

VĚDECKÝ ČASOPIS

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

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

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝCH
INFORMACÍ MZLVH

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada

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

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 1965

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

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

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

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

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

■ První rok ověřovacího provozu ve velkokapacitních teletnicích ukázal mimo jiná také na hlavní negativní vlivy působící na zdravotní stav odchovávaných telat. Přesto, že evidence i klinická a laboratorní vyšetření nebyla pochopitelně v prvním roce provozu natolik dokonalá, aby bylo možné uskutečnit detailní a hluboký rozbor příčin zdravotních poruch, které měly za následek předčasné vyřazení domníváme se, že uvedený rozbor může posloužit jak při další orientaci výzkumu chroch telat, tak i při praktickém řešení výstavby a volby technologie krmení v dalších odchovných zařízeních pro telata.

LITERARNÍ PŘEHLED

K vlastní tematice zdravotní problematiky při odchovu telat v teletnicích o velké kapacitě se nepodařilo získat v dostupných pramenech přímé literární údaje.

U nás jsme již po řadu let pociťovali nedostatek vhodných odchoven pro telata v socialistických velkochovech [Hlaváč (1)], který jistě také ovlivnil nepříznivý vzrůst úhynu telat ze 4,9 % z narozených v roce 1955 až po 6,0 % v roce 1963. Během hledání ekonomicky výhodných forem odchoven jsme došli až k myšlence vybudování velkokapacitních teletníků (VKT), které by sloužily odchovu při otevřeném obratu stáda ve svozně oblasti [Kudlička (2)].

Při ustájení telat se dosud obecně doporučovalo a doporučuje individuální ustájení po dobu 4 až 8 týdnů v počátečním poporodním období (viz např. anonymus (3), Goersch (4), Hoffmeyer (5), Dannenberg (6), Jungk (7), Spindler (8) aj.). Opačných názorů jsme v literatuře nenalezli.

V odchovných telat do 6 měsíců se doporučuje vzdušné, světlé a suché ustájení s častým, pokud možno mechanizovaným odklizením mrvy [Mann (9)], a vzorná čistota je pokládána Marshalllem (10) za nejdůležitější zásadu. Proto např. Ober (11), Sainsbury (12), Hayward (13) aj. doporučují stáje s roštovým stáním, které snižuje možnost odparu vody a amoniaku z výkalů.

Za závažný hygienický nedostatek musíme považovat, že dosud není popsáno, jak se osvědčilo ustájení zvířat na hlubokých podestýlkách ve stavebně zcela uzavřených prostorech. Při použití hlubokých podestýlek v odchovu telat šlo dosud vždy o stáje otevřené, polootevřené nebo lehké stavby ze dřeva [viz např. Lenschow (14), Murley (15), Ivanov (16), Hebermehl (17), Georgiev (18) aj.].

Ve VKT bylo poprvé v širším měřítku zvoleno napájení zakvašeným egalizovaným mlékem, které na základě svých pokusů doporučují Hladík (19), Hladík a Najman (20), Najman a Hladík (21) a v praxi zkoušeli Plaček (22) a Tvrdouš (23). Rouš (24) však uvádí, že mléko zakvašené smetanovou kulturou, jak je používáno v našich VKT, má jen nízké dietetické účinky, musí být skladováno při nízkých teplotách, aby dále nezakysávalo, a je poměrně málo odolné proti sekundární infekci. Naopak Koubek (25) uvádí snadnější skladovatelnost i při normální teplotě.

Praktické zkušenosti, stejně jako literární údaje, zdůrazňují nutnost postupného návyku telat na příjem zakvašeného mléka s přídavkem Galacidu (Tvrdouš 23).

Zda skutečně působí zakvašené mléko dieteticky příznivěji a které složky jsou při tom účinné, není v literatuře jednoznačně zodpovězeno. Například Wing aj. (26) se domnívají, že nedostatečné srážení předem okyseleného mléka spíše podporuje vznik průjmů. Owen a kol. (27) však nepozorovali vzrůst průjmu při podávání mléka okyseleného citrátem sodným, a tedy odolného proti typickému srážení. Netke a kol. (28) neprokázali u menšího počtu telat žádnou změnu ve výskytu průjmů ani po okyselování (na pH 5,0 kyselinou solnou), ani po alkalizování (na pH 8,0 louhem sodným). Pouden a Hibbs (29) zjistili, že u poloviny telat, která sledovali, byly průjmy časově shodné s rychlejším růstem obsahu předžaludků u telat mezi 7. až 13. dnem života.

Jako jedinou složku mléka, která působila statisticky průkazně proti vzniku průjmů, uvádějí Owen a spol. (27) mléčný tuk v koncentraci 3 %. Odstředěné mléko výskyt průjmů zvyšuje. To je v souladu také s názorem Engelharda a Thieleho (30), kteří použití mléka se sníženou tučností pokládají za hospodárné, ale za provozně a krmivářsky náročnější, protože vyžaduje zvýšenou péči a bezpodmínečné zkrmování plnohodnotných doplňkových krmiv.

MATERIÁL A METODIKA

Velkokapacitní teletník v Těchlovicích je postaven na celkovou kapacitu asi 1800 kusů, po 320–340 telatech v jednotlivých pavilónech. Telata jsou po příchodu nejprve ustájována ve skupinách po 10–15 kusech a po měsíci stáří se jejich počet v kotcích zdvojnásobí, popř. i ještě více zmnoží. V prvním roce provozu nebyly v objektu žádné individuální kotce ani izolační stáj. Za karanténu má sloužit příjmový pavilón, ve kterém jsou telata umístěna v kotcích s rovnou asfaltovou podlahou denně přistýlanou, z níž se podestýlka vyklízí při přesunu telat z kotce, tj. asi za 3 týdny. V ostatních pavilónech je hluboká podestýlka vyklizena několikrát ročně. Denně se čistí od výkalů pevné stání u žlabů. K větrání sloužila především okna a netěsnosti stavební, částečně i ručně ovládané ventilátory o nedostatečné kapacitě ve světlíku a v příjmovém pavilónu i v obvodových stěnách. V posledních dvou měsících sledování bylo v příjmovém pavilónu částečně v provozu zařízení pro přívod predehřátého vzduchu o malé účinnosti. Napájení telat během mléčné výživy se provádělo z miskových žlabů.

Teletník v Trutnově byl vybudován jen zčásti a ve sledovaném období mohl sloužit pro ustájení asi 600–800 telat. Příjmové oddělení bylo v adaptované budově a bylo vybaveno pro telata v prvních 14 dnech pobytu individuálními klecemi s hustou laťovou podlahou, z níž byla denně vyklizena podestýlka. Pros-

tor pod klecemi byl však čistěn až při přesunu telete. Část příjmového oddělení pro starší telata a všechna další oddělení měla kotce s hlubokou podestýlkou pro skupiny po 14 kusech. V době, kdy telata dostávala rostlinnou výživu, byly skupiny dvoj- i vícenásobné. Větralo se pouze malými okny ve světlíku a stavebními netěsnostmi. Naftové topení pro přehřívání vzduchu v příjmovém oddělení a kamnové přehřívání vzduchu přiváděného z prostoru střední části (krmírny) v ostatních odděleních bylo v zimě zapojováno nepravidelně. Nepravidelný provoz naftového topení způsoboval zejména nežádoucí prudké výkyvy v teplotních a vlhkostních poměrech v příjmovém oddělení. Telata byla napájena z plechových misek. V oddělení mléčné výživy chodila telata k napájení do střední oddělené části s krmírnou pro skupinu 14 telat, kde měla na vypití poloviční denní dávky (asi 3,5 l) čas asi 1–2 minuty.

V obou teletnicích byla telata zpočátku napájena zakvašeným egalizovaným, resp. odstředěným mlékem. Od září 1963 se přešlo v Trutnově pro vysoké procento ztrát telat zaživacími poruchami na napájení sladkým mlékem. K mléku se v obou teletnicích přidával Galacid (20 g na den). Přikrmování jadrnou směsí se dělo postupně zvyšovanými dávkami jednoho druhu směsi již od přijímacího oddělení. Podobně tomu bylo u sena. Přechod telat z krmení v profylaktoriích na krmení v teletnicích byl náhlý, ostatní přechody v teletníku byly postupné. Kvalita krmiv nebyla vždy bezvadná.

Údaje uváděné a propočítávané pro toto sdělení byly zpracovány na základě evidence vedené ve VKT, na základě nálezů z jatek a veterinárních zařízení a záznamů ze státních statků. Všem těmto závodům děkujeme touto cestou za ochotné podání potřebných údajů.

Rozborem byl zjišťován vliv provozu VKT na ztráty v okresech, příčiny vyřazování telat, roční změny ve ztrátách, věkové rozdělení ztrát a vliv stáří telat při příjmu na další vyřazování telat během odchovu.

VÝSLEDKY

Vliv provozu VKT na ztráty v okresech

V prvním roce provozu bylo do VKT Těchlovice přijato a odchováno 20,3 % ze všech narozených telat Sdružení státních statků Tachov a do VKT Trutnov 43,5 % z narozených telat ze státních statků okresu Trutnov, aniž by došlo k podstatnější změně v rozsahu porážek a úhynu telat v souhrnu uvedených státních statků proti dřívějšímu (tab. I).

Celkový rozsah vyřazování telat ve VKT Těchlovice a Trutnov za první rok provozu je shrnut v tabulce II. Procento vyřazovaných telat je dosti vysoké, uvážíme-li, že jde o telata, která byla do teletníku přijata jako životaschopná ve stáří kolem 10–14 dnů, a že se vyřazování dělo jen na základě zdravotních poruch, nikoli z hledisek zootechnických. Z hlavních dodavatelských závodů v Tachově bylo přijato 52,4 % z narozených a v Trutnově 43,5 % z narozených.

Hlavní příčiny vyřazování telat

Do souhrnu příčin, pro něž byla telata vyřazována, byla zahrnuta telata nutně odporažená, konfiskovaná nebo uhynulá. Rozbor byl proveden na základě pitevních nálezů.

I. Přehled ztrát telat na státních statcích okresu Tachov a Trutnov
(Platí pro telata od narození do 3 měsíců stáří)

Období	Počet živě narozených	Odporaženo a nutně odporaženo		Konfiskováno a uhynulo		Celkem ztráty telat do 3 měsíců	
		kusů	% z naroz.	kusů	% z naroz.	kusů	% z naroz.
St. statky okresu Tachov							
1961	12 566	—	—	1297	10,3	—	—
1962	14 233	2122	14,9	1747	12,3	3869	27,2
1963	13 403	2932	21,9	1849	13,8	4781	35,7
1. 4. 63 — 31. 3. 64	14 370	2162	15,0	1949	13,6	4111	28,6
St. statky okresu Trutnov							
1961	1 747	—	—	136	7,8	—	—
1962	2 640	757	28,7	181	6,8	938	35,5
1963	3 637	1086	29,9	226	6,2	1312	36,1
1. 4. 63 — 31. 3. 64	3 766	1100	29,2	235	6,3	1335	35,4

II. Celkový pohyb telat ve VKT Těchlovice a Trutnov za období od 1. 4. 1963 do 31. 3. 1964.

	Těchlovice		Trutnov	
	ks	%	ks	%
Do teletniku přijato	2917	100	1640	100
Do chovu po 6 měsících z přijatých telat předáno	662	22,7	502	30,6
Do chovu nebo žíru jinam předčasně předáno jako živa telata (včetně části tbc reagentů)	152	5,2	5	0,3
Na normalní porážku z různých zdravotních důvodů předáno (včetně části tbc reagentů)	55	1,9	117	7,1
Na nutnou porážku předáno	208	7,1	120	7,3
Bylo konfiskováno nebo uhynulo	145	5,0	50	3,0
Celkem vyraženo předčasně mrtvé	408	14,0	287	17,5
Celkem vyraženo předčasně jako mrtvé i živé	560	19,2	292	17,7

Ze souhrnu v tabulkách III a IV je zřejmé, že hlavním zdravotním problémem ve VKT při používané technologii jsou onemocnění zažívacího traktu. Na druhém místě jsou onemocnění, při nichž byly po porážce nebo pitvě zjišťovány patologické změny jak na zažívacím, tak i dýchacím traktu (označena jsou jako kombinovaná onemocnění) a dále onemocnění dýchacího traktu, která jsou zpravidla při větších koncentracích mláďat hlavním zdravotním problémem. Ostatní onemocnění nejsou z hlediska ztrát telat během odchovu ve VKT podstatná, což ovšem neznamená, že některá z nich — např. onemocnění kožní — nejsou významná z hlediska prevence a léčby, i když přímo nejsou příčinou ztrát.

Sezónnost ve vyřazování telat ve VKT zůstala v podstatě na dosavadní úrovni terénu a je dobře patrná z grafu na obr. 1, kde jsou zachyceny nutné porážky, konfiskáty a úhyny (bez tbc reagentů). Graf zachycuje relativní vyřazování telat vzhledem ke stavu posledního dne v měsíci.

Trutnovská špička v srpnu a září patří ještě především porážkám a konfiskátům se zažívacími poruchami, které byly důsledkem zkrmování nekvalitního zakvašeného mléka v létě 1963 (viz též tab. IV).

Věkové rozdělení ztrát

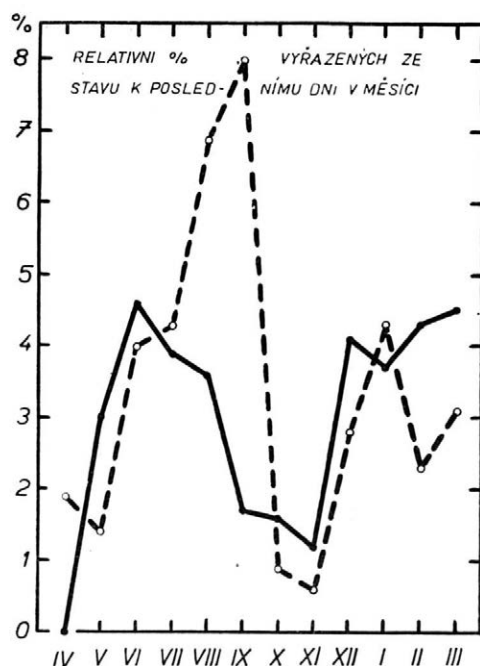
V obou VKT je příjmové oddělení hlavním dodavatelem telat pro nutné porážky a do kafilérií. Grafem na obr. 2 je znázorněno vyřazování telat podle délky pobytu v teletníku. Telata jsou shrnuta do skupin s rozmezím 10 dnů stáří

III. Dynamika ztrát podle měsíců a skupin chorob ve VKT Těchlovice (podle pitevního nálezu od 1. 4. 1963 do 31. 3. 1964).

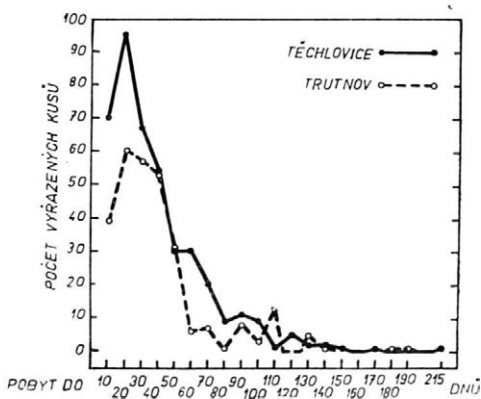
Měsíc	Onemocnění							Celkem
	plicní	střevní	kombin.	kožní	trauma- ta	jiná	ne- zjištěná	
1963 IV.	—	—	—	—	—	—	—	0
V.	—	3	—	—	—	—	3	6
VI.	—	12	1	—	1	—	2	16
VII.	1	15	—	1	—	1	4	22
VIII.	2	18	1	—	—	—	1	22
IX.	—	6	5	—	—	1	2	14
X.	7	2	—	1	1	—	5	16
XI.	5	8	1	—	—	—	—	14
XII.	6	13	15	—	—	9	8	51
1964 I.	1	9	31	—	1	3	2	47
II.	20	14	28	—	2	2	1	67
III.	40	4	27	—	—	2	5	78
Celkem kusů	82	104	109	2	5	18	33	353
%	23,2	29,5	30,9	0,6	1,4	5,1	9,3	100

IV. Dynamika ztrát podle měsíců a skupin chorob ve VKT Trutnov
(podle pitevního nálezu od 1. 4. 1963 do 31. 3. 1964).

Měsíc	Onemocnění							Celkem
	plicní	střevní	kombin.	kožní	trauma- ta	jiná	ne- zjištěná	
1963 IV.	—	3	—	—	—	—	—	3
V.	2	1	—	—	—	—	—	3
VI.	1	9	—	—	—	—	—	10
VII.	1	11	—	—	—	—	—	12
VIII.	—	22	—	—	—	—	—	22
IX.	—	30	1	1	—	—	—	32
X.	—	2	—	—	—	2	—	4
XI.	—	3	—	—	—	—	—	3
XII.	—	14	—	—	—	—	—	14
1964 I.	—	10	11	—	1	4	—	26
II.	—	6	6	—	2	1	—	15
III.	5	11	9	—	—	1	—	26
Celkem kusů	9	122	27	1	3	8	—	170
%	5,3	71,8	15,8	0,6	1,8	4,7	—	100



Graf 1. Měsíční kolísání nutných porážek a úhynů



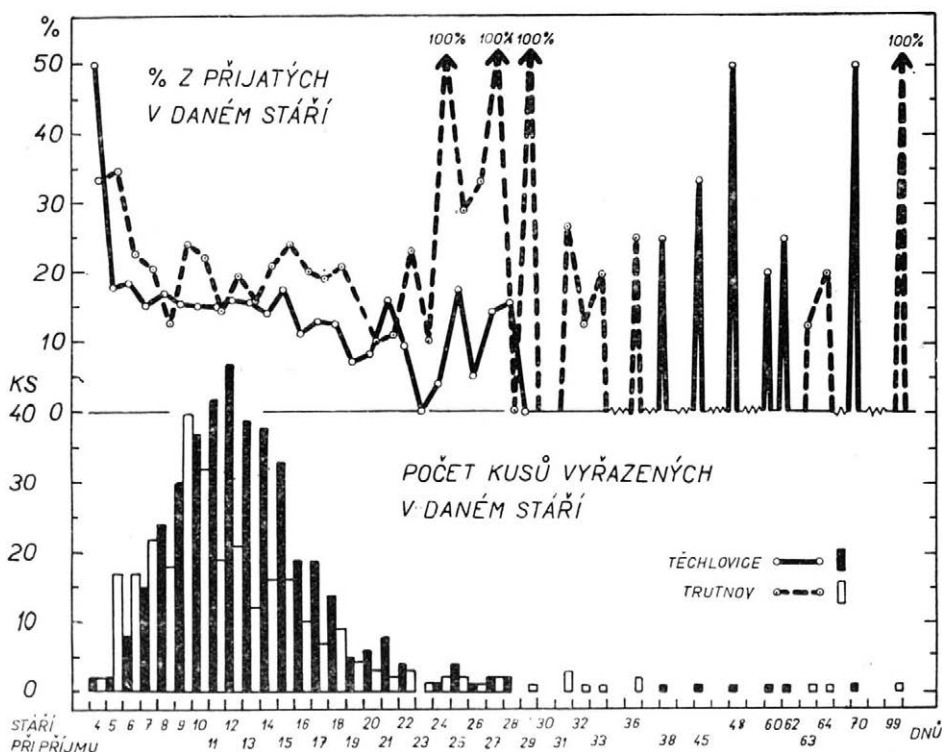
Graf 2. Vyřazování podle délky pobytu v telezníku

a graf je zpracován v absolutních číslech. Do 20 dnů po příjmu bylo vyřazeno v Těchlovicích 42 % a v Trutnově 40 % telat z celkového počtu všech předčasně odporažených nebo uhynulých.

Vliv stáří při příjmu na následovné vyřazování telat

Větší citlivost mláďat k onemocněním a větší ztráty v přijímacím oddělení nás vedly i ke snaze zjistit vliv věku, v němž jsou telata přijímána, na pozdější vyřazování. Situace je dobře zřejmá z grafu na obr. 3. Za podstatnou pokládáme horní část grafu, která znázorňuje ve dvou křivkách (Těchlovice a Trutnov) relativní ztráty z celkového počtu telat přijatých v daném stáří. Z dolní části obrázku je patrné zkreslení, které vzniká při hodnocení v absolutních číslech.

Je zřejmé, že vyřazování telat je závislé na stáří telat při příjmu. Největší vyřazování vykazovala skupina telat přijatých do stáří 8 dnů, pak byl pokles zmírňen, ale trval (zvláště výrazně v Těchlovicích) až k telatům přijatým mezi 16. až 20. dnem života, kdy byly ztráty nejmenší. Díky menšímu počtu přijatých telat ve stáří nad 3 týdny je kolísání křivky opět značné.



Graf 3. Vyřazování telat podle stáří při příjmu

DISKUSE

První závažnou skutečností, která vyžaduje diskuse, je to, že odchov telat ve VKT neovlivnil za první rok provozu nijak podstatně procento předčasně vyřazovaných telat v okrese Tachov ani na statcích okresu Trutnov. Jak porážkovost, tak i úhyn byl přibližně na úrovni roku 1962 a pravděpodobně i roku 1961.

Pokusili jsme se hledat příčiny, proč se situace nezlepšila. Příčiny nebyly v počátečních potížích začínajícího provozu. To je patrné z toho, že se stoupajícím provozem nenastával pokles počtu vyřazovaných telat.

Pravděpodobně byly příčiny v technologii napájení a ustájení, které se dosti liší od dosavadních zvyklostí. Svědčí pro to mimo jiné i to, že mortalita v našich VKT je o něco vyšší než ve větších odchovnách v Anglii, kde Hayword (13) udává asi 2 % uhynulých a 7 % brakovaných telat během odchovu, přičemž zažívací poruchy nejsou hlavním problémem.

Srovnání je částečně možné s hygienicky a i v technologii krmení horšími malochovy v Anglii, kde Withers (34) zjistil za 3 roky průměrnou mortalitu telat 8,3 % z narozených, přičemž do 14 dnů života uhynulo 65,7 % z těchto telat. Zbývá tedy pro starší telata asi 2,9 % z narozených.

Jak v celostátním průměru za poslední roky [Gdovin a Michna (35)], tak i ve velkokapacitních teletnicích zůstávají hlavní příčinou ztrát poruchy zažívacího traktu a dýchacího traktu, jak je patrné z tab. V.

Gdovin a Michna (35) uvádějí ve svém přehledu všechna telata do 3 měsíců stáří, u nichž se vyskytují takové nemoci, jako jsou záněty pupku (9,6 %). Nadměrně vysoké procento příčin v poruchách zažívacího traktu v Trutnově způsobuje především abnormálně závadné mléko v počátečním období provozu tohoto VKT. V pozdějším období se poměry celkem přiblížily poměrům v Těchlovicích.

V anglických chovech bylo příčinou mortality v menších chovech u 38,2 % telat onemocnění zažívacího traktu a u 7,3 % telat nemoci respirační [Withers (34)].

V.

Příčina nutné porážky, resp. úhynu či konfiskace	Celostátní průměr nutných porážek 1956 – 1962 (Gdovin — Michna)	VKT	
		Těchlovice	Trutnov
	procent		
Nemoci zažívacího traktu (včetně kachexie)	44,7	29,5	71,8
Současné nemoci zažívacího i dýchacího traktu	neuvedeno	30,9	15,8
Nemoci dýchacího traktu	21,4	23,2	5,3
Celkem	66,1	83,6	92,9

Z tabulek I—IV i ze srovnání s údaji citovaných autorů můžeme usuzovat, že vzhledem k příčinám vyřazování telat naše VKT nic podstatně nezlepšily. Nejčastěji zjištěné příčiny vyřazování nasvědčují tomu, že ani technologie napájení, ani ustájení nejsou na žádoucí úrovni. Při dalších preventivních opatřeních proti onemocněním zažívacího traktu je nutno se zaměřit především na napájení v přijímacím oddělení.

Zajímavou a dosud neuzavřenou otázkou je věk, ve kterém mají být telata přijímána do teletníku. Podle našeho rozboru se ukazuje, že procento vyřazených telat z celkového počtu telat přijatých do teletníku v daném stáří je nejmenší u kategorie telat starších 16 až 20 dnů. Domníváme se, že by bylo možné provozně zajistit příjem telat do teletníku až v tomto stáří, kdy se také může již plně projevit životaschopnost telete. Přesto, že si tele v tomto věku hůře zvykají na pití zakvašeného egalizovaného mléka, jak podotýkají někteří praktičtí chovatelé, nebo snad proto, že si navyká pomaleji, nedochází k tak vážným poruchám zažívacího traktu, aby vedly k vyřazení telete z chovu. Domníváme se, že „snadnější“ navykání na pití zakvašeného mléka u mladších telat není ničím jiným, než nedostatek kritického výběru krmiva teletem, které sice s chutí vypije i větší dávku zakvašeného mléka než starší tele, ale přitom jeho zažívací trakt, který nebyl dosud dostatečně připraven na náhlou změnu kvality nápoje, odpoví zánětem a následujícím průjmem, byť i chuť do pití byla zpočátku veliká.

V této souvislosti je namístě poukázat také na zjištění Poundena a Hibbse (29), že i při normálním odchovu se vyskytovaly průjmy zvýšenou měrou u telat plemene Jersey a Holstein v období, kdy docházelo k prvním rychlejším rozvoji předžaludků, tj. mezi 7. až 13. dnem života. Vzhledem ke schopnosti obrany proti gramnegativním zárodkům je nutno také mít na zřeteli, že k většímu rozvoji přirozených protilátek dochází také až v posledním období po 15. dnu života [Bárta (36)].

I když otázka systému a druhu napájení u telat v prvních dnech po příjmu do VKT bude ještě delší čas diskutována, ukazuje práce jasně, že zažívací poruchy jsou hlavní příčinou vyřazování a že druh a způsob napájení ve VKT není ještě pro první období po příjmu dostatečně vyřešen.

Roční kolísání ztrát s letním a zimním maximem se nevymyká běžným poměrům našich odchovných zařízení a provoz VKT neznamenal v tomto směru prakticky žádný pokrok. To souvisí jak s kolísající kvalitou nápojů a krmiv, tak i s úrovní hygieny ustájení, včetně nedostatečných prostor pro individuální léčbu a ošetřování telat.

SOUHRN

Za první rok provozu bylo v období od 1. 4. 1963 do 31. 3. 1964 vyřazeno ve VKT Těchlovice celkem 19,2 % přijatých telat, z čehož 5,0 % uhynulo nebo bylo konfiskováno, ve VKT Trutnov celkem 17,7 % přijatých telat, z nichž 3,0 % byla konfiskována nebo uhynula.

Provoz velkokapacitních teletníků nijak podstatně neovlivnil počet vyřazovaných telat v příslušných okresech, kde procento vyřazování i úhynů z počtu narozených bylo ve sledovaném období přibližně na úrovni roku 1962.

Hlavní podíl na vyřazování na jatky a do kafilerií měla onemocnění zažívacího traktu (29,5 % v Těchlovicích, resp. 71,8 % v Trutnově), onemocnění respiratorního traktu (23,2 % resp. 5,3 %) a kombinace obou skupin chorob

(30,9 % resp. 15,8 % z vyřazených). V letních měsících měla převahu onemocnění zažívacího traktu, v zimních měsících onemocnění jak zažívacího, tak i dýchacího traktu.

Hlavní podíl na vyřazování mělo příjmové oddělení. Do tří týdnů pobytu v teletníku bylo vyřazeno v Těchlovicích 42 % a v Trutnově 40 % ze všech vyřazených telat.

Nejnižší procento vyřazování měla telata přijatá mezi 16.—20. dnem života (do 15 % resp. do 20 %). Telata přijatá před 9. dnem života měla prudce vzrůstající vyřazování s klesajícím stářím při příjmu.

