

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

6

ROČNÍK 13 (XLI)
PRAHA,
ČERVEN 1968
CENA 10 Kčs

ÚSTŘEDÍ ZEMĚDĚLSKÉHO A POTRAVINÁŘSKÉHO VÝZKUMU

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král (předseda), prof. MVDr. Kolo-
man Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof.
MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák,
CSc., prof. MVDr. Tomáš Gdovin, MVDr. Miloš Halaša, CSc.,
prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., doc. MVDr. Jozef Hru-
šovský, CSc., MVDr. Martin Lis, CSc., MVDr. Andrej Ma-
čička, MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Jiří Srna, prof.
MVDr. Oldřich Svoboda, doc. MVDr. ing. Jan Vlček, prof.
MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc., doc. MVDr. Alojz Zuffa, CSc.

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1968

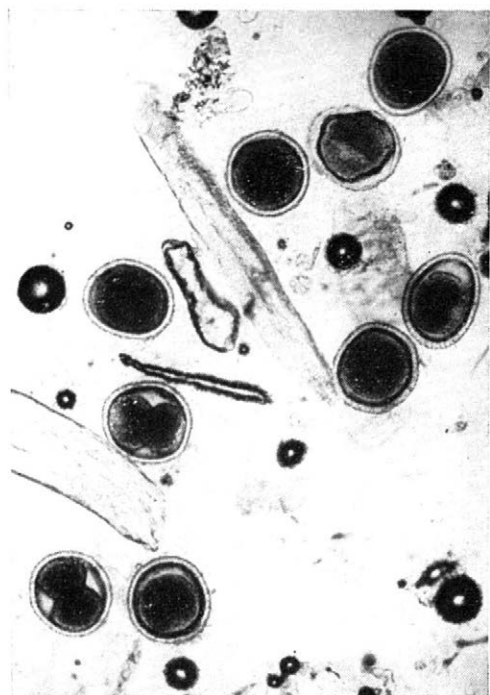
■
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje
studie, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech
výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav
vědeckotechnických informací. Vychází měsíčně. Redakce:
Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné
Kčs 120,—.

■
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзо-
ры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по науч-
ному исследованию в области ветеринарной медицины. Издаёт
Институт научно-технической информации. Выход в свет ежемес-
ячно. Редакция Прага 2, Слезска 7.

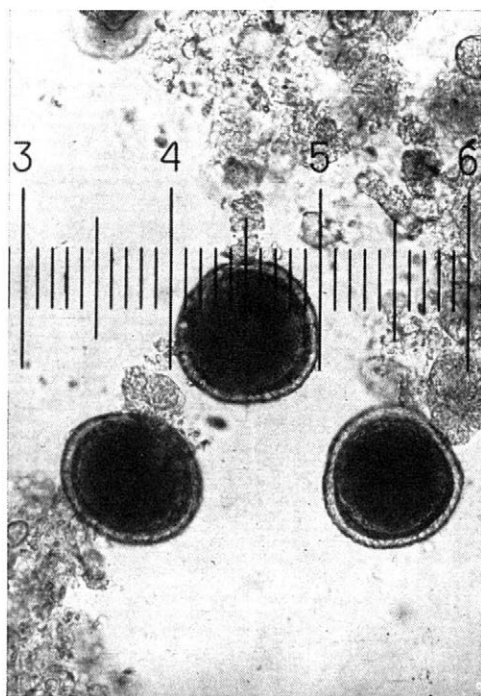
■
The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA published
studies, analyses and scientific treatises about the solved
research tasks in the line of the veterinary medicine. Pu-
blished by the Institute of Scientific and Technical Informa-
tion. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7.

■
Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA
veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Ab-
handlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem
Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben vom Institut
für wissenschaftlich-technische Informationen. Erscheint mo-
natlich. Redaktion Praha 2, Slezská 7.

■
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 scienti-
fiques et techniques. Paraît une fois par mois. Rédaction
Prague 2, Slezská 7.



1. Vajíčka škrkavky psí, *Toxocara canis* (při vyšetření Brezovým flotačním roztokem).

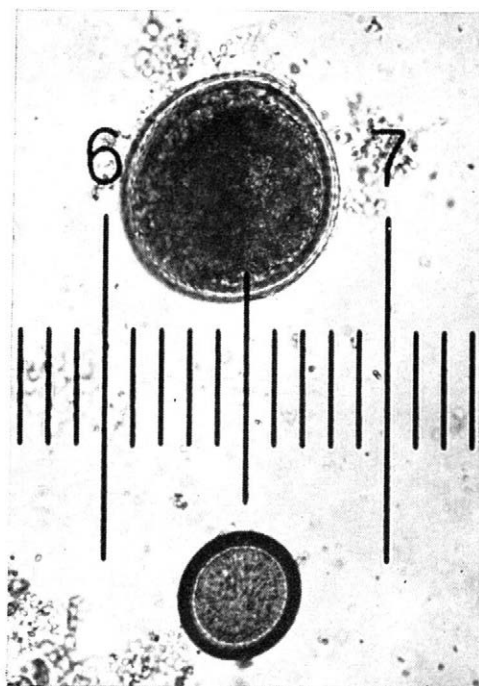


2. Detailní pohled na vajíčka škrkavky psí (1 díl okulár. mikrometru je roven $8,2 \mu$).

Mikrofoto: MVDr. R. Zavadil, CSc.

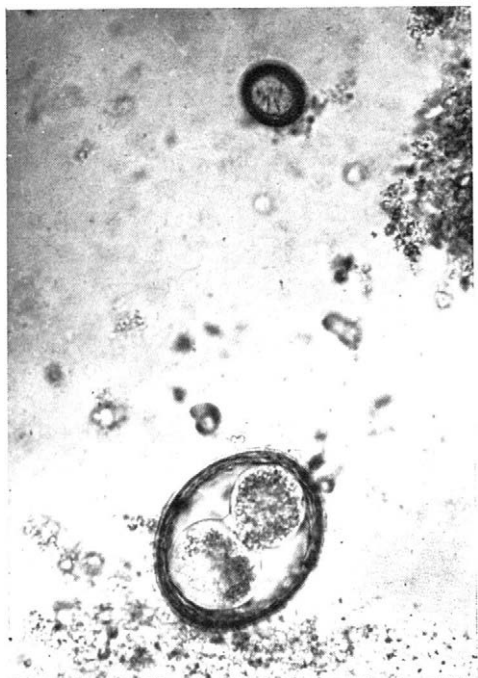


3. Vajíčko škrkavky šelmí, *Toxascaris leonina*.

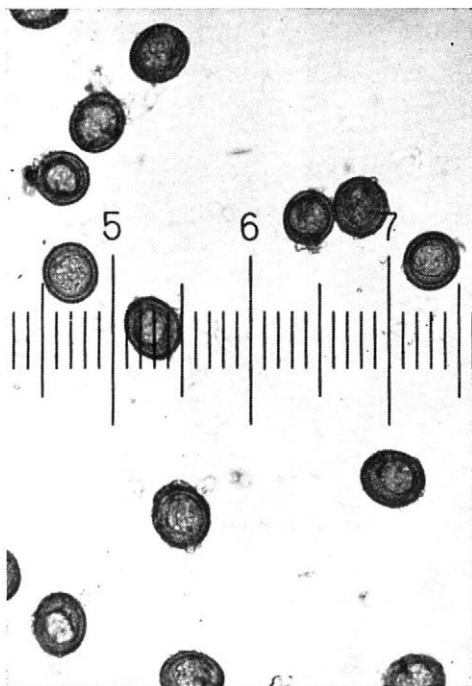


4. Nahoře vajíčko škrkavky psí, dole vajíčko tasemnice hráškové, *Taenia pisi-formis* (1 díl okul. mikrom. $7,9 \mu$).

Mikrofoto: MVDr. R. Zavadil, CSc.

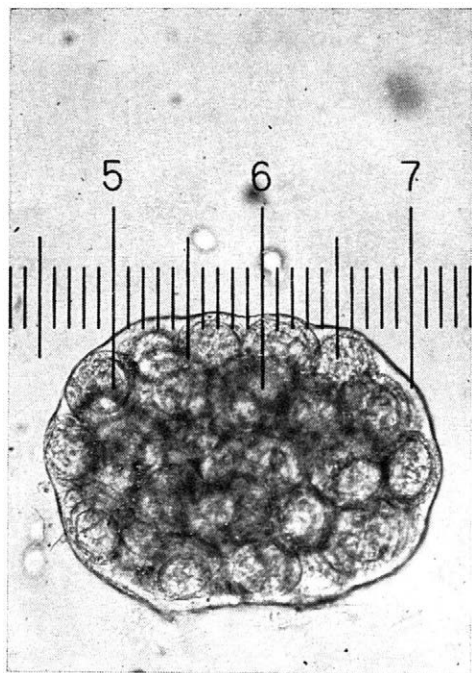


5. Vajíčko tasemnice hráškové s embryonálními háčky onkosféry a vajíčko škrkavky šelmí v prvním stadiu rýhování.

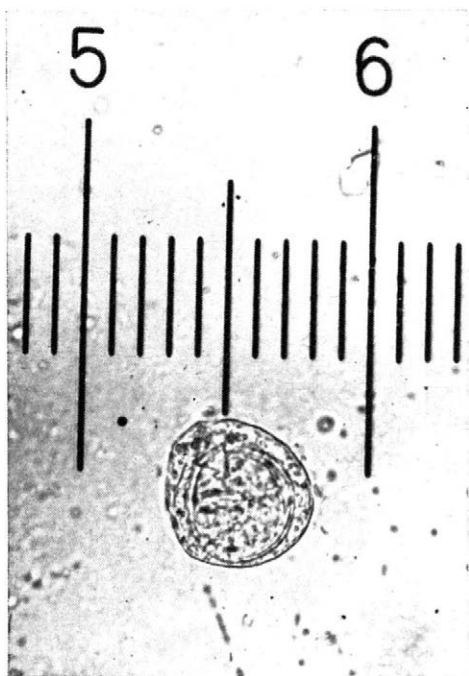


6. Vajíčka tasemnice vroubené, *Taenia hydatigena* (1 díl okul. mikrom. 7,2 μ).

Mikrofoto: MVDr. R. Zavadil, CSc.



7. Balíček vajíček tasemnice psí, *Dipylidium caninum* (1 díl je roven $9,6 \mu$).



8. Vajíčko tasemnice psí s onkosférou (1 díl okul. mikrom. je $9,2 \mu$).

Mikrofoto: MVDr. R. Zavadil, CSc.

E. Kudláč

Veterinární fakulta VŠZ, porodnicko-gynekologická fakulta, Brno

KUDLÁČ, E. (Veterinární fakulta VŠZ, porodnicko-gynekologická fakulta, Brno.)
Vliv progesteronu na říjí a fertilitu prasnic. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 315-322, 1968.

U pohlavně dospělých nulliparních prasnic bílého ušlechtilého plemene denní aplikací 20, 30 a 50 mg progesteronu (Agolutin Spofa) inhibice estru byla dosažena v 76,47 %, aplikací 60, 75 a 100 mg ve 100 % případů. Oddálení říje přímo korelovalo s délkou ošetření a denní dávkou progesteronu. Ovulace byla zaznamenána u 50 % prasnic ošetřovaných 20 a 30 mg, u 66 % ze skupin 50 a 60 mg, u 90 % ze skupiny 75 mg a u 100 % prasnic ošetřovaných 100 mg. Průměrný počet cystózně změněných folikulů se pohyboval mezi 14—21 a byl podstatně vyšší než počet žlutých tělísek u ovulujících prasnic (9,5—12,2 průměrně v jednotlivých skupinách). Ve výplašku z vejcovodu, respektive kraniálních konců rohů děložních, zjištěné ova (65—85 % oproti počtu žlutých tělísek) byla většinou oplozena, jejich descensus byl zrychlený. U prasnic odporazených 18. den po připuštění bylo v děloze zjištěno 87,75 % respektive 86,2 % embryí oproti počtu žlutých tělísek na ováriích. Jednorázové podávání 300 a 500 mg krystalické suspence progesteronu 10 prasničkám 15. den pohlavního cyklu oddálilo estrus u 80 % v průměru o 3 dny a u 100 % prasnic v průměru o 7 dní.

folikuly; žlutá tělíska a cysty na ováriích; vajíčka ve vejcovodech; embrya v děloze.

■ Prohloubení poznatků o neuroendokrinní regulaci pohlavní činnosti a zvláště vysvětlení autoreglativního účinku ovariálních steroidů na činnost předního laloku hypofýzy (pozitivní a negativní feedback) představují teoretický základ pro další studium metody kontroly průběhu pohlavního cyklu, respektive regulace estru a ovulace u zvířat (dosažení synchronizace cyklu u určité skupiny). Vypracování jednoduchého a účinného způsobu by mělo velký praktický význam pro plánovité řízení chovu a zejména z hlediska dalšího rozšiřování umělé inseminace a vůbec lepšího využití reprodukčního potenciálu zvířat při zavádění nových technologických postupů a pokračující industrialisaci v živočišné výrobě.

V posledních letech za účelem dosažení tohoto cíle je věnována zvláště pozornost progesteronu, s nímž byly dosaženy velmi dobré výsledky zvláště u ovcí. Podle řady autorů (Dutt a Casida — 1948, Robinson — 1954, Schmidt — 1961, Lamond — 1964) a z vlastních prací (autor 1961, 1962) vyplývá, že lze s úspěchem oddálit estrus a ovulaci, eventuálně synchronizovat nástup estru u skupiny ovcí denní aplikací 10 mg progesteronu. Stejný efekt byl zaznamenán i při použití testosteronu a zkrmování perorálně účinných progestačních sloučenin nebo zavádění preparátů s progestačním účinkem do dutiny poševní.

U prasat první pokusy o ovlivnění průběhu pohlavního cyklu progesteronem prováděli Christian a Casida (1948) a Ulberg, Grummer a Casida (1951). Později se touto otázkou i za použití perorálně účinných progestačních sloučenin zabývali Baker a kol. (1954), Nellor (1960), First a kol. (1963), Pond a kol. (1965), Zerobin (1966) aj. Nejnověji prováděli pokusy u prasat Polge (1965), Groves (1966 a 1967), Jöchle (1967) aj. s preparátem methallibure (derivát

dithiocarbamoylhydrozonu), jenž je označován za inhibitora gonadotropní funkce hypofyzy cestou působení na nadřazená sexuální centra v hypothalamu.

V dosavadních pokusech o kontrolu estru u prasat nebyly zdaleka vyřešeny všechny v úvahu přicházející problémy a podle Grovese (1967) jsou další práce tohoto druhu užitečné a žádoucí. Zvláště není dostatečně osvětlena otázka kvality estru dostavujícího se po předchozí synchronizaci gestageny a stejně tak otázka následné plodnosti.

Účelem této práce bylo především získat další údaje o použití progesteronu k synchronizaci říje u prasat, zvláště

- a) zhodnotit účinnost preparátu Agolutinu ke kontrole estru
- b) porovnat účinnost různých dávek progesteronu na průběh pohlavního cyklu a určit optimální výši
- c) zhodnotit vztah mezi stadiem pohlavního cyklu při započetí aplikace progesteronu a délky ošetřování k výsledné synchronizaci
- d) posoudit změny na ováriích včetně míry ovulace a zhodnotit následnou plodnost po podávání progesteronu.

MATERIÁL A METODIKA

Pokusy byly provedeny celkem u 53 pohlavně dospělých nulliparních prasníc bílého ušlechtilého plemene ve stáří 7–10 měsíců a živé váze kolem 100 kg, z nichž 6 sloužilo jako kontrola. Prasnice byly chovány ve skupinách po 5 nebo 6 kusech a před zahájením vlastního pokusu byly po dobu nejméně dvou pohlavních cyklů za použití kance denně zkoušeny na říji. Po zjištění charakteru říje a délky pohlavního cyklu bylo v každé skupině započato 11.–15. dne cyklu s podáváním progesteronu. Aplikace byla prováděna denně v dávkách 20, 30, 50, 60, 75 a 100 mg intramuskulárně v krajině za uchem za použití preparátu Agolutin Spofa (olejový roztok s obsahem 10 respektive 30 mg účinné látky v 1 ml). U dvou skupin prasníc byl aplikován progesteron jednorázově ve formě vodní krystalické suspence v dávkách 300 a 500 mg (specialita Agolutin-Depot).

V průběhu ošetření byly prasničky dále denně zkoušeny kancem na říji. Po skončení podávání progesteronu byl zjišťován nástup říje, zhodnoceny jednotlivá phenomena a prasnice připouštěny. Za dalších 48–96 hodin byla většina prasníc odporazena, ve dvou skupinách však až za 16–19 dní po připuštění. Při objevení se říje u prasníc v době ošetřování bylo toto přerušeno a prasnice rovněž připuštěny. Prasnice, neříjící se do 14 dní po skončení ošetření, byly odporazeny.

Po odporazení byly podrobeny dalšímu vyšetření pohlavní orgány. Zvláštní pozornost byla věnována ováriím a určen počet ovulovaných folikulů a tvořících se žlutých tělísek, respektive počet cystózně změněných folikulů (o průměru 5–10 mm, 10 a více mm) a žlutých tělísek. U prasníc s proběhlou ovulací byly vypreparovány vejcovody a kraniální konce rohů děložních, propláchnuty 1–2 ml fyziologického roztoku a ve výplašku zjišťována přítomnost vajíček, došlo-li k jejich oplození a stupeň jejich vývoje. Dělohy prasníc, odporazených v pozdějším období po připuštění, byly vyšetřeny se zřetelem na přítomnost vyvíjejících se embryí a jejich stav.

VÝSLEDKY

Výsledky našich pokusů ukazují, že denní aplikací progesteronu ve formě olejového roztoku (specialita Agolutin Spofa) lze potlačit a oddálit estrus u prasníc. Výsledný efekt byl však především závislý na velikosti aplikované dávky

I. Průběh pohlavního cyklu u prasnic ošetřovaných progesteronem.

Denní dávka ¹ progesteronu ¹ mg	Počet prasniček	Počátek ošetření (den cyklu)	Doba ošetření (dny)	Říje			Oddálení říje (dny)
				v prů- běhu ošetření	po skončení ošetření		
					ks	dny	
20	6	11.—14.	11	2	4	2 (1—3)	3,5
30	5	15.	12	1	2	3 (2—5)	7
50	6	15.	12	1	4	4 (1—7)	10
60	5	13.—15.	15	—	4	4,5 (3—8)	12
75	10	12.—15.	17	—	10	4,7 (4—7)	13,7
100	5	14.	18	—	5	6 (5—7)	17
Jednorázové ošetření depotním progesteronem							
300	5	15.	1	1	4	9	3
500	5	15.	1	—	5	13	7

(tab. I). Při denním podávání 20, 30 a 50 mg progesteronu byla říje zcela potlačena u 13 prasnic, tj. v 76,47 % případu. Po použití vyšších dávek 60, 75 a 100 mg byla inhibice estru zaznamenána u všech prasnic. Celková délka doby oddálení říje byla v přímé korelaci k délce prováděného ošetření a výši denní dávky progesteronu. Po skončeném ošetření prasnic denní dávkou 20 mg progesteronu, se říje dostavila za dva dny, 30 mg na 3 dny, 50 mg na 4 dny, 60 mg za 4,5 dne, 75 mg za 4,7 dní a 100 mg za 6 dní. Dávka však také výrazně ovlivňovala stupeň synchronizace a samotnou délku estru. Říje u všech prasnic jedné skupiny se dostavila v menším časovém rozmezí při použití dávek 75 a 100 mg (4—7 dní) než ve skupinách ošetřovaných nižšími dávkami, (1—8 dní). Intenzita příznaků říje byla nepatrně menší (zvláště nebyl tak výrazný reflex znehybnění) a také se zkrátila délka trvání říje (v průměru o 0,5 dne).

Podrobnější obraz o kvalitě estru, dostavujícím se po předchozím podávání progesteronu, dalo vyšetření pohlavního ústrojí po odpořazení pokusných prasnic (tab. II).

Ovulace se nedostavila u poloviny prasnic ošetřovaných denně 20 a 30 mg, u třetiny prasnic ošetřovaných 50 a 60 mg, jen u 10 % prasnic ze skupiny ošetřované 75 mg, avšak ovulace byla zaznamenána u všech prasnic, jimž bylo denně aplikováno 100 mg progesteronu. U neovulujících prasnic se folikuly změnil v cysty o průměru 5—20 mm, většinou tenkostěnné, s obsahem méně žluté, sérovité tekutiny. Pozorovány též byly tzv. krevní folikuly, vzniklé intrafolikulárním krvácením. Je charakteristické, že ve všech případech vyvinutých cyst na ováriích byl jejich počet podstatně větší než počet vyvíjejících se žlutých tělísek u prasnic, které ovulovaly. Počet žlutých tělísek byl větší u prasnic, jejichž říje se dostavila po skončení ošetření později.

