающую возможность повторного взятия крови у поросят в возрасте 14—56 дней.

The Method of the Repeated Blood-taking from the Vena Portae in Suckling Pigs

In this work the technique of inserting the intravasal tubule into vena portae enabling repeated blood-taking in suckling pigs of the age of 14 to 56 days is described.

Methode der wiederholten Blutentnahme aus den Venae portae bei Ferkeln

In der Arbeit wird die Methodik der Einführung einer intravasalen Kanüle in die Venae portae, durch welche wiederholte Blutentnahmen bei Ferkeln im Alter von 14—53 Tagen ermöglicht werden, beschrieben.

MVDr. Jiří Cimr,

Inž. František Kašpar, CSc.,

Výzkumný ústav pro chov prasat,
Kostelec nad Orlicí

OBSAH

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENT

INHALT

TABLE DES MATIÈRES

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS - ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ul. 14, Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 2, provozovna 22, Legerova 22, Praha 2. A-10*51097