V průběhu roku bylo patrné zvýšení vyřazování jednak v horkém letním období, jednak ke konci sledování v předjarním období.

Došlo dne 16. 11. 1964

Literatura

1. Hlaváč J.: Nová technologie v chovu skotu. - „Náš chov“, 1963 : 125-126. —
2. Kudlíčka K.: Ke zprůmyslnění chovu skotu cestou otevřeného obratu stáda. - „Náš chov“, 1963 : 301-302. — 3. Management of Calves. - „Monthly Agric. Report“, 30, 1956 : 276-277. — 4. Goersch H.: Die Kapazität der Kälberställe (für Tiere bis zum Alter von 6 Monaten). - „Tierzucht“, 12, 1958 : 115-118. — 5. Hoffmeyer S.: Tränk- und Futtervorrichtungen in der Kälberaufzucht. - „Tierzucht“, 12, 1958 : 315-316. — 6. Dannenberg H. D.: Zur Hygiene der Kälberhaltung. - „Tierzucht“, 17, 1963 : 454-457. — 7. Jungk E.: Was muß getan werden, um die Kälber- und Jungviehaufzucht in den socialistischen Großbetrieben zu verbessern? - „Tierzucht“, 16, 1962 : 189-192. — 8. Spindler F.: Le logement des veaux d'élevage. - „Revue d'élevage“, 18, 1963 : 713-717. — 9. Mann H.: Zur Projektierung und Ausführung von Kälber- und Jungviehställen. - „Die deutsche Landwirtschaft“, 6, 1955 : 441-444. — 10. Marshall B.: Cut out Drudgery in Those Calf Houses. - „Practical Power Farming“, 18, 1957 : 6-7. — 11. Ober H.: Lattenrostboden in Tränkkälberbuchten. - „Mitt. bayer. Landesanst. Tierzucht in Grub“, 5, 1957 : 120-122. — in: „LZ Landtechnik“, 5, 1959 : 516. — 12. Sainsbury D. W. B.: Keep Comfortable Calves. - „Farmer and Stock-Breeder“, 75, 1961 : 103-105. — 13. Hayward In: Bárta O.: Diskuse k otázkám velkokapacitních teletníků. - „Veterinářství“, 14, 1964 : 222-224. — 14. Lenschow J.: Über die Aufzucht der Kälber in Offenställen. - „Tierzucht“, 12, 1956 : 183-188. — 15. Murley W. - Culvahouse E. W.: Open Shed And Portable Pens versus Conventional Housing for Young Dairy Calves. - „J. Dairy Sci.“, 41, 1958 : 977-980. — 16. Ivanov P. - Kostov S. - Zacharijev Z. J.: Otleždane na telata v polnootkriti telčarni i prez zimata. - „Izvestija Inst. Životnovodstvo“, 10, 1959 : 114-148. „Archiv für Tierzucht“, 2, 1959 : 284-302. — 17. Hebermehl E.: Jungvieh-Offenställe im Winter. - „Feld und Wald“, 78, 1959 : 7-8. — 18. Georgiev D.: Otleždane na telata v polnotkiriti obori. - „Životnovodstvo“, 19, 1960 : 3-5. — 19. Hladík V.: Vliv krmného egalizovaného mléka na zdraví telat. - „Náš chov“, 1963 : 359-361. — 20. Hladík V. - Najman L.: Vliv zakvašeného odstředěného mléka na zaživací trakt telete. - „Živočišná výroba“, 8, (36), 1963 : 137-152. — 21. Najman L. - Hladík V.: Použití egalizovaného a odstředěného mléka v zakvašeném stavu při odchovu telat. - „Živočišná výroba“, 7, (35), 1962 : 735-746. — 22. Pláček S.: Naše zkušenosti se zkrmováním zakvašeného mléka. - „Náš chov“, 1963 : 160. — 23. Tvrdon O.: Rozšíření napájení telat egalizovaným mlékem. - „Náš chov“, 1963 : 16-17. — 24. Rouš Č.: Význam použití mlékařských kultur ve výživě mladých zvířat. - „Náš chov“, 1963 : 246-247. — 25. Koubek J.: K některým otázkám odchovu telat egalizovaným mlékem. - „Náš chov“, 1964 : 276-280. — 26. Wing J. M. - Jacobson N. L. - Allen R. S.: The Effect of Various Restricted Diets on the Growth and on Certain Blood Components of Young Dairy Calves. - „J. Dairy Sci.“, 38, 1955 : 1006. — 27. Owen F. G. - Jacobson N. L. - Allen R. S. - Hommeyer P. G.: Nutritional Factors in Calf Diarrhea. - „J. Dairy Sci.“, 41, 1958 : 662-670. — 28. Netke S. P. - Gardner K. E. - Kandall K. A.: Effect of Diet pH on Fecal Consistency of Young Calves. - „J. Dairy Sci.“, 45, 1962 : 105-108. — 29. Pouden W. D. - Hibbs J. W.: Some Possible Relationships Between Management, Forestomach Content and Diarrhea in Young Dairy Calves. - „J. Dairy

Sci.", 30, 1947:582-583. — 30. Engelhard J. - Thiele E.: Versuche zur Kälberaufzucht mit herabgesetzten Vollmilchgaben (2. Mitteilung). - „Tierzucht“, 15, 1961:397-399. — 31. Rojas J. - Schwegert, B. S. - Rupel, I. W.: The Utilization of Lactose by the Dairy Calf. Fed Normal or Modified Milk Diets. - „J. Dairy Sci.“, 31, 1948:81. — 32. Flipse R. J. - Hughman, C. F. - Weester, H. D. - Duncan, C. W.: Carbohydrate Utilization in the Young Calf. I. Nutritive Value of Glucose, Corn Syrup and Lactose as Carbohydrate Sources in Synthetic „Milk“ - „J. Dairy Sci.“, 33, 1950:548. — 33. Pouden W. D. - Hibbs, J. W. - Cole, C. R.: Observation on Relation of Diet to Diarrhea in Young Calves. - „J.A.V.M.A.“ 118, 1951:400-403. — 34. Withers, F. W.: Mortality Rates and Disease Incidence in Calves in Relation to Feeding, Management and other Environmental Factors. - „Brit. Vet. J.“, 108, 1952:315-238, 382-405, 436-441, 472-483. — 35. Gdovin, T. - Michna, A.: K frekvencii chorob nutne porázaných teliat. - „Veterinární medicína“, 8, (36), 1963:285-290. — 36. Bárta, O.: Sledování vlivu ustájení a způsobu odchovu na zdravotní stav a obranyschopnost telat. Závěrečná zpráva dílčího výzkumného úkolu R 2-3.3 (R 2-3.10), ÚVÚŽV Uhřetěves, str. 18-38.

Изучение вынужденных убоев, конфискации и гибели телят из стад, содержащихся в телятниках большой вместимости в первый год их эксплуатации

За первый год эксплуатации, в период от 1. 4. 1963 до 31. 3. 1964 года в Техловицком телятнике большой вместимости было выбраковано 19,2 % принятых телят, в том числе 5 % погибло или было конфисковано; в Трутнове, в таком же телятнике выбраковано 17,7 % принятых телят, из которых 3 % были конфискованы или погибли.

Эксплуатация телятников большой вместимости не повлияла существенно на браковку телят в соответствующих районах, где процент браковки и гибели из количества родившихся телят оставался в изучаемый период примерно на уровне 1962 года. Главная доля браковки для боен и для утильсырья приходилась на заболевания пищеварительного аппарата (29,5 % в Техловицах, или же 71,8 % в Трутнове), на заболевания дыхательного аппарата (23,2 % и 5,3 %) или же на комбинации обеих групп болезней (30,9 и 15,8 % от общего числа выбракованных). В летние месяцы преобладали болезни пищеварительного аппарата, в зимние — как пищеварительного, так и дыхательного аппарата.

Основная часть браковки приходилась на приемочное отделение. За три недели содержания в телятнике было выбраковано в Техловицах 42 % и в Трутнове 40 % от общего количества бракованных телят.

Самый низкий процент браковки относится к телятам, принятым между 16 и 20-м днем жизни (до 15 % или до 20 %). Телята, принятые до 9-го дня жизни, отличались резко повышающейся браковкой с уменьшающимся возрастом при приемке. В течение года явно повышенная браковка приходилась на жаркий летний период, а также на конец изучения в предвесенний период.

Following Emergency Slaughterings, Condemns and Calf-Deaths in the High-Capacity Calf-Sheds during the first Year of Running

During the first year of running 19,2 % from the whole number of the received calves were culled in the high-capacity calf-shed (HCCS) at Těchlovice from 1. 4. 1963 to 31. 3. 1964; out of this number 5 % of the calves died or were condemned. In the HCCS at Trutnov on the whole 17,7 % of the received calves were culled, out of which number 3 % were condemned or died.

Running of the HCCS did not considerably influence culling the calves in the respective districts where the percentage of both culling and dying out of the number of the born calves corresponded approximately to the level of the year 1962 in the traced season. The diseases of the digestive tract (29,5 % at Těchlovice or 71,8 % at Trutnov), the diseases of the respiratory tract (23,2 % or 5,3 %) and the combination of both sorts of the diseases (30,9 % or 15,8 % of the culled calves) appeared to have been the main cause of culling for the slaughterhouse and for the sanitary rendering plant. During the summer-months prevailed the digestive-tract diseases, in winter both the digestive- and respiratory-tract diseases.

The reception-department took the main share in the culling. Within three weeks of staying in the calf-shed at Těchlovice 42 % and at Trutnov 40 % out of the whole number of the culled calves were culled. The lowest percentage of culling showed the calves received between the 16th and the 20th day of life (up to 15 % or 20 %). The calves received before the 9th day of life showed an increasing number of culling according to the decreasing age at the time of reception. In the course of the year the authors recorded an increased culling in the hot summer-season as well as towards the end of tracing by the decline of winter.

Das Auftreten von Notschlachtungen, Konfiskationen und Kälberverlusten in Großställen für Kälber während des ersten Betriebsjahres

Während des ersten Betriebsjahres, d. i. vom 1. 4. 1963 bis 31. 3. 1964, wurden im Großstall für Kälberaufzucht in Těchlovice insgesamt 19,2 % der aufgenommenen Kälber ausgemerzt; davon entfielen 5 % auf Verenden oder Konfiskationen, im Großstall in Trutnov waren es insgesamt 17,7 %, von denen 3 % auf Verenden oder auf Konfiskationen entfielen.

Der Betrieb der Großställe zur Kälberaufzucht hat die Ausmerzungsquote in den betreffenden Bezirken nicht wesentlich beeinflusst, denn der Prozentsatz der ausgemusterten und verendeten Kälber entsprach ungefähr dem des Vorjahres (1962). Der größte Anteil an der Ausmerzung (Abgabe ans Schlachthaus oder an die Tierkörperverwertungsanstalt) entfiel auf Krankheiten des Ernährungstraktes (29,5 % in Těchlovice, 71,8 % in Trutnov), dann kamen Krankheiten der Atmungsorgane (23,2 % resp. 5,3 %) und die Kombination bei der vorherigen Gruppen (30,9 %, bzw. 15,8 %). In den Sommermonaten waren die Krankheiten der Ernährungsorgane vorherrschend, in den Wintermonaten waren beide Gruppen vertreten.

Die größten Verluste entfielen auf die Aufnahmeabteilung. Binnen 3 Wochen nach Aufnahme wurden in Těchlovice 42 %, in Trutnov 40 % aller ausgemerzten Kälber ausgemustert. Die geringste Ausmusterungsquote hatten Kälber, die in der Zeit vom 16. bis zum 20. Lebenstage eingeliefert worden waren (15 bzw. 20 %). Kälber, die vor dem 9. Lebenstage eingeliefert worden waren, wiesen mit sinkendem Alter bei der Aufnahme eine bedeutende Steigerung der Ausmusterungsquote auf. Im Verlaufe des Jahres war eine Ausmusterungsspitze einmal in den heißen Sommermonaten, ein zweitesmal im Vorfrühling zu beobachten.

Otakar Bárta, CSc.,

Výzkumný ústav veterinárního lékařství,
Brno-Medlánky

MVDr. Milan Šmíd,

Okresní veterinární zařízení, Trutnov

MVDr. Miroslav Kůžel,

Okresní veterinární zařízení, Stříbro

■ V našich drůbežárnách kterékoli kategorie se poměrně často setkáváme se špatně rostoucí drůbeží, s vysokým procentem zakrslé drůbeže nebo se značně velkými ztrátami v odchovu mladých kuřat. Příčiny těchto ztrát jsou zpravidla hledány v závadné bílkovinné směsi, v nedostatečném ošetření nebo nesprávném ustájení. Hynutí se tedy hodnotí značně paušálně, mnohdy i povrchně a především jako následek přímých vlivů ekologických. I když s takovým rozbořením situace někdy vystačíme, přece jen ve většině případů nedoceňujeme detailní zhodnocení krmiva z hlediska vitamínů a minerálních látek nebo jiných biologicky významných faktorů potravních, doplněných podrobným nálezem laboratorním, nejméně však pozornou pitvou a vyšetřením bakteriologickým nebo alespoň bakterioskopickým. A téměř vždy se zapomíná na nepřímé vlivy ekologické, které ovlivňují vývoj a životaschopnost kuřete už ve stadiu embryonálním. Jsou to vlivy rodičovské, které sice nespádají přímo do úseku dědičnosti, avšak v rozmnožování drůbeže jsou velmi závažné [Duben (1)].

Chceme proto v této práci poukázat na vliv pastevního faktoru v jeho komplexu na růst kuřat a na biologickou hodnotu násadových vajec s připomínkami o významu těchto poznatků pro moderní drůbežářství.

METODIKA

Materiál byl získán na kuřatech a slepicích plemene LB. Pokusná drůbež byla chována v účelně adaptované drůbežárně zpravidla od května do listopadu, tedy v období možnosti zelené pastvy.

Rozdílný vliv mikroklimatu v r. 1960—1962 se projevoval především v nestejnosti počasí. Jinak kuřatům den prodlužován nebyl, takže jejich systém retinodiencefalohypofyzární byl drážděn pouze přirozeným rytmem dne a noci.

Ve všech pokusech bylo dodržováno stálé složení krmivové směsi, jejíž jednotlivé součásti bylo možno analyzovat kdykoliv a z jakéhokoli hlediska. Toto krmivo tedy neobsahovalo tovární bílkovinné směsi, které jsou známy velmi častou proměnlivostí v obsahu jednotlivých součástí, nepříznivým vlivem bakteriálního podílu a přimíšením experimentátoru neznámých krmivových součástí, což všechno by mohlo zkreslovat výsledky pokusů.

Krmivový režim pokusných skupin A a B ukazuje tabulka I. Na základní směsi se zdroji bílkovin (mléko a syrová vejce) byla všechna pokusná kuřata chována do stáří 14 dnů. Pak byla rozdělena do dvou pokusných skupin po 60 kuřatech: skupina A — možnost pastvy, na 1 kus 14 m² výběhu; skupina

I. Krmivový režim pokusných kuřat skupiny A a B.

Experiment. skupina	Základní směs*)	Zelená píce	Mléko	Syrová vejce	Margarin	Cholesterol	Vitaminový přídatek
A	52 %	17,4 %	17,4 %	10 %	2 %	1 %	0,2 %
B	69,4	—	17,4	10	2	1	0,2

*) Základní směs:

Pšeničný šrot	35 %
Ječný šrot	35 %
Sušené brambory	16 %
Ovesný šrot	12 %
Plastin + vitamíny	1,5 %
Dřevěné uhlí	0,3 %
Sůl	0,2 %

Vitaminový a minerální přídatek
na 100 g potravy:

Retinol	400 IU
Cholekalciferol	35 IU
Thiamin	0,2 mg
Riboflavin	0,2 mg
Pyridoxin	0,3 mg
Amid kys. nikotinové	1,8 mg
Ca-pantothenát	1,1 mg
α - tokoferol	1,- mg
Plastin sp. SPOFA	1,5 g

B — písčité výběh bez možnosti pastvy, na 1 kus 10 m² výběhu. Od tohoto okamžiku také dostávala kuřata obou skupin ještě 1 % cholesterolu, rozpuštěného ve 2 % margarínu pro zjištění schopnosti neutralizovat tuto alimentární zátěž. Zbytky krmiva byly denně váženy, takže je známa skutečná spotřeba krmiva na 1 kus za 6 měsíců experimentu.

V měsíčních intervalech bylo zabíjeno vždy po 10 kuřatech ze skupiny. Kuřata byla před zabitím zvážena a proměřena. Vykrvana byla dekapitací. Sérum bylo vyšetřováno na cholesterol metodou Schönheimer-Sperry a na celkovou lipemii podle Swahna. Pitvaný materiál byl hodnocen makroskopicky i histologicky. Řezy byly barveny Sudanem, hematoxylin-eozinem a podle potřeby i trichromem podle Massona.

Kromě toho byla u zabitých kusů uprostřed a na konci pokusu vyšetřena střeva bakteriologicky na běžných půdách (krevní agar, Endův agar) pro získání orientačních poznatků o charakteru střevní mikroflóry.

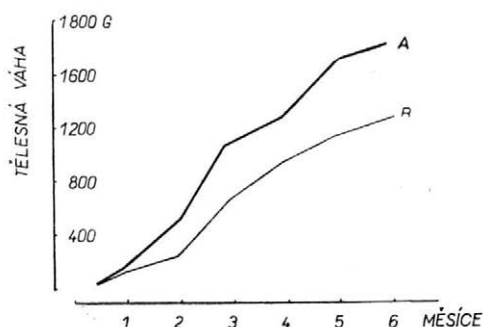
Abychom zjistili vliv pastevního faktoru na biologickou hodnotu násadových vajec, odchováli jsme v pokusných podmínkách skupiny A i skupiny B po 8 kuřících a 2 kohoutech. Tyto rodičovské skupiny nám sloužily jako testovací materiál pro zjištění rozsahu rodičovských vlivů na potomstvo.

Z vajec obou těchto skupin, snesených v lednu—březnu 1961, jsme nechali vylíhnout kuřata (I. generace), která byla odchována za stejných podmínek jako rodiče, tedy v podmínkách skupiny A a skupiny B. Z těchto hejn I. generace obou skupin jsme opět vybrali po 8 kuřících a 2 kohoutech a v dalším roce jsme od nich opět nechali inkubovat vejce snesená v lednu až březnu. Získali jsme tak II. generaci kuřat.

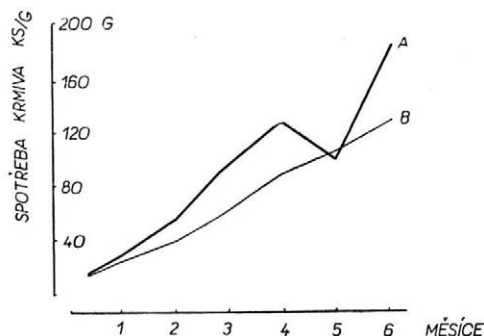
Po oba roky byla při líhnutí prováděna komplexní biologická kontrola a byla hodnocena životaschopnost kuřat.

VLASTNÍ VÝSLEDKY

Vliv pastevního faktoru na nejrůznější biologické parametry kuřat ukážeme na sérii diagramů. V nich je materiál ze skupiny A, tedy pod vlivem pastevního faktoru, vyznačen tučně, materiál ze skupiny B, tedy bez účasti pastevního faktoru, vyznačen slabě.



Graf 1. Vliv pastevního faktoru na růst
A — skupina A, pastevní faktor +,
B — skupina B, pastevní faktor —.



Graf 2. Vliv pastevního faktoru na spotřebu krmiva.

Ve 4.—5. měs. přemístění kuřat na nový travnatý výběh.

A — skupina A, pastevní faktor +,
B — skupina B, pastevní faktor —.

Viz graf 3.

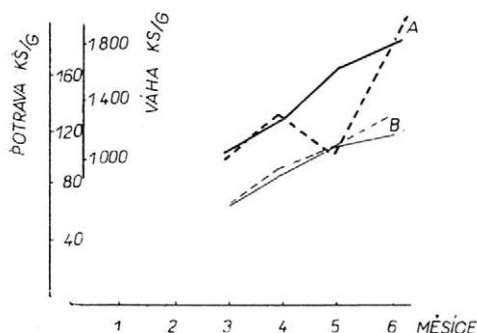
Vliv pastevního faktoru na růst kuřat (graf 1) je velmi dobře patrný v rozdílné váze, která se projevila hned od začátku působení pokusných podmínek a na konci experimentu je mezi oběma skupinami vysoce signifikantní ($P < 0,05$) pro obě pohlaví.

Spotřeba krmiva u kuřat obou skupin (graf 2) odpovídá intenzitě jejich růstu. Velmi zajímavý je však úsek 4.—5. měsíce ve skupině A, kdy pokusná drůbež musela být přesunuta ze stávajícího výběhu, protože jeho rostlinný porost byl značně znehodnocen nejen drůbeží samotnou, ale především dlouhotrvajícím suchem. Kuřata byla proto přesunuta na vedlejší výběh se stejným porostem. A to se hned projevilo silným poklesem příjmu krmiva z krmítek, což znamenalo, že kuřata se živila především biomasou zeleného výběhu, velmi bohatou, protože výběh nebyl až do té doby osazen drůbeží.

Jak se tento pokles spotřeby krmiva projevila v růstu kuřat, to ukazuje graf 3. Přitom ještě připomínáme, že ve skupině B nedošlo k obdobným změnám ani ve spotřebě krmiva, ani v růstu kuřat. Znamená to tedy, že pastevní faktor jako komplex způsobil zvýšení váhových přírůstků při současném poklesu příjmu předkládaného krmiva (viz tab. I), což je důkazem příznivého vlivu pastevního faktoru na metabolismus kuřat.

S tímto zjištěním také souvisí příznivý vliv pastevního faktoru na aktivitu gonád pokusné drůbeže (graf 4); z morfologického hlediska pozorujeme především intenzivnější růst délky křídla u drůbeže na pastvě, což je dobře vyjádřeno nízkými hodnotami indexu $\frac{\text{délka křídla} - DK}{\text{váha těla} - V}$. U drůbeže na pískovišti jsou hodnoty indexu $\frac{DK}{V}$ větší, což je známkou nižší aktivity gonád, a to zejména u kohoutů.

Podobný je i vliv pastevního faktoru na strukturu hřebene samčího pohlaví, kde je rozdíl ve velikosti a reliéfu velmi patrný. Výraz těchto sekundárních pohlavních znaků kohoutů souhlasí plně s histologickými nálezy na varlatech. Zatímco u kohoutů na pastvě byla v poslední třetině pokusu spermiogeneze

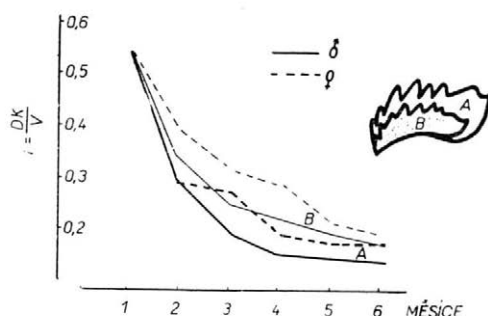


Graf 3. Vztah růstu kuřat ke spotřebě krmiva v krmítkách.

A — skupina A, pastevní faktor +,
B — skupina B, pastevní faktor —.

Plně — růst, čarkovaně — spotřeba krmiva.

Pokles příjmu krmiva ve skupině A, sledovaný intenzivním růstem, je vyvolán přednostním požíráním biomasy nového travnatého výběhu. Viz graf 2.



Graf 4. Vliv pastevního faktoru na sekundární pohlavní znaky.

A — skupina A, pastevní faktor +,
B — skupina B, pastevní faktor —.

$\frac{DK}{V}$ — jeho nižší hodnoty ukazují na vyšší aktivitu pohl. orgánů.

Vpravo nahoře je poměr plochy hřebene kohoutů skupiny A a skupiny B (kresleno podle diapozitivu).

v prudké aktivitě, u kohoutů na pískovišti byla nevýrazná a často se zastavovala v delších intervalech před finálními stadii spermatogenních vln.

Vliv pastevního faktoru na pohlavní orgány kuřic je rovněž vysoce příznivý. Zatímco kuřice skupiny A např. začaly s 30% snáškou ve stáří v průměru 148 dnů, kuřice skupiny B až ve věku 196 dnů. A to je velmi podstatný časový rozdíl z hlediska zrání vaječníků. Stejně i snášky u skupiny A intenzivnější, což je zejména vidět z porovnání tříměsíční snášky 8 kuřic každé skupiny. Ve skupině A snesly kuřice celkem 331 vajec, ve skupině B pouze 239 (tab. II).

Další nápadný morfologický znak mohl být pozorován u všech pokusných zvířat skupiny A. Jejich běháky byly sytě žluté, kdežto u drůbeže skupiny B byly výrazně bledé.

Orientační bakteriologické vyšetření mikroflóry uprostřed a na konci pokusu bylo rovněž u obou skupin odlišné. U drůbeže skupiny A byl nález omezen prakticky pouze na zárodky *Escherichia coli*. Naproti tomu u drůbeže skupiny B byla mikroflóra daleko pestřejší. Předně byla nápadná účast hemolytických bakterií, a to ve 40% šlo o *Micrococcus pyogenes* a v 60% o enterokoky. Z tyčinkovitých bakterií byl nejhojnější vedle *E. coli* hlavně *Proteus sp.*, dále *Pseudomonas* a částečně i *Aerobacter*.

II. Vliv pastevního faktoru na biologickou hodnotu násadových vajec (I. generace).

Skupina	Počet vajec vložených	Počet vajec oplozených	% oplození	Prohlídka		Počet kuřat	% líhivosti z oplozených
				I.	II.		
A	331	225	68	21	22	182	81
B	239	162	68	28	49	85	52

Stupeň zdraví pokusné drůbeže byl daleko lepší ve skupině A. Tak např. kokcidióza (*E. tenella*) proběhla ve skupině A velmi mírně bez úhynu, kdežto ve skupině B byl zdravotní stav kuřat ve 4. týdnu života velmi narušen. Nebo výskyt škrkavek (*Ascaridia gall.*) ve střevním traktu byl při pitvě zjišťován u skupiny A ojediněle (+), kdežto u drůbeže na pískovišti mnohdy masivně (+++). Lymfoidní leukóza se vyskytla u 1 kuřice skupiny B na konci pokusu, nervová forma Markovy choroby u 1 kohoutka skupiny A a u 3 kohoutků skupiny B ve 3.—4. měsíci, oční forma Markovy choroby u 1 kuřice skupiny A a 3 kuřic skupiny B. (Původ kuřat totiž výskyt ptačích retikulóz vysvětluje. V matečném hejnu činily ztráty na ptačí retikulózy v r. 1960 15 % z pitvané drůbeže. V našich pokusných kuřatech z těchto hejn byl výskyt ptačích retikulóz za 6 měsíců 3 % u skupiny A a 8 % u skupiny B.)

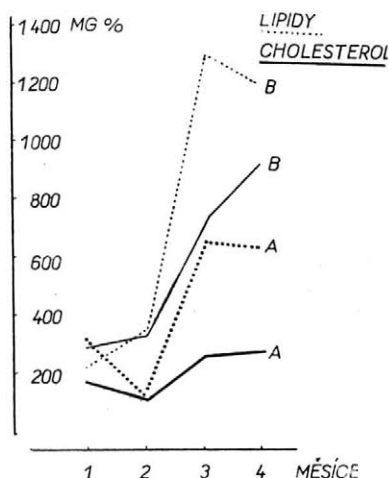
Se zřetelně lepším zdravotním stavem drůbeže skupiny A také souvisí výborná neutralizace exogenního cholesterolu, který byl podáván jako model krmivové zátěže. Zatímco se hladiny sérového cholesterolu skupiny A pohybovaly kolem 200—300 mg % (graf 5), u skupiny B byly signifikantně vyšší. Podobné zjištění vidíme i u celkové lipémie, u které jsou rozdíly rovněž signifikantní, i když méně výrazné než v případě cholesterolemie.