II. Ovulace a oplození prasniček připuštěných v říji po ošetřování progesteronem.

Dávka progesteronu mg	Počet prasniček	Počet připuště- ných	Nález na ovariích				Nález vajíček resp. embryí		Poznámka
			ovulace		průměrný počet		ve vejcovodech	v děloze	
			se dostavila	se ne- dostavila	žlutých tělísek	cyst. změn. folik.			
20	6	4	3	3	10,7	14	24 vajíček (0—2 blast.)	—	cysty o Ø 5—15 mm
30	5	2	2	3	9,5	19	15 vajíček (2 blast.)	—	cysty o Ø . 5—15 mm
50	6	4	4	2	11,5	18,5	30 vajíček (2—4 blast.)	—	cysty o Ø 5—20 mm
60	5	4	3	2	10,3	21	8 vajíček 2—5 blast.)	12 vajíček (4—8 blast.)	krevní folikuly
75	10	10	9	1	12,2	12	19 vajíček (2—4 blast.)	8 vajíček (4—8 blast.) 43 embryí	1 neobřezla
100	5	5	5	0	14,4	—	22 vajíček (2—5 blast.)	25 embryí	
Jednorázová aplikace depotního progesteronu									
300	5	4	4	1	10,7	12	15 vajíček (2—4 blast.)	—	2 neobřezly*
500	5	5	5	0	12	—	32 vajíček (0—2 blast.)	—	1 neobřezla*

* v důsledku později prokázané poruchy plodnosti kance

U prasnic, odporažených do 3 dnů po připuštění výplachem vejcovodu, získaná vajíčka vykazovala vesměs příznaky oplození a první stadium rýhování. Jejich počet činil v jednotlivých skupinách prasnic 65–85 % podíl na celkovém počtu zjištěných žlutých tělísek. U třech prasnic nebyla ova zjištěna na vejcovodech, ale v děloze, přesto, že počet blastomer se pohyboval mezi čísly 4–8 a od posledního připuštění neuplynulo více než 72 hodin. U prasnic, odporažených kolem 18. dne po připuštění, bylo v děloze zjištěno 87,75 % (ve skupině č. 8 ošetřované 75 mg), respektive 86,2 % (se skupině ošetřované 100 mg) embryí z počtu na ovariích přítomných žlutých tělísek. 10 % embryí však se dále nevyvíjelo a vykazovaly různý stupeň degenerace a vstřebávání. Jedna prasnice neobřezla.

Jednorázová aplikace 300 mg depotního progesteronu oddálila estrus u 80 % prasnic v průměru o 3 dny. Vyšší dávka 500 mg však již inhibovala estrus u všech takto ošetřených prasnic a také průměrná doba oddálení byla podstatně delší — 7 dní, i když nástup nebyl výrazněji synchronizován. V poslední skupině prasnic byla u všech také zaznamenána ovulace, průměrně ovulovalo 12 folikulů a u 4 prasnic ve výplašku z vejcovodu byla zjištěna oplozená vajíčka.

DISKUSE

Inhibice estru u prasnic ošetřovaných progesteronem je způsobována blokováním sekrece gonadotropních hormonů v předním laloku hypofýzy. Použité dávky 20 a 30 mg denně se však ukázaly jako zcela nedostačující. I když u většiny prasnic jimi bylo dosaženo oddálení nástupu říje, nebyl zcela potlačen růst ovariálních folikulů a došlo k jejich cystóznímu zvrhnutí. Vysoký výskyt cysticky změněných folikulů při použití nízkých dávek progesteronu poukazuje také na to, že byla zvláště potlačena tvorba luteinizačního komplexu, zatímco musela být méně ovlivněna produkce FSH (folikuly byly stimulovány k růstu. Pozoruhodná je skutečnost, že průměrný počet cyst zjištěný u neovulujících prasnic byl podstatně menší ve skupině ošetřované 20 mg (14 cyst) než u prasnic ošetřovaných vyššími dávkami (19–21 cyst). Určitým vlivem se při tom pravděpodobně uplatňovalo stadium pohlavního cyklu, ve kterém bylo započato s ošetřením. Naše výsledky ve shodě s údaji B a k e r a a spol. (1954) naznačují, že při začátku aplikace progesteronu 11. dne cyklu je počet cyst menší než u prasnic ošetřovaných od 15. dne pohlavního cyklu. V této době totiž lze již počítat se začátkem regrese žlutého tělíska a sníženou tvorbou progesteronu. Prasnice ošetřené dostatečně velkou denní dávkou progesteronu se chovaly obdobně jako ke konci luteální fáze normálního říjového cyklu. Po předcházejícím komplexním potlačení růstu folikulů vyloučením progesteronu z těla se uvolní blokována sekrece předního laloku hypofýzy, vlivem účinku gonadotropinů je stimulován růst folikulů a dostaví se říje, jejíž nástup je jednotně synchronizován na relativně krátký časový interval.

Pět až sedmidenní interval mezi skončením ošetření a objevením se říje uvádějí také D z i u k a B a k e r (1962) a A r b e i t e r (1967).

Nález rýhujících se vajíček ve výplašcích z vejcovodu a zvláště relativně vysoký počet embryí v děloze prasnic, odporažených kolem 18. dne po připuštění v synchronizované říji, poukazuje na to, že říje dostavující se po skončeném podávání progesteronu je plnohodnotná a při ovulaci uvolněná vajíčka jsou schopna oplození a dalšího vývoje. Výše embryonálních ztrát odpovídá údajům pro toto období u normálně připuštěných prasnic (H á j o v s k ý — 1967). Avšak zjištění zrychleného sestupu vajíček vejcovodu, obdobně jako v našich dřívějších pokusech o synchronizaci říje u ovcí (autor — 1962) naznačují, že předchozí podávání pro-

gesteronu může ovlivnit mechanismy řídící funkci vejcovodů. Je pravděpodobné, že pod vlivem residuí progesteronu v těle je sníženo prokrvení tub a epiteliální buňky mají převahu buněk sekrečních, což ovlivňuje lumen a prostupnost vejcovodů. Tyto skutečnosti by mohly být vlastní příčinou větší ztráty vajíček a nižší plodnosti prasníc, eventuálně jejich neobřeznutí. Schilling (1967) zjistil, že vlivem progesteronu se řasinkový epitel mění v sekreční a že tato morfologická přeměna epitelu je hormonálně kontrolována.

Zjištění nestejných stadií rýhování vajíček u těchto prasníc poukazuje na asynchronně probíhající ovulaci, respektive na prodloužení období ovulace. Tyto nálezy jsou rovněž obdobné našim zjištěním při synchronizaci říje u ovcí a mohly by být způsobeny vlivem reziduálního progesteronu.

Jednorázové ošetření depotním progesteronem v dávce 500 mg se ukazuje podstatně výhodnějším především z ekonomického hlediska. Inhibice estru u jednotlivých prasníc v rámci skupiny byla značně rozdílná (o 3–9 dní), což může být způsobeno výší použité dávky progesteronu a individuální responsí prasníc, způsobem aplikace a samotným preparátem, zvláště velikostí krystalků použitých k přípravě suspenze.

Došlo dne 11. 12. 1967

Literatura

1. BAKER L. N., ULBERG L. C., GRUMMER L. H., CASIDA L. E.: Inhibition of heat by progesterone and its effect on subsequent fertility in gilts. = „*J. of Anim. Sc.*“ 13 (1954), 648–657.
2. DUTT R. H. and CASIDA L. E.: Alteration of the estrual cycle in sheep by use of progesterone and its effect upon subsequent ovulation and fertility. = „*Endocrinol.*“ 1948, 43, 208.
3. DZIUK P. J. and BAKER R. J.: Induction and control of ovulation in swine. = „*J. of Anim. Sc.*“ 1962, 21, 697.
4. FIRST N. L., STRATMANN F. W., RIGOR E. M. and CASIDA L. E.: Factors affecting ovulation and follicular cyst formation in sows and gilts fed 6-methyl-17 acetoxypregesterone. = „*J. of Anim. Sc.*“ 1963, 22, 66. Proc. 5th Int. Congr. Anim. Reprod. Trento 1964, 3, 455.
5. GROVES T. W.: Controlled Oestrus and Ovulation in Pigs. = „*Vet. Rec.*“ 1966, 79, 21.
6. GROVES T. W.: Methallibure in the Synchronisation of Oestrus in Gilts. = „*The Vet. Rec.*“ 1967, 80, 470.
7. HÁJOVSKÝ T.: K niektorým otázkám prenatalných strát u ošípaných. Kand. dis.práce, VF Košice, 1967.
8. JÖCHLE W.: Die Möglichkeiten der Hormonbehandlung bei den Haustieren. *Ress. on Inter.Symp. in Mariensee*, September 1967.
9. KUDLÁČ E.: Stimulace pohlavní činnosti u některých druhů domácích zvířat serumgonadotropiny. Kand. dis.práce, VF Brno, 1961.
10. KUDLÁČ E.: Synchronisace říje u ovcí. = „*Sb.VŠZ, spisy fak.veterinární*“, č. 494, 1962, X., 85–93.
11. LAMOND D. R.: Synchronization of ovarian cycles in sheep and cattle. = „*Anim. Breed. Alstr.*“ 1964, 32, 269.
12. NELLOR J. E.: Control of estrus and ovulation in gilts by orally effective progestational compounds. = „*J. of Anim. Sc.*“ 1960, 19, 412.
13. POLGE C.: Effective Synchronisation of Oestrus in Pigs after Treatment with ICI Compound 33828. = „*Vet. Rec.*“ 1965, 77, 232–236.
14. POND W. G., HANSEL W., DUNN J. A., BRATTON R. W., FOOTE R. H.: Estrous cycle synchronization and fertility of Gilts fed progestational and estrogenic compounds. = „*J. of Anim. Sc.*“ 1965, 24, 536.
15. ROBINSON T. J.: The production of coincident oestrus and ovulation in the anoestrous ewe with progesterone and pregnant mare serum. = „*J. of Endocrinol.*“ 1954, 2, 117–123.

16. SCHILLING E.: Funktionell-anatomische Kriterien in der Fortpflanzung. *Ref. na mezinár.symposiu*, Biologické základy reprodukce, Mariensee, září 1967.
17. SCHMIDT K.: Eitransplantation beim Schaf nach Progesteron-PMS-Synchronisation. *Rep. on IVth Internat. Congr. of Anim. Repr.*, Haag, Juni 1961.
18. SCHMIDT D., STEINBACH J., SCHEVEN B.: Untersuchungen zur Brunstsynchrisierung bei Sauen, durchgeführt an veredelten Landschweinen und Zwergschweinen. = „*Berl.u.Münch.Wsch.*“ 1965, 78, 286.
19. ULBERG L. C., GRUMMER R. H. and CASIDE L. E.: The effects of progesterone upon ovarian function in gilts. = „*J. of Anim. Sc.*“ 1951, 10, 665.
20. ZEROBIN K. und WINZENRIED: Die Synchronisation bzw. Induktion des Sexualzyklus bei Schwein. = „*Schw. A. f. Tierheilk.*“ 1966, 108, 68.

КУДЛАЧ, Е. (Ветеринарный факультет Сельскохозяйственного института, Брно, Чехословакия.) Влияние прогестерона на охоту и плодовитость свиноматок. Вет мед. (Прага) 13 (6) : 315-322, 1968.

У половозрелых холостых свиноматок белой улучшенной породы путем ежедневного введения 20, 30 и 50 мг прогестерона (Аголутин Спофа) замедление половой охоты было достигнуто в 76,47 %, а путем введения 60, 75 и 100 мг — в 100 % случаев. Отдаление срока охоты находилось в непосредственной зависимости от продолжительности обработки и суточной дозы прогестерона. Овуляция отмечена у 50 % маток, обработанных 20 и 30 мг, у 66 % в группе с 50 и 60 мг, у 90 % — в группе с 75 мг и у 100 % маток, обработанных 100 мг. Среднее число фолликулов с изменениями кист находилось в пределах 14—21 и было существенно больше количества желтых тел у маток в процессе овуляции (9,5—12,2 в среднем по отдельным группам). В смысле яйцевода или краниальных концов рогов матки большинство обнаруженных яиц (65—85 % по сравнению с количеством желтых тел) было оплодотворено и ускорено их опущение. В матке забитых на 18-й день после случки свиней установлено 87,75 % и 86,2 % эмбрионов по сравнению с желтыми телами на яичниках. Одноразовое введение 300 и 500 мг кристаллической суспензии прогестерона 10 молодым маткам на 15-й день полового цикла отдалило охоту у 80 % в среднем на 3 дня, а у 100 % — в среднем на 7 дней.

фолликулы; желтые тела и кисты на яичниках; яйца в яйцеводах; эмбрионы в матке.

KUDLÁČ, E. (Veterinary Faculty of the University of Agriculture in Brno, Czechoslovakia) *Influence of Progesterone on the Oestrus and the Fertility of Sows*. Veterinary Medicine (Prague) 13 (6) : 315—322, 1968.

Daily applications of 20, 30 and 50 mg of progesterone (Agolutin Spofa) to sexually mature nullipara of sows of the Large White breed inhibited the oestrus in 76.47 %, applications of 60, 75 and 100 mg in 100 % of the instances. The postponement of the oestrus correlated directly with the time of tending and the daily dose of progesterone. Ovulation was recorded in 50 % of sows to which 20 and 30 mg of progesterone had been served, in 66 % of the group treated with 50 and 60 mg, in 90 % of the group treated with 75 mg and in 100 % of the group treated with 100 mg of progesterone. The average number of follicles with cysts ranged between 14 and 21 and was substantially higher than the number of the yellow bodies in ovulating sows (on the average 9.5—12.2 in individual groups). The ova (65—85 % as compared with the number of the yellow bodies) in ovulating sows recorded by flushing the oviducts, namely the cranial ends of the horns of the uterus, respectively, were usually fecundated, their descensus being accelerated. In sows slaughtered on the 18th day after mating 87.75 % and 86.2 % of embryos, respectively, were found as compared with the number of the yellow bodies on the ovaries. A one-time application of 300 to 500 mg of a crystallic suspension of progesterone to gilts on the 15th day of the sexual cycle postponed the oestrus in 80 % of instances on the average by 3 days, in 100 % of instances on the average by 7 days.

Follicles; yellow bodies and cysts on the ovaries; eggs in oviducts embryos in the uterus.

KUDLÁČ (Fakultät der Veterinärmedizin der Landwirtschaftlichen Hochschule in Brno, Tschechoslowakei). *Einfluß des Progesterons auf die Brunst und Fertilität bei Sauen*. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 315—322, 1968.

Bei den geschlechtsreifen nullipara Sauen der weißen Edelschweinrasse wurde durch die tägliche Applikation von 20, 30 und 50 mg Progesteron (Agolutin Spofa) die Östrusinhibition in 76,47 %, durch die Applikation von 60, 75 und 100 mg in 100 % der Fälle erreicht. Der Aufschub der Brunst korrelierte direkt mit der Behandlungsdauer und mit der Tagesdosis von Progesteron. Die Ovulation wurde bei 50 % der mit 20 und 30 mg behandelten Sauen, bei 66 % aus den Gruppen 50 und 60 mg, bei 90 % aus der Gruppe 75 mg und bei 100 % der mit 100 mg behandelten Sauen verzeichnet. Die durchschnittliche Anzahl der zystisch veränderten Follikulen bewegte sich zwischen 14—21 und war wesentlich höher als die Anzahl der Gelbkörper bei den ovulierenden Sauen (9,5—12,2 durchschnittlich in den einzelnen Gruppen). In der Ausspülung aus den Eileitern resp. aus den kranialen Enden der Gebärmutter, festgestellten Ova (65—85 % gegenüber der Anzahl der Gelbkörper) waren grobenteils befruchtet, ihr Descensus war beschleunigt. Bei den am 18. Tag nach der Bedeckung geschlachteten Sauen wurden in der Gebärmutter 87,75 % Embryos resp. 86,2 % gegenüber der Anzahl von Gelbkörpern an den Eierstöcken festgestellt. Die einmalige Verabreichung von 300 und 500 mg kristallinischer Suspension von Progesteron an 10 Jungsauern am 15. Tag des Geschlechtszyklus verzögerte den Östrus bei 80 % im Durchschnitt um 3 Tage und bei 100 % der Sauen im Durchschnitt um 7 Tage.

Follikulen; Gelbkörper und Zysten an den Ovarien; Eier in den Eileitern; Embryos in der Gebärmutter.

● Technologická vhodnost mléka dojníc nemocných zánětem vemene

Nejčastějším onemocněním dojníc jsou záněty vemene, jimiž je postiženo 20—30 procent krav. Pokles dojnosti následkem této choroby dosahuje např. v Polsku 8—20 procent. Mezi činiteli vyvolávajícími zánět vemene převažují bakteriální nákazy (streptokoky) a mechanické úrazy při nepravidelném strojním dojení. Zánět vemene vyvolává změny chemických a fyzikálních vlastností mléka a také mikrobiologické změny. Zásadní změny se zjišťují v bílkovinách mléka; obsah veškerých bílkovin v mléce nemocných krav vzrůstá. Kvantitativní i kvalitativní změny kaseinu jsou průkazné v technologii sýrů a jiných mléčných výrobků.

(Podle časop. Przegląd mleczarski, č. 6, r. 1967, str. 12-14, zprac. Dr. Stan. Mudra)

● Profylaktická účinnost sulfametylfenylparazolu proti sípavce prasat

Západoněmečtí veterináři ošetřili v zamořeném chovu všechna prasata ve třech po sobě následujících dnech dávkou 60 mg na 1 kg váhy ve formě 20% roztoku. Po dvou měsících dostala všechna prasata stejnou dávku perorálně. Všechna selata, narozená v průběhu pokusu, byla ošetřena ve stáří 10, 11 a 12 dní dávkami 1—2 ml téhož roztoku. Během pokusu vymizely z chovu klinické příznaky sípavky, zlepšily se váhové přírůstky a zlepšilo se využití krmiv.

(Podle časop. Deutsche tierärztliche Wochenschrift, r. 1967, č. 22, str. 578-582 zprac. Dr. Stanislav Mudra)

Adresa autora:

Doc. MVDr. Eduard Kudláč, CSc., VŠZ, veterinární fakulta, porodnicko-gynekologická katedra, Brno, Palackého 1—3

CHARAKTERISTIKA SÉROVÉHO GONADOTROPINU PRO VETERINÁRNÍ POUŽITÍ

K. Semotán, L. Weger, M. Šišák

Bioveta, oborový podnik, Ivanovice na Hané

SEMOTÁN, K., WEGER, L., ŠIŠÁK, M. (Bioveta, oborový podnik, Ivanovice na Hané) *Charakteristika sérového gonadotropinu pro veterinární použití*. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 323—328, 1968.

K charakterizaci hormonálních preparátů izolovaných ze séra březích klisen byla použita agarová elektroforéza a imuno elektroforéza. Rozbory byly srovnány s výsledky biologické titrace, provedené na infantilních myších samicích. Sérový gonadotropin, používaný u nás ve veterinární medicíně, vykazuje biologickou aktivitu 30—50 m.j./mg. Obsahuje částečně koňské sérové bílkoviny, které lze další purifikací odstranit za současného zvýšení aktivity preparátu přibližně dvacetkrát.

alkoholická frakcionace séra březích klisen; agarová elektroforéza; imuno elektroforéza; biologická titrace; aktivita sérového gonadotropinu.

■ Hormonální terapie pomocí sérového gonadotropinu stojí v současné době v popředí zájmu zejména ve veterinární medicíně. Důvody jsou především ekonomické, ale také velmi dobré léčebné vlastnosti tohoto hormonu, podmíněné stabilním obsahem folikulizační a luteinizační složky (K u d l á č 1967, A r e n d a r č i k 1966). Na rozdíl od séra březích klisen, jehož aplikace vyvolávala často nepříznivé reakce ve formě anafylaktických šoků, neprojevují se téměř při použití této hormonální substance uvedené potíže (Q u e i s n e r o v á 1966, T r á v n í č e k 1966).

Cílem předložené práce byla charakteristika sérového gonadotropinu, připraveného alkoholickou frakcionací séra březích klisen, na základě agarové elektroforézy, imuno elektroforézy a biologické titrace.

Sérový gonadotropin, označovaný PMSG podle anglického názvu Pregnant Mare Serum Gonadotrophin, je připravován ze séra březích klisen. Po biochemické stránce patří do skupiny glykoproteinů, je termolabilní a ve vodě dobře rozpustný; tvoří se v děložním endometriu klisen, odkud se dostává do krevního oběhu pravděpodobně pomocí lymfatických cév (W o l s t e n h o l m e a spol. 1965). Dosud není zjištěno, zda je látkou jednoduchou nebo směsí dvou faktorů s aktivitou folikulizačního (FSH) a luteinizačního (LH) hormonu. Podle některých výzkumů i vysoce aktivní preparáty, chovající se jako jednotná látka při elektroforéze na škrobu, stále obsahující účinnost obou biologicky aktivních složek (L e g a u l t - D é m a r e a spol. 1961). Jsou popsány rovněž imunologické křížové reakce mezi PMSG a LH, dokazující strukturní podobnost těchto hormonů (F l u x a spol. 1965). Přesné chemické složení sérového gonadotropinu nebylo dosud s konečnou platností stanoveno. Preparát L e g a u l t - D é m a r e a spol. (1958) má v molekule jen 40 % bílkovinné části, ostatní tvoří cukry (B o u r r i l l o n a spol. 1959). Údaje o molekulové váze se různí a kolísají v rozmezí od 28 000 do 68 500 (B o u r r i l l o n, G o t 1960 W o l s t e n h o l m e, K n i g h t 1965).

Izolace sérového gonadotropinu je popsána v řadě prací, z nichž některé, používající k přípravě hormonů derivátů celulosy a některých měničů iontů, mají více teoretický význam (M o r r i s 1964), obdobně jako u jiných gonadotropinů (C o u r r i e r 1964). K novějším preparativním metodám patří postup L e g a u l t - D é m a r e a spol. (1958).

Elektroforetické vlastnosti preparátů gonadotropinu se podle různých autorů od sebe vzájemně liší a závisí zejména na čistotě preparátů a technickém provedení elektroforézy (Legault-Démare a spol. 1961, Queisnerová 1966, McCarthy, Pennington 1966).

Stanovení aktivity sérového gonadotropinu se provádí obvykle titrací na infantilních myších nebo krysích samicích podle morfologických kritérií. Méně častěji se používá k tomuto stanovení kuřat (Dorfman 1948), nebo žab (Bielanski a spol. 1953). Biologický účinek jedné mezinárodní jednotky odpovídá 0,25 mg standardního preparátu.

MATERIAL A METODY

Sérum březích klisen bylo získáno jako komerční výrobek v n. p. Bioveta v Ivanovicích na Hané.

Sérový gonadotropin. Izolace sérového gonadotropinu byla provedena etanolickou frakcionací séra březích klisen metodou Legault-Démarea a spol. (1958) v modifikaci Queisnerové (1966).