Protože cholesterolový žír se rovná atherogenní dietě, byly hodnoceny i atherosklerotické změny na cévním aparátě. U skupiny A byly nálezy na aortě nevýrazné a nepřesahovaly na konci pokusu stupeň tukové infiltrace. Avšak u kuřat skupiny B byla infiltrace intimy zejména abdominální aorty velmi nápadná a často doprovázená atheromatózními pláty.

Vliv pastevního faktoru na biologickou hodnotu násadových vajec je velmi zajímavý především pro praxi. Materiál je shrnut do tabulek II a III. K nim je třeba ještě připojit výsledky biologické kontroly líhnutí. Zatímco v nedolíhlých vejcích s původem od rodičů žijících na pastvě jsme nenalezli patrné vývojové anomálie, ve vejcích s odumřelými zárodky a s původem od rodičů ze skupiny B bylo naopak malformací poměrně hodně — 45 % z odumřelých zárodků.

Ve druhé generaci jsou výsledky vcelku stejné. Vývojové anomálie odumřelých zárodků se na prvním místě týkaly opět skupiny B. Předně to byly atrofie běhákových svalů, křivé prsty, krátké a křivé běháky, dále zkadeření puchu, papouščí zobáky, velká břicha, ohnutý krk, neuzavřená dutina břišní, celková zakrsllost zárodku apod., tedy vesměs změny připomínající změny z nedostatku vitamínů skupiny B.

Vylíhlá kuřata pod vlivem podmínek skupiny A byla v průměru o 2,5 g těžší než kuřata ze skupiny B. Kuřata skupiny A byla také nápadně životnější s minimálním úhynem a s lepším růstem.



Graf 5. Vliv pastevního faktoru na hladiny sérového cholesterolu. (celkového) a lipemie.

A — skupina A, pastevní faktor +,
B — skupina B, pastevní faktor —.

III. Vliv pastevního faktoru na biologickou hodnotu násadových vajec (II. generace).

Sku- pina	Počet vajec vložených	Počet vajec oplozených	% oplození	Prohlídka		Počet kuřat	% líhnivosti z oplozených
				I.	II.		
A	130	101	78	7	3	91	90
B	55	53	96	7	15	33	62

DISKUSE

Máme-li porozumět velmi příznivým vlivům pastevního faktoru (PF) na růst kuřat a biologickou hodnotu násadových vajec, musíme si všimnout jeho detailní struktury. Pastevní faktor jako komplex potravních faktorů, které nachází kuře na svěžím zeleném výběhu, má podíl rostlinný, animální a edafický (viz tab. IV). Je třeba ještě poznamenat, že hustota kuřat na výběhu nesmí být příliš vysoká, aby některé součásti PF nebyly v krátkém čase zničeny. Musí být zachován určitý poměr mezi produkovanou biomasou pastevního výběhu a spotřebou potravy drůbeže jako konzumentů PF [Duben (3)].

Příznivý vliv rostlinného podílu PF na drůbež můžeme připisat především na konto přítomnosti různých vitamínů a jim podobným nutričním složkám. Pokud se týká karotenoidů, využívá je drůbeží organismus velmi intenzivně. Předně stěna střeva vytvoří retinol (vitamín A₁) z betakarotenu již za 15–30 minut [Olson a spol. (4), Sibbald a Hutchesonová (5)], takže zelená píce nahradí retinol obsažený např. v 1% kvalitním rybím tuku [Brož (6)]. Jinak příznivý vliv karotenoidů v PF se podílí na a) vyšší rezistenci kuřat proti škrkavkám a kokcidiím – viz např. práce Ackerta (7), Gerriette (8), b) na intenzivnějším růstu mláďat – zásah do metabolismu nukleinových kyselin – Niesar (9), c) biosyntéze steroidů – Wiss a Gloor (10), d) vyšší biologické hodnotě násadových vajec – Bearse a Miller, cit. (11), Squibb (12), e) velmi nápadným ukládáním xantofylů jako žlutých pigmentů do kůže a žloutku, kde má zejména význam beta-apo-8'-karotenal vznikající odbouráváním alltransbeta-karotenu – Bunnell a Bauernfeind (14), Brubacher a spol. (15), Marusich a spol. (16) aj., f) kvalitě spermií kohoutů – Paredes a Garcia (13) atd.

V celkově podobném směru působí i další součásti PF, jako kyselina askorbová, tokoferoly a fylochinony. Prvně jmenovaný vitamín C ovlivňuje metabolismus Ca u zárodků [Thornton a kol. (17)] a mírní nepříznivý vliv vysokých teplot [Thornton (18), Perek a Kendler (19)]. Tokoferoly, jejichž obsah ve 100 g zelené hmoty dosahuje asi 5,7–7,5 mg účinného alfa-tokoferolu [Ames (20)], působí na a) vznik škodlivých lipoperoxydů – Dam (21), b) zásobu retinolu v játrech – Dam a spol. (22), c) permeabilitu kapilár spolu s fylochinonem, který ještě zasahuje do systému srážlivosti krve vlivem na koncentraci faktorů II, VI a X – Dam a Glavind (23), d) aktivitu mitochondrií – Tappel a Zalkin (24), e) aktivitu některých důležitých enzymatických systémů, jako DPN – cytochrom c reduktázy – Pollard a Bieri (26), koenzymu Q₁₀ – Wiss a spol. (27), Vasington a spol. (28) apod.

Mezi další součásti PF, které velmi příznivě ovlivňují drůbeží organismus, patří chlorofyl, jehož příznivé farmakodynamické vlastnosti jsou dobře známy. K nim musíme ještě přidat jeho vliv na složení střevní mikroflóry.

V našich pokusech s vlivem PF na drůbeží organismus se dále uplatňovaly fytoestrogeny, zasahující především do neurohumorální regulace aktivních vaječníků [Bickoff a spol. (29), Churý (30)]. Na výběhu našich pokusných kuřat rostly se značnou hustotou tyto rostliny, u nichž byl fytoestrogenní efekt prokázán: *Medicago sativa*, *Festuca rubra*, *Lolium perenne*, *Phleum pratense* a především *Trifolium repens*.

Biologicky velmi důležitou součástí PF jsou rostlinné oleje s vysokým obsahem esenciálních mastných kyselin, které mají zejména pro mladou drůbež téměř zásadní význam [nálezy Leveille-Fisherovy (31)] [Daghir (32), Bieri a spol. (33), Reiser (34) aj.]. Tím se ovšem už také dotýkáme tzv. neidentifikovaných růstových faktorů, které i v našich pokusech měly určitý význam, ač na ně můžeme konkrétně poukázat jen v souhlase s velmi četnými pracemi o těchto nutritivních faktorech [O'Dell (35), Dannenburg a spol. (36), Dam a spol. (37), Reid (38), Lepkovsky a spol. (39), Clary a spol. (40) aj.].

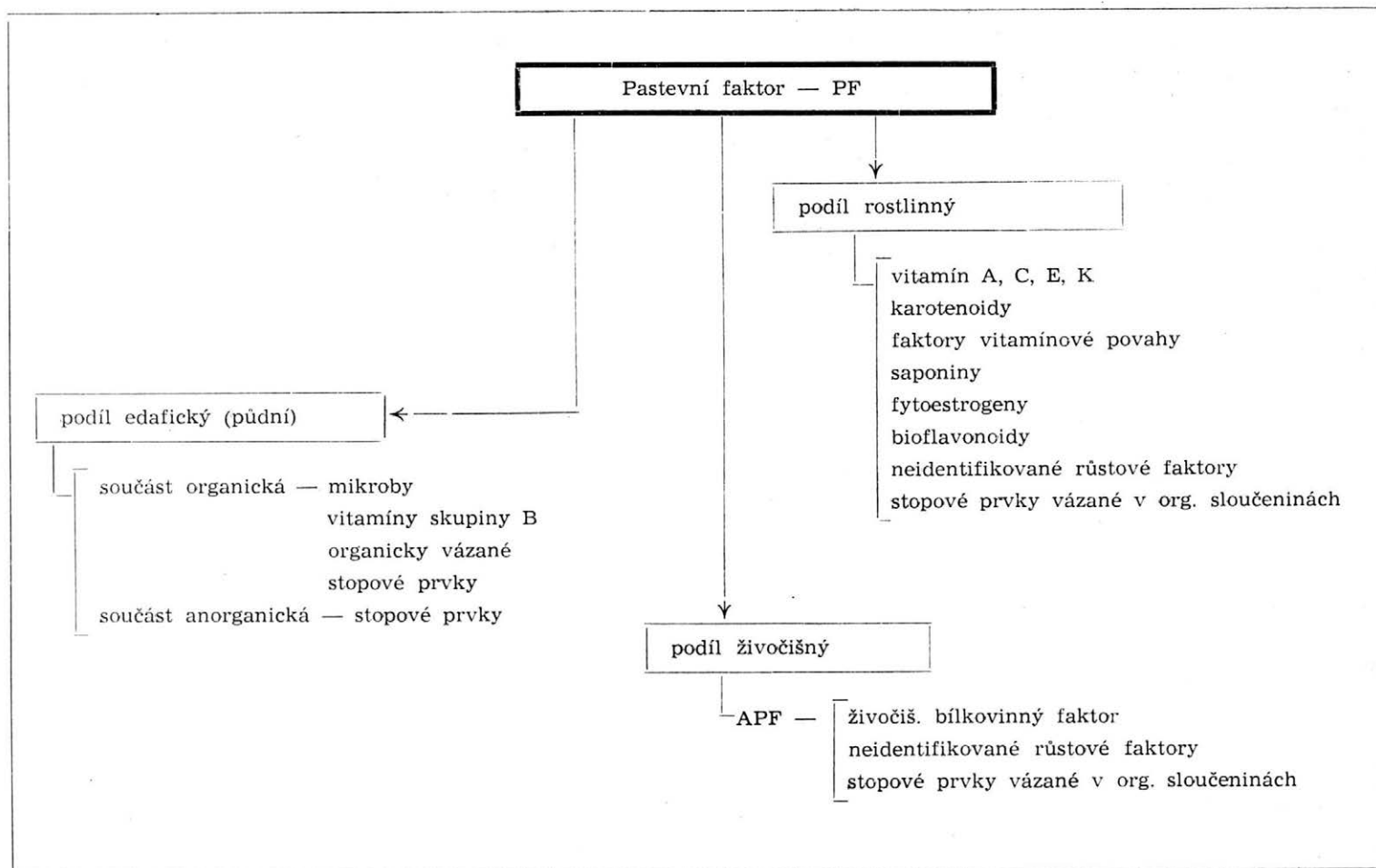
Pokud se týká materiálu o různé biologické hodnotě násadových vajec skupiny A a skupiny B (viz tabulky II a III), musíme připomenout, že tak vysoké procento výskytu vývojových anomálií zárodků z nedostatku vitamínů skupiny B ve vejcích od slepic z pískoviště vůbec neodpovídalo přidavku komplexu vitamínů B do jejich krmné dávky (viz tabulka I), i když je nepochybné, že nosnice skupiny A měly vyšší příliv těchto vitamínů nejen v rostlinném a animálním podílu PF, ale i v půdě, tedy edafické části PF. [O půdě jako o zdroji vitamínů skupiny B viz např. práce Balické a Trzebinského (41), Dudy a spol. (42) aj.].

Na základě pevně zjištěné zásadní úlohy komplexu vitamínů B v celkovém metabolismu drůbeže [v metabolismu aminokyselin Bessey (43), v tvorbě krve Hsu a spol. (44), v tvorbě chrupavky Bostrom a Mansson (45), v mineralizaci kostí Patrick a Schweitaer (46)], velmi četných údajů o významu těchto vitamínů pro vývoj zárodků [abnormity peří a běháků Lepkovsky a spol. (47), zobáků a končetin Cravens a spol. (48), Lyons a Insko (49)] anebo vlivu na jejich životaschopnost [Chin a spol. (50), Miller a spol. (51)], na podkladě vlastních zkušeností s fortifikací krmiva nosnic komplexem vitamínů B [Duben (52)], se zdá být velmi pravděpodobné, že v PF jsou látky (faktory), které zvyšují nejen využití vitamínů z krmné dávky, ale zlepšují celkovou metabolizovatelnost krmiva a tím zvyšují biologickou hodnotu násadových vajec a životaschopnost vylíhlých kuřat [Duben (1), (53)].

A tím se také dostáváme k diskusi o významu této studie pro praxi. Na získaném materiálu jsme především ukázali, že případné hynutí drůbežích mláďat záhy po vylíhnutí nemůžeme hodnotit jen z hledisek přímých vlivů ekologických, tedy postinkubačních, ale musíme nutně také přihlížet k biologické hodnotě násadových vajec, tedy ke vlivům rodičovským. Jejich povaha bývá nejčastěji rázu nutričního anebo infekčního. V prvním případě zpravidla jde o endogenní avitaminózy, ve druhém o tzv. transovariální (vertikální) nákazy.

Dále jsme prokázali, že PF velmi příznivě ovlivňuje aktivitu gonád, a to zejména kohoutů, což musíme využít především v chovech šlechtitelských a ple-

IV. Struktura pastevního faktoru.



menných. I když je zde tzv. pastva drůbeže používána, přehlíží se zmíněný poměr produkce biomasy biocenózou a její spotřeby konsumenty, takže popisovaný příznivý vliv PF přichází v úvahu prakticky jen v krátké době na začátku pastevního odchovu (viz např. graf 3).

Z příkladů o vlivu PF na nejrůznější biologické parametry drůbeže vidíme, jakým asi směrem se musí ubírat fortifikace krmných směsí, zejména pro velkochovy drůbeže. Přitom ovšem nemáme pochopitelně na mysli řešení této krmivové situace přidávkou zelené píce do krmiva, ale aplikací některých složek, které jsou v PF obsaženy, anebo látek jiných se shodným účinkem v drůbežím organismu.

Tento příklad se také týká našeho farmaceutického průmyslu, který se musí zabývat přípravou takových preparátů a premixů, které by zvyšovaly biologickou hodnotu násadových vajec a tím i růst, vývoj a užitkovost drůbeže. Tak budou dány praktické veterinární medicíně velké možnosti nejen v prevenci ztrát a v oblasti léčby, ale i na úseku zvyšování užitkovosti drůbeže jak ve směru produkce masa, tak i vajec [Duben (54)].

A konečně se musíme také zmínit o významu této studie pro experimenty s kuřaty. Jak jsme již prokázali zejména v tabulkách II a III, je bezpodmínečně nutno si všimnout při pokusech s drůbeží také už biologické hodnoty násadových vajec, ze kterých se pokusný materiál líhl. Dále to prakticky znamená pevný výběr standardní ekologie kontrolní skupiny kteréhokoli závažného experimentu s kuřaty, máme-li získané výsledky vlivem speciálních experimentálních podmínek pokládat skutečně za jejich následek a nikoli za následek všeobecných a momentálně působících přímých a nepřímých vlivů ekologie pokusného materiálu.

SOUHRN

V této práci byla podána podrobná analýza pastevního faktoru z hlediska jeho vlivů na drůbež. Pastevní faktor jako komplex potravních složek s podílem rostlinným, animálním a edafickým velmi příznivě ovlivňuje biologickou hodnotu vajec, životaschopnost kuřat a jejich růst a vývoj.

Zhodnocení vlivů pastevního faktoru mimo jiné ukazuje, jak posuzovat a hodnotit a) hynutí kuřat, kachňat apod. v prvních 14 dnech života, b) detailní technologii pastevního odchovu plemenného materiálu ve šlechtitelských chovech, c) vývoj farmaceutických přípravků z hlediska fortifikace krmných směsí pro velkochovy, d) ekologii experimentu s kuřaty, pokud se týká jeho kontrolní skupiny.

Došlo dne 16. 11. 1964

Literatura

1. Duben Z.: Drůbežnictví, č. 1, 1963. — 2. Duben Z.: Sbor. ČSAZV, Vet. med., 6:611, 1961. — 3. Duben Z., Reiniš Z., V. Puchmayer, B. Procházková, K. Kubát, R. Vaněček: Referát na veřejném zasedání Problé-

mové komise pro studium aterosklerozy, Praha, 29. VI., 1962. — 4. Olsen E. M., J. D. Harvey, D. C. Hill, H. B. Branion: P. Sci., 38:688, 1959. — 5. Sibbald I. R., L. M. Hutcheson: P. Sci., 39:99, 1960. — 6. Brož M.: Sbor. ČSAZV, Vet. med., 6:545, 1961. — 7. Ackert J. E., L. L. Eisenbrandt, J. H. Wilmoth, B. Glading, J. Pratt: J. Agric. Res., 50:607, 1935. — 8. Gerriets E.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 67:485, 1960. — 9. Niesar K. H.: Zbl. f. Vetmed., 8:769, 1961. — 10. Wiss O., U. Gloor: Vit. Horm., 18:485, 1960. — 11. Bearse G. E., M. W. Miller: P. Sci., 16:39, 1937. — 12. Squibb T.: P. Sci., 40:1197, 1961. — 13. Paredes J. R., T. P. Garcia: P. Sci., 38:3, 1958. — 14. Bunnell R. H., J. C. Bauernfeind: XI World's Poultry Congr., Mexico City, 1958. — 15. Brubacher G., W. Gloor, O. Wiss: Chimia, 14:19, 1960. — 16. Marusich W., E. De Ritter, J. C. Bauernfeind: P. Sci., 39:1338, 1960. — 17. Thornton P. A., W. C. Weber, R. E. Moreng: P. Sci., 37:691, 1958. — 18. Thornton P. A., R. E. Moreng: P. Sci., 37:691, 1958. — 19. Perek M., J. Kendler: P. Sci., 41:677, 1962. — 20. Ames S. R.: P. Sci., 35:145, 1956. — 21. Dam H., H. Granados: Acta Physiol. Scand., 10:162, 1945. — 22. Dam H., S. Hartmann, J. E. Jacobsen, E. Sondergaard: Acta Physiol. Scand., 41:149, 1957. — 23. Dam H., J. Glavind: Sci., 96:235, 1942. — 24. Tappel A. V., H. Zalkin: Acta Biochim. Biophys., 80:333, 1959. — 25. Colishaw B., E. Sondergaard, I. Prange, H. Dam: Biochim. Biophys. Acta, 25:644, 1957. — 26. Pollard C. J., J. G. Bieri: Biochim. Biophys. Acta, 34:420, 1959. — 27. Wiss O., U. Gloor, F. Weber: Am. J. Clin. Nutr., 9:27, 1961. — 28. Vasington F. D., S. M. Reichard, A. Nason: Vit. Horm., 18:43, 1960. — 29. Churý J.: Sbor. ČSAZV, Vet. med., 6:597, 1961. — 30. Bickoff E. M., A. N. Booth, A. I. Livingston, A. P. Hendrickson: J. Anim. Sci., 19:745, 1960. — 31. Leveille G. A., H. Fischer, A. S. Feigenbaum: Ann. N. Y. Acad. Sci., 94:261, Art. 1, 1961. — 32. Dagher N. J., S. L. Balloun: P. Sci., 40:1712, 1961. — 33. Bieri J. G., G. M. Briggs, M. R. S. Fox, C. J. Pollard, L. Ortiz: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 93:237, 1956. — 34. Reiser R.: J. Nutr., 42:325, 1950. — 35. O'Dell B. L., J. E. Savage: P. Sci., 36:459, 1957. — 36. Dannenburg W. N., B. L. Reid, E. E. Rozacky, J. R. Couch: P. Sci., 34:1023, 1955. — 37. Dam R., A. B. Morrison, L. C. Norris: J. Nutr., 69:277, 1959. — 38. Reid B. a spol. 1958. - cit. H. D. Stelzner, R. E. Davies, M. D. Stasney, J. R. Couch: Proc. Distill. Feed Conf., 1959, 35. — 39. Lepkovsky S., W. Shalaeff, D. Peterson, R. Pierry: P. Sci., 29:208, 1950. — 40. Clary P. D., R. Gordon, D. Singman, S. Lepkovsky: P. Sci., 39:399, 1960. — 41. Balicka N., M. Trzebinski: Acta Microbiol. Pol., 5:377, 1956. — 42. Duda J.: Acta Microbiol. Pol., 6:355, 1957. — 43. Bessey O.: J. Am. Med. Assoc., 169:1224, 1957. — 44. Hsu J. M., M. Ginnis: Arch. Biochim. Biophys., 38:261, 1952. — 45. Bostrom H., B. Mansson: J. Biol. Chem., 196:483, 1952. — 46. Patrick H., G. H. Schweitaer: P. Sci., 31:338, 1952. — 47. Lepkovsky S., F. H. Bird, F. H. Kratzer, O. S. Asmundson: P. Sci., 24:335, 1945. — 48. Cravens W. W., Mc Gibbon W. H., E. E. Sebesta: Anat. Rec., 93:55, 1944. — 49. Lyons M., W. Insko 1937 - cit. 48. — 50. Chin D., J. B. Anderson, R. F. Miller, L. C. Norris, G. F. Heuser: P. Sci., 37:335, 1958. — 51. Miller R. F., L. C. Norris, G. F. Heuser: P. Sci., 35:342, 1956. — 52. Duben Z.: Veterinářství, 10:288, 1960. — 53. Duben Z.: Veterinářství, 9:66, 1959. — 54. Duben Z.: Přednáška na konferenci o „Významu farmaceutického průmyslu pro zemědělství“, březen 1964, Praha.

Влияние пастбищного фактора на рост цыплят и биологическую ценность племенных яиц

В работе дан подробный анализ пастбищного фактора с точки зрения его влияния на птицу. Пастбищный фактор в качестве комплекса пищевых компонентов с раститель-

ной, животной и эдафической долей благоприятно влияет на биологическую ценность племенных яиц, жизнеспособность цыплят, на их рост и развитие.

Оценка влияния пастбищного фактора помимо прочего свидетельствует о том, как оценивать

а гибель цыплят, утят и т. д. в течение первых 14 дней жизни,

б) детальную технологию пастбищного выращивания племенного материала в племенных хозяйствах,

в) развитие фармацевтических препаратов с точки зрения фортификации кормосмесей для крупных стад,

г) экологию эксперимента с цыплятами, поскольку это касается его контрольной группы.

The Influence of the Grazing Factor on the Growth of Chickens and on the Biological Value of Hatching Eggs

The detailed analysis is given in this article concerning the grazing factor from the standpoint of its influence on poultry. The grazing factor as a complex of the food-compounds with a plant, animal and edaphical share influences very favourably the biological value of the hatching eggs, the viability of chickens and their growth and development.

The appreciation of the grazing-factor-influence shows besides others how to judge and reevaluate:

a) the decay of chickens, ducklings etc. during the first fortnight of their life,

b) the detailed technology of the pasture rearing of the pedigree stock in the selection breeds,

c) the development of the pharmaceutical preparations concerning the fortification of the mixed rations for use in large-scale breeding,

d) the ecology of the trials with chickens as far as its control group is concerned.

Einfluß des Weidefaktors auf das Wachstum der Kücken und den biologischen Wert der Bruteier

In der vorliegenden Arbeit wird der Weidefaktor vom Standpunkt seines Einflusses auf das Geflügel einer eingehenden Untersuchung unterworfen. Der Weidefaktor als Komplex von Ernährungskomponenten mit seinem pflanzlichen, animalischen und edaphytischen Anteil hat einen äußerst günstigen Einfluß auf den biologischen Wert der Bruteier, die Vitalität, das Wachstum und die Entwicklung der Kücken.

Die Kenntnis der Einflüsse des Weidefaktors bietet, unter anderem, Unterlagen zur Beurteilung und Bewertung von:

a) Absterben von Hühner-, Entenküken u. s. w. in den ersten 14 Tagen,

b) Detailtechnologie der Weideaufzucht von Zuchtmaterial in Veredlungszuchten,

- c) Entwicklung pharmazeutischer Präparate vom Gesichtspunkt der Fortifikation von Futtergemischen für Großzuchten,
- d) Ökologie von Experimenten mit Kücken, sofern es die Kontrollgruppe betrifft.

MVDr. Zdeněk Duben,

Ústřední státní veterinární ústav,
Praha 2, Na Kozačce 3

■ Při snížené zamořenosti skotu tuberkulózou vyvolanou *M. bovis* nutno věnovat větší pozornost tuberkulóznímu onemocnění u drůbeže.

Již nyní zjišťujeme časté výskyty tuberkulózních reagentů na ptačí alergen v chovech skotu ozdravených od tuberkulózy. Přesvědčili jsme se, že epizootologicky má tuberkulózní drůbež a jiné ptactvo velký význam při infekci skotu. Novým hromadným výskytům, zaviněným infikovanou drůbeží, je třeba zabránit odstraněním zdrojů, které lze zjistit intrakutánní tuberkulinací ptačími tuberkuliny a epizootologickým, klinickým a laboratorním vyšetřením drůbeže a ptactva.

V práci jsme sledovali u experimentálně intramuskulárně infikované drůbeže alergii, která nás předně měla informovat o diagnostické spolehlivosti Koch vetus ptačího tuberkulinu a čištěného tuberkuloproteinu, za druhé měla umožnit zhodnotit diagnostickou spolehlivost obou alergenů a za třetí měly výsledky práce prokázat pro praxi nejvhodnější dobu pro posouzení intrakutánní tuberkulinové zkoušky.

LITERARNÍ PŘEHLED

Podle Hutry, Marka, Manningera a Móczyho (10) mizí nespecifické zduření lalůčku po intrakutánní tuberkulinaci zpravidla za 24 až 30 hod. U pozitivně reagujících zvířat přechází ve specifickou opuchlost, která je v 36–48 hod. velmi znatelná a dosahuje v této době vrcholu. Potom pozvolna mizí tak, že 7.–8. den v místě injekce již není změn. Rovněž Juskovec (11) počítá s pozorovací dobou 48 hodin. Van Es, Heelsbergen, Grzimek a Gylstoff (4) doporučují rovněž posouzení reakcí za 48 hodin. Mimoto Grzimek a Gylstoff, stejně jako Manninger, určují kladnou reakci podle rozměrů zduření lalůčku. Podle tohoto klíče se považuje zduření 2 mm za kladnou reakci.

Kleina (12) tento klíč pro posouzení intrakutánní tuberkulinové zkoušky neuspokojuje. Zvláště u starších zvířat je třeba považovat již 1 mm r. č. za pozitivní reakci. Fritsch, Unruh (5) a Rotov (9) dosahují lepší diagnostické výsledky po dvojitě, resp. trojitě tuberkulinaci s definitivním posouzením zkoušky za 24 hodin po poslední injekci. Kromě toho tito autoři doporučují k diagnostice tuberkulózy u drůbeže čištěný tuberkuloprotein.

V ČSSR referují Švrček a Eliáš (20) o zkušenostech s použitím double testu při diagnostice tuberkulózy u drůbeže. Rovněž Poddubski,

Fomine a Akulov (16) provádějí sensibilizace po první tuberkulinaci za 96–120 hodin a referují o lepších diagnostických výsledcích.

Pozorně byl sledován odhad Kleina a Steffkeho (12) o spolehlivosti intrakutánní tuberkulinace na 60 %, popřípadě až na 45 %. Nedostatečná diagnostická spolehlivost tuberkulinové reakce není však zaviněna tuberkulinem, nýbrž infekcí chovů různými kmeny *M. avium*, a to je také důvod, proč se požaduje tuberkulin vyšší kvality — vyšší specifity. Za současného stavu je tuberkulinová reakce pouze stádovým testem (Herden-Test). Z toho důvodu se snaží mnozí zdokonalit diagnostiku tuberkulózy drůbeže sérologickými metodami. Jsou to zejména sovětská pracovníci Prochorov a Akulov (18, 17), kteří nezávisle na pracích amerických autorů zjistili, že některé kmeny *M. avium* se vyznačují dobrými aglutinačními vlastnostmi. V ČSSR Halík (6) a Pavlas (15) prověřovali spolehlivost kapkové aglutinace a zjistili, že lze této sérologické zkoušky použít k upřesnění tuberkulinace při diagnostice tuberkulózy u drůbeže. Klimeš a Pavlas (13) srovnávali výsledky tuberkulinace a kapkové aglutinace u experimentálně infikované drůbeže intraperitoneálně a subkutánně. Výsledky práce však prokázaly vyšší spolehlivost tuberkulinace než kapkové aglutinace.

METODIKA

U 30 zdravých kohoutů váhy 2,4–3,3 kg byla nejprve provedena tuberkulinace *lege artis* na pravém lalůčku (po předcházejícím změření tloušťky obou lalůčků) Koch vetus tuberkulinem. Za 3 dny při negativním výsledku tuberkulinace bylo kohoutům injikováno 0,5 mg (0,5 ml fyz. roztoku bakteriální hmoty kmene *M. avium*), jednorázově dne 22. 4. 1963 intramuskulárně v krajíně prsní. Kmen *M. avium* A I byl izolován z mezenterálních mizních uzlin býka. U králíka vyvolal uvedený kmen po dávce 1 mg *iv.* uhynutí za 18 dní.

Za 21 dní po infekci byla provedena 1. tuberkulinace intrakutánní u 10 kohoutů v dávce 0,1 — 200 TJ PPD av. tuberkuloproteinu. U dalších 10 kohoutů v dávce 0,1 — 1000 TJ a u třetí skupiny kohoutů (rovněž 10 ks) v dávce 0,1 — 5000 TJ. Za 14 dní po 1. tuberkulinaci (za 35 dní po infekci) byla uskutečněna u 29 kohoutů další tuberkulinace PPD aviárním tuberkuloproteinem. První skupina v počtu 5 kohoutů obdržela 1 TJ, druhá skupina 6 kohoutů 5 TJ, třetí skupina 6 kohoutů 10 TJ, čtvrtá skupina 6 kohoutů 25 TJ a konečně pátá skupina 6 kohoutů 50 TJ v 0,1 ml.

Třetí tuberkulinace byla provedena Koch vetus tuberkulinem op. č. 168 za dalších 14 dní, tj. za 49 dní po infekci. Současně byla na obou dolních končetinách zjišťována alergie po perkutánní aplikaci alergenů. Do skarifikované kůže levé dolní končetiny bylo na jednom místě vetřeno 2500 TJ a na třetí místo 1250 TJ. Střed, druhá skarifikace, zůstala jako kontrola bez alergenů. Na skarifikovanou kůži pravé končetiny bylo na jedno místo vetřeno v 0,1 ml 2500 TJ a na třetí místo rovněž 1250 TJ.

Za dalších 23 dní (za 72 dní po infekci) byli ještě kohouti tuberkulinováni stejným op. č. Koch vetus tuberkulinu v dávkách 0,1 ml obsahujících u 1. skupiny šesti kohoutů 1 TJ, u 2. skupiny pěti kohoutů 5 TJ, u 3. skupiny šesti kohoutů 10 TJ, u 4. skupiny šesti kohoutů 25 TJ a u 5. skupiny šesti kohoutů 50 TJ.

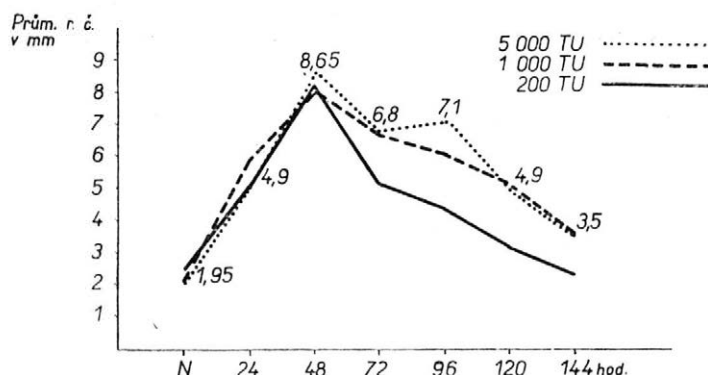
V konečné části studia byla ještě za dalších 15 dní (od infekce za 87 dní) provedena srovnávací tuberkulinace PPD tuberkulinem a Koch vetus tuberkulinem v dávkách 1250, 625, 312,5 a 106,25 TJ.

Výsledek tuberkulinace byl hodnocen adspekcí, palpací a měřením tloušťky lalůčku.

VÝSLEDKY

Část I.

Při sledování průběhu tuberkulinových reakcí (graf 1) mohlo být zjištěno, že po všech dávkách, tedy i v nejnižší dávce 200 TJ, dosáhla reakce vrcholu za 48 hodin.



Od této doby se snižovala reakce spádovitě a nedosáhla ani 6. den původních rozměrů. Pro posouzení reakcí byl nejvhodnější průběh křivky po dávce 200 TJ.

Výsledek pokusů potvrdil, že je pro diagnostiku tuberkulózy drůbeže nejvhodnější doba pro posouzení intrakutánní tuberkulinové zkoušky 48 hod. po tuberkulinaci. Reakce dosáhla v této době ve 100 % vrcholu.

Část II.

Intrakutánní tuberkulinace nízkými dávkami tuberkuloproteinu

Za 14 dní (tj. za 35 dní po první tuberkulinaci) byl zjišťován průběh tuberkulinace u stejné skupiny kohoutů po 1 TJ, 10 TJ, 25 TJ a 50 TJ.

V tabulce I. se dokazuje, že ještě dávka 25 TJ vyvolala reakce při průměrném r. č. 1,78 za 24–48 hodin. Nejvyšší reakce byla zjištěna po 50 TJ za 48 hodin po inokulaci alergenu (2,55 mm).

Výsledek pokusu prokázal rovněž nejvhodnější dobu pro posouzení tuberkulinové reakce za 48 hod. a mimoto, že dávka 25 TJ je minimální dávkou k vyvolání tuberkulinové reakce.

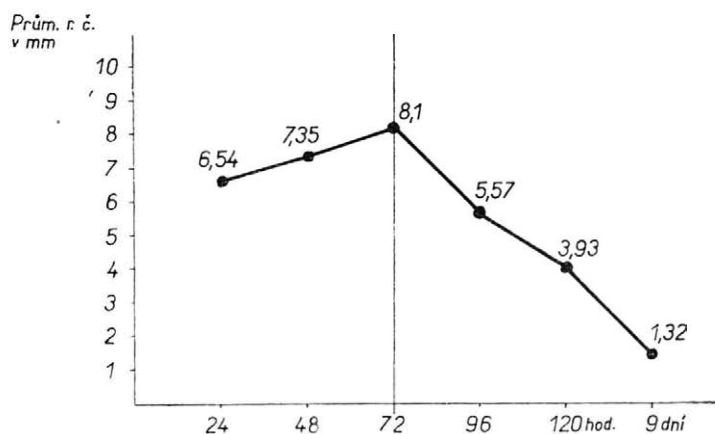
I. Průměrná reakční čísla

TJ	Skupina	Za			
		24	48	72	96
		hodin			
1	1.	—	—	0,5	—
5	2.	0,5	0,75	0,8	0,62
10	3.	0,5	0,6	0,75	0,5
25	4.	1,78	1,03	1,03	0,84
50	5.	1,63	2,55	1,36	0,76

Cást III.

Průběh intrakutánní tuberkulinové zkoušky po Koch vetus tuberkulinu

Po intramuskulární infekci za 49 dní byla provedena u kohouta tuberkulinace intrakutánní Koch vetus tuberkulinem — Ivanovice na Hané, op. č. 168, obsahující po titraci v úpravě 2500 TJ. Vrchol průměrných r. č. (graf 2) byl zjištěn až za 72 hodin a teprve od tohoto dne klesal průměr r. č. a nedosáhl ani za 12 dní normálního rozměru.



Při bližším rozboru 28 reagentů byla zjištěna vyšší průměrná reakční čísla za 72 hodin u 19 zvířat, tj. 73 %. Nejvyšší reakční číslo bylo 11,5 mm a průměrné r. č. 10 mm, kdežto u zvířat s nejvyšším r. č. za 48 hodin (nejvyšší r. č. 10,3 mm) bylo průměrné reakční číslo 6,3 mm.

Výsledek pokusu dále prokázal, že po Koch vetus tuberkulinu byl u většiny intramuskulárně nakažených zvířat vrchol reakce za 72 hodin. Při tuberkulinaci Koch vetus tuberkulinem bylo účelné posoudit tuberkulinační zkoušku i v této době.

Část IV.

Perkutánní tuberkulinace

Po perkutánní aplikaci 2500 TJ (0,1 ml) a 1250 TJ PPD aviárního na skarifikovanou kůži levé nohy a Koch vetus aviárního tuberkulinu op. č. 168 koncentrovaného a 50%, byl pouze u 16 zvířat (57 %) na některých místech nahnědlý stroupek i slabounké mokvání, když u většiny zvířat bylo přechodné mírné zduření, zejména po vyšších dávkách TJ. Změny na kůži zmizely do tří dnů.

Při oční oftalmické zkoušce byla do pravého spojivkového vaku kápnuta kapka Koch vetus koncentrovaného tuberkulinu. Při posouzení zkoušky dvakráte během 24 hodin nebyla zjištěna změna na víčku nebo v okolí oka.

Pokusy bylo zjištěno, že perkutánní tuberkulinace nebyla dostatečně výrazná a spolehlivá, a oční zkouška byla naprosto nezpůsobitelná k diagnostice tuberkulózy drůbeže.

Část V.

Hodnocení diagnostické spolehlivosti Koch vetus tuberkulinu v nízkých TJ

Po titraci Koch vetus tuberkulinu op. č. 168, kterou bylo zjištěno, že biopreparát obsahuje v 1 ml 25 000 TJ, bylo šesti kohoutům injikováno à 1 TJ, pěti kohoutům à 5 TJ, šesti kohoutům à 25 TJ a konečně poslední skupině šesti kohoutů à 50 TJ.

Je to vlastně opakovaný pokus II. části Koch vetus tuberkulinem v pozdější podobě po infekci za 70 dní. Reakce byly sledovány pouze 48 hodin, a jak tabulka II ukazuje, je stejně minimálně účinná dávka 25 TU. Za 24 hodin a za 48 hodin již je diagnosticky průkazná. Výraznější reakce byly zjištěny opět po 50 TJ.

II. Průměrná reakční čísla

Za hodin	Skupina				
	1. 1 TU	2. 5 TU	3. 10 TU	4. 25 TU	5. 50 TU
24	0,6	0,5	0,6	2,0	2,25
48	0,5	0,5	0,5	1,5	2,0

Část VI.

Srovnávací tuberkulinace aviárního Koch vetus a PPD tuberkulinu

Za 87 dní po infekci *im.* bylo injikováno vždy 3 kohoutům 1250 TJ, 625 TJ, 312,5 TJ a 4 kohoutům 106,25 TJ PPD tuberkulinu, a druhé, početně stejné skupině tytéž dávky Koch vetus tuberkulinu op. č. 168 (tab. III).

III. Průměrná reakční čísla

Tuberkul. jednotky	Počet	Za				
		24	48	96	144	192
		hodin				
1250 625 312,5 106,25 1250 625 312,5 106,25	3 3 3 4 4 3 3 3	PPD				
		4,0	5,5	0,6	—	—
		4,6	6,3	1,6	—	—
		5,0	6,6	3,0	0,8	—
		2,5	3,75	2,1	0,75	—
		Koch vetus op. č. 168				
		8,0	9,3	7,3	3,6	2,7
		6,0	9,0	9,1	2,6	3,0
		4,3	4,6	1,0	—	—
		6,2	9,9	6,18	2,56	1,2

Vrchol reakčních čísel byl zjištěn po obou alergenech za 48 hodin. Jen po dávce 625 TJ Koch vetus tuberkulinu byl průměr hodnot za 48 hodin poněkud nižší než za 72 hodin. Průměr reakčních čísel po Koch vetus tuberkulinu byl většinou vyšší než po PPD tuberkulinu.

Reakční čísla po PPD 1250 TJ a 625 TJ se pohybovala mezi 2,5–5 mm. Po PPD 312,5 TJ od 1 do 8 mm a po 106,25 TJ PPD nebyla u jednoho kohouta zjištěna reakce, u ostatních tří byla reakční čísla 1,5, 4 a 4,5 mm.

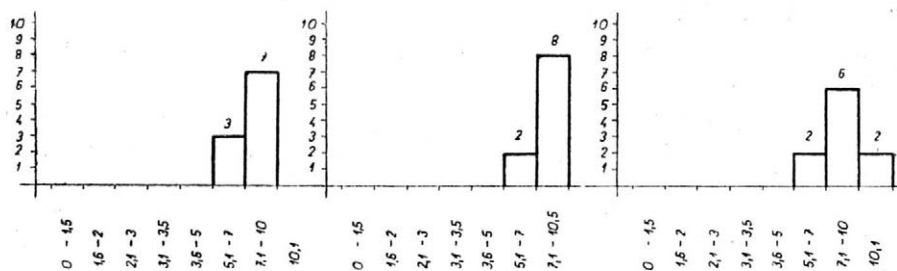
Po Koch vetus tuberkulinu 1250 a 625 TJ byla reakční čísla 3–11,5 mm, po 312,5 TJ 1–7 mm a po 106,25 TJ 6–7,2 mm.

Výsledky tuberkulinací prokázaly, že je možno spolehlivých diagnostických výsledků dosáhnout i nižšími dávkami tuberkulinových jednotek (1250 TJ a 625 TJ).

DISKUSE

Zprávy z praxe o různém mínění na posuzování intrakutánní tuberkulinové zkoušky u drůbeže nás přiměly k ověření průběhu tuberkulinové zkoušky po inokulaci doporučeného čistého tuberkuloproteinu a též po Koch vetus tuberkulinu.

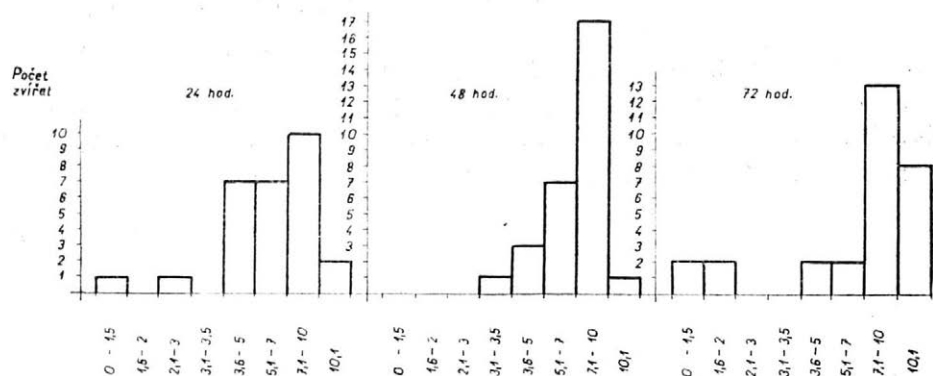
První částí experimentálního ověření aktivity PPD tuberkulinu mohla být prokázána téměř stejná aktivita a diagnostická spolehlivost použitých dávek 200, 1000 a 5000 TJ u třiceti kohoutů. Vrchol reakcí byl zjištěn ve 100 % za 48 hodin, čímž se vylučuje jakákoli diskuse o době posuzování, a současně výsledek potvrzuje pozorování Hutýry, Marka, Manningera, Juskové, Helsbeergena, Grzimka a Gylstoffa.



Ve druhé části pokusů byla prověřena účinnost čistěného tuberkuloproteinu v nízkých dávkách 1,5, 10, 25 a 50 TJ, a bylo zjištěno, že minimální aktivní dávka činí 25 TJ. V páté části práce bylo provedeno stejné hodnocení aktivity Koch vetus tuberkulinem ředěným na stejný počet TJ v injikované dávce 0,1 ml.

Také při tomto prověření mohla být prokázána dávka 25 TJ za minimální ještě aktivní.

V další části pokusů byl zjišťován průběh tuberkulinové reakce po Koch vetus tuberkulinu obsahujícím v 0,1 ml 2500 TJ. Výsledek experimentálního vyhodnocení překvapil, neboť vrchol reakcí se objevil většinou až za 72 hodin. V průměru z tuberkulinovaných zvířat byl u 73 % vrchol reakcí za 72 hodin.



při nejvyšším reakčním čísle 11,5 mm. Pro praxi by to znamenalo, že se výraznějších diagnostických výsledků dosahuje dříve PPD čistěným aviárním alergenem, a může to být jeden z hlavních důvodů pro zavádění tohoto alergenu do veterinární praxe.

Při srovnávací tuberkulinaci PPD tuberkulinem a Koch vetus tuberkulinem v dávkách 1250, 625, 312,5 a 106,25 TJ za 87 dní po infekci, tedy již v pokročilém stadiu onemocnění, kdy kohouti hynuli na pokročilou tuberkulózu (rupturu jater), byl vrchol reakcí po všech dávkách za 48 hodin, pouze po 625 TJ Koch vetus bylo průměrné reakční číslo o 0,1 mm vyšší za 72 hodin.

Po dávkách 312,5 a 106,25 TJ bylo sledováno již nižší reakční číslo a dokonce selhání reakcí.

Pokusy s perkutánní a oftalmickou tuberkulinovou zkouškou nedaly uspokojivé výsledky.

Konfrontuje-li se mínění Kleina, Steffkeho, Manningera, Gylstoffa a Grzimeka, pokud jde o posouzení tuberkulinové reakce podle reakčních čísel, byla v našich pokusech po PPD tuberkulinu 200, 1000 a 5000 TJ naměřena reakční čísla za 48 hodin vyšší než 5,5 mm až 14, — mm, kdežto po Koch vetus tuberkulinu koncentrovaném 0,1 ml byly za 48 hodin reakční čísla nižší 3,5—10,3 mm a za 72 hodin 1—11,5 mm.

Reakční čísla nižší i než 1 mm byla nalezena v pokročilejším stadiu onemocnění, 87. den po infekci. Definitivní určení klíče k posouzení tuberkulinace intrakutánní podle reakčních čísel potřebuje ještě dalších ověření, zejména na spontánně nakažené drůbeži s následným patologicko-anatomickým a jiným laboratorním vyšetřením.

SOUHRN

1. U třiceti intramuskulárně infikovaných kohoutů (0,5 mg v 0,5 ml) byla zjištěna intrakutánní tuberkulinací PPD tuberkulinem v dávkách 200, 1000 a 5000 TJ téměř stejná aktivita a vrchol reakcí ve 100 % za 48 hodin (po infekci za 21 dní).

2. Minimální aktivní dávka PPD a Koch vetus aviárního tuberkulinu, potřebná k vyvolání reakce, činila u kohoutů 25 TJ (za 35 dní po infekci).

3. Po Koch vetus tuberkulinu aviárním byl v 73 % zjištěn vrchol reakce za 72 hodin (graf 2 — za 49 dní po infekci).

4. Při srovnávací tuberkulinaci PPD a Koch vetus aviárním tuberkulinem v dávkách 1250 a 625 TJ bylo dosaženo téměř stejných diagnostických výsledků.

5. Perkutánní a oftalmická reakce nedaly hodnotitelné výsledky.

Došlo dne 17. 10. 1964

Literatura

1. Dražan, Pavlas, Klobouk: Tuberkulóza hospodářských zvířat. SZN Praha 1959. — 2. Dražan a kol.: Tuberkulóza hospodářských zvířat. Monografie 1962. — 3. Eissner G.: Zbl. Bakt. Orig. 164: 129, 131, 1955. — 4. Van Es, Helsebeergen, Grzimek, Gylstoff: citováno podle H. Kleina (12). — 5. Fritsche H., Unruh W.: Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift, 303, 1958. — 6. Halík J.: Veterinářský časopis IX, 6, 1960. — 7. Harnach R.: Nakažlivé nemoci domácích zvířat. SZN Praha 1960. — 8. Hejlíček K.: Sborník CSAZV - Vet. medicína 7 (35), 1: 53-58, 1962. — 9. Hiller K.: Diss. München 1961. Berl. u. Münch. tierärztl. Wchschr. 75 (6), 116, 1962. — 10. Hutýra, Marek, Manninger, Móczy: Monografie 1959. — 11. Juskovec M. K.: Monografie 1953. — 12. Klein H., Steffke E.: Mnhfte f. Vet. Med. 5, 138, 1959. — 13. Klimeš, Pavlas: Sborník VŠZ Brno, Spisy veterinární fakulty 1-2, 49, 1961. — 14. Klobouk A.: Tuberkulóza hospodářských zvířat, 1956. — 15. Pavlas M.: Sborník CSAZV - Vet. med. 7, 35, 1: 43-52, 1962. — 16. Poddubski I. W., Fomina A. J., Akulov A. V.: Veterinarija 33, 2, 24-36, únor 1956. — 17. Prochovrov A. V.: Veterinarija 9, 60, 1958. Veterinarija 11, 42, 1955. Veterinarija 32, 11,

41-42, 1955. — 18. Prochorov A. V., Akulov A. V.: Veterinarija 2, 45, 1958. — 19. Rotov V. I.: Veterinarija 31, 12, 33-34, 1955. — 20. Švrček Š., Eliáš I.: Veterinářství 5, XIII, 202, 1963. — 21. Vior C. a kol.: L. Inst. Path. Igiene, Anim. Bucuresti 10, 15-25, 1960.

Изучение аллергии у птицы, экспериментально внутримышечно зараженной *M. avium* после птичьего туберкулопротеина (PPD) и *Koch vetus* птичьего туберкулина

1. У 30 внутримышечно зараженных петухов (0,5 мг в 0,5 мл) была установлена интракутанная туберкулинизация PPD туберкулином в дозах 200, 1000 и 5000 туберкулиновых единиц почти такая же активность и максимум реакции в 100 % спустя 48 часов (после инфекции спустя 21 день).

2. Минимально активная доза PPD и *Koch vetus* птичьего туберкулина, необходимая для вызова реакции, составляла у петухов 25 туберкулиновых единиц (спустя 35 дней после инфекции).

3. После *Koch vetus* птичьего туберкулина в 73 % был установлен максимум реакции после 72 часов (график № 2 — спустя 49 дней после инфекции).

4. При сравнимой туберкулинизации PPD и *Koch vetus* птичьим туберкулином в дозах 1250 и 625 туберкулиновых единиц были получены почти одинаковые диагностические результаты.

5. Перкутанная и офтальмическая реакция не дали оцененных результатов.

Allergological Studies of Experimentally Intramuscularly Infected Poultry with *M. avium* after Avian Tuberculoprotein (PPD) and *Koch vetus* Avian Tuberculin

1. 30 intramuscularly-infected cocks (0,5 mg in 0,5 ml) showed by means of intracutaneous tuberculinization with PPD tuberculin the same activity and the climax of reactions in 100 % in 48 hours, the doses being 200, 1000 and 5000 Tuberculin Units (21 days after the infection).

2. The minimum active dose of PPD and the *Koch vetus* avian tuberculin needed for inducing the reaction was as many as 25 TU in cocks (35 days after the infection).

3. After the *Koch vetus* avian tuberculin the climax of reactions was ascertained in 73 % after 72 hours (fig. No 2 — 49 days after the infection).

4. Almost the same diagnostic results were achieved in the comparative tuberculinization by means of PPD and *Koch vetus* avian tuberculin in doses 1250 and 650 TU.

5. The results of the percutaneous and ophtalmic reactions could not be evaluated.

Studie der Allergie bei dem experimentell intramuskulär mit *M. avium* nach aviärem Tuberkuloprotein (PPD) und *Koch vetus* aviärem Tuberkulin infiziertem Geflügel

1. Bei dreißig intramuskulär infizierten Hähnen (0,5 mg in 0,5 ml) wurde mittels intrakutaner Tuberkulinierung mit PPD-Tuberkulin in Dosen von 200, 1000 und 5000 TE eine fast gleiche Aktivität und ein gleicher Gipfel der Reaktionen in 100 % der Fälle in 48 Stunden ermittelt. (Nach der Infektion in 21 Tagen).

2. Die minimal aktive Dosis des PPD und *Koch vetus* — aviären Tuberkulins, die für das Hervorrufen der Reaktion notwendig ist, betrug bei Hähnen 25 TE. (In 35 Tagen nach der Infektion).

3. Nach dem *Koch vetus* — aviären Tuberkulin wurde in 73 % der Reaktionsgipfel in 72 Stunden festgestellt (graphische Darstellung Nr. 2 — in 49 Tagen nach der Infektion).

4. Bei vergleichender Tuberkulinierung mit PPD und Koch vetus — aviärem Tuberkulin in Dosen von 1250 und 623 TE wurden annähernd gleiche diagnostische Ergebnisse erzielt.

5. Die perkutane und ophtalmische Reaktion ergaben keine bewertbare Ergebnisse.

MVDr. Leopold Rossi

Výzkumný ústav veterinárního lékařství,
Brno-Medlánky

■ Fluorescenčná metóda (f.m.) popísaná prvýkrát Coonsom a spol. v r. 1941 a vypracovaná Coonsom a Jonesom v r. 1950 má okrem praktického významu aj veľký teoretický význam. Uvedená metóda má už bohatú literatúru, zvlášť čo sa týka jej možnosti použitia rýchleho dôkazu a typizácie rôznych druhov antigénov. Podstatne menej prác sa zaoberá použitím fluorescenčnej metódy na dôkaz humorálnych protilátok pre rutinnú sérodiagnostiku.

F.m. má niekoľko aplikačných postupov. Pre sérodiagnostiku je vhodná iba nepriama f.m. vypracovaná a prvýkrát použitá Wellerom a Coonsom (1954). Účelom tejto metódy bolo scitliviť a zjednodušiť dôkaz antigénu. Prvýkrát ju použil v sérodiagnostike Liu (1957).

Nepriama f.m. je vlastne antiglobulínový test, ale namiesto aglutinačného fenoménu sa tu posudzuje intenzita fluorescencie antigénu. V sérodiagnostike ju použil Fife a Muschel (1959) pri ľudskej trypanosomiase, Deacon a spol. (1957) pri sifilitide, Vogel a Padula (1958) zisťovali touto metódou protilátky proti toxickým plesniam.

V diagnostike brucelózy sa použila nepriama f.m. s nasledovnými výsledkami:

Mooday a spol. (1961) zisťovali túto metódu brucelových protilátok u ľudí a pokusných zvierat. Zistili, že metóda je vhodná na zistenie humorálnych brucelových protilátok. Pozitívne výsledky neobdržal u ľudí a králikov, ktoré brucelové protilátky neobsahovali.

Biegeleisen a spol. (1962) vyšetrili 96 ľudí s klinicky manifestnou brucelózou a výsledky porovnávali s SA. Všetky séra bez výnimky dávali pozitívnu fluorescenciu, ktoré boli pozitívne pri SA, avšak fluorescenčná technika dávala vždy nižšie titre ako SA. U 37 ľudských sér pomer titrov SA: FAgT bol 10 : 1.

Jentzsch (1964) porovnával spoľahlivosť SA, KFT s nepriamym fluorescenčným testom pri brucelóze hovädzieho dobytku. U 500 kusov sér hov. dobytku bez výberu odporazeného na bitúnku zistil, že fluorescenčná metóda, čo do spoľahlivosti, leží medzi KFT a SA. Udáva ďalej, že pri vysycovaní brucelových sér mnohé dávali fluorescenciu, ačkoľvek z výsledkov SA sa dalo dedukovať na to, že aglutiníny boli bez zvyšku odstránené.