Podstata metody: Neúčinné bílkoviny séra se odstraní precipitací etanolem při jeho 50 % koncentraci, pH = 5 a účinná látka se získá jako sraženina zvýšením koncentrace etanolu na 80 %. Hormon se pak rozpustí v destilované vodě a po vyčeření roztoku se lyofilizuje. Tímto způsobem se dosáhne I. stupně purifikace preparátu, při kterém jeho aktivita činí 30–50 m. j./mg. Dvojnásobným opakováním celého postupu dosáhne čištění hormonu druhého stupně, při kterém jeho účinnost vzroste na 400–800 m. j./mg.

V této práci byla provedena kvalitativní analýza obou těchto preparátů, z nichž preparát získaný v I. stupni (SG—I) je u nás vyráběn pro veterinární použití a druhý o vyšší aktivitě čištěný do II. stupně (SG—II) je připravován pro speciální účely.

Elektroforetické a imunoelektroforetické analýzy: Agarová elektroforéza a imunoelektroforéza byla provedena mikromodifikací podle Škvařila (1961) na skleněných deskách 5 × 5 cm. Barvení rozdělených frakcí bylo prováděno podle McCarthyho a Penningtona (1966) jednak amidočerní na důkaz proteinů, jednak leukofuchsinem po oxydaci kyselinou jodistou (PAS — Periodic Acid Schiff), detegující glykoproteiny. Při imunoelektroforetických rozborech bylo použito králíčí precipitační sérum proti koňským sérovým bílkovinám š. č. 02—0966 z Ústavu sér a očkovacích látek v Praze.

Biologické hodnocení: Účinnost gonadotropinových preparátů byla stanovena biologickou titrací na infantilních myších samicích.

Do pokusu byly zařazeny samice kmene Swiss Albina o váze 6–10 g. Myši byly rozděleny do 8 skupin po 5 kusech. Tři skupiny obdržely v různých ředěních preparát SG—I, třem skupinám byl aplikován preparát SG—II opět v různých ředěních, srovnávací skupina obdržela standard a kontrolní skupině nebyl aplikován žádný preparát. Standard byl získán z Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii v Praze (526 m. j./mg), kde byl připraven na základě srovnání s mezinárodním standardem.

Použité preparáty byly rozpuštěny ve fyziologickém roztoku na základní roztok, obsahující 1 mg/1 ml, který byl dále ředěn na aplikační roztok (tab. I), z něhož obdržela každá myš podkožně celkově 1 ml ve třech jednodenních dávkách. Po 72 hodinách po první aplikaci zkoušených preparátů byly myši usmrčeny éterem a při pitvě posuzovány vizuálně makroskopické změny dělohy, případně i ostatních rozplodovacích orgánů (vaječníky, pochva) ve srovnání s kontrolními skupinami.

I. Stanovení aktivity gonadotropinových preparátů metodou biologické titrace na infantilních myších samičích

Pokusná skupina	Aplikovaný preparát	Ředění základních roztoků	Reakce
1	standard	1 : 526	+++
2	SG-I	1 : 30	+++
3		1 : 60	++
4		1 : 90	+
5		1 : 400	+++
6	SG-II	1 : 600	+++
7		1 : 800	++
8	kontrola	—	—

Hodnocení výsledků bylo provedeno následovně:

- + dvojnásobné zduření dělohy
- ++ dvojnásobné zduření dělohy s hyperemií
- +++ trojnásobné zduření dělohy s hyperemií

VÝSLEDKY

Elektroforetické a imunoэлектроforetické vlastnosti hormonálních preparátů jsou zřejmé z obr. 1. Amidočerní (obr. 1a) byly detegovány u séra březích klisen (SBK) za daných podmínek dvě pozitivně migrující frakce, albuminu a α -globulinu, jedna frakce v počátku, odpovídající β -globulinu, a negativně migrující frakce γ -globulinu. Preparát SG—I tvořil dvě pozitivně migrující frakce, jednu v pozici albuminu, druhou mezi albuminem a α -globulinem. Preparát SG—II se amidočerní nevybarvoval.

Imunoэлектроforetický rozbor (obr. 1b) ukázal u preparátu SG—I přítomnost koňských sérových bílkovin, které vytvářely s antisérem precipitační linii, probíhající v celém rozsahu od albuminu až po místo startu a slabou difusní linii v oblasti β a γ -globulinu. Preparát SG—II netvořil žádné precipitační linie.

Při barvení rozdělených frakcí pomocí leukofuchsinu po oxydaci kyselinou jodistou (obr. 1c) byl obraz séra a preparátu SG—I shodný s obrazem získaným při barvení amidočerní, kdežto u preparátu SG—II se na rozdíl od předcházejícího barvení degetovala intenzivní skvrna na straně pozitivní od albuminu.

Výsledky biologické titrace gonadotropinových preparátů jsou shrnuty v tab. I. Z hodnocení plyne, že preparát SG—I vykazuje aktivitu 30 m. j./mg a preparát SG—II aktivitu 600 m. j./mg. Další purifikace sérového gonadotropinu uvedeným způsobem zvyšuje tedy jeho aktivitu dvacetinásobně.

Změny velikosti myší dělohy po aplikaci gonadotropinových preparátů jsou patrné z obr. 2.

V této práci nebyla izolace gonadotropinu dovedena do konce podle původní práce Legault-Démare a spol. (1958), kteří používají při další purifikaci gonadotropinu adsorpčních technik a protiproudného vytřepávání. Uvedenými způsoby čištění získávají preparát o aktivitě asi 16.000 m.j./mg. Částečně purifikované preparáty, které jsme získali popsáním způsobem uspokojují plně požadavky jejich praktického použití. Izolační metoda je nadto nenákladná a technicky dobře proveditelná, takže poptávka po těchto hormonálních přípravcích může být výrobcem plně uspokojena.

Agarová elektroforéza a imuno elektroforéza je vhodná metoda pro kontrolu čistoty gonadotropinů ze séra březích klisen. Jak ukazují výsledky těchto rozborů, preparát SG-I používaný ve veterinární medicíně pod komerčním názvem Sérový gonadotropin *ad us. vet.* obsahuje sice ještě menší množství sérových bílkovin, které může být odpovědné za ojedinělé výskyty anafylaktických šoků po aplikaci zejména u hovězího dobytka (Trávníček 1966). Nebezpečí těchto nepříznivých reakcí je však sníženo na minimum. Další purifikací se získá preparát, jevící se při uvedeném způsobu provedení elektroforézy jako homogenní frakce, prakticky zbavená balastních proteinů. Tento hormonální přípravek je určen ke speciálním účelům, případně k použití v humánní terapii.

Základním měřítkem při posuzování aktivity gonadotropinových preparátů bylo určení změn na pohlavních orgánech infantilních myší a zvláště zvětšení dělohy. Růst uteru je reakce druhotná. Myší vaječník stimulovaný gonadotropinem vylučuje estrogeny, které aktivují proliferaci děložního epitelu. Podle Claringbolda a Lamonda (1957) je váha dělohy a její růst u myší po podání gonadotropinů přesným a citlivým testem.

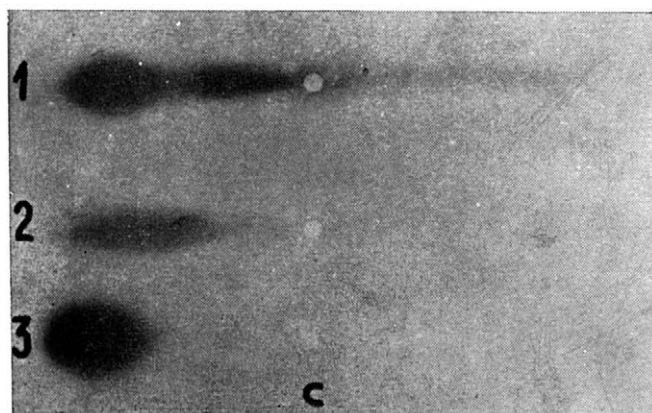
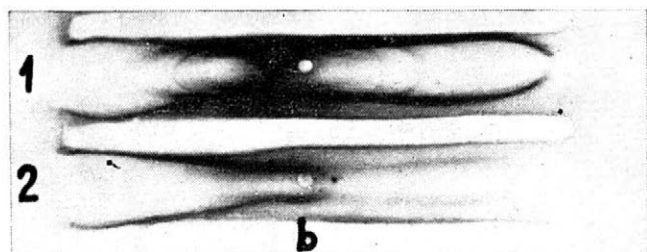
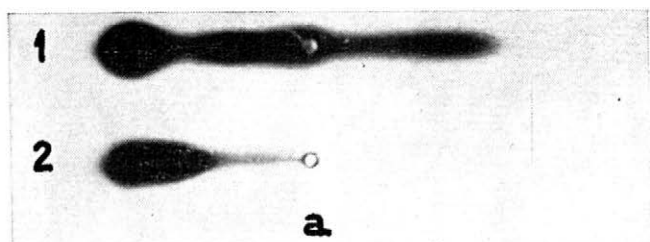
Při biologickém hodnocení účinnosti izolovaných preparátů šlo zejména o relativní určení stupně aktivace přípravku, ke které dochází cestou jeho další purifikace. Jak je patrné z obr. 2 jsou změny myších děloh vyvolané aplikací hormonu natolik zřetelné, že i při vizuálním hodnocení aktivity gonadotropinu ve srovnání s působením standardního preparátu je možnost dosažení nesprávného výsledku vyloučena. Počet pěti myší v jedné pokusné skupině je dostatečný při určování účinnosti zkoušeného preparátu.

Sérový gonadotropin SG-II se zatím jeví jako vhodný imunizační materiál při získávání příslušného antiséra, které by mohlo sloužit k diagnostice březosti klisen. Studium imunologických vlastností tohoto hormonu vzhledem k uvedeným diagnostickým možnostem je předmětem naší další experimentální práce.

Došlo dne 14. 12. 1967

Literatura

1. ARENDARČIK, J.: Gonadotropiny, jejich vlastnosti a vlivy na reprodukci u některých zvířat. = „*Veterinářství*“ 9, 1966: 402-404.
2. BIELANSKI, W. a spol.: Ilościowe oznaczanie hormonów gonadotropowych surowicy żrebných klaczy przy użyciu żaby wodnej „*Rana esculenta* L.” = „*Folia biol.*“ Warszawa 1, 1953, 72-80.
3. BOURRILLON, R., MICHON, J., GOT, R.: La copule glucidique de la Gonadotropine du serum de jument gravide. = „*Bull.Soc.Chim.Biol.*“ 41, 1959: 493-502.
4. CLARINGBOLD, P. J., LAMOND, D. R.: Optimum conditions for the biological assay of gonadotropins. = „*J.Endocrin.*“, 16, 1957: 86-97.
5. COURRIER, R.: Sur la purification de l'Hormone Foliculostimulante hypophysaire (F.S.H.) de mouton et de la Gonadotropine urinaire Humaine de menopause (H.M.G.). = „*Acta endocr.*“ Suppl. 90, 1964: 29-33.
6. DORFMAN, R. I.: Studies on the bioassay of hormones the assay of Pregnant Mares Serum Chorionic Gonadotrophin. = „*Endocrinology*“ 42, 1948: 93-97.

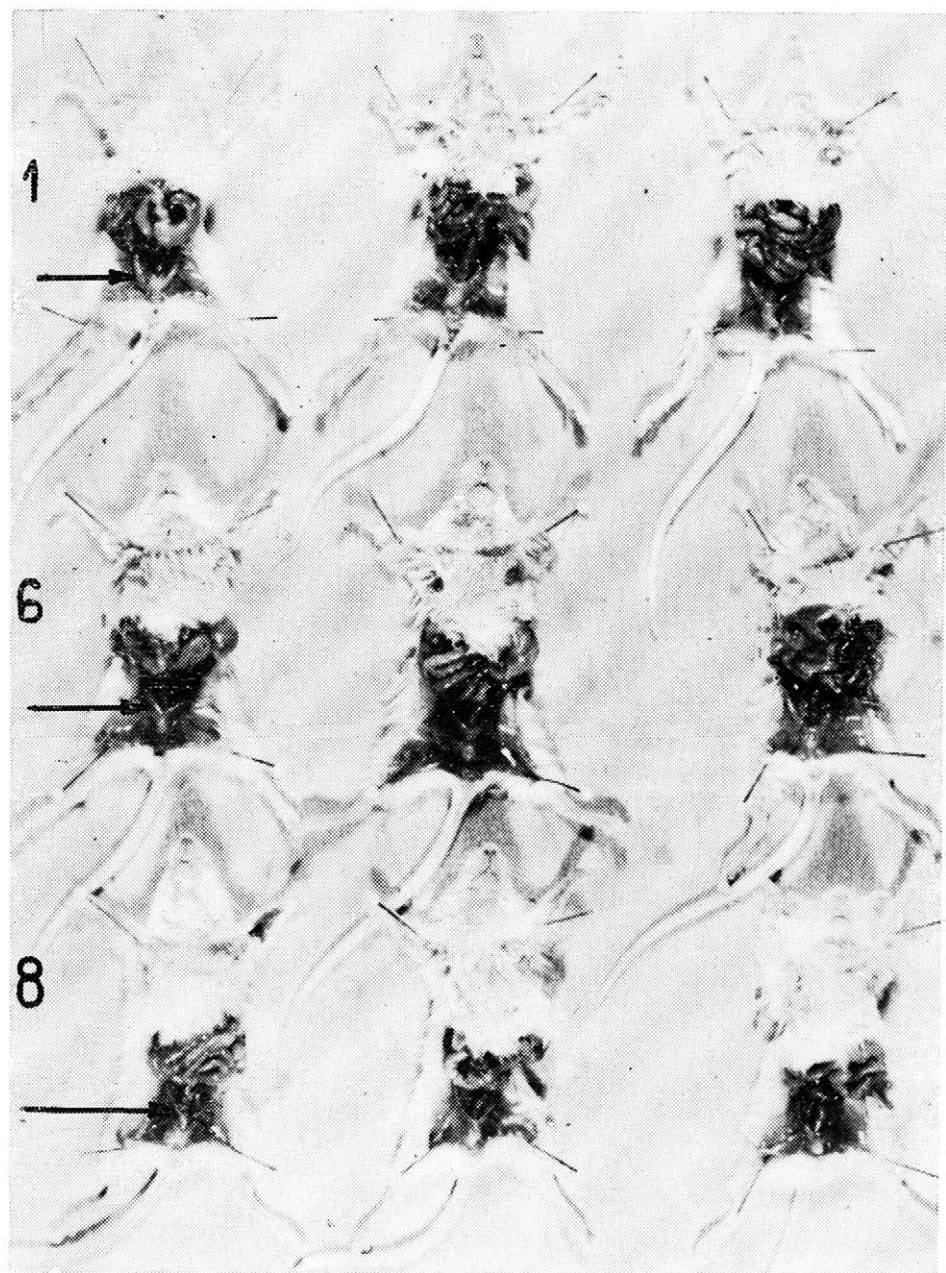


Obr. 1. Elektroforéza a imunoэлектроforéza séra březích klisen a gonadotropinových preparátů

1 — sérum březích klisen, 2 — preparát SG-I, 3 — preparát SG-II.

a, b — barvení amido-černí

c — barvení PAS (anoda vlevo).



Obr. 2.: Působení gonadotropinových preparátů na myší dělohu. Šipky označují myší dělohu, číslice pokusnou skupinu.

7. FLUX, D. S., LI, CH. H.: Immunological cross reactions among gonadotrophins. = „*Acta endocr.*“, 48, 1965: 61-71.
8. KUDLÁČ, E.: Použití gonadotropních hormonů ke stimulaci pohlavní činnosti a terapie funkčních poruch u samic domácích zvířat. = „*Veterinářství*“ 9, 1967: 421-424.
9. LEGAULT-DÉMARE, J., CLAUSER, H., JUTISZ, M.: Nouvelle méthode de purification de l'Hormone Gonadotrope sérique de jument gravide. = „*Biochim. biophys. Acta*“ 30, 1958: 168-181.
10. LEGAULT-DÉMARE, J., CLAUSER, H., JUTISZ, M.: Purification de la Gonadotrope Sérique de jument gravide. = „*Bull. Soc. Chim. biol.*“ 43, 1961: 897-905.
11. MCCARTHY, C., PENNINGTON, G. W.: A preliminary study of the immunoelectrophoretic properties of Pregnant Mares Serum (PMS) — together with its application to the diagnosis of pregnancy in the Mare. = „*Experientia*“ 22/1, 1966: 33-35.
12. MORRIS, C.J.O.R.: On the molecular weight of Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin. = „*Acta Endocrinol.*“ Suppl. 90, 1964: 163-171.
13. QUEISNEROVÁ, M., ECKERTOVA, A.: Sérový gonadotropin — PMSG. = „*Závěrečná zpráva*“, 1966.
14. SKVÁŘIL, F.: Mikromodifikace imunoelektroforesy. = „*Chem. listy*“ 55, 1961: 1069-1080.
15. TRÁVNÍČEK, M.: Výsledky používání sérového gonadotropinu v praxi. = „*Imunoprofylaxia*“ 1, 1966: 26-28.
16. WOLSTENHOLME, G.E.W., KNIGHT, J.: Ciba found. Study group No 22. = „*Gonadotrophins, physicochemical and immunological properties.*“, J. A. Churchill LTD, London, 1965.

SEMOTAN, K., WEGER, L., ŠIŠÁK, M. (Bioveta, Ivanovice, Československo) Charakteristika syrovotčného gonadotropínu pre veterinárne použitie. *Vet. med. (Praha)* 13 (6): 323-328, 1968.

K charakteristice hormonálních preparátů, izolovaných z syrovátky žerebých kobyl, byl použit elektroforéz na agaru a imunoelktroforéz. Analýzy srovnávaly s výsledky biologického titrování, uskutečněného na infantilních myšicích samkách. Používaný u nás v veterinárii syrovotčný gonadotropin ukazuje na biologickou aktivnost 30—50 m. e./mg. On obsahuje částí koňské syrovotčné proteiny, které pomocí následující čistoty lze odstranit při 20-násobném zvýšení aktivity preparátu.

alkoholové frakcionování syrovátky žerebých kobyl; elektroforéz na agaru; imunoelktroforéz; biologické titrování; aktivnost syrovotčného gonadotropínu.

SEMOTÁN, K., WEGER, L., ŠIŠÁK, M. (Bioveta, Ivanovice, Československo) Charakteristika of Pregnant Mare Serum Gonadotrophin for the Veterinary Application. *Vet. Med. (Praha)* 13 (6): 323—328, 1968.

The agar electrophoresis and immunoelectrophoresis were used for characterisation of the hormonal preparates. The analyses were compared with results of biological titration, carried out on infantile female mice. PMSG, used in this country in Veterinary medicine, shows the biological activity 30—50 i.u./mg. It contains partially the horse serum proteins, which it is possible to remove by means of further purification whereby the activity of preparate is being raised twenty times approximately.

Alcoholic fraction of the serum of gravid mares; agar electrophoresis; immunoelectrophoresis; biological titration; activity of the serum gonadotropin.

SEMOTÁN, K., WEGER, L., ŠIŠÁK, M. (Bioveta, Ivanovice, Československo) Die Charakteristik des Serum Gonadotropin für veterinäre Zwecke. *Vet. Med. (Praha)* 13 (6): 323—328, 1968.

Zur Charakteristik der Hormonpreparate, die aus dem Serum der trächtigen Stuten isoliert wurden, war die Agar-Elektrophorese und Imunoelektrophorese benützt. Die

Analyse war mit den Resultaten biologischer Titration, die an infantilen Mäuseweibchen durchgeführt wurden verglichen. Das Serum Gonadotropin, das bei uns in der veterinären Medizin verwendet wird, hat eine biologische Aktivität von 30—50 I.E./mg. Es enthält teilweise Serum von Pferdeeiweißstoff, das durch weitere Purifikation entfernt werden kann bei gleichzeitiger Erhöhung der Aktivität des Preparates, und zwar beiläufig zwanzigmal.

alkoholische Fraktionierung des Serums der trächtigen Stuten; Agar-Elektrophorese; Immunelektrophorese; biologische Titration; Aktivität des Serumgonadotropins.

Adresa autorů:

Prom. chemik Karel Semotán, Ladislav Weger, MVDr. Miroslav Šišák, Bioveta, oborový podnik, Ivanovice na Hané

Vedoucí pracoviště: MVDr. Vladimír Marjáněk

MALÉ INFORMACE

● Šetření o počtu zárodků v masě sušeném ve zmrazeném stavu

Jak píše J. Habermann v západoněmeckém časopise Lebensmittelhygiene, požaduje se pro německou spolkovou armádu koncentrovaná strava vysoké výživné hodnoty, poskytující dobré zasycení. Přitom má mít tato strava co nejdelší možnost skladování bez chladicích prostorů, malý objem a malou váhu.

Při sušení masa i jiných potravin ve zmrazeném stavu nedochází k žádným ztrátám na výživné hodnotě. Vysušené maso se asepticky uloží do obalů zabraňujících vnikání vlhkosti. Takové maso pak neobsahuje více nežli 5 % vody. Při uložení 107 kostek svaloviny vysušených v mrazu vykazovalo 29 % vzorků počet zárodků přes 5×10^5 v gramu, avšak ani po $1\frac{1}{2}$ roce skladování se tento počet zárodků nezvýšil.

(Podle časopisu Lebensmittelhygiene. r. 1967, č. 8, str. 169-171, zprac. Dr. Stanislav Mudra)

● Metoda očkování drůbeže proti virové encefalomyelitidě

Je to onemocnění, které se projevuje klinickými příznaky jen u kuřat do stáří 7 týdnů a je vysoce kontagiózní: Imunita se přenáší na kuřecí zárodky. Technika vakcinace spočívá v tom, že se malý počet slepic infikuje plně virulentním virem. Během 3—4 týdnů se samovolně proimunizuje celé hejno, virus z chovu vymizí, avšak zanechává imunitu. Z vajec snesených po této době se líhnou kuřata, která jsou po celé kritické období chráněna před infekcí mateřskými protilátkami.