* Prednesené na vedeckej konferencii, konanej z príležitosti 10. výročia zahájenia výroby v národnom podniku BIOVETA Nitra v dňoch 24.—25. 9. 1964 v Nitre.

Krvné vzorky hov. dobytky a ošipaných pochádzali jednak z chovov brucelózou zaručene prostých, jednak z chovov brucelózou zamorených s rôznou nákazovou situáciou. Okrem toho sme vyšetrili krvné séra od hov. dobytky imunizovaného vakcínou B 19, pochádzajúceho od brucelózneho hov. dobytky a odchovaného v nezamorenom prostredí.

Krvné séra sme vyšetrovali jednak pomocou skúmavkovej aglutinácie (SA), komplementfixačným testom (KFT), Coombsovým testom klasickým a nami modifikovanými [pomalý antiglobulínový test (PAgT), rýchly antiglobulínový test (RC)]. U ošipaných sme robili i alergickú reakciu. Uvedené testy sme robili podľa štandardných vyšetrovacích metód. Výsledky v týchto testov sme porovnávali s fluorescenčným antiglobulínovým testom (FAGT).

Antiglobulínové séra sme si vyrábali sami a ich vhodnosť pre antiglobulínovú techniku sme zisťovali nami vypracovanými titračnými metodikami (H a j d u 1964). Všetky antiglobulínové testy včítane FAaT sme robili rovnakými antiglobulínovými sérami. Pre FAGT sme použili 2 % globulíny vysolené amoniumsulfátom pri 40 % nasýtenosti. Po odstránení amoniumsulfátu dialýzou sme upravili koncentráciu globulínov na 4 % pomocou cuprisulfátovej metódy podľa Phillipsa a van Slykeho. Takto získaný globulínový roztok sme zriedili rovnakým dielom boratovým pušom podľa Sørensen a o pH 9 a tým sa konečná koncentrácia bielkovín upravila na 2 %. Značkovanie globulínov sme robili fluoresceinizotioxyánom (FITC) podľa zásad udaných Albrechtom. Odstránenie neviazaného FITC sme robili s aktívnym živočíšnym uhlím o pH 7,2 pričom sme použili 50 mg na jeden ml roztoku globulínov. Takto zhotovené globulíny sme uchovávali v mrazenom stave pri -28°C . Nakoľko na porovnávanie citlivosti fluorescenčná metodika robená na podložitých sklíčkach nebola vhodná, vypracovali sme nasledovný nový postup, o ktorom sa ešte zmienim v diskusnej časti tejto práce.

FAGT sme robili pri hromadných vyšetreniach iba v jednom zriedení (1 : 10) a pri zisťovaní titra protilátok sme vyšetrovali séra od zriedenia 1 : 10 do predpokladaného titra. Séra sme vyšetrovali jednak v aktívnom stave, jednak po 10 min. inaktivácii pri 70°C po predchádzajúcom zriedení s rovnakým dielom fyz. roztoku NaCl.

Pri hromadnom vyšetrovaní postupujeme nasledovne:

Z vyšetrovaných sér napipetujeme do aglutinačných skúmaviek po 0,1 ml a dokaždé skúmavky pridáme po 0,1 ml fyz. roztoku NaCl. Potom nasleduje 10 min. inaktivácia pri 70°C vo vodnom kúpeli. Po skončení inaktivácie pridáme po 0,05 ml brucelového antigénu nezriedeného, ktorý sa používa pre SA (jedna dávka), načo nasleduje dvojhodinová inkubácia vo vodnom kúpeli, alebo v termostate, nastavenom na 37°C . Po skončení inkubácie nasleduje dvojrázové premytie antigénu v celkovom množstve 2 ml NaCl tak, ako sa to robí pri C teste. Po druhom odliatí supernatantu pridáme do každej skúmavky potrebné množstvo značkovaneho antiglobulínového séra (množstvo sa určí podľa výsledku titrácie) v celkovom množstve 0,05 ml fyz. roztoku NaCl. Po zamiešaní sedimentu s antiglobulínovým sérom nasleduje 1-hodinová inkubácia. Po skončení druhej inkubácie sa dvojrázovým premytím brucel v celkovom množstve 1 ml fyz. roztoku NaCl odstráni neviazané značkovanie globulíny. Po druhom odliatí supernatantu pridáme v 0,05 ml fyz. roztoku také množstvo králičieho brucelového séra, ktoré vyvolá aglutináciu v prípade, že by táto nebola nastala pri premytí antigénu.

Potom sa obsah jednotlivých skúmaviek vyleje na podložné sklíčko a po prikrytí krycím sklíčkom nasleduje prezretie preparátov v UV svetle.

V prípade, že zisťujeme titer protilátok, postupujeme tak, že si urobíme zriedenia do predpokladaného titra s fyz. roztokom NaCl tak, že do prvej skúmavky pridáme 0,2 ml vyšetrovaného séra a 0,2 ml NaCl a do každej ďalšej skúmavky po 0,2 ml fyz. roztoku. Prenášame po 0,2 ml. V prípade, že sérum mienime vyšetriť v aktívnom stave, tak ihneď pridáme po 0,05 ml antigénu nezriedeného, alebo keď sérum vyšetrujeme po uvedenej inaktivácii, tak antigén pridáme iba po skončení inaktivácie. Ďalší postup je totožný s už hore popísaným. Poznamenávame, že za zriedenie 1 : 10 považujeme tú skúmavku, kde na jednu dávku antigénu pripadá 0,1 ml vyšetrovaného séra, za zriedenie 1 : 20 to, v ktorom je antigén senzibilizovaný s celkovým množstvom vyšetrovaného séra 0,05 ml atď. Dôležité je tu iba to, aké množstvo vyšetrovaného séra pripadá na jednu dávku antigénu a, nie v akom celkovom množstve roztoku prebieha reakcia.

Pre fluorescenčnú mikroskopiu sme použili veľký luminiscenčný aparát firmy Zeiss Jena podľa úpravy Albrechta (1963). Ako excitačný filter sme použili UG 1 v hrúbke 1,5 mm a okulárový filter GG9. Preparáty sme posudzovali pri malom zväčšení (100 X), pričom sme používali paraboloid namiesto obyčajného kondenzoru. Fluorescenciu sme posudzovali podľa intenzity žltozelenej fluorescencie + až + + + +. Za pozitívny výsledok sme považovali už + fluorescenciu, nakoľko negatívne kontroly nevykazovali žiadnu fluorescenciu a prezentovali sa v modrofialovej farbe.

VÝSLEDKY

Séra hov. dobytká a ošípaných z chovov nezamorených

Predovšetkým nás zaujímala otázka, či nešpecifické, „normálne“ protilátky, ktoré dosť často nachádzame v sérach hov. dobytká a ošípaných, budú dávať fluorescenciu. Z tejto príčiny sme vyšetrili v aktívnom stave fluorescenčnou metódou také séra hov. dobytká a ošípaných, ktoré uvedené protilátky obsahovali v rôznom titre. Zo 17 chovov hov. dobytká sme vyšetrili 69 kusov sér, ktoré obsahovali nešpecifické aglutiníny v titre 10 až 80, a 75 kusov sér ošípaných s titrom SA 10 až 40. Niektoré výsledky sú zachytené na tabuľke č. I. Z tabuľky je zrejmé, že séra s obsahom nešpecifických aglutinínov v aktívnom stave dávajú pozitívny výsledok pri fluorescencii spravidla o jedno zriedenie v nižšom titre, ako je SA. Z uvedenej príčiny sme séra inaktivovali pri 70° C po dobu 10 min. a vyšetrili sme ich po uvedenej inaktivácii. Takto sme vyšetrili zo zdravých chovov okrem uvedených sér hov. dobytká a ošípaných ešte 100 kusov sér od hov. dobytká a 50 kusov sér od ošípaných. Výsledky boli negatívne u všetkých vzoriek, a to bez ohľadu na výšku aglutinačných titrov (viď tabuľku II.). Negativita sér bola potvrdená i pomocou KFT, PAgT a RC.

Porovnávanie citlivosti fluorescenčného fenoménu pri antiglobulínovom teste s citlivosťou SA, CT klasického a nami modifikovanými antiglobulínovými testami

Na viacerých sérach hov. dobytká brucelózou nakazeného sme porovnávali citlivosť FAgT a SA aglutinačným fenoménom antiglobulínových testov. Uvedenými metodikami sme vyšetrovali brucelózne séra do konečného titra, a to

I. Výsledok fluorescence u sér hovädzích a ošípaných s obsahom normálnych protilátok aglutinujúcich brucely v rôznom titre.

Por. č.	Druh dobytky	Titer SA	Výsl. KFT	Výsl. PAgT	Výsledok fluorescence			
					1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80
1	hov. dob.	1 : 80	neg.	neg.	+++	++	±	—
2	hov. dob.	1 : 40	neg.	neg.	++	+	—	—
3	hov. dob.	1 : 20	neg.	neg.	±	—	—	—
4	ošíp.	1 : 40	neg.	neg.	++	+	—	—
5	hov. dob.	1 : 40	neg.	neg.	++	+	—	—
6	hov. dob.	1 : 20	neg.	neg.	+	—	—	—

jednak v aktívnom stave a po 70° C inaktivácii. Niektoré výsledky sú zachytené na tabuľke III. Z tabuľky vidno, že fluorescenčná metóda dáva podstatne vyššie titre ako SA a konečné titre sa zhruba zhodujú s titrami RC, CT, resp. PAgT. V niektorých prípadoch FAgT dával o jedno až dve zriedenia vyššie titre, ale boli prípady, že titer FAgT bol o jedno zriedenie nižší ako titer ostatných anti-globulínových testov. Ačkoľvek po 70° C inaktivácii aglutinácia sa nedostavila ani v zriedení 1 : 10, napriek tomu fluorescenčná metóda dávala pozitívne výsledky v rovnakom titre ako FAgT alebo RC a je zaujímavé, že intenzita fluorescence bola vždy úmerná s množstvom vyšetrovaného séra.

Séra hov. dobytky a ošípaných z chovov brucelózou zamorených pri rôznej nákazovej situácii

Zo zamorených chovov dobytky sme vyšetrili celkove 698 kusov sér, z ktorých 98 kusov pochádzalo od hov. dobytky brucelózou chronicky zamoreného a 600 kusov od hov. dobytky brucelózou akútne zamoreného. Okrem toho sme vyšetrili 248 kusov sér od ošípaných, ktoré pochádzali z chovov jednak akútne, jednak chronicky zamorených. Z tabuľky II. vidno, že z celkového počtu 698 kusov sér SA zachytila pozitívne (titer 40 až 80) 72 kusov, KFT dopadol pozitívne u 78 kusov a dubiálne u 20 kusov, zatiaľ RC zachytil pozitívne 123 kusov, PAgT 122 kusov a FAgT dopadol pozitívne u 131 kusov. Z uvedených reakcií sa javí ako najspoľahlivejšia skúška FAgT. Podobné výsledky boli dosiahnuté i u sér ošípaných. Z celkového počtu 248 kusov sér ošípaných SA zachytil pozitívne (titer 20 až 40) 48 kusov, KFT bol pozitívny u 121 kusov, PAgT zachytili pozitívne 166 kusov, FAgT dopadol pozitívne v 177 prípadoch.

Vo dvoch chovoch ošípaných brucelózou zamorených sme porovnávali výsledky KFT, PAgT, FAgT s výsledkami alergickej reakcie. Krvné séra obsahovali aglutiníny v rôznom titre (viď tabuľku IV.). Celkove sme vyšetrili 120 kusov ošípaných. Z uvedenej tabuľky vidieť, že PAgT a FAgT pozitívne zachytili všetky séra s titrom SA 1 : 40 a takmer všetky séra s titrom SA 1 : 20 a 1 : 10. Pri neprítomnosti aglutinínov ani v titre 1 : 10 dával pozitívny výsle-

II. Výsledky FAgT v chovoch hov. dobytká a ošípaných brucelózy prostých a brucelózou zamorených v rôznom štádiu zamorenosti, ako i v chovoch hov. dobytká vakcinovaných vakcínou B-19 pred 2 až 4 rokmi v porovnaní v ostatnými imunodiagnostickými skúškami

Druh zvierat	Počet vyšetr. vzoriek	Titer SA					Počet pozitívnych pri					Poznámka
		0	10	20	40	80	KFT	RC	PAgT	FAgT	Alergia	
Hov. dobytok	169	93	47	19	8	2	—	—	—	—	x	Hov. dobytok nezamorený
Ošípané	125	45	69	17	5	—	—	—	—	—	x	Ošípané nezamorené
Hov. dobytok	98	18	18	17	9	36	41	73	72	75	x	Hov. dob. chronicky zamorený
Hov. dobytok	600	496	48	29	10	17	37	50	50	56	x	Hov. dob. akútne zamorený
Ošípané	248	142	58	22	26	—	121	x	166	177	70*	Ošíp. akút. a chron. zamorené
Hov. dobytok	307	230	41	13	20	3	7	57	51	68	x	Hov. dobytok vakcinovaný

x = reakcia neprevedená

* = reakcia u 40 kusov neprevedená

III. Porovnávanie titrov SA, CT klasického a nami modifikovaných antiglobulínových testov s titrami fluorescenčného antiglobulínového testu u brucelových sér hovädzieho dobytku aktívnych a inaktivovaných 10 min. pri 70⁰ C.

P. č.	Číslo séra	Reakcia	Použitie antigl. sérum	stav séra	Zriedenie pozitívneho séra 1 :													
					10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480	40960	81920
1	I	PAGT RC FAGT SA	neznačk. neznačk. značk. —	inakt.	4 3 4	4 3 3	4 3 2	4 2 1	3 1 1	— — 1	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
2	41	PAGT RC FAGT SA	neznačk. neznačk. značk. —	inakt.	4 4 4	4 4 4	4 4 3	4 3 3	4 3 2	3 1 1	— — 1	— — 1	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
3	B-19	SA CT FAGT	— neznačk. značk.	akt.	4 x 4	4 x 4	4 x 3	4 x 3	4 x 2	4 x 1	3 4 1	2 4 1	— 3 —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
4	334	SA CT RC FAGT	— neznačk. neznačk. značk.	akt.	4 x x 4	4 x x 4	4 x x 4	4 x x 4	4 x x 3	3 4 4 2	— 4 4 2	— 4 3 1	— 4 2 1	— 4 2 1	— 3 1 1	— — — —	— — — —	— — — —
5	40	SA CT FAGT	— neznačk. značk.	akt.	3 4 4	4 x 4	4 x 4	4 x 4	3 4 3	— 4 2	— 4 2	— 4 1	— 4 1	— 4 1	— 4 1	— 4 1	— 1 —	— — —
6	40	PAGT RC FAGT SA	neznačk. neznačk. značk. —	inakt.	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 3 3	4 3 2	4 2 1	4 2 1	3 1 1	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
7	536	SA CT FAGT	— neznačk. značk.	akt.	4 x 4	4 x 4	4 x 4	4 x 4	4 x 4	4 x 3	2 4 2	1 4 2	— 4 1	— 4 1	— 4 1	— 4 1	— 4 1	— 3 1
8	89	SA CT FAGT	— neznačk. značk.	akt.	4 x 4	4 x 4	4 x 4	4 x 4	3 4 2	1 4 2	— 4 1	— 4 1	— 4 1	— 3 1	— — —	— — —	— — —	— — —
9	372	SA CT RC FAGT	— neznačk. neznačk. značk.	akt.	4 x x 4	4 x x 4	4 x x 4	4 x x 4	4 x x 4	4 x x 4	4 x x 2	2 4 4 1	— 4 4 1	— 4 4 1	— 4 4 1	— 4 2 1	— 2 1 —	— — —
10	372	PAGT RC FAGT SA	neznačk. neznačk. značk. —	inakt.	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 3	4 4 2	4 4 —	4 4 —	4 3 —	4 2 —	3 1 —	— — —	— — —	— — —	— — —
11	234	PAGT RC FAGT SA	neznačk. neznačk. značk. —	inakt.	4 4 4	4 4 3	4 4 2	4 3 1	4 2 1	4 — 1	3 — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —

IV. Výsledky KFT, PAgT, FAgT a alergickej reakcie v dvoch chovoch ošípaných brucelózou zamorených pri rôznych titroch SA.

Titre S A	Počet	K F T pozit.	PAgT pozit.	FAgT pozit.	Alergia pozit.
1 : 40	16	15	16	16	11
1 : 20	14	10	11	13	8
1 : 10	38	34	37	38	19
0	52	34	42	42	23
Spolu:	120	93	106	109	62

dok KFT v 23 prípadoch, PAgT a FAgT v 42 prípadoch. Alergia dopadla negatívne v 5 prípadoch pri titre SA 1 : 40 a vyššom, v 6 prípadoch pri titre SA 1 : 20 a pozitívne dopadla v 23 prípadoch, keď aglutiníny neboli prítomné v krvnom sére ani v titre 1 : 10.

Chovy imunizované vakcínou B-19 odchované od brucelózneho hov. dobytká v nezamorenom prostredí

Výsledky SA, KFT a nami modifikovaných antiglobulínových testov sme porovnávali s FAgT v dvoch chovoch hov. dobytká pochádzajúceho od brucelózných kráv a odchované v nezamorenom prostredí a vakcínované vakcínou B 19. Z celkového počtu 307 kusov hov. dobytká SA bola v titre 1 : 80 v 3 prípadoch, v titre 1 : 40 v 20 prípadoch, v titre SA 1 : 20 a 1 : 10 bolo 56 prípadov. KFT dopadol pozitívne u 7 kusov a dubiozne u 14 kusov. RC zachytil pozitívne 57 kusov, PAgT 51 kusov a FAgT dopadol pozitívne u 68 kusov (viď tabuľku II.). Je zaujímavé, že fluorescencia bola iba u 4 kusov + + +, u ostatných kusov bola fluorescencia iba + až + +.

Titrácia značkovanieho antiglobulínového séra pre fluorescenčný antiglobulínový test

Vynárala sa otázka, aký vplyv bude mať koncentrácia značkovanieho antiglobulínového séra, jednak na intenzitu fluorescencie, jednak na konečný titer vyšetrovaného brucelózneho séra. Nami vypracovaná metodika pre titráciu antiglobulínových sér nemusí dávať verný obraz o vhodnosti značkovanieho antiglobulínového séra pre fluorescenčný postup. Pri značkovaní, resp. pri vysolovaní môže byť narušená precipitačná schopnosť vyrobeného antiglobulínového séra, ale môže si zachovať fixačnú schopnosť a tým vhodnosť pre f.m. Zistili sme i silnú fluorescenciu i v tom prípade, keď značkovanie antiglobulínové sérum aglutinačný fenomén nevyvolávalo. Okrem toho sme zistili, že na vyvolanie + + + + aglutinácie je potrebné v antiglobulínovej technike veľmi malé množstvo antiglobulínového séra. Z uvedených dôvodov sme sledovali intenzitu fluorescencie pri rôznej koncentrácii značkovanieho antiglobulínového séra a pri rôz-

nej senzibilizácii brucelového antigénu. Súčasne sme sledovali aj aglutinačný fenomén u značkových antiglobulínových sér a výsledky sme porovnávali s aglutinačným fenoménom neznačkového antiglobulínového séra tej istej výroby. Tieto pokusy sme robili jednak so sérami pozitívnymi na brucelózu aktívnymi a jednak s inaktivovanými pri 70° C. Niektoré výsledky sú zachytené na tabuľke V. Z tabuľky vidno, že následkom značkovania aglutinačný fenomén sa dostavuje v nižšom titre ako u neznačkového antiglobulínového séra. Pri postupnom zriedení značkového antiglobulínového séra klesá zároveň jednak intenzita fluorescencie a jednak konečný titer. U značkového antiglobulínového séra pri zriedení 1 : 400 sa objavuje fluorescencia iba + poľažne ++ i v tom prípade, keď brucelový antigén bol obsadený veľkým množstvom brucelových protilátok. V prípade použitia značkového antiglobulínového séra v titre 1 : 50 intenzita fluorescencie bola úmerná s množstvom protilátok naviazaných na brucelovom antigéne. Z toho vyplýva, že kvalita i kvantita značkového antiglobulínového séra má značný vplyv na záchytnosť fluorescenčnej metódy. Slabú, + fluorescenciu sme pozorovali buď pri veľkom zriedení značkového antiglobulínového séra, alebo pri nízkej hladine brucelových protilátok vyšetřovaného séra.

DISKUSIA

Za úkol sme si vytýčili zistiť, aké praktické a teoretické prednosti má fluorescenčná metóda nepriama, ktorá z fluorescenčných postupov má najväčší význam pre sérodiagnostiku. Pokusy sme robili na brucelozných sérach hov. dobytky a ošípaných z toho dôvodu, že sérodiagnostika brucelózy dosiahla mimoriadnu citlivosť a spoľahlivosť po zavedení antiglobulínovej techniky. Výsledky fluorescenčného fenoménu (f. f.) sme porovnávali s aglutinačným fenoménom pri SA a pri antiglobulínovej technike a okrem toho aj s výsledkami KFT a alergickej reakcie. Alergickú reakciu sme robili len u ošípaných, u ktorých dáva táto reakcia veľmi dobré výsledky, zvlášť pri chronickej brucelóze.

Na sledovania vytýčeného úkolu nebol súci nepriamy antiglobulínový test robený na skličku z toho dôvodu, že sa tu nedajú vôbec sledovať kvantitatívne pomery medzi antigénom a protilátkou, ďalej menej vhodné sú tu predpoklady na väzbu protilátok s antigénom (antigén je fixovaný na skličku). Týmto okolnostiam pripisujeme, že J e n t z s c h zaraďuje citlivosť nepriameho AgT medzi KFT a SA. Z tejto príčiny obdržal i B i e g e l e i s e n a spol. (1962) nižšie titre s nepriamym AgT ako s SA, ačkoľvek by sa dalo očakávať, že ním sa dosiahnu lepšie výsledky vzhľadom na to, že je známa vysoká citlivosť antiglobulínovej techniky a takisto sa pripisuje veľká citlivosť fluorescenčnému fenoménu, čím sa zdôvodňujú aj krížové reakcie (Thomson, Cherry a Edwards 1959). Okrem uvedených nedostatkov treba spomenúť ďalej, že nešpecifické brucelové protilátky, ktoré sa dosť často nachádzajú v sérach hov. dobytky a ošípaných v rôznom titre, môžu dávať tiež fluorescenciu a tak vyhodnotenie reakcie je sťažené.

Z popísaných príčin sme vypracovali pre fluorescenciu taký postup, ktorý pri vysokej špecificite jednak umožní sledovať titer protilátok vo vyšetřovaných sérach a jednak je ľahko vyhodnotiteľný. Nami vypracovaný pracovný postup nie je o nič technicky a časovo náročnejší ako skľíčková metodika. FAgt čo do technického prevedenia je totožný s antiglobulínovými testami nami modifikovanými s tým rozdielom, že sa pracuje so značkovým antiglobulínovým sérom a hodnotí sa intenzita fluorescencie. Intenzitu fluorescencie sme zvýšili tým, že

V. Porovnávanie intenzity fluorescencie a aglutinačnej schopnosti značkovaneho antiglobulinového séra v rôznej koncentrácii s výsledkami klasického a nami modifikovaného antiglobulinového testu.

Číslo B-pozit. séra	Stav vyšetř. séra	Reakcia	Použitú antiglobul. sérum	Zriedenie antiglobul. séra	Zriedenie vyšetřovaného Bang pozit. séra 1 :											
					10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10 240	20 480
40	akt.	SA	0	0	4	4	4	4	3	—	—	—				
		CT	neznačk.	1 : 300	×	×	×	×	4	4	4	4	4	4	1	1
		CT	neznačk.	1 : 500	×	×	×	×	4	4	4	4	4	3	—	—
		CT	značk.	1 : 50	×	×	×	×	4	4	4	2	—	—	—	—
		CT	značk.	1 : 200	×	×	×	×	4	2	2	2	1	—	—	—
		CT	značk.	1 : 400	×	×	×	×	3	—	—	—	—	—	—	—
		FAGT	značk.	1 : 50	4	4	3	3	2	2	1	1	1	1	±	±
		FAGT	značk.	1 : 200	2	2	2	2	1	1	1	±	±	±	—	—
		FAGT	značk.	1 : 400	2	1	1	1	1	—	—	—	—	—	—	—
39	inakt.	SA	×	×	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		PAgT	neznačk.	1 : 300	4	4	4	4	4	4	±	—	—	—	—	—
		PAgT	značk.	1 : 50	4	4	4	2	2	—	—	—	—	—	—	—
		PAgT	značk.	1 : 200	3	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		FAGT	značk.	1 : 50	4	4	4	2	2	1	1	1	—	—	—	—
		FAGT	značk.	1 : 200	2	2	2	1	1	1	±	—	—	—	—	—

v konečnej fáze sme aglutinovali brucelový antigén v prípade, že by nebolo došlo k aglutinácii pri premývaní antigénu. Fluorescencia vytvorených aglutínátov sa okrem toho rýchlo a ľahko posudzuje, nakoľko potrebuje sa iba malé zväčšenie (100X). Okolnosť, že reakcia prebieha v tekutom prostredí a v malom množstve roztoku, umožní rýchlu a dokonalú väzbu protilátok na antigén, pričom sa môže obklopiť protilátkami celý povrch antigénu, čím sa intenzita fluorescence ďalej zvyšuje.

Diagnostická hodnota toho-ktorého fenoménu je značne závislá od špecificity. Jentzsch + fluorescenciu považoval za negatívnu a ++ považoval za dubiózny výsledok. Zaujímala nás otázka, či nešpecifické protilátky sú globulínmi a či budú dávať fluorescenciu pri nepriamej f. m. Je to otázka podstatná, lebo v negatívnom prípade fluorescenčná metodika zaistila by nám rozlišovanie špecifických protilátok od nešpecifických. To, že nešpecifické protilátky môžu sťažovať vyhodnotenie fluorescenčnej metódy a pripisovať jej tak určitú menšiu špecificitu ako bežne používaným diagnostickým metódám dokazujú práce Fifeho a spol. (1959) a Vogela a spol. (1958). Pri riešení tejto otázky sme zistili, že fluorescencia u aktívnych sér sa dostavuje a jej intenzita je závislá od hladiny nešpecifických protilátok. Je zaujímavé, že titer, dosiahnutý fluorescenciou nepresahoval titer SA a podobné výsledky sa docielili ako s klasickým antiglobulínovým testom. Je ďalej pozoruhodné, že po 70° C inaktivácii fluorescencia sa neobjavovala a brucelový antigén sa javil v UV svetle ako modrofialové shluky bez známky fluorescence. Z uvedenej príčiny sme pri hromadnom vyšetrovaní séra inaktivovali tak ako pri nami modifikovaných antiglobulínových testoch. Táto skutočnosť nasvedčuje tomu, že normálne protilátky sú globulínmi, ktoré nepriama f. m. odhaľuje a v prípade, že séra vyšetrujeme v aktívnom stave, treba počítať s nešpecifickými výsledkami.

Aby vyhodnotenie citlivosti SA a KFT a hlavne antiglobulínových testov s porovnaním FAgT bolo čím vieryhodnejšie, robili sme antiglobulínové testy s rovnakými antiglobulínovými sérami. Nami vypracovaná antiglobulínová technika zaručila kvalitu pre tento účel vyrobených antiglobulínových sér. Nakoľko pri vysolovaní globulínov a pri značkovaní môže dôjsť k zmene precipitačnej schopnosti antiglobulínového séra, nami vypracovaná titračná metodika nemusí dať verný obraz o vhodnosti značkovania antiglobulínového séra pre fluorescenciu. Zistili sme totiž, že keď značkové antiglobulínové sérum dávalo zónový fenomén pri aglutinácii, nebol tento pozorovaný pri fluorescencii. Protilátkami silnejšie obsadený brucelový antigén napriek tomu, že nevyvolával aglutináciu antigénu, dával oveľa silnejšiu fluorescenciu, ako antigén protilátkami menej obsadený, i keď tento bol aglutinovaný značkovým antiglobulínovým sérom. Podobné výsledky sme zaznamenali nielen pri určovaní konečného titra vyšetrovaných brucelových sér, ale i pri vyšetrení brucelóznych sér v jednom zriedení. To znamená, že intenzita fluorescence je priamo úmerná množstvu protilátok nachádzajúcich sa na brucelovom antigéne bez ohľadu na to, či značkové antiglobulínové sérum vyvoláva aglutináciu senzibilizovaného brucelového antigénu alebo nie. Táto skutočnosť umožní vyšetrovať séra iba v jednom zriedení, lebo FAgT je ešte menej zaťažovaný z. f. ako ostatné antiglobulínové testy. Treba ale poznamenať, že výsledok SA nedáva verný obraz o množstve brucelových protilátok. Tento fakt potvrdil i FAgT a nielen antiglobulínové testy. Závisle od množstva nekompletných protilátok antiglobulínové testy čítane fluorescenčného testu presahovali liter SA o viac ako 3 zriedenia u sér pochádzajúcich od nakazeného hovädzieho dobytká. Týmto sa dá vysvetliť i zistenie

Jentzsch, že pri vysycovaní brucelových sér mnohokrát obdržal fluorescenciu, ačkoľvek z negatívneho výsledku SA bolo možné dedukovať na úplné odstránenie aglutíninov. Protilátky nekompletného typu ale nemuseli byť dokonale odstránené a tieto dávali fluorescenciu. Tým sa dá vysvetliť aj veľký počet pozitívnych FAGT a nami modifikovaných antiglobulínových testov pri úplnej negatívite SA, hlavne u sér ošipaných a ľudských, čo popíšem v inej práci. To je ďalším dôkazom toho, že i FAGT odhaľuje aj protilátky nekompletného typu. Preto pri posudzovaní intenzity fluorescencie nie je smerodajný titer SA, ale titer antiglobulínových testov, ktoré dávajú vernejší obraz o množstve protilátok v sére (Hajdu 1959).

Výsledky titračných pokusov ukázali, že i pri FAGT treba používať kvalitné antiglobulínové séra v hojnej koncentrácii. V prípade, že použijeme značkové antiglobulínové sérum vo vysokom zriedení, nielen že fluorescencia bude slabého stupňa, ale i titer vyšetřovaného séra klesne. To znamená, že nezachytíme séra s nízkou hladinou protilátok, čím zachytnosť FAGT môže značne klesnúť. Z titračných výsledkov antiglobulínových sér je zrejme, že na vyvolávanie + + + + aglutinačného fenoménu treba nepatrné množstvo antiglobulínového séra. Antiglobulínové séra značkové a zriedené 1 : 400 dávali už iba + fluorescenciu i pri silnej senzibilizácii brucelového antigénu. Z tejto príčiny treba pri FAGT použiť antiglobulínové séra relatívne vo vyššej koncentrácii ako pri RC, respektíve pri PAGT. Spravidla sme značkové antiglobulínové séra používali v zriedení 1 : 25 až 1 : 50 v prepočte na 1 ml roztoku NaCl (absolútne množstvo 0,04—0,02 ml), aby sme dostali pri silnej senzibilizácii antigénu + + + + fluorescenciu. Tým sa stala táto skúška kvantitatívnou i pri použití v jednom zriedení. To je jednou z predností FAGT, lebo z výsledku PAGT, ak ho robíme iba v jednom zriedení, spravidla nemožno dedukovať na množstve protilátok vyšetřovaného séra. Pri sklíčkovej metóde titrácia značkového antiglobulínového séra veľmi neprichádza do úvahy okrem zistenia jeho kvality, lebo tu sa používa nezriedené antiglobulínové sérum a i viackrát sa používa po zliatí. Dôležité je ale zistiť, či imunoglobulíny sa nevysýtli do takej miery, že sa antiglobulínové sérum stalo už nepoužiteľné.

Z výsledkov vyšetřenia sér hovädzieho dobytku a ošipaných pochádzajúcich zo zamorených chovov možno dedukovať, že FAGT je o niečo citlivejšou reakciou, ako nami modifikované antiglobulínové testy, respektíve, že fluorescenčná metóda je o niečo citlivejšia ako aglutinácia pri antiglobulínovom teste a ďaleko presahuje citlivosť SA, KFT a i alergického testu, ačkoľvek tento dáva u ošipaných dobré výsledky. Toto sa dalo aj očakávať vzhľadom na vysokú citlivosť antiglobulínových testov a na vysokú citlivosť fluorescencie. Je pozoruhodná úplná zhoda výsledkov rôznych antiglobulínových testov, a že tieto dávajú pozitívne výsledky v každom prípade, keď je KFT pozitívny. To sa aj dalo predpokladať. Citlivosť fluorescenčného fenoménu ale môže byť závislá i od iných faktorov, ako napríklad od druhu a akosti použitého fluorochrómu, od použitého fluorescenčného zariadenia atď. Zatiaľ sme nemali možnosť porovnávať vhodnosť rôznych fluorescenčných zariadení, preto naše dedukcie sa vzťahujú iba na veľké fluorescenčné zariadenie upravené podľa Albrechta.

Čo sa samotnej techniky týka, treba poznamenať, že medzi časom Jentzsch popísal fluorescenčný Coombsov test pre brucelózu. Poznamenávame však, že nepriama antiglobulínová technika je vlastne fluorescenčný Coombsov test s tým rozdielom, že namiesto aglutinačného fenoménu posudzujeme fluorescenciu. Postup, popísaný uvedeným autorom, sa iba tým líši od sklíčkového nepriameho antiglobulínového testu, že sa na podložné sklíčko nanesú senzibilizované bruce-

ly a tak výsledok Coombsovho testu sa skráti o 17 hodín. Pri tomto postupe brucelový antigén je senzibilizovaný so známym množstvom vyšetrovaného séra. V našom prípade FAgT dáva výsledok za niekoľko hodín po obdržaní vzorky. Inkubačnú dobu pri prvej a druhej inkubácii možno skrátiť (prvá inkubácia má 30 min., druhá má 20 minút), ale keď sa jedná o sérum relatívne s vysokým obsahom protilátok. V opačnom prípade dvojhodinovú inkubáciu pri inkubovaní vyšetrovaného séra a hodinovú inkubáciu so značkovým antiglobulínovým sérom treba dodržať. Ďalšou prednosťou FAgT je, že sa môže robiť v jednom zriedení, nakoľko sa nešpecifická fluorescencia, zavinená normálnymi protilátkami, odstraňuje pri relatívne vysokej inaktivácii, ďalej že z intenzity fluorescencie možno dedukovať na množstvo protilátok. Zvlášť dobre sa toto dalo vidieť u hovädzieho dobytku vakcínovaného, kde išlo o dôkaz malého množstva protilátok a kde sme obdržali, až na málo výnimiek, iba + a ++ fluorescenciu. Rušivý účinok komplementu pri FAgT neprichádza v úvahu, nakoľko séra sú inaktivované. Tým si vysvetľujeme, že v niektorých prípadoch sme po inaktivácii spozorovali zreteľnejšiu fluorescenciu ako v aktívnom stave.

Fluorescenčná metóda je predurčená na to, aby sa touto reakciou zistovala aglutinácia vyvolaná na inom podklade, ako interakcia medzi antigénom a protilátkou. V takom prípade, keď antigén bol aglutinovaný (stratil suspenziálnu stabilitu) následkom makromolekulárnych zložiek neprotilátkového charakteru, PAgT bude dávať negatívny výsledok. Je ďalej otázne, či pri tejto metóde nebudú sa môcť použiť pre sérologické účely i antigény, ktoré sa pre slabú suspenziálnu stabilitu nehodia na aglutináciu. Pri FAgT totiž nehrá rolu či následkom prebehnutia prvej fázy nastane alebo nenastane aglutinácia antigénu v druhej fáze. Táto skutočnosť skrýva v sebe mnohé prednosti pred reakciami odohrávajúcimi sa vo dvoch fázach. Z toho dôvodu je nutné zaoberať sa fluorescenčným fenoménom v sérodiagnostike a všestranne využiť prednosti, ktoré táto metóda má. V sérodiagnostike brucelózy sa ukázala byť rovnocennou skúškou s ostatnými antiglobulínovými testami, čo je ďalším dôkazom vysokej citlivosti a špecifity nami vypracovaných antiglobulínových testov a nepostrádateľnosti v sérodiagnostike brucelózy na dosiahnutia jej rýchlej a spoľahlivej eradikácie.

S U H R N

V práci sa popisuje výkonnosť fluorescenčného antiglobulínového testu (FAgT) — autorom modifikovaného, v porovnaní s výkonnosťou s SA, KFT a antiglobulínových testov na základe vyšetrovaní 1547 kusov sér hovädzieho dobytku a ošípaných, pochádzajúcich z chovov brucelózou prostých a brucelózou zamorených, s rôznou nákazovou situáciou. U ošípaných bola robená i alergická reakcia. Popisuje sa postup a prednosti FAgT autorom vypracovaného.

Zistila sa vysoká citlivosť a shoda výsledkov rôznych antiglobulínových testov (RC, PAgT a FAgT), ktoré, čo do spoľahlivosti, ďaleko presahovali spoľahlivosť SA, KFT a alergickej reakcie, a to bez ohľadu na štádium choroby. FAgT sa ukázal byť o niečo citlivejší ako antiglobulínové testy autorom modifikované.

Popisujú sa prednosti fluorescenčného antiglobulínového testu a udávajú sa perspektívy jeho ďalšieho použitia, hlavne u tých chorôb, kde antigény nie sú vhodné pre séroreakcie bežne používané.

Došlo dňa 9. 11. 1964

Literatura

1. Albrecht P.: Vizualizácia antigénov metódou fluorescentných protilátok, Praha, 1963. — 2. Biegeleisen J. Z. a spol.: J. Immunol. 88, 109, 1962. — 3. Coons A. H. a spol.: Proc. Soc. exp. Med. 47, 200, 1941. — 4. Coons A. H. a spol.: J. Exp. Med. 91, 1, 1950. — 5. Deacon W. E. a spol.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96, 477, 1957. — 6. Fife E. H. a spol.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101, 540, 1959. — 7. Hajdu Š.: Vet. čas. 7, 569, 1958. — 8. Hajdu Š.: Vet. čas. 8, 127, 1959. — 9. Hajdu Š.: Arch. exp. Veterinärmed. 16, 13, 1963. — 10. Hajdu Š.: Arch. exp. Veterinärmed. 18, 883, 1964. — 11. Jentszsch K. D.: Arch. exp. Veterinärmed. 17, 921, 1963. — 12. Jentszsch K. D.: Zbl. Bakt. I. Orig. 187, 262, 1964. — 13. Moody M. D. a spol.: J. Bakt. 81, 990, 1961. — 14. Vogel R. A. a spol.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 98, 135, 1958. — 15. Weller T. H. a spol.: Proc. Sov. exp. Biol. Med. 86, 789, 1954.

Действие флуоресцентного метода в серумдиагностике бруцеллеза крупного рогатого скота и свиней

В работе описано действие флуоресцентного антиглобулинового теста (FAGT), модифицированного автором, по сравнению с действием SA, KFT и антиглобулиновых тестов на основании исследования сывороток 1547 голов крупного рогатого скота и свиней, происходящих из стад незараженных и зараженных бруцеллезом, а также находящихся в состоянии инфекции. У свиней проводилась и аллергическая реакция. В работе описаны приемы и преимущества FAGT, разработанного автором.

Установлена высокая чувствительность и сходство результатов разных антиглобулиновых тестов (RC, PAgT и FAGT), которые в смысле надежности далеко превысили надежность SA, KFT и аллергической реакции, а именно, без учета стадии болезни. FAGT показало себя несколько более чувствительнее антиглобулиновых тестов, модифицированных автором.

В работе описаны также преимущества флуоресцентного антиглобулинового теста и приводятся перспективы его дальнейшего применения, главным образом при таких заболеваниях, когда антигены непригодны для обычно применяемой серумреакции.

Efficiency of the Fluorescence Method in the Serodiagnostics of Brucellosis in Cattle and Pigs

In this article the efficiency of the fluorescence-antiglobulin-test modified by the author is described, in comparison with the efficiency of the test-tube-agglutination, complement-fixation-test and antiglobulin test based on the eximination of 1547 samples of serum from cattle and pigs originating from brucellosis-free herds and from herds conaminated with brucellosis, of various epizootological situation. An allergical test was carried out in the pigs, too. The procedure and advantages of the fluorescence-antiglobulin-test worked out by the author are described.

A high sensitivity and coincidence of the results of different antiglobulin tests was ascertained (the quick antiglobulin-test, slow antiglobulin-test and fluorescence-antiglobulin-test) which, as far as their reliability is concerned, surpassed by far the reliability of the test-tube-agglutination, complement-fixation-test and that of the allergical reaction, and that irrespective of the stage of the disease.

The fluorescence-antiglobulin-test proved to be a little more sensitive than the antiglobulin-tests modified by the author.

The advantages of the fluorensence-antiglobulin-test are described and the perspectives of its further application are indicated. This concerns especially the diseases where antigens for the commonly used serum-reactions are not suitable.

Die Leistungsfähigkeit der Fluoreszenzmethode zur Serodiagnostik der Brucellose beim Rind und Schwein

Beschrieben sind die Ergebnisse eines vom Autor modifizierten Fluoreszenz-Antiglobulin-Tests im Vergleich mit der Röhrchenagglutination, der Komplementbindungsreaktion und mit Antiglobulinproben auf Grund der Untersuchung von 1547 Seren von Rindern und Schweinen, stammend teils aus brucellosefreien Zuchten, teils aus brucelloseverseuchten Zuchten mit unterschiedlicher Seuchensituation. Bei Schweinen wurde auch die allergische Probe zum Vergleich herangezogen. Der Vorgang bei der vom Autor modifizierten Probe und ihre Vorteile werden genau beschrieben.

Es konnte eine große Empfindlichkeit sowie eine Übereinstimmung der Resultate bei den Antiglobulintesten (rascher Antiglobulintest, langsamer Antiglobulintest, Fluoreszenz-Antiglobulintest) festgestellt werden. Diese Tests ließen bezüglich Verlässlichkeit die Röhrchenagglutination sowie die Komplementbindungsreaktion weit hinter sich, und ohne Rücksicht auf das Krankheitsstadium. Die Fluoreszenzprobe erwies sich als etwas empfindlicher als die vom Autor modifizierten Antiglobulinteste.

Es werden die Vorteile des Fluoreszenz-Antiglobulintests beschrieben und die Aussichten für seine weitere Anwendung erörtert, hauptsächlich bei den Krankheiten, bei denen die Antigene für die gebräuchlichen Seroreaktionen ungeeignet sind.

MVDr. Štefan Hajdu,

Ústredný štátny veterinárny ústav,
Stanica laboratórnej diagnostiky, Zvolen

■ Kvalitatívne požiadavky na antitoxické séra po stránke špecifickej účinnosti a tiež aj po stránke nešpecifických faktorov neustále rastú. Najmä pri používaní heterologných sér (prevážne konských) sa kladie veľký dôraz na titer protilátok v objemovej jednotke a stupeň dešpecifikácie konských globulínov. Pre získanie koncentrovaných a purifikovaných sér s vysokým titrom má rozhodujúci význam titer protilátok vo východnom sére, resp. plazme.

LITERARNÝ PREHĽAD

Imunizačné procesy s rozpustnými antigenami typu anatoxínov, resp. toxínov na laboratorných zvieratkách boli študované celým radom autorov, ako Zdrodovskij (6), D'Antona a Piazzzi (2) a ďalší (1, 4, 5). Hyperimunizačný proces používaný k výrobe antitoxických sér sa podstatne líši od jednoduchej vakcinácie a revakcinácie. Kombinujú sa tu primárne a sekundárne stimuly, jednotlivé dávky antigénu a sumácia antigeného podraždenia. U produkčných koní sa hyperimunizačné cykly v určitých intervaloch stále opakujú a je veľmi ťažko zistiť či ide o zvláštne antigénne stimulum, alebo o sumácie antigénnych podraždení. Doposiaľ nie je jednotný názor na spôsob hyperimunizácie.

Za účelom preskúšania vplyvu niektorých faktorov na hyperimunizáciu sme previedli komparatívne pokusy na králikoch. Hoci si plne uvedomujeme imunoreaktívnu odlišnosť králikov a koní, a teda nemožnosť priamej aplikácie našich výsledkov na produkčné zvierata, dúfame, že naša práca bude určitým prínosom k štúdiu hyperimunizačného procesu.

MATERIÁL A METODIKA

K pokusom sme používali králiky Činčila veľká váhy 3–3,5 kg a morčatá váhy 320–360 g. Profylaktické injekcie králikom sme aplikovali intramuskulárne. Hodnotu protilátok v sére králikov sme stanovovali u každého králika zvlášť. V tab. uvádzame priemerný titer protilátok v medzinárodných jednotkách (UI). Titer protilátok sme stanovovali bežne používaným spôsobom titráciou na myškách. Jednotky väznosti anatoxínov (KBL) sme stanovovali bežne používaným spôsobom titráciou na morčatách.

Ako antigén sme používali tetanický anatoxín natívny (ďalej len TAN), vyrobený detoxikáciou tetanického toxínu natívneho kultivovaného na živnej pôde Legroux-Ramonovej; výrobný kmeň D-21. Ďalej tetanický anatoxín purifikovaný (ďalej len TAP) o minimálnej čistote 1000 KBL/mg bielkovinového dusíka, vyrobený z TAN koncentráciou síranom amonným a purifikáciou kyselinou trichlóroctovou.

Ako adjuvans k príprave očkovacích látok sme použili 1% roztok síranu hlinito-draselného (ďalej len kamenec), gel hydroxydu hlinitého o obsahu 14 až 17 mg Al_2O_3 /ml v množstve 8 % (ďalej len hydroxyd hlinitý) a kompletný Freudov adjuvans zloženia: Arlacel A : Bayol F : anatoxín = 5 : 8,5 : 1,5; k 10 ml adjuvansu sme pridávali 10 mg usmrtených TBC baktérii (ďalej len lipid adjuvans).

EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

Sledovanie antigénnej aktivity purifikovaných a natívnych tetanických antitoxínov

Imunizovali sme 4 skupiny po štyroch králikov 2 profylaktickými injekciami s 3týždňovým intervalom. Dávky antigénu (tab. I.) boli 1 ml s kamencom. Hyperimunizácia pozostávala z 2 injekcií bez adjuvansu so subkutánnou aplikáciou: 1. nasledovala 2 mesiace po prvej profylaktickej injekcii v množstve 1 ml príslušného anatoxínu, kým 2. šiesty deň po nej 2 ml príslušného anatoxínu. Titráciu protilátok sme previedli 10. deň po 2. profylaktickej a 8. deň po 2. hyperimunizačnej injekcii. Výsledky pokusov sú uvedené v tab. I.

I.

Skupina	Dávka antigénu (KBL)	Antitoxíny (UI/ml) po	
		zákl. imun.	hyperimuniz.
I.	60 TAN	4	3
II.	80 TAN	4	6
III.	80 TAP	6	17
IV.	200 TAP	5	15

Ďalší pokus bol opakovaný s tou zmenou, že na miesto 2 hyperimunizačných dávok boli aplikované 3 dávky antigénu, a to 0,6, 1 a 2 ml. Interval medzi jednotlivými injekciami bol 3 a 6 dní. Výsledky tohoto pokusu uvádzame v tab. II.

Ako vyplýva z tab. I. a II. je zrejmé, že TAP v oboch prípadoch sa ukázal antigenne aktívnejším (vyvolával v organizme králikov vyšší titer protilátok). Zvýšená dávka TAP (200 KBL) nedala žiaduci efekt.

Použitie antigénov sme preskúšali na imunogenitu na morčatách tak, že skupine 6 morčiat sme aplikovali po 30 KBL v 1 ml subkutánne. Po 3 týždňoch

II.

Skupina	Počet králikov	Dávka antigénu (KBL)	Antitoxíny (UI/ml) po	
			zákl. imun.	hyperimuniz.
I.	5	80 TAP	7	22,5
II.	5	80 TAN	5	5,4

sme previedli prepich 100 DLM toxínu v 1 ml subkutánne. Výsledky uvádzame v tab. III.

Z tab. III. je zrejmé, že morčatá imunizované TAP prežili prepich toxínom na 100 %, kým morčatá imunizované TAN prežili prepich v oboch prípadoch na 84 %.

III.

Skupina	Dávka anat. (KBL)	Číslo morčáťa	Stup. reakcie v jednot. dni					Prežitie (%)
			1.	2.	3.	4.	5.	
I. TAP o 200 KBL/ml	30	1	-	+	+	+	+	100
		2	-	+	+	+	+	
		3	-	++	+++	+++	++++	
		4	-	+	++	++	++	
		5	-	+	+	+	+	
		6	-	+	+	+	+	
II. TAN o 90 KBL/ml	30	7	-	+	+	+	+	84
		8	-	+	+	+	+	
		9	++	+++	†	+	+	
		10	+	++	+++	+++	+++	
		11	+	+++	+++	++++	++++	
		12	-	+	++	++	++	
III. TAN o 80 KBL/ml	30	13	-	+	+	+	+	84
		14	-	+	++	+++	+++	
		15	-	+	++	++	++	
		16	+	++	+++	+++	+++	
		17	++	†	+	+	+	
		18	-	+	+	+	+	
Kontrola tox. (1 DIM)		19	++	+++	†			0
		20	++	++++	†			
		21	++	+++	†			

- bez príznakov tetan. intoxikácie
- + veľmi slabé príznaky tet. intoxikácie
- ++ stredné príznaky tetan. intoxikácie
- +++ ťažké onemocnenie na tetan
- ++++ veľmi ťažké onemocnenie na tetan
- † uhynutie

Vplyv používaných adjuvancií na výšku tetanických antitoxínov

Preskúšali sme vplyv kamenca, hydroxydu hlinitého a lipid adjuvansu na výšku titrov protilátok u králikov. Utvorili sme 3 skupiny po päť králikov: I. skupine sme aplikovali 60 KBL TAP v 1 ml s lipid adjuvansom. II. skupine sme aplikovali 60 KBL TAP v 1 ml s kamencom. III. skupine sme aplikovali 60 KBL TAP v 1 ml s hydroxydom hlinitým. Po 3 týždňoch sme aplikovali 2. profylaktickú injekciu rovnakého zloženia. Hyperimunizáciu sme začali 2 mesiace po 1. profylaktickej injekcii a pozostávala zo 4 dávok: 30, 60, 100 a 150 KBL v 1 ml; aplikácia bola subkutánna. Intervaly medzi jednotlivými dávkami boli 3 dni. Titráciu protilátok sme previedli 12. deň po poslednej dávke. Výsledky pokusu sú zhrnuté v tab. IV.

IV.

Skupina	Použitý adjuvans	Antitoxíny (UI/ml) po	
		zákl. imun.	hyperimuniz.
I.	lipoid	15	38
II.	kamenec	9	5
III.	hydroxyd hlinitý	9	21

Z tab. IV. vyplýva, že najvyššie titre protilátok po základnej imunizácii a aj po hyperimunizácii boli dosiahnuté s použitím lipid adjuvansu, o 45 % nižšie s použitím hydroxydu hlinitého a o 87 % nižšie titre ak bol ako adjuvans použitý kamenec.

Sledovanie vplyvu objemovej dávky antigénu v priebehu hyperimunizácie a porovnanie s hyperimunizáciou králikov tetanickým anatoxínom s kamencom

K pokusu sme vytvorili 3 skupiny po 4 králikov. Všetkým sme aplikovali 30 KBL TAP v 1 ml s hydroxydom hlinitým. Za mesiac po profylaktickej injekcii sme previedli hyperimunizáciu 3 dávkami TAP po 100 KBL subkutánne. Intervaly boli 3dňové. I. skupine sme aplikovali 100 KBL v 1 ml, II. skupine 100 KBL v 5 ml a III. skupine 100 KBL v 1 ml s kamencom. Výsledky pokusu sú zhrnuté v tab. V.

Z tab. V je zrejmé, že zväčšením objemov dávky anatoxínu pri rovnakom množstve KBL bol dosiahnutý u králikov nižší titer protilátok. U skupiny králikov, ktoré boli hyperimunizované tetanickým anatoxínom s kamencom došlo k zvýšeniu titru protilátok o 32 % oproti I. skupine.

Porovnanie subkutánnej a intravenózne aplikácie antigénu v priebehu hyperimunizácie králikov

Na 2 skupinách králikov (v každej po päť) sme sledovali subkutánnu a intravenóznú aplikáciu antigénu a ich vplyv na výšku antitoxínu. Základnú imunizáciu sme previedli 30 KBL TAP s hydroxydom hlinitým v 1 ml. Po me-

V.

Skupina	Použitý antigén		Antitoxíny po hyperimuniz. (UI/ml)
	(KBL)	objem (ml)	
I.	100	1	27,5
II.	100	5	20
III.	100 + kamenec	1	40

sečnej prestávke sme králikom aplikovali 100 KBL TAP v 1 ml, a to 3 injekcie so 4 a 6dňovou prestávkou: I. skupine sme aplikovali intravenózne a II. skupine subkutánne. Výsledky uvádzame v tab. VI.

Z tab. VI vyplýva, že skupina I., u ktorej bol antigén aplikovaný intravenózne sa dosiahol titer protilátok štyri raz väčší než u II. skupiny, u ktorej aplikácia antigénu bola subkutánne.

VI.

Skupina	Aplikácia antigénu pri revakcinácii	Antitoxíny po hyperimuniz. (UI/ml)
I.	intravenózna	140
II.	subkutánna	34

Vplyv časového intervalu medzi základnou imunizáciou a začiatkom hyperimunizácie na výšku antitoxického titru

V ďalšej časti pokusov sme sledovali vplyv intervalu medzi základnou imunizáciou (prvým antigénnym stimulom) a hyperimunizáciou na výšku titru protilátok u králikov. U všetkých králikov sme previedli základnú imunizáciu 60 KBL TAP s hydroxydom hlinitým v 2 ml. V I. skupine králikov sme s hyperimunizáciou začali za 3 týždne, a to intravenózne, v II. skupine po 2 mesiacoch subkutánne a v III. skupine po 3½mesačnej prestávke tiež intravenózne. Všetkým skupinám sme aplikovali 3 injekcie po 100 KBL TAP v 1 ml. Interval medzi jednotlivými hyperimunizačnými dávkami bol 4 dni. Výsledky sú uvedené v tab. VII.

Ďalší pokus za účelom sledovania tohoto problému bol prevedený na 3 skupinách po 5 králikov. Základná imunizácia bola prevedená rovnakým spôsobom ako v predošlom pokuse. Hyperimunizáciu sme prevádzali subkutánnou aplikáciou antigénu. Interval medzi základnou imunizáciou a hyperimunizáciou v I. skupine bol 3 týždne, II. skupine 2 mesiace a III. skupine 4 mesiace. Výsledky sú zhrnuté v tab. VIII.

Z tab. VIII je zrejme, že interval medzi základnou imunizáciou (prvým stykom organizmu s antigénom) a začiatkom hyperimunizácie má dôležitý význam pri získavaní vysokých titrov protilátok. Pri intravenózne aplikácii antigénu v priebehu hyperimunizácie predĺžením intervalu z 3 týždňov na 3½ me-

VII.

Skupina	Počet králikov	Aplikácia antigénu pri revakcinácii	Interval (týžd.)	Antitoxíny po hyperimuniz. (UI/ml)
I.	5	intravenózna	3	78
II.	5	subkutánna	8	39
III.	5	intravenózna	14	125

VIII.