(Podle časopisu Wiener tierärztliche Monatschrift, r. 1967, č. 12, str. 835-842, zprac. Dr. Stanislav Mudra)

K. Černík, V. Rajtár, E. Černíková

Bioveta, Nitra, Ústr. štát. veter. ústav, Nitra

ČERNÍK, K., RAJTÁR, V., ČERNÍKOVÁ, E. (Biovet, Nitra, Ústr. štát. veter. ústav, Nitra) *Rozšíření infekční bronchitidy kuřat na Slovensku*. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 329—336, 1968.

V prvním pololetí r. 1967 byl proveden orientační serologický průzkum rozšíření infekční bronchitidy na Slovensku. Z 24 chovů drůbeže v různých okresech bylo odebráno celkem 560 vzorků séra po 10 vzorcích z každé skupiny drůbeže téhož věku. Pět vzorků téže skupiny bylo vždy vyšetřeno společně jako jeden vzorek sérumneutralizačním testem proti kmenu Beaudette. Za pozitivní bylo považováno sérum, ředěné 1 : 8, s neutralizačním indexem rovným nebo vyšším než 2,0. Ze 112 vyšetřených vzorků séra bylo pozitivních 71,5 %: 47,5 % kuřat do 6 týdnů, 77,5 % kuřic a brojlerů a 94,0 % dospělé drůbeže. Z 24 vyšetřených chovů jen ve dvou (8,3 %) nebyly zjištěny protilátky proti infekční bronchitidě ve významném titru. Sledováním dynamiky mateřských protilátek v závislosti na věku kuřat, pocházejících ze zamořeného chovu a chovaných v izolaci, bylo zjištěno, že pasivně získané protilátky klesly pod hranici neutralizačního indexu 2,0 ve věku 3 týdnů.

kuřata; kuřice; brojler; nosnice; krevní sérum; neutralizační protilátky; neutralizační index; pasivní imunita transovariální.

■ V ČSSR byla infekční bronchitida (I. B.) poprvé zjištěna v r. 1950 na Slovensku (Š k o d a, J a k u b í k 1961). V r. 1964 došlo k vzplanutí IB, laboratorně potvrzené, v Xaverově a od té doby se zprávy o výskytu nákazy stále množí. Ještě v r. 1964 byla zjištěna v Severočeském kraji a v následujících letech byla diagnostikována ve 13 lokalitách Jihomoravského kraje (Prostějov, Brno-venkov, Břeclav, Žďár n. Sáz.), v Severomoravském kraji (Olomouc) a ve středních Čechách. Izolován byl virus infekční bronchitidy typu Massachusetts a Gray. Na Slovensku byla sérologicky prokázána IB v Liptovském Mikuláši, Rožňavě a Prešově. Hospodářské škody, vyvolané přímo či nepřímo, jsou velmi vysoké. Škody a ztráty, způsobené vzplanutím infekční bronchitidy v Xaverově v letech 1964—1965, byly odhadnuty na více než 2 200 000 Kčs (D y m l 1967, H r a b ě t a 1967, D v o ř á k o v á 1967, M i n á r i k, D y m l 1967).

V prvním pololetí roku 1967 byl proveden v několika etapách sérologický průzkum rozšíření infekční bronchitidy v chovech drůbeže na Slovensku.

MATERIÁL A METODIKA

Z 24 chovů drůbeže různého výrobního zaměření (chovné i produkční — nosnice i brojler) a různé kapacity (JRD, státní statky, podniky Drůbežářských závodů a p.), vybraných většinou příslušnými OVZ, bylo odebráno po 10 vzorcích krve ze skupin drůbeže různého věku, celkem 560 vzorků. Zdravotní stav drůbeže byl v době odběru vzorků uspokojivý, nebyly zjištěny příznaky probíhajících infekcí, ale v několika případech se v minulosti vyskytlo

respirační onemocnění nezjištěné etiologie. Krev byla odebírána jednak z kožní žíly loketní (*v. ulnaris cutanea*) u větších kuřat a dospělé drůbeže a jednak vpichem do srdce u malých kuřat. Krevní sérum bylo odstředěno a inaktivováno 30 min. při 56 °C. Pět vzorků séra téže skupiny bylo vždy smícháno a vyšetřeno jako jeden společný vzorek. Bylo tedy provedeno celkem 112 vyšetření a pro každou skupinu drůbeže byly stanoveny 2 hodnoty.

Sérumneutralizační test byl prováděn klasickou technikou na kuřecích zárodcích (Cunningham 1951, Hofstad 1958, Page, Cunningham 1962, Fontaine et al. 1963, v. Bülow 1967) proti kmenu Beaudette, který byl získán laskavostí dr. Woernlea ze Stuttgartu v 242. vaječné pasáži. Je udržován v lyofilizovaném stavu při chladničkové teplotě. K sérumneutralizačnímu testu byly použity alantoamniotické tekutiny (AAT), odebrané 24 hod. po inokulaci kuřecích zárodků lyofilizovaným virem. Infekční titr viru v AAT se pohyboval okolo $10^{7,5}$ – $10^{8,5}$ EID₅₀/1 ml. Kmen Beaudette, vysce adaptovaný na kuřecí zárodky, nevyvolává onemocnění drůbeže, postrádá i imuno-genní vlastnosti, ale během 48 hodin zabíjí kuřecí zárodky a nevyvolává zakrslost embryí. Padesátiprocentní infekční dávka se tedy prakticky rovná padesátiprocentní letální dávce pro kuřecí zárodky.

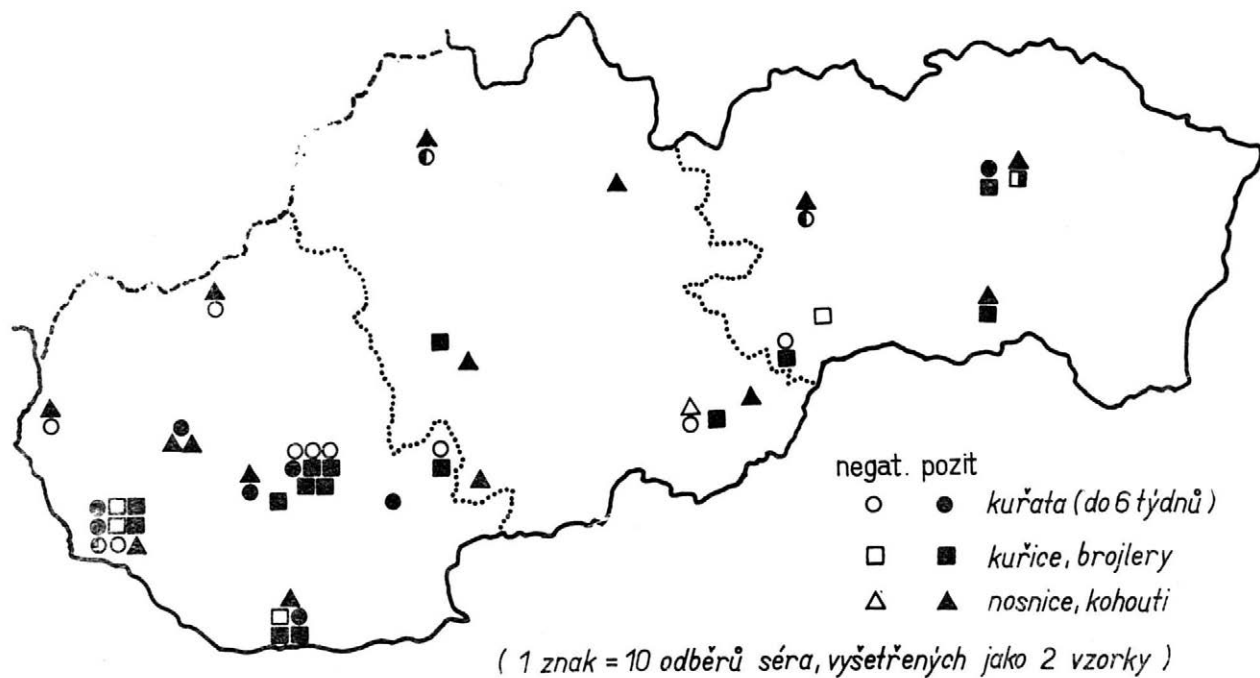
Vyšetřovaná séra byla ředěna bujónem v poměru 1 : 8 a přidána rovným dílem k referenčnímu viru, naředěnému v desetinásobných potencích. Při každé sérii vyšetření byl vždy znovu stanoven infekční titr viru, k němuž byl přidán místo séra bujón. Směs séra s virem byla ponechána 30 min. při laboratorní teplotě. Každým ředěním viru v dávce 0,2 ml bylo inokulováno do alantoické dutiny po 4 kuřecích zárodcích, předinkubovaných 8 dní při 37,5 °C. Vzhledem k tomu, že se nepodařilo získat násadová vejce zaručeně prostá protilátek proti IB, očkovali jsme zárodky mladší 9 dní. V této době totiž embryonální metabolické pochody ještě nestrhávají protilátky přítomné ve žloutku do alantoických tekutin ve významném množství (Fontaine et al. 1963).

Kuřecí zárodky byly prosvětlovány denně do 5 dní a zaznamenáváno jejich hynutí. Úhyn do 24 hod. byl považován za nespecifický a ve vyšších ředěních nebyl brán do úvahy při výpočtu infekčního titru. Infekční titr byl vyhodnocen metodou REEDA a MUENCHE (1938) a podle tabulek DAVYDOVA et al. (1966). Neutralizační index (N.I.) představuje rozdíl mezi logaritmem titru referenčního viru (EID₅₀) a logaritmem titru téhož viru, neutralizovaného vyšetřovaným sérem v ředění 1 : 8. Za pozitivní bylo považováno sérum s N.I. rovným nebo vyšším než 2,0, tj. s titrem neutralizačních protilátek nejméně 1 : 800.

Dynamika mateřských protilátek proti IB byla sledována ve skupině 100 kuřat, vylhnutých z násadových vajec, pocházejících z chovu notoricky zamořeného IB, v němž nosnice při opakovaném vyšetření vykazovaly vysoké titry neutralizačních protilátek. Kuřata byla odchována v izolovaném prostředí. Vzorky séra byly od nich odebírány vpichem do srdce, pro každé stanovení od 5 kuřat, při čemž kuřata prvních tří věkových kategorií byla totálně vykrvena. Sérum od pěti kusů bylo vyšetřeno jako jeden vzorek SN testem popsáným způsobem.

VÝSLEDKY

Geografické rozložení výskytu neutralizačních protilátek proti infekční bronchitidě v séru drůbeže jednotlivých věkových skupin ve 24 chovech je znázorněno na mapce (obr. 1), kde každý symbol představuje 10 odběrů krevního séra, vyšetřených jako dva vzorky. Maximální N. I. zjištěný v kategorii kuřat (pro séra ředěná 1 : 8) byl 5,5, průměr na jedno vyšetření 2,46, v kategorii kuřic a brojlerů byl maximální N. I. 6,84 a průměrný 3,3 a v kategorii dospělé drůbeže maximální 7,0 a průměrný 3,56.



Obr. 1. Výskyt neutralizačních protilátek proti infekční bronchitidě v chovech drůbeže na Slovensku

Na tab. I jsou shrnuty výsledky vyšetření neutralizačním testem. V kategorii kuřat bylo nalezeno 47,5 % pozitivních vzorků, ve střední kategorii 77,5 % a v kategorii dospělé drůbeže 94,0 %. Celkem bylo 71,5 % vyšetřených vzorků pozitivních. To ovšem nepodává jasný obraz o zamoření chovů, protože z 24 chovů, v nichž byla provedena depistáž, jen ve dvou nebyly zjištěny proti-

I.

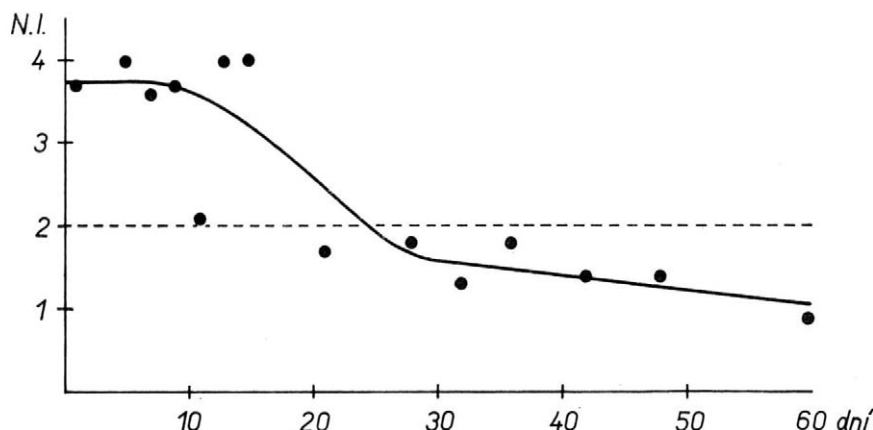
Věková kategorie	Počet vzorků	Počet vyšetření	Pozit. vyšetření (N. I. $\geq 2,0$)	% pozit. vyšetření	N. I. 1,0–2,0 v %
Kuřata do 6 týdnů	200	40	19	47,5	17,5
Kuřice Brojlery	200	40	31	77,5	10,0
Nosnice Kohouti	160	32	30	94,0	3,1
Celkem	560	112	80	71,5	13,5

látky proti IB ve významném titru, a to v PŠD 08 Rožňava a v JRD Lenka, okr. Rimavská Sobota. V prvním chovu byla však vyšetřena jen jediná skupina brojlerů (N. I. = 1,77 a 1,8) a ve druhém skupina kuřat a skupina dospělé drůbeže. Souhrnem lze tedy konstatovat, že z 24 vyšetřených, namátkově vybraných chovů drůbeže z různých okresů celého Slovenska, je zamořeno infekční bronchitidou 22, tj. 91,7 %.

Z výsledků vyšetření sér, odebraných při depistáži, nebylo možno s určitostí soudit na dynamiku mateřských protilátek, ačkoliv vyšší titry byly zjišťovány u kuřat v první polovině věkového rozsahu kategorie. Výsledky pokusného sledování hladin protilátek u kuřat v závislosti na věku jsou shrnuty na obr. 2. Do věku 15 dní se protilátky udržovaly prakticky rovnoměrně na úrovni mezi N. I. 3,5 a 4,0. Ve věku 21 dní byl zaznamenán prudký pokles pod hranici positivity, danou neutralizačním indexem 2,0, následovaný mírným kolísáním hodnot s dalším pomalejším poklesem. Z křivky, sestavené interpolací průměrných hodnot, lze vyčíst, že výrazný pokles začíná už po 10. dni věku a do 25 dní věku poklesne pod úroveň, považovanou za významnou pro imunitní stav kuřete. Protože kuřata byla chována v izolaci a neměla možnost spontánně se infikovat, hladina protilátek se snižovala postupně až do 60. dne, kdy byl pokus ukončen.

DISKUSE

Infekčnost kmene Beaudette pro kuřecí zárodky je neutralizována protilátkami, vyvolanými antigenně příbuznými sérotypy jako je kmen Massachusetts. V britském odborném tisku se rozvinula diskuse o vhodnosti kmene Beaudette k SNT. Box et al. (1967) soudí, že kmen Beaudette není vhodný ke zjišťování hladin protilátek u vakcinovaných kuřat a že při jeho použití unikají



Obr. 2. Pokles hladiny transvariálně získaných sérových neutralizačních protilátek proti infekční bronchitidě v závislosti na věku kuřat.

zjištění i některé terénní infekce. Autoři stanovili, že N. I., zjišťované proti kmenu Beaudette, jsou asi o 3,0 logaritmické jednotky nižší než při použití kmene Massachusetts. D a n s k i n (1967) soudí, že je naopak výhodné, jestliže po vakcinaci inaktivovanou vakcínou proti IB jsou neutralizační titry proti kmenu Beaudette negativní, protože lze rozlišit terénní infekci od vakcinačního zákroku. K tomuto názoru se připojil C l a r k e (1967), který poukazuje i na tu okolnost, že snáze lze vyhodnocovat hynutí embryí po infekci kmenem Beau-dette než jejich zpoždování ve vývinu následkem infekce kmenem Massachu-setts. Podle v. B ü l o w a (1967) uhynou všechna embrya, infikovaná kmenem Beaudette, zatímco podíl zakrnělých embryí na celkovém počtu pozitivních in-fikovaných embryí činí po infekci kmeny typu Massachusetts 14,5–60 %. Kro-mě toho výsledky testu jsou při použití kmene Beaudette k dispozici již o 5 dní dříve.

Porovnávali jsme výsledky sérumneutralizačního testu proti kmenu Beau-dette a Massachusetts se séry drůbeže různého věku, vakcinované i nevakci-nované, a zjistili jsme, že u kuřat vakcinovaných živou vakcínou z viru typu Massachusetts byl N. I. proti kmenu Massachusetts vyšší o 2,24 log. jednotek, u nevakcinované dospělé drůbeže byl vyšší o 1,7 log. jednotek, ale u nevakci-novaných kuřat byl nižší o 0,5 log. jednotky (tab. II). Protože z technických příčin není možno provádět terénní sérologický průzkum sérumneutralizačním testem proti dvěma nebo více typům viru IB, je nutno počítat vždy s určitou nepřesností a hraniční hodnoty neutralizačního indexu hodnotit opatrně.

Při vyhodnocování statistických údajů různých autorů o zamořenosti určité oblasti nebo země infekční bronchitidou je nutno rozlišovat mezi onemocněním inf. bronchitidou a přítomností viru a nálezem sérových protilátek v chovu. Sro-vnáváme-li výsledky sérologických průzkumů v různých zemích, musíme přihlídnout k tomu, že v každém případě byly vzorky odebírány podle jiného systému nebo klíče, a proto výsledky testů jsou porovnatelné jen přibližně a s výhradami, i když nebereme v úvahu odlišnou citlivost obou používaných testů — SNT a precipitačního testu v agarovém gelu.

Přes tyto nesnáze při srovnávání výsledků a přes to, že počet námi vyšetřených chovů byl poměrně malý na to, aby mohl reprezentovat veškerou populaci drůbeže na Slovensku, možno říci, že stupeň zamoření drůbežích chovů u nás je alarmující

	Hodnoty N. I. při SNT proti kmenu		Rozdil
	Beaudette	Massachusetts	
Vakcin. kuřata	3,5	5,75	+2,25
Nevakcin. kuřata	0,51 2,34	0,01 1,78	-0,5
Nevakcin. dospělá drůbež	3,23	4,9	+1,7

a při nejmenším dosahuje procentuálních hodnot, zjišťovaných v jiných evropských státech, kde zamořenost infekční bronchitidou je velmi vysoká. Kromě toho v celkovém vyhodnocení dosažených výsledků jsme nebrali do úvahy hodnoty, které někteří autoři kvalifikují jako dubiozní nebo suspektní, tj. neutralizační indexy 1,0—2,0 (tab. I.). Těchto neurčitých výsledků bylo získáno nejvíce ve skupině věkově nejmladší — 17,5 %, což svědčí o tom, že vzorky séra od kuřat byly pravděpodobně odebrány v době, kdy transovariálně získané mateřské protilátky byly na ústupu. Kritická hodnota N.I. 2,0 byla stanovena jako mez imunitního stavu; jako hranice pozitivitu zamoření byla použita až druhotně, a proto nelze chovy, v nichž byly zjištěny hodnoty nižší než 2,0, považovat spolehlivě za prosté nákazy, ale jen za podezřelé. Z tohoto hlediska posuzováno se nám nepodařilo najít hospodářství, které by bylo možno prohlásit za nákazy prosté ve smyslu běžného významu tohoto slova.

Poměrně častý výskyt klinických příznaků respiračního onemocnění kuřat, často anebo zpočátku jen mírných a neurčitých, a náhlý a prudký pokles snášky u nosnic, podepřený sérologickým nálezem specifických protilátek proti viru IB, nasvědčuje tomu, že valná část onemocnění z komplexu respiračních chorob drůbeže je vyvolávána primárně virem IB, k němuž se obvykle v další fázi průběhu chorobného procesu přidružují jiné etiologické faktory infekční a neinfekční povahy (např.: mykoplazmata, nedostatky ve výživě a v mikroklimatu drůbežárny), které aggravují původní infekci a zvyšují hospodářské škody. Tyto závěry podporují i další vlastní pozorování (Černík, dosud nepublikované výsledky), že ve dvou chovech, kde se vyskytovala respirační onemocnění a kde byly pokusně očkovány živou vakcínou proti IB několikatisícové skupiny kuřat, došlo k významnému snížení celkových ztrát hynutím během odchovu, ve srovnání s kontrolními neočkovanými skupinami kuřat téhož věku při stejných podmínkách chovu.

Důkaz značného rozšíření viru IB na Slovensku signalizuje akutní potřebu aktivních imunoprofylaktických zákroků.

Došlo dne 5. 10. 1967

Děkujeme všem pracovníkům OVZ a vet. středisek, kteří nás podporovali při provádění průzkumu.