Skupina	Doba medzi zákl. imun. a revakcin. (týždne)	Antitoxíny po hyperimuniz. (UI/ml)
I.	3	22
II.	8	54
III.	17	72

siaca sa zvýšil titer z 78 UI na 125 UI, t. j. o 38 %. Pri subkutánnej aplikácii pri predĺžení intervalu medzi základnou imunizáciou a začiatkom hyperimunizácie z 3 týždňov na 2 mesiace sa zvýšil titer protilátok na dvojnásobok a pri intervale 4mesačnom viac ako tri razy.

DISKÚZIA

V našich pokusoch sme študovali hyperimunizačný proces používaný k výrobe antitoxických sér. Pokusy boli čiastočne prispôbené základnému cyklu hyperimunizácie koní s tým rozdielom, že počet revakcinačných dávok bol znížený. V každom pokuse sme sledovali určitý faktor vplyvajúci na imunizačný proces komparatívnym spôsobom. Nepreštudovali sme celú radu otázok, ako vplyv množstva antigénu, zisťovanie imunologickej reaktivity organizmu, vplyv výživy a p. Pri práci sme sa opierali o určité údaje v literatúre (2, 6) a vlastné skúsenosti s očkovacími látkami proti tetanu. Otázku primárneho a sekundárnych stimulov u adsorbovaných a neadsorbovaných antigénov podrobne študovali D'Antona a Piazzì (2) a došli k záveru, že intenzita antigénnych stimulov sa má začínať nižšími dávkami a postupne tieto zvyšovať. Adsorbovaný anatoxín použitý ako primárny stimul je účinnejší ako antigén bez adjuvancie a naopak u sekundárnych stimulov je anatoxín bez adjuvancie aktívnejším antigénom. Gurvič a Šumakova (3) vysvetľujú príčinu vyššej preladenosti organizmu a lepšej tvorby protilátok rozpustnými antigénami na lipoid adjuvans. Zdrodovskij (6) veľmi podrobne rozoberá reaktivnosť organizmu, význam primárnych a sekundárnych stimulov, dĺžku intervalu medzi primárnym a sekundárnym stimulom, ďalej študuje vplyvy na vznik potenciálnej imunity organizmu a výšku titru protilátok.

Hyperimunizácia koní za účelom výroby tetanických antitoxických sér sa obvykle prevádza natívnym anatoxínom, resp. toxínom. Prvé použitie koncentro-

vaného a purifikovaného tetanického anatoxínu u nás neprinieslo očakávaný efekt. Rozhodli sme sa porovnať imunogenitu natívnych a purifikovaných tetanických antigénov na králikoch, imunizáciu ktorých sme čo najviac prispôbili imunizačnému procesu koní.

Imunizácia koní sa prevádza pomerne veľkými dávkami antigénu. Pri použití koncentrovaných anatoxínov sa znovu prešlo na veľké objemové dávky. Na koľko anatoxín sa pre tieto účely riedil, pokusom na králikoch sme sledovali, či zvýšenie objemovej dávky bude kladne vplývať na výšku titru antitoxínu. Tento problém je dôležitý aj preto, že aplikácia veľkých dávok antigénu (100–600 ml) je ťažká. Ďalej sme preskúšali či anatoxín s kamencom používaný k sekundárnym stimulom zvyšuje titer protilátok.

V našej práci sme sa snažili zodpovedať aspoň na niektoré faktory, ktoré majú dôležitú úlohu pri získavaní sér s vysokým titrom protilátok. Pri hodnotení výsledkov sme brali do úvahy iba presvedčivé rozdiely. Potvrdili sa prednosti používania TAP pred bežne používaným TAN k hyperimunizácii. Veľmi dôležitú úlohu v maximálnom preladení zvierat má spôsob prevedenia základnej imunizácie, dĺžka intervalu medzi profylaktickou injekciou a začiatkom hyperimunizácie a spôsob aplikácie antigénu. Najlepšie konečné výsledky titru protilátok sa dosiahli ak pre primárny stimul bol použitý anatoxín s lipid adjuvansom, so slabším efektom sa ukázal anatoxín s hydroxydom hlinitým a najslabším antigénom v našich pokusoch sa ukázal anatoxín s kamencom. Veľmi dôležitým faktorom je interval medzi základnou imunizáciou a revakcináciou. 3 týždňový interval sa ukázal u králikov ako nedostačujúci. Titer protilátok sa zvyšoval s predĺžením intervalu od 3 týždňov do 4 mesiacov. Z technických dôvodov sme tento interval ďalej nepredlžovali. Ako uvádza Zdrovskij (6) u veľkých zvierat, ktoré sa používajú pre produkciu antitoxických sér, optimálny interval na preladenie je ešte dlhší.

S U H R N

1. Pokusy na králikoch ukázali, že TAP dáva lepšiu protilátkovú odpoveď ako TAN a jeho protekčná hodnota voči toxínu na morčatách bola vyššia.

2. Ukázalo sa, že u králikov profylakticky očkovaných TAP adsorbovaným na lipid adjuvans po revakcinácii bola najlepšia protilátková odpoveď. Slabšie výsledky sme dosiahli ak ako adjuvans bol použitý hydroxyd hlinitý a najslabšie výsledky boli pri použití kamenca.

3. Zväčšením objemovej dávky anatoxínu pri rovnakom obsahu KBL pri subkutannej aplikácii dosiahli sme nižší titer protilátok.

4. Králiky revakcinované intravenózne dávali lepšiu protilátkovú odpoveď ako králiky revakcinované subkutanne.

5. Protilátková odpoveď u králikov sa zvyšovala predlžovaním intervalu medzi základnou imunizáciou a hyperimunizáciou, a to ako pri intravenóznej, tak i pri subkutannej revakcinácii.

Došlo dňa 28. 8. 1964

L i t e r a t ú r a

1. Abramoff P.: J. Immunol. 85 (6), 648–655, 1960. — 2. D'Antona D., Piazzzi S.: Rev. Immunol. 20 (5–6), 317–343, 1956. — 3. Gurvič G. A., Šumaková G. V.: Vest. AMN SSSR 15 (1), 1960. — 4. Peisel, Jarmolenko, Vorobceev: ŽMEI 22 (2), 121, 1958. — 5. Chabas I. M., Ter-Osipová M. Z., Kac I. Z.: ŽMEI 30 (5), 77, 1959. — 6. Zdrovskij P.: Problema reaktivnosti v učenii ob infekcii i imunitete, Medgiz Moskva 1950.

К вопросу изучения некоторых сторон гипериммунизирующего процесса производства столбняковых антитоксичных сывороток на лабораторных животных

1. Опыты на кроликах показали, что ТАР дает лучшую реакцию антитела, чем ТАН и что его защитное действие в отношении токсина было на морских свинках сильнее.
2. Оказалось, что у кроликов, профилактически вакцинированных сывороткой ТАР, адсорбированной на lipoid adjuvans, после повторного вакцинирования реакция антител была самой лучшей. Слабее результаты были достигнуты тогда, когда в качестве adjuvans послужил гидрат окиси алюминия, а самые слабые результаты получены при применении квасцов.
3. В результате увеличения объемной дозы анатоксина при одинаковом содержании KBL при подкожном впрыскивании был получен более низкий титр антител.
4. Внутривенно повторно вакцинированные кролики давали лучшую реакцию антител, чем кролики, повторно вакцинированные подкожно.
5. Реакция антител у кроликов повышалась продлением интервала между основной иммунизацией и гипериммунизацией, а именно как при внутривенной, так и при подкожной повторной вакцинации.

Contribution to the Studies of some Aspects of the Hyperimmunization Process in producing the Tetanus Antitoxic Sera in Laboratory Animals

1. Experiments with rabbits showed that TAP (purified tetanus anatoxin) gives better antibody response than TAN (native tetanus anatoxin) does and that its protective value against the toxin in the guinea-pigs was higher.
2. It appeared, that the best antibody response was with the rabbits, which had been vaccinated prophylactically by TAP adsorbed to the lipoid adjuvant after the revaccination. We achieved worse results when using aluminium hydroxyde as adjuvant; the worst results were achieved with alum.
3. We achieved in the subcutaneous application a lower titre of the antibodies by increasing the volume dose of the anatoxin, the contents of KBL (unit of the anatoxin-linkage-ability) being equal.
4. The rabbits revaccinated intravenously gave better antibody response than those revaccinated subcutaneously.
5. The antibody response in the rabbits got increased by prolonging the interval between the basic immunization and the hyperimmunization and that both with intravenous and subcutaneous revaccination.

Beitrag zum Studium einiger Seiten des Hyperimmunisierungsprozesses der Erzeugung technischer antitoxischer Seren an Laboratoriumstieren

1. Versuche an Kaninchen zeigten, daß das TAP (purifiziertes tetanisches Anatoxin) eine bessere Antikörper-Reaktion als das TAN (natives tetanisches Anatoxin) ergibt und daß sein Schutzwert gegen das Toxin an Meerschweinchen höher war.
2. Es zeigte sich, daß bei den prophylaktisch mit dem auf das Lipoid als Adjuvans adsorbierten TAP geimpften Kaninchen nach der Revakzination die Antikörper-Reaktion die günstigste war. Schwächere Ergebnisse wurden erreicht, wenn man als Adjuvans Aluminium-Hydroxyd benützte und die schwächsten Ergebnisse zeigten sich bei der Anwendung von Alaun.
3. Durch Vergrößerung der Anatoxin-Dosis bei gleichem Gehalt an Einheiten des Bindevmögens der Anatoxine (KBL) erreichte man bei subkutaner Applikation einen niedrigeren Antikörper-Titer.
4. Die intravenös revakzinieren Kaninchen ergaben eine günstigere Antikörper-Reaktion als die subkutan revakzinieren.
5. Die Antikörper-Reaktion bei Kaninchen wurde durch die Verlängerung des Intervalles zwischen der Grund-Immunisierung und Hyper-Immunisierung erhöht, und zwar sowohl bei der intravenösen wie auch bei der subkutanen Revakzination.

**MVDr. Štefan Tirčo,
inž. Imrich Banda,**

Ustav sér a očkovacích látok, Praha
pobočka Sarišské Michaľany,
okres Prešov

■ Při studiu fyziologických hodnot jakýchkoli látek v organismu je nutno vyloučit veškeré vlivy, které by sledované výsledky i jen poněkud ovlivnily. Enzymatické šetření, citlivý ukazatel změn v organismu, jehož výslednicí je údaj aktivity enzymatických pochodů, toho vyžaduje tím více.

Dosud jsou známy pouze některé vlivy, které citelně ovlivňují aktivitu transamináz. Jsou to zánětlivé procesy, degenerace orgánů a traumatická poškození tkání. Ostatní vlivy (gravidita, obesitas, kachexie, hladovění, nadmořská výška, barometrický tlak, pracovní výkon) na aktivity tělových enzymů jsou ve veterinární medicíně dosud méně známy, a je třeba jim věnovat patřičnou pozornost.

Hladovění jako vlivu na změnu aktivity transamináz se u nás věnovali Neuman a Maděrová (11). Prokázali vliv třídenního hladovění na zvyšování aktivity transaminázy kyseliny glutamové oxalocetové a transaminázy kyseliny glutamové pyrohroznové u koní a skotu. Aktivita GOT u koní se podle údajů autorů zvýšila o několik desítek procent. Uvedené zjištění se liší od našich poznatků. Poněvadž nejsou známy obdobné údaje v dostupné literatuře, bylo nutno se věci blížeji zabývat.

PRACOVNÍ POSTUP A METODIKA

Měření aktivit transamináz a aldolázy, sérových bílkovin a bilirubinu jsme provedli u 11 hladovějících zdravých koní a u 11 hladovějících zdravých krav. Březost krav se pohybovala v rozmezí 1 až 3 měs. Krev k základnímu vyšetření na uvedené prvky byla odebrána 48 až 72 hod. po započetí hladovky z *veny jugularis* u obou druhů zvířat. Zvířata nebyla po uvedené dobu ani napájena a ustájovací plocha byla prosta podestýlky. Krev jsme odebírali denně v 8 hod., sérum krav jsme získávali centrifugací. Enzymatické šetření bylo současně prováděno na třech pracovištích (Senice, Brno, Hodonín). V naší laboratoři jsme sérum vyšetřovali ihned, v obou dalších během 24 hodin.*)

Aktivita transamináz byla na všech pracovištích určována metodou podle Reitman-Frankela, u nás přezkoušel tuto metodu Ševela (13).

*) Za technickou spolupráci děkuji J. Továrkovi a L. Šašínkovi. Měření aktivit upraveného séra bylo souběžně provedeno na pracovišti III. int. kliniky fakultní nemocnice v Brně a v laboratoři nemocnice v Hodoníně.

Aktivita aldolázy byla stanovena metodou podle Brunse a Pulse (2) stanovením množství triosofosfátu, který vznikl štěpením fruktózo-1,6-difosfátu. Fotometrická měření enzymů byla provedena na spektrofotometru SFM 2, spektrofotometru typu Koucký, pro oba v kyvetách o průměru 12 mm při 505 milimikromech pro transaminázy, pro aldolázu při 540 milimikromech. Třetí pracoviště použilo fotometru Pulfrichova.

Výsledky aktivit jsou udány v mikromolech (1 ccm/1 hod/37° C). Krevní séra byla ředěna pro GOT fyziologickým roztokem 1 : 10. Celkovou bílkovinu jsme určovali refraktometricky (refraktometr Meopta). Elektroforetický rozbor sérových bílkovin byl proveden na dvousměrném přístroji Wagenhoferově, doba dělení 6 hod., pufr o pH 8,6 a iontové síle 0,05, papír Whatman 1. Hodnoty jednotlivých frakcí byly měřeny na spektrálním fotometru SFM 2, při 580 milimikromech. Celkový bilirubin jsme určovali podle metody Jendrassik-Grof na uvedeném spektrofotometru, při 650 milimikromech, v kyvetách o průměru 12 mm.

Za účelem vyloučení vlivu zvýšené koncentrace žlučových barviv, byl při stanovení aktivity enzymů obzvláště u koní proveden současně pokus přimícháním bilirubinu Homburg do krevního séra, který byl předtím podle předpisu rozpuštěn. Za stejným účelem byl proveden biologický pokus aplikací bilirubinu koni *iv* (1 mg na 1 kg váhy).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky laboratorního šetření jsme seřadili podle druhu zvířat a podle časového sledu hladovění do tabulek I a II. Výsledky v tabulkách obsahují šetření pouze z jednoho pracoviště, neboť naměřené enzymatické aktivity na obou dalších pracovištích odpovídaly hodnotám v tabulkách. Na žádném pracovišti jsme nezaznamenali zvyšování hodnot aktivit transamináz ani aldolázy vlivem 48 až 72 hodin hladovění ani u koní, ani u skotu. Pokud jsme zaznamenali odchylky, pohybovaly se vždy v mezích přípustných chyb.

Laboratorní vyšetřování hospitalizovaných zvířat provádíme na lačno, neboť ovlivnění výsledků potravou je i ve veterinární medicíně velmi dobře známo. Při dřívějších měřeních aktivit transamináz, aldolázy, ale také aktivity dehydrogenázy kyseliny mléčné, jablečné, fosfohexoisomerázy, sorbitdehydrogenázy jsme nezaznamenali výrazné rozdíly aktivit enzymů vlivem hladovění. Jak vyplývá z našeho pozorování, nepotvrzujeme výsledky Neumana a Maděrové (11), které jsme získali na třech pracovištích u 11 hladových koní a 11 hladových krav. Výsledky u našeho pokusného materiálu zůstaly po dobu dvou- až třídenního hladovění nezměněné nebo se aktivity dokonce snižovaly. To odpovídá spíše sníženým pochodům v organismu po dobu hladovění.

Je známo, že vlivem hladovění se zvyšuje v krevním séru bilirubin. U člověka na tuto okolnost upozornil v roce 1906 Gilbert a Sande. Také Meyer (1922) zjistil vzestup bilirubinu v séru u zdravých lidí během 24 hodin hladovění, a to o 20 až 200 %, kdežto u nemocných byla naopak prokázána paradoxní reakce. Také činnost svalová zvyšuje procento žlučových barviv v krvi. U koní uvedenou okolnost potvrdil Konrád (5) a také naše výsledky jsou toho důkazem jak u koní, tak také u skotu. Abychom vyloučili vliv žlučových barviv na aktivitu enzymů, provedli jsme biologický pokus, při němž jsme zatěžkali organismus koně bilirubinem (Homburg) v dávce 1 mg na 1 kg váhy.

I. Výsledky laboratorního vyšetřování hladových koní.

Č. p.	Doba hladovění hodin	GOT	GPT	ALD	Celková bílkovina g%	Celkový bilirubin mg	Výsledky elektroforézy			
							Alb.	alfa	beta	gamma glob.
704	0	1,7	0,1	0,33	6,93	0,7	40,4	25,2	13,8	20,6
	24	1,55	0,1	0,42	6,41	1,1	40,5	26,1	13,3	20,1
	48	1,65	0,1	0,3	6,4	2,1	41,3	26,3	11,4	21,0
	72	1,65	0,2	0,2	6,41	2,5	40,6	25,1	12,2	22,1
801	0	2,1	0,1	0,26	4,83	0,78	33,2	19,0	28,4	19,4
	24	2,8	0,24	0,57	4,99	1,2	29,2	20,3	21,9	28,6
	48	3,0	0,24	0,31	5,84	2,3	33,0	27,1	21,8	20,0
	72	3,0	0,2	0,14	5,84	2,92	29,5	18,8	29,5	22,2
738	0	3,0	0,3	0,28	5,93	0,6				
	24	3,0	0,3	0,3	6,03	1,4				
	48	3,5	0,3	0,2	6,59	2,0				
	72	3,0	0,3	0,2	6,22	2,7				
765	0	2,55	0,3	0,5	6,40	0,6				
	42	2,3	0,4	0,4	6,50	1,5				
756	0	2,3	0,1	0,75	5,07	0,6				
	48	2,6	0,1	0,82	5,55	1,8				
749	0	3,5	0,2	0,4	5,07	0,95				
	48	3,3	0,2	0,4	5,74	1,5				
788	0	2,7	0,1	0,6	6,40	1,0				
	48	2,6	0,1	0,6	6,59	1,5				
738	0	1,9	0,2	0,78	5,93	0,8				
	48	1,8	0,1	0,67	5,07	1,4				
693	0	2,1	0,2	0,88	6,4	0,8				
	48	2,2	0,2	0,79	6,93	1,3				
652	0	3,1	0,1	1,1	5,6	1,0				
	48	3,0	0,1	0,9	6,4	1,6				
635	0	2,7	0,1	0,6	6,59	0,9				
	48	2,4	0,15	0,5	6,4	1,4				

Paralelně jsme provedli laboratorní pokus tím, že jsme přimíchali rozpuštěný bilirubin ve vzestupném procentu do krevního séra. U obou pokusů opakovaně měřené aktivity transamináz nevykazovaly změny. Jak vyplývá z tab. III, neovlivňuje procento bilirubinu aktivitu transamináz. Hladovění znamená ovšem karenci uhlovdanů, čímž jsou omezeny detoxikační procesy, tj. konjugace bilirubinu, který se hromadí v krevním séru, neboť se nemůže vylučovat. Matthias (25) uvedený poznatek zdůvodňuje anatomickými poměry u koně. Obdobné poměry žlučových barviv při hladovění u krav, jak jsme prokázali, toto tvrzení vyvracejí.

Hladovění koní a skotu, které trvá 48 až 72 hodin, je pro tento druh do-

II. Výsledky laboratorního vyšetřování hladových krav.

Č. p.	Doba hladovění v hod.	GOT	GPT	ALD	Celková bílkovina g%	Celkový bilirubin mg	Výsledky elektroforézy			
							Alb.	alfa	beta	gamma glob.
718	0	0,6	0,3	2,1	5,93	0,3	39,6	15,7	20,8	23,7
	24	0,7	0,5	0,4	5,84	0,34	41,5	14,1	20,3	24,,
	48	1,0	0,4	0,4	6,59	0,67	38,0	16,7	21,1	24,2
	72	0,8	0,7	0,63	6,41	40,5	16,2	19,2	19,2	25,1
719	0	0,6	0,3	0,33	5,93	0,2	31,2	15,9	20,1	32,8
	24	0,4	0,3	0,28	6,22	0,25	32,7	15,3	22	30
	48	0,75	0,5	0,42	6,59	0,31	30,7	16,3	21	33
	72	0,35	0,3	0,45	6,22	0,3	33,1	16,9	19,7	30,3
802	0	1,75	0,7	0,53	4,61	0,13	25,1	21,0	23,8	30,1
	24	1,6	0,75	0,75	4,80	0,2	26,9	22,0	24,1	28,0
	48	1,64	0,62	0,38	5,27	0,3	23,9	21,6	23,9	30,6
	72	1,66	0,77	0,64	6,03	0,38	26,7	21,0	24,2	28,1
785	0	0,9	0,1	1,8	5,64	0,38				
	48	K. J. 13		2,0	5,64	0,5				
741	0	1,6	0,4	2,4	5,07	0,29				
	48	1,4	0,4	2,4	5,36	0,4				
761	0	1,5	0,1	1,75	6,4	0,19	32,4	22,7	17,9	27,0
	48	1,5	0,15	1,8	6,4	0,3	34,5	23	18,5	24,0
784	0	1,7	0,2	1,75	6,21	0,18	31,3	17,9	19,8	31,0
	48	1,5	0,1	2,1	5,74	0,27	31,1	17,2	19,6	32,1
787	0	2,0	0,2	1,8	1,8	0,2				
	48	2,3	0,1	1,8	7,06	0,4				
799	0	0,65	0,7	0,53	6,59	0,2				
	48	0,6	0,6	0,8	6,59	0,3				
700	0	0,9	0,6	1,0	5,07	0,3	32,0	22,5	15,0	30,5
	48	0,9	0,53	0,9	5,42	0,52	31,3	22,6	14,9	31,2
706	0	1,1	0,6	1,0	6,4	0,2				
	48	0,9	0,4	1,0	5,74	0,4				

mácích zvířat krátkodobé. Prokazujeme to sledováním celkové bílkoviny a bílkovinných frakcí v průběhu našeho pokusu. Nezměněné procento bílkovin potvrzuje kompenzaci organismu, který velmi dobře reguluje rovnováhu tkáňových a plasmatických bílkovin. Pokud nastaly úchytky g% celkové bílkoviny, nelze to přičítávat hladovění, neboť obdobné kolísání lze zaznamenat u zvířat, která přijímají potravu. Také variace jednotlivých frakcí bílkovinných u člověka obnáší 2—8 % (3). Poněkud nesouhlasné literární údaje elektroforetické mohou být zaviněny nárazníky o nestejných iontových silách, čímž by byly zdůvodněny rozdílné údaje citované v práci Konrádově (24).

III. Výsledky aktivity transamináz po přidání bilirubinu Homburg do krevního séra koní a skotu

Sérum č.	Počet kapek bilirubinu	Aktivita		
		GOT	GPT	
Koně				
1	0	3,2	0,2	
	1	3,0	0,4	
	2	3,1	0,35	
2	0	3,4	0,3	
	1	3,2	0,27	
	2	3,15	0,33	
	3	2,9	0,39	
	5	3,1	0,27	
Skot				
1	0	2,4	0,61	
	1	2,31	0,60	
	2	2,35	0,61	
	4	2,38	0,81	
2	0	3,15	1,1	
	1	3,0	1,1	
	2	3,0	1,0	
	3	3,0	1,17	
	5	2,9	1,0	
Hladina transamináz u koně po aplikaci bilirubinu <i>iv</i> 1 mg/ka			Celkový bilirubin mg%	
Před aplikací		3,99	0,23	0,76
Za 3 min po aplikaci		3,78	0,167	1,57
Za 15 min po aplikaci		3,8	0,19	0,9

Poločas výměny krevních bílkovin u člověka obnáší 11,5 dne. Je pochopitelné, že krátkodobé hladovění (72 hodin) u domácích zvířat se značnou rezervou bílkovin v zažívacím traktu a tkáních nemůže ovlivnit intravaskulární bílkoviny. K tomu přistupuje ještě ta okolnost, že u býložravců ovlivňuje v kladném smyslu vitamín B₂ krevní albuminy, což rovněž brání bílkovinné denutrici organismu. Při hladovění, které trvá delší dobu, se nahrazují bílkoviny krevní tkáňovými proteiny, které udržují při bílkovinné karenci dynamickou rovnováhu mezi tkáňovými a krevními bílkoviny. Teprve v důsledku značného poklesu albuminů,

ke kterému, jak jsme prokázali, u našich vyšetřovaných zvířat během 72 hodin hladovky nedošlo, nastávají poruchy ve výživě tělových buněk, což vede progresivně k jejich zániku. V takovémto případě by bylo možné očekávat zvýšení aktivit transamináz. Avšak takovýto pokročilý stav poklesu bílkovin v organismu, který ruší bílkovinnou homeostasi, by se musel projevit také klinicky orgánovými disfunkcemi a edémy.

SOUHRN

Na základě našeho laboratorního vyšetřování jsme zjistili, že hladovění trvající u koní a skotu 48–72 hod. neovlivňuje aktivitu transaminázy glutamové oxáloctové, glutamové pyrohroznové a aldolázu. Hladovění má však vliv na hladinu celkového bilirubinu u koní i skotu. Zvedání hladiny bilirubinu úměrně s délkou hladovění se vysvětluje tím, že nedostatek uhlovodanů brzdí procesy detoxikace (konjugace) bilirubinu, který se nemůže vylučovat a hromadí se v krvi. Hladovění neovlivnilo dále celkovou bílkovinu krevního séra ani elektroforetické výsledky.

Došlo dne 23. 11. 1964

Literatura

1. Bruns F., Jacob W.: Studien über Serumenzyme bei Erkrankungen der Leber. Kl. Wschr. 43/44, 1041, 1954. — 2. Bruns F., Puls W.: Die Aktivität der ALT bei Erkrankungen der Leber. Kl. Wschr. 32, 656, 1954. — 3. Hořejší J.: Bílkoviny krevní plasmy. St. zdravot. nakl., Praha, 1956. — 4. Konrád J.: Aktivita GOT, GPT a ALT při některých hepatopatiích u koní. Sborník, Vet. med. 9, 669, 1960. — 5. Konrád J.: Hladina celkového bilirubinu v séru klinicky zdravých koní. Sborník, Vet. med. 4, 301, 1949. — 6. Konrád J.: Sledování bilirubinémie při akutních procesech u koní. Sborník, Vet. med. 5, 395, 1959. — 7. Konrád J.: Sledování bilirubinémie při velkých procesech a cirhózách u koní. Sborník, Vet. med. 5, 407, 1959. — 8. Krčméry V., Zliechová E.: Kolorimetrické stanovení aktivity GOT v sere hovädzieho dobytku. Vet. časopis 2, 177, 1960. — 9. Maděrová V., Neuman V.: Transaminasa GOT v séru zdravých koní. Sborník, Vet. med. 5, 423, 1960. — 10. Maděrová V., Neuman V.: Transaminasa GOT a GPT v séru zdravého skotu. Sborník, Vet. med. 11, 819, 1960. — 11. Neuman V., Maděrová V.: Vliv hladovění na aktivitu GOT a GPT klinicky zdravých koní a skotu. Sborník, Vet. med. 11, 809, 1960. — 12. Sova Z. a spol.: Stanovení GOT a GPT v krevním séru koní s poškozenými játry. Sborník, Vet. med. 2, 155, 1960. — 13. Sevela M.: K fotometrickému stanovení sérových transaminas. Vnitř. lékařství. 8, 721, 1958. — 14. Šlesinger L., Továrek J.: Aktivita transaminas GOT, GPT, ALT, MDH a FHI v některých tkáních a tekutinách tělních zdravých koní. Vet. časopis 6, 583, 1959. — 15. Šlesinger L.: Vylučování bilirubinu ze séra krevního po jeho aplikaci některým dom. zvířatům. Sborník, Vet. med. 11, 845, 1960. — 16. Šlesinger L.: Aktivita některých enzymů, výsledky flokulačních reakcí a celkového bilirubinu v krevním séru drůbeže. Sborník, Vet. med. 10-11, 195, 1962. — 17. Šlesinger L.: Aktivita transaminasy GOT, GPT, ALT, MDH, LDH v krevním séru zdravých, nemocných ovcí a vepřů. Mh. Vet. Med. 17, 663, 1964. — 18. Šlesinger L.: Průběh aktivit některých enzymů v krevním séru psa po aplikaci CCl₄, srdečním podvazu a toracotomii. Sborník, Vet. med. 10,

799, 1961. — 19. Šlesingr L.: Enzymatický rozbor ejakulátů býků s nízkou plodností. Sborník, Vet. med. 9, 727, 1961. — 20. Šlesing L.: Aktivita enzymů v krevním séru zdravého a nemocného skotu. Med. Weterynaryjna. 8, 491, 1954. — 21. Šlesingr L.: Aktivita transaminas GOT, GPT a ALD v krevním séru zdravých a nemocných psů. Sborník, Vet. med. 12, 949, 1959. — 22. Talafant E.: Vznik a osudy hemoglobinu a žlučových barviv. Babákova sbírka 3, 9-60, 1957. — 23. Vignato L.: Bol. soc. ital. biol. sper. 24, 25, 1948. — 24. Konrád J.: Elektroforetické hodnoty bílkovin krev. séra při žďárské chorobě. Sborník, Vet. med. 11, 851, 1960. — 25. Matthias D.: Die Bedeutung einer funktionellen Pathologie in der Veterinärmedizin. Mh. Vet. Med. 22, 785, 1960.