Literatúra

1. BOX, P. G. - BARNES, J. M.: Infectious bronchitis serum neutralisation test. = „Vet.Rec.“, 80, 1967: 73
2. BÜLOW, V. von: Untersuchungen über den Neutralisationstest bei der infektiösen Bronchitis der Hühner. = „Zbl.Vet.-med.“, B 14, 1967: 321

3. CLARKE, P. B.: Infectious bronchitis serum neutralisation test. = „*Vet.Rec.*“, 80, 1967: 336
4. CUNNINGHAM, C. H.: Newcastle disease and infectious bronchitis neutralizing antibody indexes of normal chicken serum. = „*Am.J.Vet.Res.*“, 12, 1951: 129
5. DANSKIN, D.: Infectious bronchitis serum neutralization test. = „*Vet.Rec.*“, 80, 1967: 261
6. DAVYDOV, O. V. - DAVYDOVA, G. S.: Tablice dlja nachozhdenija ED₅₀ i drugih statističeskich pokazatelej. = „*Vopr.virusol.*“, 11, 1966: 363
7. DERZSY, D. - LOMNICZI, B.: A tyúkok fertőző bronchitisének előfordulása Magyarországon. = „*Magy. Állatorv. L.*“, 21, 1966: 194
8. DVOŘÁKOVÁ, D.: Referát na semináři o infekční bronchitidě. 1967, VF VŠZ Brno
9. DYML, B. - MINÁRIK, P.: Výskyt infekční bronchitidy ve velkochovech drůbeže. = „*Veterinářství*“, 16, 1966: 543
10. DYML, B.: Referát na semináři o infekční bronchitidě. 1967, VF VŠZ Brno
11. FONTAINE, M. P. - CHABAS, D. - FONTAINE, M. - BRION, A.: Modification à la technique classique de détection de la bronchite infectieuse des galliformes par séro-neutralisation. = „*Rec.Méd.vét.*“, 139, 1963: 131
12. HOFSTAD, M. S.: Antigenic differences among isolates of avian infectious bronchitis virus. = „*Am.J.Vet.Res.*“, 19, 1958: 740
13. HRABĚTA, P.: Referát na semináři o infekční bronchitidě. = 1967, VF VŠZ Brno
14. KÖSTER, J.: Untersuchungen über die Verbreitung der infektiösen Bronchitis der Hühner mit Hilfe der Agargel-Präzipitation. = „*Berl.Münch.tierärztl.Wschr.*“, 76, 1963: 481
15. LOIZELIER, B. A.: Preliminary report on the incidence of avian infectious bronchitis in Spain. = „*Rev.Patron.Biol.Anim.,Madrid*“, 7, 1962: 5
16. MINÁRIK, P. - DYML, B.: Infekční nefritida drůbeže. = „*Veterinářství*“, 17, 1967: 118
17. PAGE, C. A. - CUNNINGHAM, C. H.: The neutralization test for infectious bronchitis virus. = „*Am.J.Vet.Res.*“, 23, 1962: 1065
18. REED, L. - MUENCH, H.: A simple method of estimating fifty per cent end-points. = „*Am.J.Hyg.*“, 27, 1938: 493
19. SATO, T. - SUGIMORI, T. - ISHII, S. M. - aj.: Infectious bronchitis of chickens in Japan. I. Epidemiological, clinical, and pathological studies and isolation of the causative virus in embryonated eggs. = „*Jap.J.exp.Med.*“, 25, 1955: 115
20. ŠKODA, R. - JAKUBÍK, J.: Infekční bronchitida kuřat — bronchitis infectiosa avium. in: KLIMEŠ, B. a kol.: *Nemoci drůbeže*, 1961, Praha, s. 290-298
21. WOERNLE, H.: Diagnose der infektiösen Bronchitis der Hühner mit Hilfe der Präzipitationsreaktion im festen Agarmedium. = „*Mh. Tierheilk.*“, 11, 1959: 154

ЧЕРНИК, К., РАЙТАР, В., ЧЕРНИКОВА, Э. (Биовета, Нитра, Центр. госуд. ветерин. институт, Нитра, Чехословакия). **Распространение инфекционного бронхита цыплят в Словакии**, Вет. мед. (Прага) 13 (6), 329-336, 1968.

В первом полугодии 1967 г. было проведено ориентировочное серологическое обследование распространения инфекционного бронхита цыплят в Словакии. Из 24 птицеводческих ферм в разных районах было взято в общем 560 проб сыворотки по 10 проб от каждой группы птицы одного возраста. Пять проб той же группы обследовалось всегда вместе как одна проба, сывороточным нейтрализационным тестом против штамма Бодет. Положительной считалась сыворотка, разбавленная в отношении 1 : 8, с нейтрализационным индексом равным 2,0 или выше. Из 112 исследуемых проб сыворотки положительных было в среднем 71,5 %, т. е. 47,5 % цыплят до 6 недель, 77,5 % кур и бройлеров и 94,0 % взрослой птицы. Из 24 исследуемых ферм только у двух (8,3 %) не были установлены антитела против инфекционного бронхита в значимом титре. Путем исследования динамики материнских антител в зависимости от возраста цыплят, происходящих из зараженного хозяйства и содержащихся в изоляции, было установлено, что пассивно приобретенные антитела снижались ниже границы нейтрализационного индекса 2,0 в возрасте трех недель.

цыплята; молодки; бройлеры; несушки; кровяная сыворотка; нейтрализационные антитела; нейтрализационный индекс; пассивный трансвариальный иммунитет

ČERNÍK, K., RAJTÁR, V., ČERNÍKOVÁ, E. (Bioveta, The Central State Veterinary Institute, Nitra, Czechoslovakia.) *The Distribution of Infectious Bronchitis of Chickens in Slovakia.* Vet. Med. (Praha) 13 (6): 329—336, 1968.

The distribution of infectious bronchitis in Slovakia was investigated serologically in the first half-year of 1967. 560 serum samples were taken from 24 poultry farms in various districts: 10 samples from each flock of the same age. Five serum samples of the same group were pooled and investigated as one sample by means of the serum neutralization test with the Beaudette strain. The sera (diluted 1:8) with neutralizing index equal to 2,0 or higher were held for positive. 71,5 % of 112 examined serum samples were found to be positive: 47,5 % of chickens up to 6th week of age, 77,5 of pullets and broilers, and 94,0 % of adult fowls. The significant antibody titer was not found only in two (8,3 %) of 24 investigated poultry farms. It was established by the investigation of the dynamics of the maternal antibodies in dependence on the age of chickens, sprung from an infested poultry farm and reared in isolation, that the passively (transovarially) acquired antibodies dropped under the significant value of the neutralizing index — 2,0 — at the age of 3 weeks.

chickens; pullets; broilers; laying hens; neutralizing antibodies; neutralizing index; transovarially acquired passive immunity.

ČERNÍK, K., RAJTÁR, V., ČERNÍKOVÁ, E. (Biovet, Nitra, Zentrales staatliches Veterinärinstitut, Nitra, Tschechoslowakei.) *Verbreitung der infektiösen Bronchitis der Hühner in der Slowakei.* Vet. Med. (Praha) 13 (6): 329—336, 1968.

Im ersten Halbjahre 1967 ist eine serologische Aufklärung der Verbreitung der infektiösen Bronchitis in der Slowakei durchgeführt worden. Aus den 24 Hühnerbeständen in verschiedenen Bezirken sind insgesamt 560 Serumproben zu 10 Proben aus jeder Herde des Geflügels des gleichen Alters abgenommen worden. Fünf Serumproben aus derselben Gruppe wurden gemeinsam als eine Probe mittels des Serumneutralisationstestes mit dem Virusstamm Beaudette untersucht. Die Sera (in Verdünnung 1:8) mit dem Neutralisationsindex der gleich oder höher als 2,0 war, wurden als positiv angesehen. 71,5 % von den 112 untersuchten Serumproben wurden als positiv beurteilt: 47,5 % der Seren von den Küken bis zur 6. Lebenswoche, 77,5 % von den Junghennen und den Masthühnern und 94,0 % von dem erwachsenen Geflügel. Nur in zwei von den 24 untersuchten Geflügelhaltungen (8,3 %) konnten die Antikörper gegen die infektiöse Bronchitis im signifikanten Titer nicht ermittelt werden. An Hand von der graphischen Darstellung der Kinetik der Mutter-Antikörper in der Abhängigkeit von dem Lebensalter der aus einer durchseuchten Geflügelhaltung stammenden und in der Isolation gehaltenen Hühner, wurde festgestellt, daß die passiv erworbene Antikörper im Lebensalter von 3 Wochen unter die Grenze des Neutralisationsindex 2,0 gefallen sind.

Küken; Junghennen; Masthühner; Legehennen; Blutserum; neutralisierende Antikörper; Neutralisationsindex; passive, transovarial erworbene Immunität.

Adresy autorů:

MVDr. Karel Černík, MVDr. Edita Černíková, Vývojové odd., Bioveta, Nitra
MVDr. Vojtech Rajtár, CSc., Ústredný štátny veter. ústav, ŠKBL, Nitra

UTILIZACE ACETÁTU A GLUKÓZY SLEDOVANÁ *in vitro* NA TUKOVÉ TKÁNI SKOTU A KRYŠ

S. Bartoš, J. Škarda

Laboratoř fyziologie a genetiky živočichů, ČSAV, Uhřetěves

BARTOŠ, S., ŠKARDA, J. (Laboratoř fyziologie a genetiky živočichů, ČSAV, Uhřetěves.) *Utilizace acetátu a glukózy sledovaná in vitro na tukové tkáni skotu a krys.* Vet. Med. (Praha) 13 (6): 337—342, 1968.

V tukové tkáni skotu a krys byla inkorporace samotného acetátu do mastných kyselin nízká, byla však silně stimulována glukózou. Oxidace acetátu- 1^{14}C na CO_2 byla stimulována glukózou v tukové tkáni skotu, nikoliv však krys. Oxidace glukózy- 1^{14}C byla v přítomnosti acetátu podstatně vyšší v tukové tkáni skotu než krys. Podíl celkového metabolismu glukózy, který v tukové tkáni skotu probíhal pentosovým cyklem, dosahoval hodnoty 35—45 %. Inkorporace glukózy- 1^{14}C do mastných kyselin byla v tukové tkáni skotu nízká, na rozdíl od krys, kde utilizace glukózy pro syntézu mastných kyselin je vysoká. Tento výsledek je diskutován v souvislosti s celkovou nízkou utilizací glukózy u přežvýkavců.

Přežvýkavci; metabolismus tukové tkáně; syntéza mastných kyselin.

■ Přežvýkavci resorbují značná množství nižších mastných kyselin, které vznikají fermentací glycidů v bachoru, a to převážně kyselinu octovou. Je proto jen přirozené, že studiu metabolismu kyseliny octové v tkáních přežvýkavců bylo v posledních letech věnováno mnoho zájmu.

V naší laboratoři jsme se zabývali především vlivem glukózy na utilizaci kyseliny octové. Ve své poslední práci (Bartoš a kol. 1968) kde jsme sledovali vliv glukózy na rychlost mizení kyseliny octové z krve koz, jsme na základě dosažených výsledků vyslovili předpoklad, že glukóza stimuluje především syntézu mastných kyselin z kyseliny octové. Abychom svoji hypotézu potvrdili, porovnali jsme v této práci vliv glukózy na utilizaci kyseliny octové- 1^{14}C v tukové tkáni, kde probíhají převážně procesy syntézy mastných kyselin.

METODIKA

Pokusy byly provedeny na tukové tkáni skotu červenostrakatého plemene. Tuková tkáň — omenta — byla odebírána z mladých zvířat ve stáří 1—1,5 roku bezprostředně po poražení. Tkáň byla ihned umístěna do fyziologického roztoku o teplotě 38°C v Dewardově nádobě a převezena do laboratoře. Z tkáně byly vykrojeny řezy o ploše cca 10 cm^2 , lehce vysušeny filtračním papírem a zváženy. Do pokusu byly vzaty pouze řezy, které nepřekročily váhu 60 mg/cm^2 . Během celé přípravy byla tuková tkáň udržována v médiu bez substrátu při teplotě 37°C . Podobným způsobem byla zpracována i epididimální tuková tkáň krys.

Do každé Warburgovy nádoby o objemu 50 ml, která obsahovala 8 ml media, byla přidána tkáň o váze 550–600 mg. Jako media bylo použito Krebs-Ringerova bikarbonátového roztoku pH 7,4 o polovičním obsahu doporučeného množství Ca^{++} . Jako substrát byly použity acetát 0,024 M a glukóza 0,008 M v následujících kombinacích, každá v sadě po 5 Warburgových nádobkách: acetát- $1\text{-}^{14}\text{C}$; acetát- $1\text{-}^{14}\text{C}$ + glukóza; glukóza- $1\text{-}^{14}\text{C}$; glukóza- $1\text{-}^{14}\text{C}$ + acetát; glukóza- $6\text{-}^{14}\text{C}$. Specifická aktivita radioaktivních substrátů byla upravena na jednotnou aktivitu 1000 $\mu\text{C/g}$ atom uhlíku. Ke každé nádobce bylo přidáno 1% albuminu Armour, frakce V a 100 milijednotek inzulínu. Všechny použité radioaktivní sloučeniny (Amersham, Anglie) byly přečištěny pomocí papírové chromatografie. Warburgovy nádoby byly promyty směsí 95% O_2 a 5% CO_2 , uzavřeny Patočkovou zátkou a inkubovány při 38 °C a 120 kyvech/min. po dobu 2,5 hod.

Po skončení inkubace bylo do Warburgových nádobek přes Patočkovu zátku injikováno 0,3 ml 2N- H_2SO_4 do media a 1 ml 1,5 N-NaOH do středního komínku. Nádoby byly pak ponechány 60 min. při laboratorní teplotě za mírného kývání, aby byla zajištěna dokonalá absorpce veškerého CO_2 do louhu. Obsah komínků byl několikanásobným vypláchnutím horkou vodou kvantitativně přenesen do 100ml baňky, $^{14}\text{CO}_2$ byl vysrážen přidáním 1 ml nasyceného BaCl_2 jako $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ a celkové množství absorbovaného $^{14}\text{CO}_2$ bylo stanoveno titrací nespoteřovaného 1,5 N-NaOH pomocí 0,2N-HCl na fenolftaleín.

Medium bylo kvantitativně odsáto od tkáňových řezů, řezy v nádobkách byly několikrát opláchnuty destilovanou vodou a výplachy přidány k mediu. Roztok z nádobek, které obsahovaly značenou glukózu byl odbírkován pomocí $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a ZnSO_4 , doplněn v odměrné baňce po značku a v alikvotním podílu byl stanoven obsah glukózy anthronem (Glick, 1961). Z tkáňových řezů zbývajících v nádobkách byly po zmýdelnění extrahovány mastné kyseliny do 10 ml chloroformu podle metody Barucha a Chaikoffa (1954) s tím rozdílem, že k výplachům byl místo vody použit 0,88% KCl. Celková koncentrace mastných kyselin byla stanovena vážkově po odpaření 1 ml chloroformového extraktu k suchu v dusíkové atmosféře. Ve spojených vodných vrstvách z každé nádoby, které zbyly po extrakci mastných kyselin, byl stanoven obsah bílkovin podle modifikované metody Folina a Ciocalteua (Colowick a Kaplan, 1957). Na základě tohoto stanovení byly všechny výsledky přepočteny na 10 mg bílkovin.

Radioaktivita $^{14}\text{CO}_2$ byla stanovena měřením aktivity nasycené vrstvy $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ pod GM trubicí a naměřené impulzy byly přepočteny podle standardů na $\mu\text{C/g}$ atom C. Porovnáním se specifickou aktivitou glukózy a acetátu na počátku inkubace byly hodnoty $^{14}\text{CO}_2$ vyjádřeny jako μ atomy ^{14}C na 10mg bílkovin a 2,5 hod. inkubace. Radioaktivita mastných kyselin byla stanovena pipetováním alikvotního podílu chloroformového extraktu na odmaštěné hliníkové misky, tak, aby množství mastných kyselin nepřekročilo 5mg/cm². Naměřená aktivita bylo přepočítána na celkový obsah mastných kyselin ve vzorku a vyjádřena v imp./min. na 10mg bílkovin a 2,5 hod. inkubace.

Podíl celkového metabolismu glukózy, který probíhal pentosovým cyklem, byl vypočten podle metody Katze a spol. (1963) na základě speciifckých výtěžků $^{14}\text{CO}_2$ z ($1\text{-}^{14}\text{C}$)- a ($6\text{-}^{14}\text{C}$)-glukózy.

VÝSLEDKY

Inkorporace samotného acetátu- $1\text{-}^{14}\text{C}$ a samotné glukózy- $1\text{-}^{14}\text{C}$ do mastných kyselin v tukové tkáni byla velmi nízká. Tím více vyniká výrazná stimulace acetátu glukózou, jejíž přítomnost zvýšila inkorporaci acetátu- $1\text{-}^{14}\text{C}$ do mastných kyselin 30–40krát (tab. II). Stejně výrazně stimuloval acetát oxidaci glukózy- $1\text{-}^{14}\text{C}$ na CO_2 (tab. I), avšak inkorporace glukózy do mastných kyselin acetátem ovlivněna nebyla.

S těmito výsledky souhlasí i podíl celkového metabolismu glukózy, který probíhal pentosovým cyklem a který v tukové tkáni skotu dosahoval hodnoty 35 a 45 % (tab. III).

I. $^{14}\text{CO}_2$ vytvořený z acetátu- $1\text{-}^{14}\text{C}$ a glukózy- $1\text{-}^{14}\text{C}$ v tukové tkáni skotu a krysy vyjádřený jako $\mu\text{atomy } ^{14}\text{C}/10 \text{ mg bílkovin}$

Tkáň	Acetát- $1\text{-}^{14}\text{C}$	Acetát- $1\text{-}^{14}\text{C}$ + glukóza	Rozdíl	P	Glukóza- $1\text{-}^{14}\text{C}$	Glukóza- $1\text{-}^{14}\text{C}$ + acetát	Rozdíl	P
Tuková tkáň skotu 1	$0,84 \pm 0,03$	$2,63 \pm 0,24$	+ 1,79	0,05	$2,37 \pm 0,30$	$8,73 \pm 0,45$	+ 6,36	0,01
2	$0,40 \pm 0,02$	$0,76 \pm 0,02$	+ 0,36	0,01	$0,56 \pm 0,08$	$1,61 \pm 0,07$	+ 1,05	0,01
Tuková tkáň krysy	$0,72 \pm 0,05$	$0,48 \pm 0,01$	- 0,24	—	$3,83 \pm 0,25$	$7,74 \pm 0,39$	+ 3,91	0,05

II. Inkorporace acetátu- $1\text{-}^{14}\text{C}$ a glukózy- $1\text{-}^{14}\text{C}$ do mastných kyselin v tukové tkáni skotu a krysy. vyjádřená jako $\text{imp./min./}10 \text{ mg bílkovin}$

Tkáň	Acetát- $1\text{-}^{14}\text{C}$	Acetát- $1\text{-}^{14}\text{C}$ + glukóza	Rozdíl	P	Glukóza- $1\text{-}^{14}\text{C}$	Glukóza- $1\text{-}^{14}\text{C}$ + acetát	Rozdíl	P
Tuková tkáň skotu 1	$9,0 \pm 0,3$	$391,2 \pm 37,7$	+ 382,2	0,01	$15,9 \pm 2,1$	$11,6 \pm 2,2$	- 4,3	—
2	$13,3 \pm 1,3$	$308,6 \pm 21,6$	+ 295,3	0,01	$19,0 \pm 1,4$	$21,2 \pm 2,4$	+ 2,2	—
Tuková tkáň krysy	$7,4 \pm 0,6$	$86,6 \pm 5,8$	+ 79,4	0,01	$61,8 \pm 5,1$	$130,1 \pm 5,3$	+ 68,3	0,05

III. Zastoupení pentosového cyklu v tukové tkáni skotu vypočítané ze specifického výtěžku $^{14}\text{CO}_2$ uvolněného z glukózy-1- ^{14}C a 6- ^{14}C .

Tkáň	Značení glukózy	Obsah ^{14}C v % v		Využitá glukóza v %	Specifický* výtěžek G_{CO_2}	$\frac{\text{G}_{1\text{CO}_2} - \text{G}_{6\text{CO}_2}^{**}}{1 - \text{G}_{6\text{CO}_2}}$
		nevyužitá glukóze	CO_2			
Tuková tkáň 1	1- ^{14}C	82	13,6	18	0,76	0,4
	6- ^{14}C	81	3,3	19	0,174	
2	1- ^{14}C	89	6,1	11	0,55	0,35
	6- ^{14}C	84	2,0	16	0,13	

* G_{CO_2} = specifický výtěžek CO_2 vzhledem ke spotřebované glukóze

** $\frac{\text{G}_{1\text{CO}_2} - \text{G}_{6\text{CO}_2}}{1 - \text{G}_{6\text{CO}_2}}$ = poměrné zastoupení pentosového cyklu

G_{1CO_2} = $^{14}\text{CO}_2$ uvolněný z původní glukózy při použití glukózy 1- ^{14}C

G_{6CO_2} = $^{14}\text{CO}_2$ uvolněný z původní glukózy při použití glukózy 6- ^{14}C

Podrobný popis výpočtu zastoupení pentosového cyklu uvádějí Katz a Wood (1963).

DISKUSE

V našich pokusech jsme zjistili jen velmi malou inkorporaci acetátu-1- ^{14}C do mastných kyselin tukové tkáně skotu a krys, která však byla výrazně stimulována glukózou. Tuto skutečnost můžeme vysvětlit tím, že syntéza mastných kyselin z acetyl KoA probíhá prakticky výlučně cestou přes malonyl KoA. Na zapojení každé molekuly acetyl KoA do mastných kyselin je zapotřebí dvou redukovaných koenzymů NADPH. Proto přeměna acetátu na mastné kyseliny vyžaduje přítomnost substrátu jako je glukóza, který by dodával potřebné množství redukčních ekvivalentů. Protože redukovaný koenzym NADPH je produkován především pentosovým cyklem, můžeme předpokládat, že acetát bude silně stimulovat odbourávání glukózy prostřednictvím pentosového cyklu. Tomu plně odpovídá v tukové tkáni skotu zvýšení produkce $^{14}\text{CO}_2$ z glukózy-1- ^{14}C v přítomnosti acetátu o 300–400 %. V tukové tkáni krys sice také nastává stimulace tvorby $^{14}\text{CO}_2$ z glukózy-1- ^{14}C acetátem, avšak není tak výrazná a činí asi 102 %, což zhruba odpovídá 83 %, které zjistili v tukové tkáni krys Flatt a Ball (1966). Kromě toho se na rozdíl od tukové tkáně krys stimuluje v tukové tkáni skotu v přítomnosti glukózy průkazně oxidace acetátu-1- ^{14}C na CO_2 .