Отсутствие пищи и его влияние на активность некоторых энзимов кровяных белков, билирубина у лошадей и крупного рогатого скота

На основании чехословацкого лабораторного исследования установлено, что голодовка, продолжающаяся у лошадей и крупного рогатого скота в течение 48—72 часов, не оказывает влияния на активность трансаминазы глутаминовой оксалукусусной, глутаминовой пировиноградной и альдолаза. Голодание, однако, оказывает влияние на уровень всего билирубина у лошадей и крупного рогатого скота. Повышение уровня билирубина пропорционально продолжительности голодовки и объясняется тем, что недостаток углеводов тормозит процессы детоксикации (конъюгации) билирубина, который не может выделяться и скапливается в крови. Далее голодание не оказало влияния на общее белковое вещество кровяной сыворотки и на электрофоретические результаты.

Withholding Food and its Influencing the Activity of some Enzymes, Blood Proteins and Bilirubin in Horses and Cattle

On the basis of our laboratory investigation we have found out that withholding food for 48—72 hours in horses and cattle does not influence the activity of glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase and aldolase. However, the starvation influences the total bilirubin-level in horses and cattle. Increasing the bilirubin-level according to the continuance of the starvation can be explained by the lack of glycodes hindering the processes of detoxication (conjugation) of the bilirubin, that cannot be excreted and accumulates in blood. The starvation further did not influence the total protein-contents of the blood-serum nor the electrophoretical results.

Der Einfluß des Hungerns auf die Aktivität einiger Enzyme, auf die Bluteiweißstoffe und auf das Bilirubin bei Pferden und Rindern

Unsere Untersuchungen im Laboratorium ergaben, daß ein Hungern bei Pferden und Rindern in der Dauer von 48—72 Stunden ohne Einfluß auf die Aktivität der Transaminasen der Glutamoxalessigsäure, der Glutambrenztraubensäure sowie der Aldolase bleibt. Das Hungern beeinflußt jedoch den Spiegel des Gesamtbilirubins bei Pferden und Rindern. Eine Steigerung des Bilirubinspiegels entsprechend der Dauer des Hungerns wird dadurch erklärt, daß der Mangel an Kohlenhydraten die Detoxikationsprozesse (Konjugation) des Bilirubins hemmt, das nicht ausge-

schieden werden kann und sich deshalb im Blut ansammelt. Das Hungern war ohne Einfluß auf das Gesamteiweiß des Blutserums und ebenso auf die Ergebnisse der Elektrophorese.

MVDr. Lubomír Šlesingr,

Veterinární nemocnice, Senice n. Myj.

■ V souvislosti s výzkumem vlivu vojtěšky na plodnost vyslovili jsme předpoklad, že kromě fytoestrogenů obsahuje vojtěška i látky jiného biologického účinku. V jedné z našich prací (Churý a Crha 1964) jsme vyslovili předpoklad, že by mohlo jít o antigonadotropně působící látky, v další práci (Churý a Pánek 1964) jsme uvažovali o vlivu antiestrogenních látek. Na možný výskyt antiestrogenně aktivních látek ve vojtěšce upozornil jako první Ershoff a spol. (1956), který zjistil, že zkrmování vojtěšky zabraňuje involuci ovaria po vysokých dávkách estradiolu. V novější době zjistil antiestrogenní aktivitu vojtěšky Bickoff a spol. (1960) a Adler (1962).

Otázkou, jsou-li ve vojtěšce přítomny též antigonadotropně účinné látky se dosud, jak jsme mohli v nám dostupném písemnictví zjistit, nikdo nezabýval. Protože tyto látky byly zjištěny v řadě rostlin nelze jejich výskyt ve vojtěšce vyloučit. Vycházejíce z naší práce o blokujícím vlivu zkrmování vojtěšky na provokovanou ovulaci u králíka (Churý a Crha 1964) a ze zjištění Pánka (1964), že zkrmování vojtěšky vede u samců k atrofii semenných váčků, sledovali jsme v této práci vliv zkrmování vojtěšky na změny váhy uteru, ovaria a hypofýzy po aplikaci estradiolbenzoátu. Speciálně jsme se zaměřili na otázku, zda zkrmování vojtěšky zabrání rozvoji změn, které estradiolbenzoát na uvedených orgánech vyvolává.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

1. Materiál a metodika

K pokusům bylo použito 43 krysích samic průměrné váhy 48 ± 5 gr. Zvířata byla rozdělena na skupiny. První skupina byla kontrolní. Byla krmena Larsenovou dietou (ld) a sušenou vojtěškou (ld) a injikována denně 0,02 ml olivového oleje subkutánně. Druhá skupina byla krmena Larsenovou dietou a injikována denně estradiolbenzonátem po dobu 6 dní. Celková dávka estradiolbenzoátu (ESB) obnášela 0,8 ugr na zvíře. Třetí skupina byla krmena Larsenovou dietou (ld) a sušenou vojtěškou (ld) a injikována jako skupina druhá denně ESB. Celkové množství injikovaného ESB obnášelo i v této skupině 0,8 ugr na zvíře.

Vojtěška použitá ke zkrmování pocházela jednak z lokality veterinární fakulty v Brně, jednak z lokality Nový Dvůr. Vojtěška z lokality veterinární fakulty byla sušena v sušárně při 60°C , vojtěška z lokality Nový Dvůr na slunci.

*) K šedesátinám prof. dr. F. Menšíka.

Délka zkrmování vojtěšky a Larsenovy diety byla ve všech skupinách táž, 6 dní. Sedmý den byly samičky usmrceny. Před zabitím byly provedeny vaginální výtěry a nátery, které byly barveny Giemsou. Vaginální výtěry sloužily k určení estru. Po usmrcení samic byly vypreparovány utery, ovaria a hypofýzy. Utery a ovaria byly fixovány Bouinovou fixační směsí 4 hodiny, pak očištěny a váženy na torsních vahách. Hypofýzy byly fixovány neutrálním formalinem 24 hodiny a pak váženy.

Zkrmovací techniku jsme použili při našich pokusech z těchto důvodů: 1. odpadá možnost, že během extrakce je aktivní princip rušen, nebo jinak inaktivován, 2. tento způsob umožňuje zachytit jak antiestrogenní, tak antigonadotropní účinek současně. Účinek estrogénů na uterus je přímý, kdežto na ovarium nepřímý, přes adenohipofýzu. Proto v případě potlačení růstu uteru lze usuzovat na přítomnost antiestrogénů a v případě potlačení růstu ovaria na přítomnost antigonadotropních látek.

2. Pokusné výsledky

U samic krmených Larsenovou dietou (Id) a sušenou vojtěškou z veterinární fakulty (Id) a injikovaných olivovým olejem jsou váhy uteru, ovaria a hypofýzy brány za základ, tj. 100 %. Váhové poměry u jednotlivých zvířat podává tabulka I.

U všech samic byl pomocí vaginálních výtěrů zjištěn diestrus.

Ve druhé skupině krys samic, krmených Larsenovou dietou a injikovaných ESB došlo ke zvýšení váhy uteru vzhledem k váze uteru samic I. skupiny o 239 %, váha ovaria byla vyšší o 73 %, hypofýzy o 40 %. U všech zvířat byl vaginálními výtěry prokázán typický estrus. Váhové poměry u jednotlivých zvířat jsou souborně uvedeny v tabulce II.

I.

No.	Uterus	Ovaria	Hypofýza
	mg		
1.	36	18,0	3,4
2.	32	20,0	3,0
3.	40	13,0	3,0
4.	34	19,0	2,8
5.	23	13,0	2,6
6.	36	10,0	1,5
7.	23	10,0	1,2
8.	22	17,0	2,3
9.	25	—	2,3
10.	25	—	2,8
S	296,0	120,0	24,9
x	29,6	15,0	2,49
s	± 2,1	± 1,4	± 0,21

II.

No.	Uterus	Ovaria	Hypofýza
	mg		
1.	112,0	27,0	3,3
2.	141,0	29,0	3,9
3.	140,0	23,0	4,2
4.	120,0	27,0	3,6
5.	87,0	—	3,5
6.	80,0	25,0	3,5
7.	72,0	—	2,2
8.	80,0	25,0	3,9
9.	86,0	27,0	3,7
10.	80,0	25,0	3,8
11.	86,0	27,0	3,8
S	1084,0	235,0	39,4
x	98,5	26,1	3,5
s	± 7,75	± 0,5	± 0,14

III.

No.	Uterus	Ovaria	Hypofýza
	mg		
1.	268,0	15,6	2,8
2.	161,0	18,8	3,2
3.	174,0	18,2	2,8
4.	172,0	14,0	2,7
5.	126,0	16,0	2,7
6.	171,0	13,0	2,7
7.	63,0	12,0	1,7
8.	87,0	9,1	2,4
9.	70,0	15,7	1,3
10.	109,0	11,7	1,0
11.	76,0	16,3	2,3
12.	60,0	19,4	1,4
S	1537,0	179,8	27,0
x	128,0	14,9	2,25
s	± 18,2	± 0,27	± 0,20

U samic, krmených Larsenovou dietou (ld) a sušenou vojtěškou (ld) z veterinární fakulty a injikovaných ESB zvýšila se jen váha uteru, kdežto váha ovaria a hypofýzy nebyla aplikací ESB ovlivněna. Typický estrus byl pomocí vaginálních výtěrů zjištěn jen u 45 % samic. U ostatních samic byl zjištěn buď diestrus, nebo proestrus. Váhové poměry jednotlivých orgánů u této skupiny zvířat podává tabulka III.

U krys krmených vojtěškou z lokality Nový Dvůr jsme obdrželi odlišné výsledky. Zkrmovaná vojtěška neovlivnila podstatně změnu váhy uteru a ovaria, zbrzdila poněkud jen vliv podávaného ESB na váhu hypofýzy (tab. IV).

Aplikace ESB zvýšila váhu uteru o 221 %, hypofýzy o 44 % a ovaria o 10 % vzhledem k váze orgánů krys krmených Larsenem a vojtěškou. U krys, k jejichž dietě byla přidávána sušená vojtěška z Nových Dvůrů zvýšila aplikace ESB váhu uteru o 236 %, váhu ovaria o 9 % a hypofýzy jen o 11 %. U tří samic krmených vojtěškou a injikovaných ESB byl zjištěn vaginálními výtěry estrus, u jedné pro-estrus.

Rozdíly váhy uteru, ovaria a hypofýzy krys I. a II. skupiny jsou statisticky vysoce významné (P menší 0,01). Podobně je tomu s rozdíly váhy ovaria a hypofýzy u krys II. a III. skupiny, kde je P rovněž menší 0,01. Jedinou výjimkou je uterus, u kterého je váhový rozdíl mezi II. a III. skupinou statisticky bezvýznamný (P větší 0,1).

IV.

No.	Uterus	Ovarium	Hypofýza	Poznámka
1.	24,0	20,0	2,5	Larsenova dieta a vojtěška
2.	25,0	21,0	2,3	
3.	25,0	24,0	2,8	
S	74,0	65,0	7,6	
x	24,6	21,6	2,5	
s	± 0,33	± 1,2	± 0,14	
1.	79,0	22,0	3,3	Larsenova dieta a ESB
2.	80,0	25,0	3,7	
3.	86,0	27,0	3,8	
S	245,0	74,0	10,8	
x	81,6	24,6	3,6	
s	± 2,2	± 1,4	± 0,14	
1.	81,0	22,0	2,7	Larsenova dieta + vojtěška + ESB
2.	72,0	23,4	3,2	
3.	82,0	24,0	3,2	
4.	94,0	25,0	2,2	
S	331,0	94,5	11,3	
x	82,7	23,6	2,8	
s	± 4,5	± 1,9	± 0,22	

U kryš krmených vojteškou z Nových Dvorů je rozdíl váhy hypofýzy kryš II. skupiny a III. skupiny na hranici statistické významnosti (P menší 0,05, větší 0,02). Rozdíl váhy uteru a ovaria je statisticky bezvýznamný (P 0,1).

DISKUSE

Výsledky uvedených pokusů ukazují, že zkrmování vojtešky zabraňuje zvýšení váhy ovaria a hypofýzy po aplikaci malých dávek ESB a potlačuje přibližně u poloviny zvířat za uvedených podmínek typickou estrální odpověď na aplikovaný estrogen. Potvrzují zjištění *Ers h o f f a* a spol. (1956), že vojteška obsahuje faktor interferující s estrogény. Souhlasí rovněž s údaji uvedeného autora, že aktivita různých vzorků vojtešky je různá a že může být ovlivněna sušením vojtešky. Pokusy s vojteškou z území veterinární fakulty a Nových Dvorů ukázaly, že aktivita může být ovlivněna též lokalitou, na které je vojteška pěstována.

Naše výsledky potvrzují částečně též nálezy *Ad l e r a* (1962), bereme-li v úvahu potlačení estru u 50 % zvířat a potlačení zvýšení váhy hypofýzy po aplikaci ESB. Inhibice hypertrofie hypofýzy po estrogénech je jedním z charakteristických znaků antiestrogénních látek (*C u t l e r* a spol. 1961). Vzhledem k tomu, že v našich pokusech nebyla zkrmováním vojtešky podstatně inhibována reakce uteru na aplikovaný ESB je však porovnání našich a *Ad l e r o v ý c h* výsledků značně ztíženo. Co je příčinou, že uterus reagoval na aplikovaný ESB při zkrmování vojtešky stejně jako u kontrol je nesnadno objasnit. Jako pravděpodobný výklad lze snad uvážit, že celková dávka estrogenu byla v našem případě relativně vysoká a nemohla být proto antiestrogény vojtešky zcela vyblokována. Pro tento předpoklad mluví údaje *Ad l e r o v y* (1962), který k průkazu antiestrogénní aktivity vojtešky použil jen dávky 0,05 ugr estradiolu. Jako další možnost přichází v úvahu závislost intenzity antiestrogénního účinku vojtešky na chemické konstituci estrogenu. Tabulární údaje v *Ad l e r o v ě* práci nasvědčují tomuto předpokladu; největší inhibice dosáhl *Ad l e r* totiž při aplikaci estrogenu z vojtešky, nejmenší při použití diethylstilbestrolu!

V souvislosti se zjištěným inhibičním účinkem vojtešky na růst ovaria po aplikaci ESB lze usuzovat, že ve vojtešce je přítomen faktor ovlivňující sekreci gonadotropinů adenohypofýzou, stimulovanou aplikovaným ESB. V tomto směru jde o efekt podobný tomu, který způsobuje p-hydroxypropiofenon, látka, která má nepatrný estrogenní účinek a inhibující sekreci gonadotropinů. Lze proto předpokládat, že ve vojtešce je kromě antiestrogénních látek přítomen i faktor působící antigonadotropně. Není vyloučeno, že tento faktor představuje onu část biologicky aktivních složek ve vojtešce, vyznačujících se nepatrnou estrogenní aktivitou. Protože ve vojtešce, podobně jako ovsu, kukuřici byly zjištěny látky působící jako gonadotropiny (*F r i e d m a n* a *M i t c h e l l* 1941) nepřekvapuje, že jsou v ní přítomny též látky opačného biologického účinku. Jednota protikladně působících látek je jedním z charakteristických znaků živé přírody. Výskytem těchto látek lze snad též objasnit rozdílný efekt vojtešky z Nových Dvorů.

SOUHRN

V práci byl sledován vliv zkrmování sušené vojtešky na změny váhy uteru, hypofýzy a ovaria vyvolané ESB. Zkrmování vojtešky brzdilo u pokusných zvířat odpověď ovaria a hypofýzy na podávaný estrogen. Váha uteru však podstatně ovlivněna nebyla. U 50 % pokusných zvířat nebyl aplikováním estradiolbenzonátu vyvolán estrus na rozdíl od kontrolních zvířat, u nichž byl estrus zjištěn ve

100 % případů. Inhibiční efekt zkrmované vojtěšky na biologický účinek estradiolbenzonátu je odvislý od vzorku vojtěšky a od lokality, na které byla vojtěška pěstována. Na základě popsaných výsledků usuzujeme, že ve vojtěšce je přítomen faktor působící antiestrogenně a antigonadotropně.

Došlo dne 13. 1. 1965

Literatura

1. Adler J. H.: Vet. Rec. 74, 1148, 1962. — Bickoff E. M. a spol.: J. Anim. Sci. 19, 189, 1960. — 3. Cutler A. a spol.: Endocrinology 69, 473, 1961. — 4. Ershoff B. H. a spol.: J. Nutrition 59, 147, 1956. — 5. Friedman M. H., Mitchell J. W.: Endocrinology 29, 172, 1941. — 6. Churý J. a Črha J.: Spisy veterin. fakulty VŠZ Brno, 12, 14, 1964. — 7. Churý J. a Pánek: Vet. med. 9, 99, 1964. — 8. Pánek K.: Čsl. biol. společnost Brno, prosinec, 1964.

Влияние скармливания люцерны на весовые изменения матки, яичника и гипофиза после применения эстрадиолбензоата

Изучалось влияние скармливания сухой люцерны на изменения веса матки, гипофиза и яичников, вызываемые ESB. Скармливание люцерны тормозило у подопытных животных реакцию яичников и гипофиза на подаваемый эстроген. На вес матки, однако, не было оказано существенного влияния. У 50 % подопытных животных применение эстрадиолбензоата не вызывало эструса в отличие от контрольных животных, у которых был установлен эструс в 100 процентах случаев. Ингибиционное воздействие эффекта скармливаемой люцерны на биологическое действие эстрадиолбензоата зависит от образца люцерны и от места ее произрастания. На основании приведенных результатов можно считать, что люцерна содержит фактор, действующий антиэстрогенно и антигонадотропно.

Lucerne Feeding and its Influence of the Weight Changes of Uterus, Ovaries and Hypophysis after the Application of Estradiolbenzoate

Influence of dry lucerne feeding on the weight changes of uterus, hypophysis and ovaries induced by estradiolbenzoate was traced. Lucerne feeding in the experimental animals hindered the ovary-and hypophysis-reaction on the administered estrogen. However, the weight of uterus was not considerably influenced. Oestrus was not induced in 50 % of the experimental animals after the application of estradiolbenzoate while in the control animals oestrus was stated in 100 % of the cases. The inhibitory effect of the fed lucerne on the biological efficiency of estradiolbenzoate depends on the lucerne-sample and on the locality where the lucerne was grown. On the basis of the described results we presume the lucerne contains a factor with antiestrogenic and antigonadotropic effects.

Der Einfluß der Fütterung von Luzerne auf die Änderungen des Gewichtes der Gebärmutter, der Eierstöcke und der Hypophyse nach Applikation von Östradiolbenzoat

Es wurde der Einfluß der Verfütterung von trockener Luzerne auf die durch Eingabe von Östradiolbenzoat hervorgerufenen Gewichtsveränderungen der Gebärmutter, der Eierstöcke und der Hypophyse verfolgt. Die Verfütterung von Luzerne hemmte bei den Versuchstieren die Reaktion der Hypophyse und der Eierstöcke auf das applizierte Östrogen. Das Gewicht der Gebärmutter jedoch war nicht wesentlich beeinflusst. Bei 50 % der Versuchstiere rief die Applikation des Östradiolbenzoats keine Brunst hervor zum Unterschied von den Kontrolltieren, bei denen sich in allen Fällen die Brunst einstellte. Der Inhibitionseffekt der verfütterten Luzerne auf die biologische Wirksamkeit des Östradiolbenzoats ist abhängig von der Art der Luzerne und von der Lokalität, wo die Luzerne gezüchtet wurde. Auf Grund der beschriebenen Ergebnisse sind wir der Ansicht, daß die Luzerne einen Faktor enthält, welcher antiöstrogen und antigonadotrop wirkt.

Prof. Dr. Jiří Churý,

Vysoká škola zemědělská, veterinární fakulta, katedra všeobecné biologie, zoologie a základů genetiky, Brno, Palackého 1-3

OBSAH

Bárta O., Šmíd M., Kůžel M.: Sledování nutných porážek, konfiskací a úhynů telat z odchovu ve velkokapacitních teletnicích za první rok provozu	177
Duběn Z.: Vliv pastevního faktoru na růst kuřat a biologickou hodnotu násadových vajec	189
Rossi L.: Studie alergie u drůbeže experimentálně intramuskulárně infikované <i>M. avium</i> po aviárním tuberkuloproteinu (PPD) a Koch vetus aviárním tuberkulinu	201
Hajdu Š.: Výkonnost fluorescenční metody v sérodiagnostice brucelózy hovězího dobytka a ošípaných	211
Tirčo Š., Banda I.: Príspevok k štúdiu niektorých stránok hyperimunizačného procesu výroby tetanických antitoxických sér na laboratorných zvieratách	225
Šlesinger L.: Karence potravy a její vliv na aktivitu některých enzymů, krevních bílkovin, bilirubinu u koní a skotu	233
Churý J.: Vliv zkrmování vojtěšky na váhové změny uteru, ovaria a hypofýzy po aplikaci estradiolbenzonátu	241

СОДЕРЖАНИЕ

Барта О., Шмид М., Кужел М.: Изучение вынужденных убоев, конфискации и гибели телят из стад, содержащихся в телятниках большой вместимости в первый год их эксплуатации (187). — Дубен З.: Влияние пастбищного фактора на рост цыплят и биологическую ценность племенных яиц (198). — Росси Л.: Изучение аллергии у птицы, экспериментально внутримышечно зараженной *M. avium* после птичьего туберкулопротеина (PPD) и *Koch vetus* птичьего туберкулина (209). — Гайду Ш.: Действие флуоресцентного метода в серумдиагностике бруцеллеза крупного рогатого скота и свиней (223). — Тирчо Ш., Банда И.: К вопросу изучения некоторых сторон гипериммунизирующего процесса производства столбняковых антиоксичных сывороток на лабораторных животных (232). — Шлесингр Л.: Отсутствие пищи и его влияние на активность некоторых энзимов кровяных белков, билирубина у лошадей и крупного рогатого скота (239). — Хуры И.: Влияние скармливания люцерны на весовые изменения матки, яичника и гипофиза после применения эстрадиолбензоата (246).

CONTENT

Bárta O., Šmíd M., Kůžel M.: Following Emergency Slaughterings, Condemnations and Calf-Deaths in the High-Capacity Calf-Sheds during the first Year of Running (187). — Duben Z.: The Influence of the Grazing Factor on the Growth of Chickens and on the Biological Value of Hatching Eggs (199). — Rossi L.: Allergological Studies of Experimentally Intramuscularly Infected Poultry with *M. avium* after Tuberculoprotein (PPD) and Koch vetus Avian Tuberculin (209). — Hajdu Š.: Efficiency of the Fluorescence Method in the Serodiagnostics of Brucellosis in Cattle and Pigs (224). — Tirčo Š., Banda I.: Contribution to the Studies of some Aspects of the Hyperimmunization Process in producing the Tetanus Antitoxic Sera in Laboratory Animals (232). — Šlesinger L.: Withholding Food and its Influencing the Activity of some Enzymes, Blood Proteins and Bilirubin in Horses and Cattle (239). — Churý J.: Lucerne Feeding and its Influence of the Weight Changes of Uterus, Ovaries and Hypophysis after the Application of Estradiolbenzoate (246).

INHALT

Bárta O., Šmíd M., Kůžel M.: Das Auftreten von Notschlachtungen, Konfiskationen und Kälberverlusten in Großställen für Kälber des ersten Betriebsjahres (188). — Duben Z.: Einfluß des Weidefaktors auf das Wachstum der Kücken und den biologischen Wert der Bruteier (199). — Rossi L.: Studie der Allergie bei dem experimentell intramuskulär mit *M. avium* nach aviärem Tuberkuloprotein (PPD), und Koch vetus aviärem Tuberkulin infiziertem Geflügel (209). — Hajdu Š.: Die Leistungsfähigkeit der Fluoreszenzmethode zur Serodiagnostik der Brucellose beim Rind und Schwein (224). — Tirčo Š., Banda I.: Beitrag zum Studium einiger Seiten des Hyperimmunisierungsprozesses der Erzeugung technischer antitoxischer Seren an Laboratoriumstieren (232). — Šlesinger L.: Der Einfluß des Hungerns auf die Aktivität einiger Enzyme, auf die Bluteiweißstoffe und auf das Bilirubin bei Pferden und Rindern (239). — Churý J.: Der Einfluß der Fütterung von Luzerne auf die Änderungen des Gewichtes der Gebärmutter, der Eierstöcke und der Hypophyse nach Applikation von Östradiolbenzoat (246).

TABLE DES MATIÈRES

Bárta O., Šmíd M., Kůžel M.: L'étude des abattages d'urgence, des confiscations et de la mortalité des veaux de l'élevage pratiqué dans les bâtiments à grande capacité, pendant la première année d'exploitation (res. An/187, Al/188). — Duben Z.: L'influence du facteur pastoral sur la croissance des poulets et la valeur biologique des oeufs à couvrir (res. An/199, Al/199). — Rossi L.: Etude de l'allergie de la volaille, infectée à titre expérimental par voie intramusculaire par *M. avium* après la tuberculoprotéine aviaire (PPD) et la tuberculine aviaire Koch vetus (res. An/209, Al/209). — Hajdu Š.: L'efficacité de la méthode de fluorescence dans le sérodiagnostic de la brucellose des bovins et des porcins (res. An/223, Al/224). — Tirčo Š., Banda I.: Une contribution à l'étude de certaines questions concernant le processus d'hyperimmunisation dans la production des sérums tétaniques antitoxiques, ayant lieu sur les animaux de laboratoire (res. An/232, Al/232). — Šlesinger L.: La carence en alimentation et son influence sur l'activité de certains enzymes, des protéines sanguines et de la bilirubine des chevaux et des bovins (res. An/239, Al/239). — Churý J.: L'influence de la distribution de la luzerne sur les modifications de poids de l'utérus, de l'ovaire et de l'hypophyse après l'application de l'oestradiolbenzoate (res. An/246, Al/246).