Při vysvětlování obou skutečností jsme vycházeli z toho, že k přeměně acetátu na acetyl KoA je zapotřebí ATP a další molekula ATP se zúčastňuje vytvoření malonyl KoA. V tukové tkáni nepřezývkavců se tento požadavek řeší tím, že v pentosovém cyklu se odbourává jen část glukózy. Katz a spol. (1966) uvádějí hodnotu okolo 20 %. Zbytek glukózy se štěpí prostřednictvím glykolýzy. Část NADH vytvořeného při glykolýze je využita pro tvorbu NADPH transhydrogenací a zbytek NADH je zoxidován a poskytuje tak potřebné množství makroergických fosfátů. U přezývkavců je však oxidace glukózy ve tkáních velmi nízká. Pokusy s infúzí radioaktivní glukózy u ovcí a krav ukázaly, že jen okolo 10 % vydýchaného CO_2 pochází z glukózy (Ford, 1965). Většinu energie získávají přezývkavci oxidací acetátu, kyseliny beta-hydroxymáselné a mastných kyselin. Z tohoto hlediska je možno předpokládat, že oxidace acetátu v Krebsově cyklu je jediná možnost, jak získat

potřebné množství makroergických fosfátů. Tento předpoklad by podporovalo také poměrně vysoké procentické zastoupení pentosového cyklu, které dosahuje v tukové tkáni skotu hodnot 35—45 %.

Zajímavá je také nízká inkorporace glukózy do mastných kyselin v tukové tkáni skotu ve srovnání s tukovou tkání krys. Touto skutečností se podrobně zabýval Hardwick (1966) na promývané mléčné žláze kozy a vysvětluje ji dvojitou aktivní metabolickou zásobou acetyl KoA. Syntéza mastných kyselin z acetyl KoA probíhá extramitochondriálně, kdežto vlastní štěpení glukózy probíhá v mitochondriích. Acetyl KoA vytvořený z glukózy může vycházet membránou mitochondrií pouze vázaný na oxaloctovou kyselinu ve formě kyseliny citrónové. Protože pak v mléčné žláze přežvýkavců byla zjištěna jen velmi nízká aktivita ATP citrát lyázy, nedochází k odštěpení acetyl KoA a tím k jeho inkorporaci do mastných kyselin. Naše výsledky naznačují, že podobná situace by mohla existovat i v tukové tkáni přežvýkavců.

Došlo dne 21. 9. 1967

Literatura

1. BARTOŠ S., ŠKARDA J., DOLEŽEL F.: The effect of glucose and insulin on the utilization of acetate in goats. = „*Physiol. bohemoslov.*“, 1968 (v tisku).
2. BARUCH H., CHAIKOFF I. L.: A simplified method for determination of lipide- C^{14} in liver. = „*Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*“, 86 : 97, 1954.
3. COLOWICK S. P., KAPLAN N. O.: Methods in Enzymology, Vol. III. Academic Press, New York, 1957.
4. FLATT, J. P., BALL, E. G.: Studies on the metabolism of adipose tissue. XIX. An evaluation of the major pathways of glucose catabolism as influenced by acetate in the presence of insulin. = „*J. Biol. Chem.*“, 241 : 2862, 1966.
5. FORD, E. J. H.: The importance of glucose in ruminant metabolism. In: Energy metabolism. Academic Press, London, 1965 : 21-27.
6. GLICK, D. (ed.): Methods of biochemical analysis. Vol. II. Inters. Publishers, New York - London, 3rd ed., 1961.
7. HARDWICK, D. C.: The fate of acetyl groups derived from glucose in the isolated perfused goat udder. = „*Biochem. J.*“, 99 : 228, 1966.
8. KATZ, J., WOOD, H. G.: The use of $C^{14}O_2$ yields from glucose-1- and -6- C^{14} for the evaluation of the pathways of glucose metabolism. = „*J. Biol. Chem.*“, 238 : 517, 1963.
9. KATZ, J., LANDAU, B. R., BARTSCH, G. E.: The pentose cycle, triose phosphate isomerization and lipogenesis in rat adipose tissue. = „*J. Biol. Chem.*“, 241 : 727, 1966.
10. MAYFIELD, E. D., BENSADOUN, A., JOHNSON, B. C.: Acetate metabolism in ruminant tissues. = „*J. Nutrition*“, 89 : 189, 1966.

БАРТОШ С., ШКАРДА Й. (Лаборатория физиологии и генетики животных, ЧСАН, Угжинец, Чехословакия). Использование ацетата и глюкозы при изучении *in vitro* на жировой ткани крупного рогатого скота и крыс. Вет. мед. (Прага) 13 (6) : 337-342, 1968.

В жировой ткани крупного рогатого скота и крыс включение самого ацетата в жирные кислоты было низким, но оно сильно стимулировалось глюкозой. Окисление ацетата — ^{14}C в CO_2 стимулировалось глюкозой лишь в жировой ткани скота. Окисление глюкозы — ^{14}C в присутствии ацетата было гораздо большим в жировой ткани скота, чем крыс. Доля общего метаболизма глюкозы, протекающего в жировой ткани скота пентозовым циклом, достигала 35—45 %. Включение глюкозы — ^{14}C в жирные кислоты было низким в жировой ткани скота в отличие от крыс, у которых использование глюкозы для синтеза жирных кислот было высоким. Этот результат обсуждается в связи с общим слабым использованием глюкозы у жвачных.

жвачные; метаболизм жировой ткани; синтез жирных кислот.

BARTOŠ, S., ŠKARDA, J. (Laboratory of Animal Physiology and Genetics of the Czechoslovak Academy of Sciences, Uhřetěves, Czechoslovakia.) *Utilization of Acetate and Glucose Examined in vitro in the Adipose Tissue of Cattle and Rats.* Vet. Med., (Prague) 13 (6) : 337—342, 1968.

In the adipose tissue of cattle and rats the incorporation of acetate alone in the fatty acids was low, but it was strongly stimulated by glucose. Oxidation of acetate-1-¹⁴C into CO₂ was stimulated by glucose in the adipose tissue of cattle, but not in the adipose tissue of rats. In the presence of acetate oxidation of glucose-1-¹⁴C was substantially higher in the adipose tissue of cattle than in that of rats. The proportion of the total metabolism of glucose, which, in the adipose tissue of cattle, occurred in the pentose cycle, reached values of 35—45 per cent. Incorporation of glucose-1-¹⁴C in the fatty acids in the adipose tissue of cattle was low, unlike in the adipose tissue of rats, in which conversion of glucose for the synthesis of fatty acids is high. This result is the subject of discussion in connection with the overall low conversion of glucose in ruminants.

Ruminants; metabolism of adipose tissue; synthesis of fatty acids.

BARTOŠ, S. - ŠKARDA, J. (Laboratorium für Physiologie und Genetik der Tiere, CSAV, Uhřetěves, Tschechoslowakei.) *Utilisierung des Azetates und der Glukose, verfolgt in vitro am Rinder- und Rattenfettgewebe.* Vet. Med., (Praha) 13 (6) : 337—342, 1968.

Im Rinder- und Rattenfettgewebe wurde eine nur geringe Inkorporation des alleinigen Azetates in die Fettsäuren festgestellt, welche aber stark durch Glukose stimuliert wurde. Die Oxydation des 1-¹⁴C-Azetates zu CO₂ wurde durch Glukose im Fettgewebe des Rindes, nicht aber der Ratte stimuliert. Die Oxydation der 1-¹⁴C-Glukose war bei Gegenwart des Azetates wesentlich höher im Fettgewebe des Rindes als in dem der Ratte. Der Anteil des gesamten Glukosemetabolismus, welcher im Rinderfettgewebe als Pentosezyklus verlief, erreichte den Wert von 35—45 %. Die Inkorporation der 1-¹⁴C-Glukose in die Fettsäuren war im Fettgewebe des Rindes niedrig, zum Unterschied von der Ratte, wo die Utilisierung der Glukose für die Fettsäurensynthese hoch ist. Dieses Ergebnis wird im Zusammenhang mit der niedrigen Gesamtutilisation der Glukose bei Wiederkäuern erläutert.

Wiederkäuer; Fettgewebemetabolismus; Fettsäurensynthese.

Adresa autorů:

Ing. Stanislav Bartoš, CSc., MVDr. Josef Škarda, CSAV — Laborať fyziologie a genetiky živočichů, Uhřetěves
Vedoucí pracoviště: Doc. dr. J. Bílek, DrSc.

VLIV ACETÁTU, BIKARBONÁTU, GLUKÓZY A INZULÍNU NA HLADINU NEMK, GLUKÓZY A KETOLÁTEK V KRVÍ KOZ

S. Bartoš, J. Škarda, F. Doležel

Laboratoř fyziologie a genetiky živočichů, ČSAV, Uhřetěves

BARTOŠ, S., ŠKARDA, J., DOLEŽEL, F. (Laboratoř fyziologie a genetiky živočichů, ČSAV, Uhřetěves.) *Vliv acetátu, bikarbonátu, glukózy a inzulínu na hladinu NEMK, glukózy a ketolátek v krvi koz.* Vet. Med., (Praha) 13 (6): 343—350, 1968.

Změny koncentrace krevních složek byly sledovány v průběhu 60 min. za kontinuální infúze jednotlivých substrátů. Hladina NEMK byla významně snížena po podání acetátu a glukózy a zvýšena inzulínovou hypoglykémií. Nevýznamně se hladina NEMK snižovala působením bikarbonátu. Mechanismus snížení hladiny NEMK po působení glukózy připisujeme využívání glukózy pro produkci alfa-glycerofosfátu, který je nezbytný pro esterifikační proces v tukové tkáni, produkci NADPH a zvýšení aktivity lipoproteinlipázy. Působení acetátu na hladinu NEMK vysvětlujeme jednak sníženým uvolňováním NEMK v důsledku dostupnosti kompetitivního energetického substrátu a jednak tvorbou ketolátek. Ketolátky působí přímým inhibičním vlivem na uvolňování NEMK z tukové tkáně a kromě toho stimulují uvolňování inzulínu z beta-buněk pankreatu. Acetát sodný a bikarbonát sodný mohou ovlivnit hladinu NEMK i svým obsahem sodíku. Zvýšení hladiny ketolátek po infúzi bikarbonátu naznačuje, že sodík je v organismu neutralizován kromě jiných pufrových systémů také produkcí ketolátek.

Prežvýkavci; mobilizace mastných kyselin; metabolismus tukové tkáně.

■ Poznání fyziologického významu neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) plazmy poskytlo chybějící článek řetězu reakcí katabolismu tuku: transport tuku z dep k orgánů utilizace.

Z poznatků, které byly získány na lidech a laboratorních zvířatech, je zřejmé, že studium NEMK a jejich regulace u prežvýkavců má význam nejen z hlediska některých metabolických zvláštností těchto zvířat, ale zvláště z hlediska jejich mléčné produkce.

Studium vlivu krmení a výživného stavu na hladinu NEMK u prežvýkavců začal Annison (1960) v pokusech na ovcích. Hladina NEMK v krvi za normálních podmínek krmení kolísá v podobných mezích jako u neprežvýkavců (0,1—0,9 mekv/l). Nejvyšší hodnoty pozoroval před krmením, nejnižší 2—4 hod. po krmení. Podání glukózy mělo za následek snížení hladiny NEMK. Podobné výsledky na dojnících a ovcích zaznamenali i další autoři (Adler a Wertheimer, 1962; Reid a Hinks, 1962a, b; Patterson, 1963, 1964; Kronfeld, 1965). Snížení hladiny NEMK v krvi telat po zkrmování glukózy publikoval Kóna (1964). Reid a Hinks (1962a, b) pokládají hladinu NEMK za citlivější kritérium podvýživy ovcí, než jsou hladiny glukózy nebo ketolátek. U prežvýkavců se během vstřebávání potravy produkují

NEMK = neesterifikované mastné kyseliny.

a absorbují velká kvanta acetátu, který je pro přežvýkavce hlavním zdrojem energie; v tomto smyslu se dá předpokládat úzký vztah mezi hladinou acetátu a NEMK v krvi. Lindsay (1961) a Zelenák a Kóňa (1966) zjistili snížení koncentrace NEMK po podání acetátů a naopak nízká hladina acetátu v krvi byla doprovázena vysokou hladinou NEMK. Nízkou hladinu NEMK našel Annison (1964), Menahan a kol. (1966a, b) i po podání laktátu, DL-beta-hydroxybutyrátu sodného i. v. a kyseliny máselné intraruminálně.

Všechny tyto nálezy souhlasí s obecně uznávaným závěrem, že vzestup hladiny NEMK v plazmě se vyskytuje za podmínek, kdy jiné zdroje energie jsou sníženy nebo nedostupné.

V našem pokuse jsme sledovali změny v hladině NEMK, glukózy a ketolátek v krvi vlivem acetátu, bikarbonátu, inzulinu a glukózy.

MATERIÁL A METODIKA

K pokusu byly použity 4 dospělé kozy — kříženci, které byly krmeny 14 dní před začátkem pokusu a po celé experimentální období 0,5 kg ječného šrotu a senem *ad libitum*. Zvířata byla použita k pokusu po 48 hodinách hladovění. Den před pokusem byla zavedena polyethylenová kanyla o průměru 2 mm do *v. jugularis* a fixována Michlovou svorkou.

U zvířat byly sledovány účinky acetátu, bikarbonátu, glukózy a glukózy s inzulinem. Všechny tyto substráty byly podávány kontinuální infúzí do *v. jugularis* pomocí mikropumpy rychlostí 3 ml/min. po dobu 1 hod. (celkový objem roztoků = 180 ml).

Substráty byly podávány v tomto množství na kg živé váhy:

5 mM acetátu (jako sodná sůl kyseliny octové, neutralizovaná na pH = 7)

4 mM bikarbonátu sodného

0,75 g glukózy

0,75 g glukózy + 2 m. j. inzulinu

Při podání acetátu, bikarbonátu a glukózy samotné byl nejprve 15 min. infundován fyziologický roztok, pak byl odebrán nulový vzorek krve a ihned zahájena infúze příslušného substrátu. Další vzorky byly odebírány po 30, 45 a 60 minutách infúze.

Pokus s inzulinem a glukózou probíhal pouze s tím rozdílem, že 4 hod před čtvrt hodinovou infúzí fyziologického roztoku byl podán inzulin s. c. Nulový vzorek krve byl odebrán před aplikací inzulinu další vzorky po infúzi fyziologického roztoku a pak 30, 45 a 60 min. od začátku infúze glukózy.

Proti srážení odebraných vzorků krve bylo užito směsi šťavelanů (10% roztok šťavelanu draselného a amonného — 2:3 — v množství 1 ml činidla na 50 ml krve). Potřebné množství roztoku bylo napipetováno do vzorkovnic a odpařeno do sucha při 80 °C.

Zvířata byla během pokusu umístěna v kleci, aby byla jejich fixace zajištěna s co nejmenším rušením.

Jako kontrola sloužily nulové vzorky krve.

Pokus byl uspořádán podle latinského čtverce.

Vzorky krve byly centrifugovány a v získané krevní plazmě stanovovány: glukóza anthronovou reakcí podle Glicka (1961), ketolátky metodou podle Brittona (1966), NEMK Doleho metodou modifikovanou podle Kronfelda (1965).

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

INFÚZE GLUKÓZY

Po hodinové infúzi glukózy byl zaznamenán pokles hladiny NEMK z 341 na 205 $\mu\text{ekv/l}$. Tento pokles je významný na hladině průkaznosti $P < 0,05$. Hladina ketolátek klesala z 1,9 na 1,7 mg%, což odpovídá hladině průkaznosti $P < 0,05$.

INFÚZE GLUKÓZY S INZULÍNEM

U zvířat, kterým byla aplikována glukóza s inzulínem, byl zaznamenán nejprve vzestup hladiny NEMK 4 hod. po podání inzulínu, ze 199 na 458 $\mu\text{ekv/l}$ (vzestup statisticky významný na hladině $P < 0,005$), po následujícím podání glukózy pak pokles až na 89 $\mu\text{ekv/l}$ (snížení významné na hladině $P < 0,01$).

Vzestup ketolátek v krvi 4 hod. po podání inzulínu z 1,9 na 2,8 mg% je statisticky významný na hladině $P < 0,05$. Po podání glukózy pak následoval pokles na 0,8 mg%, který odpovídá hladině významnosti $P < 0,05$.

INFÚZE ACETÁTU

Infundovaný acetát snižuje hladinu NEMK z 298 na 228 $\mu\text{ekv/l}$. Pokles je průkazný na hladině $P < 0,05$. Hladina ketolátek se však zvyšuje z 2,7 na 6,3 mg%. Tento vzestup je průkazný na hladině $P < 0,01$. Vlivem infúze acetátu dochází k poklesu hladiny glukózy v krvi z 65 na 56 mg%. Tento pokles není však statisticky významný.

INFÚZE BIKARBONÁTU

Infúze bikarbonátu sice měla za následek pokles hladiny NEMK z 276 na 228 $\mu\text{ekv/l}$, avšak tento pokles byl statisticky nevýznamný, stejně jako vzestup ketolátek z 2,5 na 3,6 mg% a glukózy z 59 na 63 mg%. Všechna data získaná při těchto infúzích jsou uvedena v tab. I.

DISKUSE

Již první práce, které se zabývaly studiem NEMK v krvi u přežvýkavců, demonstrovaly, že koncentrace NEMK kolísá u přežvýkavců v podobných mezích jako u nepřežvýkavců, a že reakce přežvýkavců na podání glukózy, inzulínu, nebo na hladovění jsou stejné jako u jiných zvířat (Annison, 1960). Přesto je v současné době hladina NEMK u přežvýkavců považována za velmi důležitý biochemický parametr nejen z hlediska teoretických studií transportu tuku, ale i z hlediska užítkovosti. V současné době totiž již existují jasné důkazy jak pro vychytávání NEMK (Annison a kol., 1965), tak i triglyceridů plazmy (Barry a kol., 1963; Glascock a kol., 1965) mléčnou žlázou. Úvolňo-

I. Změny krevních složek během hodinové infúze jednotlivých substrátů.

Čas. min.	NEMK μekv/l	Ketolátky mg%	Glukóza mg%	Na mekv/l
Glukóza				
0	341 ± 18	1,9 ± 0,5	60 ± 11	—
30	227 ± 36	1,9 ± 0,5	228 ± 19	—
45	192 ± 18	1,4 ± 0,3	275 ± 15	—
60	205 ± 22*	1,7 ± 0,5*	317 ± 17	—
Acetát				
0	298 ± 17	2,7 ± 1,0	65 ± 8	—
30	153 ± 25	4,9 ± 1,3	56 ± 6	—
45	124 ± 21	5,5 ± 1,2	50 ± 4	—
60	121 ± 24*	6,3 ± 1,2**	50 ± 5	—
Bikarbonát				
0	276 ± 49	2,5 ± 1,3	59 ± 8	131 ± 3,0
30	287 ± 39	3,5 ± 1,3	62 ± 10	135 ± 2,4
45	255 ± 36	3,6 ± 1,1	62 ± 10	137 ± 1,2
60	228 ± 52	3,6 ± 1,1	63 ± 12	138 ± 2,0
Glukóza + Inzulín				
—+	199 ± 25	1,9 ± 0,7	61 ± 14	—
0	458 ± 40	2,8 ± 0,7	16 ± 5	—
30	227 ± 23	1,2 ± 0,5	166 ± 14	—
45	124 ± 16	0,8 ± 0,4	206 ± 15	—
60	89 ± 13**	0,8 ± 0,3*	235 ± 15	—

Čas 0: klidová hodnota před infúzí jednotlivých substrátů.

+ Klidová hodnota před injekcí inzulínu.

* Statisticky významné na hladině $P < 0,05$

** Statisticky významné na hladině $P < 0,01$

vání NEMK z tukové tkáně má tedy základní význam pro zásobování mléčné žlázy nezbytným substrátem. Řízení uvolňování NEMK je zajištěno faktory nutričními, hormonálními a nervovými.

V naší práci jsme se zabývali některými faktory výživy a faktory hormonálními. Glukóza, acetát i bikarbonát snižují hladinu NEMK v krvi. Mechanismus tohoto procesu je však pro každý substrát jiný.

Utilizace infudované glukózy poskytuje alfa-glycerofosfát, který je nutný pro esterifikační proces. Glukóza tedy snižuje uvolňování NEMK z tukové tkáně a zvyšuje jejich esterifikaci. Podobně jako jsme prokázali v našich pokusech na kozách snížení hladiny NEMK po intravenózní infúzi glukózy, zaznamenal K ó ň a (1964) snížení hladiny NEMK v krvi telat po zkrmování glukózy.

Inzulín snižuje hladinu NEMK v krvi jednak svým účinkem na metabolismus glukózy — zvyšuje tvorbu alfa-glycerofosfátu, produkci NADPH a aktivitu lipoproteinlipázy (Hollenberg, 1962) a jednak přímým působením na hladinu NEMK bez ovlivnění metabolismu glukózy (Zierler a Rabinowitz, 1964).

Inzulín však může snížit hladinu NEMK i působením na nukleotidy, tím, že inhibuje adenyl cyklázu a brání tak tvorbě cyklické AMP z ATP (Jungas a Ball, 1963). Nedostatek cyklické AMP může snižovat na hormony citlivou lipolytickou aktivitu v tukové tkáni a tím snižovat hladinu NEMK (Rizack, 1964).

Inzulínem indukovaná hypoglykémie způsobuje vzestup hladiny hormonů, stimulačních mobilizací tuku, takových, jako je glukagon (Unger a kol., 1962) a růstový hormon (Glick a kol., 1963; Roth a kol., 1963). V našem pokusu jsme zaznamenali 4 hod. po injekci inzulínu výsoce průkazný vzestup hladiny NEMK a ketolátek. Infúze glukózy pak způsobila prudký pokles hladiny jak NEMK, tak i ketolátek.

Acetát kontinuálně infundovaný po dobu 1 hodiny způsobil u našich zvířat pokles hladiny NEMK a vzestup hladiny ketolátek. Mechanismus působení acetátu na snížení NEMK můžeme vysvětlit jednak na základě zvýšené dostupnosti energetického materiálu a jednak z hlediska účinku ketolátek. Ketolátky mají jednak přímý inhibiční vliv na uvolňování NEMK z tukové tkáně (Björntorp, 1966) a jednak stimulují beta-buňky pankreatu a způsobují zvýšení sekrece inzulínu (Madison a kol., 1964). Mechanismus účinku ketolátek na uvolňování NEMK přes působení inzulínu podporují i naše pokusy, ve kterých jsme současně zaznamenali zvýšení ketolátek a snížení koncentrace glukózy. Stejným mechanismem vysvětlují Menahan a kol. (1966a, b) snížení hladiny NEMK v krvi koz po intraruminálním podání kyseliny máselné a i. v. aplikaci kyseliny beta-hydroxymáselné.

Bikarbonát sodný v našich pokusech snížil hladinu NEMK a mírně zvýšil hladinu ketolátek. Anionty bikarbonátu sodného, stejně tak jako acetátu sodného, jsou v organismu metabolizovány, uvolněný sodík se v organismu hromadí a způsobuje alkalózu. V organismu může být sodík neutralizován kromě jiných pufrůvých systémů pomocí ketolátek. To by mohl být důvod zvýšené hladiny ketolátek po aplikaci bikarbonátu. Protože však hladina glukózy mírně stoupla, nelze očekávat, že snížení hladiny NEMK je v tomto případě důsledkem působení ketolátek na sekreci inzulínu. Nedávno však Björntorp (1956) prokázal, že kyselina beta-hydroxymáselná může inhibovat lipolýzu v tukové tkáni přímo.

Došlo dne 2. 6. 1967

Literatura

1. ADLER, J. H. - WERTHEIMER, E.: Reciprocal relationship between blood glucose and plasma free fatty acids (FFA) in dairy cows and its significance for problems of fat metabolism in ruminants. = „Bull. of Research Council Israel“, 10E, 1962 : 97-101.
2. ANNISON, E. F.: Plasma non-esterified fatty acids in sheep. = „Journal of Agricultural Research“, 11, 1960 : 58-64.
3. ANNISON, E. F.: Plasma free fatty acids. In: Metabolism and physiological significance of lipids. Eds. Dawson, R. M. C., Rhodes, D. N. John Wiley, New York - London, 1964 : 289-324.
4. ANNISON, E. F. - FAZAKERLEY, S. - LINZELL, J. L. - NICHOLS, B. W.: The metabolism of plasma free fatty acids by the lactating mammary gland of the goat. = „Biochemical Journal“, 94, 1965 : 21P.
5. BARRY, J. M. - BARTLEY, W. - LINZELL, J. L. - ROBINSON, D. S.: The uptake from the blood of triglyceride fatty acids of chylomicra and low-density lipoproteins by the mammary gland of the goat. = „Biochemical Journal“, 89, 1963 : 6-11.
6. BJÖRNTORP, P.: The effect of beta-hydroxybutyric acid on glycerol outflow from adipose tissue in vitro. = „Metabolism“, 15, 1966 : 191-193.

7. BRITTON, H. G.: The chemical estimation of ketone bodies. = „*Analytical Biochemistry*“, 15, 1966 : 261-269.
8. GLASCOCK, R. F. - WELCH, V. A. - BISHOP, C. - DAVIES, T.: The contribution of serum beta-lipoprotein triglycerides to milk fat in the dairy cow. -Proceedings of Symposium of Radioisotopes in Animal Nutrition and Physiology, 1964. Vienna: *International Atomic Energy Agency*, 1965 : 253-266.
9. GLICK, D. (ed.): Methods of biochemical analysis. Vol. II. Intersc. Publishers, New York - London, 3rd ed., 1961.
10. GLICK, S. M. - ROTH, J. - YALOW, R. S. - BERSON, S. A.: Hypoglycemia: late pregnancy and lactation. = „*Australian Journal of Agricultural Research*“, 42, 1963 : 935.
11. HOLLENBERG, C. H.: The effect of incubation of the characteristic of the lipolytic activity of rat adipose tissue. = „*Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*“, 40, 1962 : 703-707.
12. JUNGAS, R. L. - BALL, E. G.: Studies on the metabolism on adipose tissue. XII. The effect of insulin and epinephrine on free fatty acid and glycerol production in the presence and absence of glucose. = „*Biochemistry*“, 2, 1963 : 383-388.
13. KÓŇA, E.: Zmeny hladiny niektorých metabolitov v krvi teliat vplyvom obsahu tuku v diéte a záťaže glukózou. = „*Veterinárni medicína*“, 9, 1964 : 373-378.
14. KRONFELD, D. S.: Plasma dairy non-esterified fatty acid concentrations in the cow: Response to nutritional and hormonal stimuli, and significance in ketosis. = „*Veterinary Record*“, 77, 1965 : 30-34.
15. LINDSAY, D. B.: In: Digestive physiology and nutrition of the ruminant. Ed. D. Lewis, London-Butterworths, 1961.
16. MADISON, L. L. - MEBANE, D. - UNGER, R. H. - LOCHNER, A.: The hypoglycemic action of ketones. II. Evidence for a stimulatory feedback of ketones on the pancreatic beta cells. = „*Journal of Clinical Investigation*“, 43, 1964 : 408-415.
17. MENAHAN, L. A. - SCHULTZ, L. H. - HOEKSTRA, W. G.: Factors affecting ketogenesis from butyric acid in the ruminant. = „*Journal of Dairy Science*“, 49, 1966 : 835-845.
18. MENAHAN, L. A.: Relationship of ketone body metabolism and carbohydrate utilization to fat mobilization in the ruminant. = „*Journal of Dairy Science*“, 49, 1966 : 957-961.
19. PATTERSON, D. S. P.: Some observations on the estimation of non-esterified fatty acid concentrations in cow and sheep plasma. = „*Veterinary Science*“, 4, 1963 : 230-237.
20. PATTERSON, D. S. P. - BURNS, K. N. - CUNNINGHAM, N. F. - HERBERT, C. N. - SABA, N.: Plasma concentrations of glucose and non-esterified fatty acids (NEFA) in the pregnant and lactating ewe and the effect of dietary restriction. = „*Journal of Agricultural Science*“, 62, 1964 : 253.
21. REID, R. L. - HINKS, N. T.: Studies on the carbohydrate metabolism of sheep. XVIII. The metabolism of glucose, free fatty acids, ketones and amino acids in late pregnancy and lactation. = „*Australian Journal of Agricultural Research*“, 13, 1962 : 1112-1123.
22. REID, R. L. - HINKS, N. T.: Studies on the carbohydrate metabolism of sheep. XIX. The metabolism of glucose, free fatty acids and ketones after feeding and during fasting or undernourishment of non-pregnant, pregnant and lactating ewes. = „*Australian Journal of Agricultural Research*“, 13, 1962 : 1124-1136.
23. RIZACK, M. A.: Activation of an epinephrine-sensitive lipolytic activity from adipose tissue by adenosine-3', 5'-phosphate. = „*Journal of Biological Chemistry*“, 239, 1964 : 392-395.
24. ROTH, J. - GLICK, S. M. - YALOW, R. S. - BERSON, S. A.: Hypoglycemia: A potent stimulus to secretion of growth hormone. = „*Science*“, 140, 1963 : 987-988.
25. UNGER, R. H. - EISENTRAUT, A. M. - McCALL, M. S. - MADISON, L. L.: Measurement of endogenous glucagon in plasma and the influence of blood glucose concentration upon its secretion. = „*Journal of Clinical Investigation*“, 41, 1962 : 682-689.
26. ZELENÁK, I. - KÓŇA, E.: Utilizácia octanu a jeho vplyv na NEMK a acetónové látky v krvi u oviec, kŕmených rozličnými diétami. = „*Československá fyziologie*“, 15, 1966 : 393.

27. ZIERLER, K. L. - RABINOWITZ, D.: Effect of a very small concentration of insulin on forearm metabolism. Persistence of its action on potassium and free fatty acids without its effects on glucose. = „*Journal of Clinical Investigation*“, 43, 1964 : 950.

БАРТОШ С., ШКАРДА Й., ДОЛЕЖЕЛ Ф. (Лаборатория физиологии и генетики животных, ЧСАН, Угржинева, Чехословакия). Влияние ацетата, бикарбоната, глюкозы и инсулина на уровень незатерифицированных жирных кислот, глюкозы и кетоновых веществ в крови коз. Вет. мед. (Прага) 13 (6) : 343-350, 1968.

Изменения концентрации компонентов крови изучались в продолжении 60 мин. при непрерывном вливании отдельных субстратов. Уровень незатерифицированных жирных кислот сильно понижался после введения ацетата и глюкозы и повышался инсулиновой гипогликемией. Он слабо понижался под действием бикарбоната. Механизм его понижения после введения глюкозы приписывается использованию глюкозы для образования альфа-глицерофосфата, который необходим для процесса этерификации в жировой ткани, для образования НАДРН и повышения активности липопротеинлипазы. Воздействие ацетата на уровень незатерифицированных жирных кислот объясняется, с одной стороны, их пониженным освобождением из-за доступности активного энергетического субстрата, а, с другой, образованием кетоновых веществ. Последние своим непосредственным тормозящим влиянием вызывают освобождение упомянутых кислот из жировой ткани и, кроме того, стимулируют освобождение инсулина из бета-клеток поджелудочной железы. Ацетат и бикарбонат натрия могут влиять на уровень незатерифицированных жирных кислот и своим содержанием натрия. Повышение уровня кетоновых веществ после вливания бикарбоната означает, что натрий в организме нейтрализуется, помимо буферных систем, также продукцией кетоновых веществ.

жвачные; мобилизация жирных кислот; метаболизм жировой ткани.

BARTOŠ, S., ŠKARDA, J., DOLEŽEL, F. (Laboratory of Physiology and Genetics of Animals, Czechoslovak Academy of Sciences, Uhřetíněves, Czechoslovakia). *The Influence of Acetate, Bicarbonate, Glucose, and Insulin on the Level of NEFA, Glucose, and Ketone-Bodies in the Blood of Goats*. Vet. Med. (Prague) 13 (6) : 343—350, 1968.

Changes in the concentration of the blood components were investigated for 60 minutes with a continual infusion of the different substrates. The NEFA level was significantly lowered after an administration of acetate and glucose, and insulin hypoglycemia was increased. The NEFA level was lowered insignificantly by the effect of bicarbonate. The mechanism of the lowering of the NEFA level after the acting of glucose is ascribed to the conversion of glucose for the production of alpha-glycerophosphate, which is essential for the esterification process in the adipose tissue, for the production of NADPH, and for a rising of the lipoproteinlipase activity. The acting of acetate on the NEFA level is explained, on the one hand, by a lowering of the releasing of NEFA in consequence of the availability of a competitive energetic substrate and, on the other hand, by the forming of ketone-bodies. Ketone-bodies exert a direct inhibitory effect on the releasing of NEFA from the adipose tissue and, apart from this, they stimulate the releasing of insulin from the beta-cells of the pancreas. Sodium acetate and sodium bicarbonate may influence the NEFA level also with their sodium content. The raised level of ketone-bodies after a bicarbonate infusion indicates that in the organism sodium is neutralized, apart from by other buffer systems, also by the production of keto-substances.

NEFA = non-esterified fatty acids

ruminants; mobilization of fatty acids; adipose tissue metabolism.

BARTOŠ, S. - ŠKARDA, J. - DOLEŽEL, F. (Laboratorium für Physiologie und Genetik der Tiere, ČSAV, Uhřetíněves, Tschechoslowakei.) *Der Einfluß des Azetates, des Bikarbonates, der Glukose und des Insulins auf den Spiegel der nichtesterifizierten Fettsäuren (NEFS), der Glukose und der Ketonstoffe im Ziegenblut*. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 346—350, 1968.

Die Veränderungen der Konzentration der Blutkomponenten wurden im Verlaufe von 60 Minuten unter kontinuierlicher Infusion der einzelnen Substrate verfolgt. Der NEFS-Spiegel wurde nach Verabreichung des Azetates und der Glukose signifikant gesenkt und durch Insulinhypoglykämie erhöht. Durch die Wirkung des Bikarbonates nahm der NEFS-Spiegel unsignifikant ab. Den Mechanismus der Verringerung des NEFS-Spiegels nach Einwirkung der Glukose führen wir auf die Ausnützung derselben für die Produktion des Alpha-Glyzerinphosphates zurück, welches unerlässlich ist für den Esterifikationsprozeß im Fettgewebe, für die NADPH-Produktion und für die Erhöhung der Lipoproteinlipase-Aktivität. Die Wirkung des Azetates auf den NEFS-Spiegel erklären wir einerseits durch das verringerte Freiwerden der NEFS infolge der Zugänglichkeit des kompetitiven Energiesubstrates und andererseits durch Bildung von Ketonstoffen. Die Ketonstoffe üben einen unmittelbaren Inhibitionseinfluß auf das Freiwerden der NEFS aus dem Fettgewebe aus und außerdem stimulieren sie das Freiwerden des Insulins aus den Pankreas-Beta-Zellen. Das Natriumazetat und Natriumkarbonat können den NEFS-Spiegel auch durch ihren Natriumgehalt beeinflussen. Die Erhöhung des Ketonstoffespiegels nach Bikarbonatinfusion deutet an, daß das Natrium im Organismus, außer durch andere Puffersysteme, auch durch die Produktion der Ketonstoffe neutralisiert wird. Wiederkäuer; Mobilisation der Fettsäuren; Fettgewebemetabolismus.

Adresa autorů:

Ing. Stanislav Bartoš, CSc., MVDr. Josef Škarda, MVDr. František Doležel,
ČSAV — Laboratoř fyziologie a genetiky živočichů, Uhřetěves
Vedoucí pracoviště: Doc. dr. J. Bílek, DrSc.

RESPIRACE BÝČÍCH SPERMIÍ V PROSTŘEDÍ SEKRETU SAMIČÍCH GENITÁLIÍ *in vitro*

J. Dvořák, J. Valoušek, O. Čermák

Učiliště pro pracovníky plemenářské služby v Boskovicích

DVOŘÁK, J., VALOUŠEK, J., ČERMÁK, O. (Učiliště pro pracovníky plemenářské služby v Boskovicích.) *Respirace býčích spermií v prostředí sekretů samičích genitálií in vitro*. Vet. Med. (Praha) 13 (6): 351—356, 1968.

Experimentální řešení otázky respirace býčích spermií v prostředí sekretů u samičích genitálií vyznělo ve prospěch stimulačního působení folikulárního moku, sekretu tubárního, děložního a vestibulárního a to bez ohledu na stadium estrálního cyklu v němž byly tyto výměšky odebírány. Respirační hodnoty nebyly ovlivněny ani poměrně značným množstvím bakterií přítomných v pokusných ejakulátech.

rozmnožování; inseminace; ejakulát.

■ Množství spotřebovaného kyslíku a vydýchaného kyslíčnicku uhličitého je jedním z důležitých ukazatelů intenzity metabolismu všech živých organismů. I spermie, jako živé pohyblivé buňky, získávají oxydací organických látek, vedle pochodů anaerobních, energii nutnou k vitálním pochodům a pohybu. Intenzita respirace spermií býka v ředěných ejakulátech byla stanovena M a n n e m (1959). Obnáší u 1 miliardy pohyblivých spermií 100—200 μ l spotřebovaného O_2 za 1 hodinu při 37 °C. M a t o u š e k (1959) stanovil u beraních spermií respirační hodnoty přibližně dvojnásobné. Kromě toho se někteří autoři zabývali respirací spermií v prostředí různých medií. Tak např. L o d g e (1963) prokázal, že metabolický CO_2 výrazně stimuloval spotřebu O_2 spermiemi, avšak pouze za přítomnosti semenné plazmy, nikoliv bez ní. B u r i a n á se spolupracovníky (1961) dělali pokusy s výtažkem z pankreatu, které přidávali k býčímu spermatu. Zjistili, že stimuluje spotřebu O_2 a tlumí fruktolýzu. I i d a (1957) prokázal stimulaci dýchání býčích a kančích spermií extrakty vaječného žloutku. Č e r m á k (1966) dával na ředěné býčí sperma působit sekretům získaným z Graafových folikulů, vejcovodů dělohy a vestibula odebraným v estrální a luteální fázi říjového cyklu. Spotřebu O_2 a výdej CO_2 měřil na začátku a na konci pětihodinové expoziční doby při 38 °C. Zjistil, že metabolické hodnoty obou plynů se ke konci této doby výrazně snižovaly, a to jak u spermat kontrolních, ředěných pouze žloutkokocitrátem, tak i u spermat, k nimž byla přidána folikulární tekutina krav v proestu a v estru. Působení sekretů z vejcovodů, dělohy a vestibula se projevilo takto: v první půlhodině respirace nebyla zaznamenána průkazná změna hodnot O_2 a CO_2 u žádného ze jmenovaných sekretů. Ke konci pokusu však byla oproti kontrolám naměřena průkazně vyšší spotřeba O_2 i výdej CO_2 ve spermatu s přidavkem sekretu tubárního v říji i v luteální fázi a sekretu vestibulárního ve stejných údobích. Daleko méně výrazné zvýšení hodnot bylo zaznamenáno u sekretu děložního: v době říje zůstala respirace na stejné úrovni jako v pokusech kontrolních a k mírnému zvýšení došlo u spermatu s přidáním děložního hlenu v luteální fázi.

Popsané jevy souvisejí pravděpodobně úzce s t. zv. kapacitací. Podle Thibaulta a Dauziera (1961 — cit. podle Šmerhy, 1964) vylučují čerstvě ovulovaná vajíčka látku nazvanou fertilizin, která působí odpudlivě na spermie. Vliv folikulární tekutiny bude tedy zřejmě analogický. Spermie jsou však, podle zmíněných autorů, aktivovány přidávkou sekretu vejcovodů a podle Changa (1959), Luncy (1962) a Williamse s kolektivem (1964) i sekretem uterinním. Tento kapacitační účinek neruší ani poměrně značná přítomnost bakterií (Čermák 1966).

Poněvadž respirační pokusy Čermákovy byly prováděny v mediu obsahujícím citrát sodný a vaječný žloutek, mohou uvedené závěry platit jen pro sperma ředěné žloutkocitrátem. Thibault a Dauzier (1961 — cit. podle Šmerhy, 1964) však upozorňují na dekapacitační vliv samotného žloutku. Stejně tak i Bishop a Salisbury (1955, cit. podle Matouška 1959) uvažují o možném specifickém účinku žloutku zvláště ve vztahu k respiraci. Stanovili jsme si tedy za úkol prověřit vliv sekretů genitálií krávy na respiraci spermatu bez výživného media.

MATERIÁL A METODIKA

Sperma jsme získávali od dvou pokusných býků ve stáří od 2 do 2,5 roku, krmených statkovými krmivými, s exploatačním režimem poněkud vyšším než v běžném plemenářském provozu. Ihned po odběru byla zjištěna koncentrace spermií v ejakulátu, množství spermií progresivně pohyblivých a obsah mikrobů. Potom jsme sperma zředili Ringerovým roztokem tak, aby v 1 ml bylo 300.000.000 pohyblivých spermií. Konstantní množství spermií při respirometrických zkouškách je totiž důležitým předpokladem pro získání totožných výsledků (Bistrop a Salisbury 1955 — cit. podle Matouška 1957). Takto naředěné ejakuláty jsme rozdělili na několik dílů. Jeden díl byl vždy ponechán jako kontrolní. K druhému byla přidána folikulární tekutina z vaječníku ve stadiu proestra v množství 0,2 ml na 1 ml spermií. Ke třetímu dílu přidána folikulární tekutina ve stadiu estru (stejně množství). K dalším dílům téhož, případně i dalších ejakulátů sekret vejcovodů v říji a v metestru, sekret děložní v estru a metestru, sekret vestibula v estru a metestru. Všechny sekrety byly ředěny v poměru 1 : 3 sterilním fyziologickým roztokem a přidávány ke spermatu v množství 0,2 ml na 1 ml spermatu. Uvedené hleny jsme získávali z pohlavních orgánů čerstvě poražených krav a tělesně i pohlavně vyspělých jalovic, u nichž nebylo zjištěno žádných patologických změn. Stadium estrálního cyklu jsme určovali na základě morfologického vyšetření genitálií. Sekrety jsme, vzhledem k jejich malému množství, mísili vždy dohromady od několika plemenic, které byly ve stejné fázi říjového cyklu. Takto připravené hleny včetně folikulární tekutiny jsme uchovávali po dobu nejdéle 3 dnů v chladnici při teplotě 0° až +1° C.

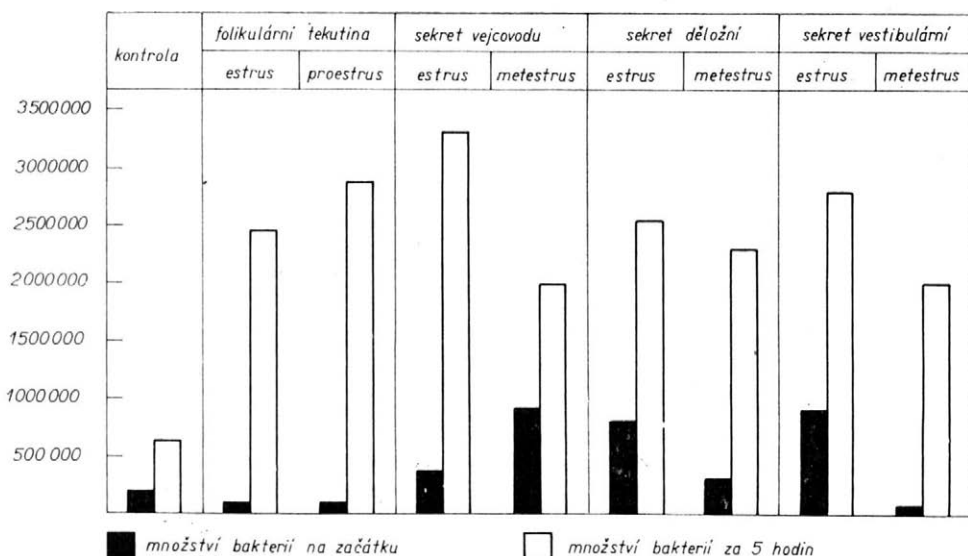
Jakmile byly všechny díly ejakulátů připraveny popsáním způsobem, odebrali jsme znovu vzorky ke stanovení mikrobiálního znečištění. Po 1 ml z každého dílu bylo odpipetováno do nádobek Warburgových manometrů k měření spotřeby O₂ a výdeje CO₂. Měření probíhalo od 0 do 0.30 hodin a od 4.30 do 5.00 hodin při teplotě 38 °C s výkyvy ±0,2 °C. Ředěný ejakulát byl po celou dobu trvání pokusu ponechán ve Warburgově přístroji za těchto konstantních podmínek. Hodnoty jsme, jak při měření na začátku, tak i na konci expoziční doby, odečítali vždy po 10 minutách. Po pěti hodinách jsme zjistili opět výši bakteriálního znečištění, kterou jsme vyjadřovali obsahem mikrobů v 1 ml spermatu. Počítání jsme prováděli orientační metodou podle Kazdy v roztěrech spermatu na ploše 1 cm² (Polák, 1961). Hodnoty získané měřením respirace jsme přepočítávali vždy na 1 miliardu živých spermií a vyjadřovali v mikrolitrech O₂ a CO₂. Tyto hodnoty jsou doplněny výpočtem respiračního kvocientu.

VÝSLEDKY POKUSŮ

Za 30 minut měření respirace na začátku expoziční doby byla v kontrolních pokusech prováděných se spermatem ředěným pouze Ringerovým roztokem naměřena spotřeba O_2 21,3 mikrolitru a výdej CO_2 17,9 mikrolitru. Ke konci pětihodinové expozice se však ani v jednom případě neobjevily známky respirační činnosti. Přidání sekretů jednotlivých částí samičího genitálu neovlivnilo měřené hodnoty O_2 a CO_2 v počátečním období pokusu. U spermatu s přidáním folikulárního moku získaného z Graafových folikulů v období říje bylo zaznamenáno 20,0 μl O_2 a 25,9 μl CO_2 , v období proestru 29,6 μl a 26,6 μl CO_2 . Po přidání sekretu vejcovodů v estru jsme naměřili 12,2 μl O_2 a 11,8 μl CO_2 , v metestru 24,8 μl O_2 a 20,2 μl CO_2 . Sekret děložní v říji ovlivnil respiraci takto: O_2 bylo naměřeno 18,9 μl , CO_2 20,5 μl , ve spermatu se sekretem dělohy metestru jsme zjistili 16,6 μl O_2 a 14,4 μl CO_2 . Spermie v prostředí sekretu vestibula v metestru 32,0 μl O_2 a 22,5 μl CO_2 . Jednotlivé rozdíly nejsou statisticky významné.

Na konci pětihodinové expoziční doby byla ve všech pokusných skupinách naměřena prokazatelně vyšší respirace než u kontrol (jež byla nulová). Hodnoty O_2 a CO_2 však byly stejné jako na začátku pokusu. Tak u folikulární tekutiny v estru byla spotřeba O_2 21,4 μl , výdej CO_2 21,1 μl ; v proestru O_2 8,5, CO_2 7,8. Spermia s přidavkem sekretu tubárního v říji spotřebovalo 12,0 μl O_2 a vydýchalo 15,2 μl CO_2 , s přidavkem sekretu tubárního v metestru 41,5 μl O_2 a 40,9 μl CO_2 . Sekret děložní v estru ovlivnil spotřebu O_2 na 6,9 μl a výdej CO_2 na 9,8 μl ; tentýž sekret v metestru O_2 na 8,4 μl a CO_2 na 7,3 μl . V prostředí sekretů z vestibula poševního v říji spotřebovaly spermie 15,6 μl O_2 a vydaly 19,8 μl CO_2 ; v metestru pak 28,0 μl O_2 a 29,5 μl CO_2 . Ze sekretů v metestru vynikl oproti ostatním poněkud výrazněji pouze sekret tubární ($P = 0,05$) a vestibulární ($P = 0,05$).

Diagram č. I znázorňuje vývoj spotřeby kyslíku a výdeje kysličníku uhlíkatého vždy po 10 minutách, a to jak na začátku, tak i na konci pokusu.



1.: Vývoj metabolismu O_2 a CO_2 v mikrolitrech 10^9 spermií

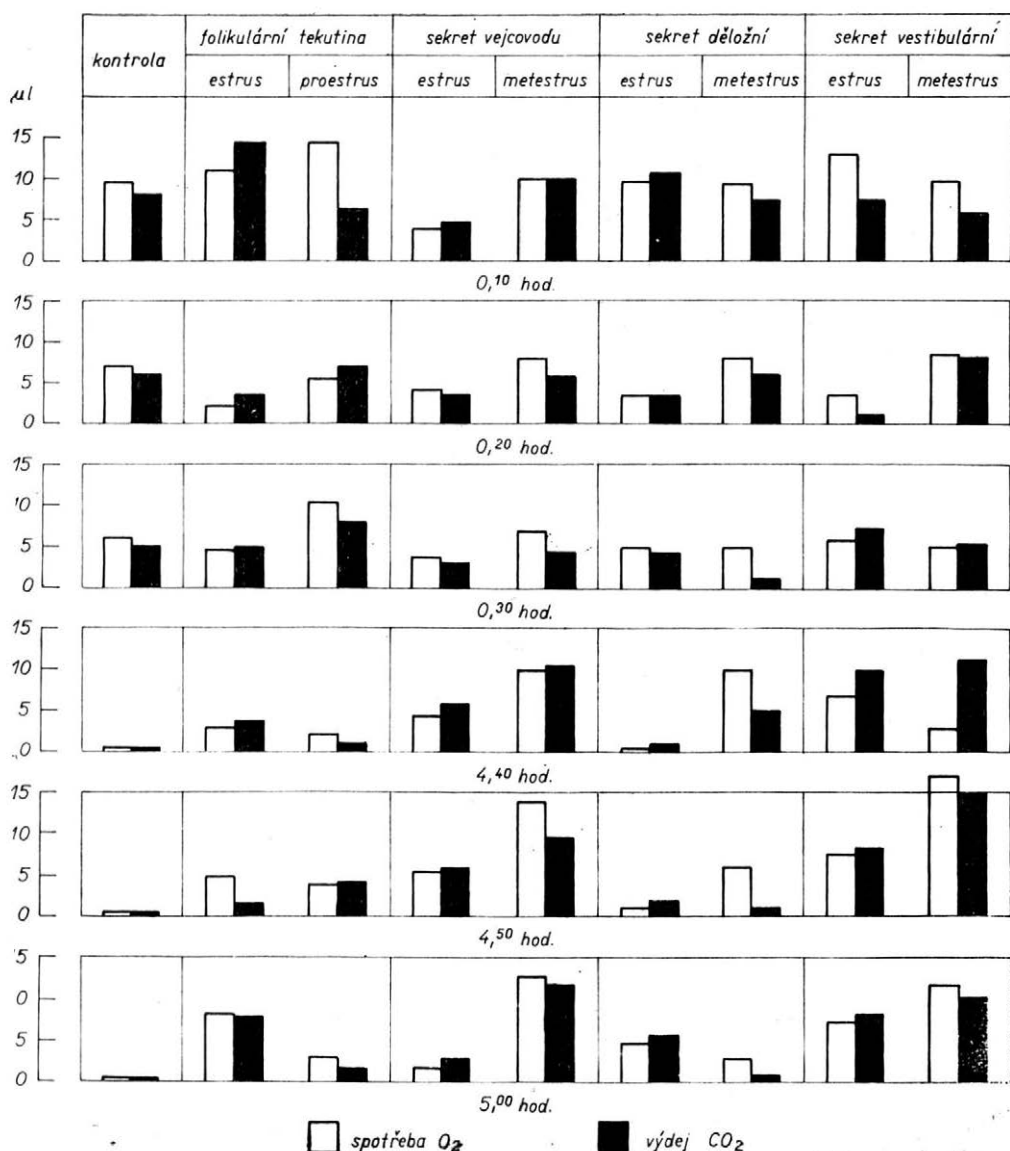
I. Respirometrické hodnoty spermatu ředěného Ringerovým roztokem s přidávkou sekretů genitálií samice. 10⁹ spermií.

Sperma řed. Ringer. rozt. + sekrety genitálií		0—0,30 hod.			4,30—5,00 hod.		
		O ₂	CO ₂	RQ	O ₂	CO ₂	RQ
Kontrola		21,3	17,9	0,84	0	0	0
Folikulární mok	estrus	20,0	25,9	1,29	21,4	21,1	0,98
	pro-estrus	29,6	26,6	0,89	8,5	7,8	0,91
Sekret vejcovodů	estrus	12,2	11,8	0,96	12,0	15,2	1,26
	met-estrus	24,8	20,2	0,81	41,5	40,9	0,98
Sekret děložní	estrus	18,9	20,5	1,08	6,9	9,8	1,42
	met-estrus	16,6	14,4	0,86	8,4	7,3	0,86
Sekret vestibula	estrus	25,6	19,0	0,74	15,6	19,8	1,26
	met-estrus	32,0	22,5	0,70	28,0	29,5	1,05

Pokud jde o množení bakterií během expoziční doby, ukázalo se, že ve všech pokusech došlo za 5 hodin k významnému zvýšení celkového množství mikrobů (testy *t* pro jednotlivé případy jsou: 3,26; 4,21; 2,50; 2,77; 3,80; 2,56; 2,84; 2,02).

DISKUSE

Výsledky pokusů ukázaly, že naměřené respirometrické hodnoty jsou ve všech případech nižší než hodnoty zjištěné Čermákem (1966) u spermatu ředěného žloutkocitrátovým ředidlem. Žloutek tedy zřejmě ovlivnil respiraci ve smyslu zjištění Iidy (1957). V kontrolních pokusech došlo ke snížení respirace až na nulové hodnoty. Toto snížení je úměrné obdobnému snížení zjištěnému u spermat se žloutkem. Genitální sekrety však udržely respiraci na začátku i na konci pokusu ve stejné úrovni jako u kontrolních pokusů na začátku expoziční doby. Respirační účinek žloutku tyto sekrety ke konci pokusu ještě úměrně zvýšily (Čermák 1957), takže se ukazuje, že jejich stimulační působení je v tomto směru specifické (podle Changa 1959, Luncy 1962 a Williamsa 1964). Zdá se (podle našich zjištění), že poněkud vyvíjejí sekret tubární a vestibulární v metestru. Folikulární mok působí spíše depresivněji. Toto poslední zjištění koresponduje s výkladem Thibaulta a Dauziera (1961) o tlumivém působení fertilisinu. Dále se ukazuje, že spermie mohou dýchat v prostředí poševním stejně dobře jako v děloze či vejcovodech. Jejich respiraci neovlivňuje ani poměrně značné množství mikrobů přítomných ve všech pokusných skupinách.



2.: Mikrobiální znečištění ředěného spermatu na začátku expoziční doby a za 5 hodin

Došlo dne 19. 4. 1967

Literatura

1. BURNIANĂ L., HADARAC EL., DIACONESCU C.: Influenta extractului pancreatic asupra metabolismului glucidic al spermei. = „*Lucrări științifice*“, seria C, 409-411, 1961.
2. ČERMÁK O.: Vliv sekretů pohlavních ústrojí krávy na metabolismus býčích spermií. = „*Živočišná výroba*“ 11, č. 10, 735-746, 1966.
3. ČERMÁK O.: Vliv sekretů samičích genitálií na látkovou přeměnu spermií. = „*Veterinární medicína*“ 11, č. 9, 559-568, 1966.
4. CHANG M. C.: V Recent Progress in the Endocrinology of Reproduction, Academic Press Inc., New York, 1959.

5. CHANG M. C. = „Nature“ 184, 466, 1959.
6. IIDA I.: Studies of the effective substances in egg yolk as a source energy for spermatozoa I. = „Jap. J. Zootech. Sci.“, r. 28. č. 3, 141-144, 1957.
7. IIDA I.: Studies of the effective substances in egg yolk as a source energy for spermatozoa II. = „Jap. J. Zootech. Sci.“, 28, č. 3, 146-150, 1957.
8. LODGE J. aj.: Factors influencing metabolic activity of bull spermatozoa. VI. Metabolic CO₂ and fructose. = „J. Dairy Sci.“, r. 46, č. 2, 140-144, 1963.
9. LUNCA N. aj.: Influenta asupra fecundității vacilor a extractului uterin adăugat la sperma diluată. = „Lucrări științifice“, serie C, sv. 6, 71-76, 1962.
10. MANN, T.: Reproduction in Domestic Animals II, 51-73, Academic press, New York and London 1959.
11. MATOUŠEK J.: Respirace beraních spermií vzhledem k plemenným rozdílům a roční době. Vědecké práce laboratoře ČSAZV pro biologii rozmnožování a osemenování zvířat č. I., 35-52, 1959.
12. POLÁK L.: Inseminace skotu. 1961. SZN.
13. ŠMERHA J. a kol.: Biologie rozmnožování hospodářských zvířat. SZN, 1964.
14. WILLIAMS W. K., WEINMANN D. E., HAMNER C. E.: Effect of female reproductive tract on spermatozoa. Trento, sv. 3., 367-370, 1964.

ДВОРЖАК Й., ВАЛОУШЕК Й., ЧЕРМАК О. (Училище для работников племенного дела в Босковицах, Чехословакия). Респирация бычьих сперматозоидов в среде секретов половых органов самок *ин vitro*. Вет. мед. (Прага) 13 (6): 351-356, 1968.

Экспериментальное решение вопроса респирации сперматозоидов быка в среде секретов гениталий самки сводилось в пользу аналептического воздействия фолликулярной жидкости секрета влагалища матки и преддверья влагалища, не взирая на стадию полового цикла самки при взятии этих выделений. На респирационные показатели не повлияло даже сравнительно большое количество бактерий, содержащихся в экспериментальных эякулятах.

размножение; осеменение; эякулят.

DVOŘÁK, J., VALOUŠEK, J., ČERMÁK, O. (School for Workers of the Breeding Service at Boskovic, Czechoslovakia). *Respiration of Bull Spermatozoa in the Environment of Secretions in Female Genitals in vitro*. Vet. Med., (Prague) 13 (6): 351-356, 1968.

An experimental investigation of the problem of the respiration of bull spermatozoa in the environment of the secretions in female genitals indicated an analeptic effect of the follicular liquid, of the tubar, uterine, and vestibular secretion, and that regardless of the oestral cycle in which these secretions had been taken. The respiration values were not influenced either by the comparatively considerable quantity of bacteria present in the experimental ejaculates.

propagation, insemination, ejaculate.

DVOŘÁK, J. - VALOUŠEK, J. - ČERMÁK, O. (Lehranstalt für Mitarbeiter des züchterischen Dienstes in Boskovic, Tschechoslowakei) *Die Respiration der Bullenspermien im Milieu der Sekrete der weiblichen Geschlechtorgane in vitro*. Vet. Med. (Praha) 13 (6): 351-356, 1968.

Die experimentale Lösung der Frage der Bullenspermienrespiration im Milieu von Sekreten der weiblichen Geschlechtsorgane endete zugunsten der analeptischen Wirkung der follikularen Flüssigkeit, des Tubar-, Gebärmutter- und Vestibularsekretes, und zwar ohne Rücksicht auf das Stadium des Östruszyklus, in welchem diese Ausscheidungen entnommen wurden. Die Respirationswerte wurden sogar durch die verhältnismäßig große Menge der in den Versuchsejakulaten befindlichen Bakterien nicht beeinflusst.

Vermehrung; Besamung; Ejakulat.

Adresa autorů:

Ing. Josef Dvořák, profesor, prom. biolog Jan Valoušek, profesor, doc. MVDr. Oldřich Čermák CSc., ředitel,
Učiliště pro pracovníky plemenářské služby v Boskovicích

PŮSOBENÍ TKÁŇOVÝCH BIOSTIMULÁTORŮ NA NĚKTERÉ IMUNOBIOLOGICKÉ REAKCE U PRASAT

B. Ševčík

Výzkumné středisko pro veterinární léčiva, Pohoří-Chotouň

ŠEVČÍK, B. (Výzkumné středisko pro veterinární léčiva, Pohoří-Chotouň, pošta Jílové.) *Působení tkáňových biostimulátorů na některé imunobiologické reakce u prasat*. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 357—368, 1968.

V pokuse jsme použili tyto preparáty: suspenzi připravenou podle Filatova a přípravku Stimulyzát (Bioveta) v porovnání s Omnadinem (Hoechst). Preparáty jsme aplikovali prasatům opakovaně třikrát v desetidenních intervalech. Za 15 dní po třetí aplikaci preparátů jsme simultánně vakcinovali adsorbátovou vakcinou při červenky vepřů a vakcinou *S. enteritidis* Gärtner. Po aplikaci tkáňové suspenze a Omnadinu došlo k významnému zvýšení počtu leukocytů ($P < 0,01$), k počátečnímu posunu doleva a pozdějšímu významnému zmnožení lymfocytů ($P < 0,01$). Celkové množství bílkovin krevního séra se neměnilo, v poměru jednotlivých bílkovinných frakcí došlo po dvou aplikacích tkáňové suspenze a Omnadinu k významnému zvýšení hladiny gamaglobulinů ($P < 0,01$), po třetí aplikaci k významnému zvýšení albuminů. Po aplikaci preparátů nebyla zjištěna tvorba specifických precipitinů ani při použití Freundova adjuvans, zatímco při aplikaci biostimulátorů s nativními bílkovinami jsme zjistili pozitivní precipitaci. Při sledování specifických protilátek (*S. enteritidis* G.) jsme zjistili statisticky významné ($P < 0,01$) zvýšení titerů u skupin, kde před vakcinací byl aplikován Omnadin a tkáňová suspenze. U těchto skupin byla prokázána plná imunita i při experimentální infekci červenkou vepřů. V pokuse se neprojevovalo po aplikaci tkáňových stimulátorů zvýšení váhových přírůstků. Na základě zjištěného popudově terapeutického účinku tkáňových biostimulátorů mohou se tyto preparáty uplatnit v našich podmínkách zejména v chovech s výskytem chronických stájových nákaz.

biostimulátory tkáňové.

■ Při zavádění tkáňových biostimulátorů do praxe v našich podmínkách bylo nutno kriticky prověřit jejich účinnost u různých druhů hospodářských zvířat a určit vhodné a ekonomické indikace. Na základě zkušeností získaných při používání tkáňových biostimulátorů v terénu bylo nutné zejména rozhodnout, zda vzhledem k nákladům a efektu je vhodné aplikovat tkáňové preparáty hromadně v chovech za účelem stimulace růstu nebo jen v těch případech, kde se může současně uplatnit jejich popudově terapeutický účinek, tj. v chovech s výskytem chronických stájových nákaz. Proto jsme se v naší práci zaměřili na sledování účinku tkáňových preparátů na některé imunobiologické reakce organismu po jejich aplikaci vzhledem k zdravotnímu stavu zvířat. Tyto aspekty považujeme za podstatné při skutečně ekonomickém využití tkáňových preparátů v praxi.

Podstatou tkáňové terapie podle Filatova (1950) je biochemická přeměna různých zvířecích a rostlinných tkání oddělených od živého organismu a vystavených nepříznivým vlivům okolí, které však tkáň neusmrcují. O chemismu, mechanismu účinku i praktickému využití těchto preparátů bylo zejména v SSSR nashromážděno velké množství poznatků, které jsou souhrnně zpracovány v přehledných publikacích (např. Kalašnik 1963).

V našich podmínkách se prověřoval účinek tkáňových preparátů ve Východoslovenském kraji (Balun 1965). Po aplikaci se projevilo zvýšení přírůstků zejména u prasat. Jehlička a Markovič (1965) nezjistili výrazný stimulační účinek po aplikaci zkoušených preparátů, rovněž rozsáhlé pokusy provedené ve velkovýkrmnách u 8 200 kusů prasat měly negativní výsledky. Jednoznačné příznivé působení je popisováno po podání tkáňových biostimulátorů u prasat zakrslých zejména v chovech s výskytem chronických stájových nákaz (Gluchova 1958, Kalmykov 1961, Hladík 1963, Ševčík 1964, Vasil 1965). Tyto výsledky poukazují především na nespecifický popudově terapeutický účinek tkáňových preparátů, což se projevuje aktivací imunobiologické reaktivity se strany buněčných i humorálních systémů organismu. Jsou popisovány změny jak u korpuskulárních částic krve, tak i u bílkovinné složky (Kalašník a Dorogaja 1959, Ilinskij 1955, Šuljumova 1962, Zubakina 1954). Podle Filatova (1965) zvyšují biostimulátory tvorbu protilátek. Tak např. Šuljumova (1962) zjistila u králíků preparovaných brucelózním antigenem za současného podání biostimulátorů vzestup pozitivního titru aglutininů, Mělka (1952) zvýšení titru precipitinů u králíků preparovaných slepičími krvinkami. Také v našich pokusech (Kunstýř, Ševčík 1967) jsme nezjistili u králíků hyperimunizovaných beranými erytrocyty po předchozí aplikaci tkáňových preparátů zvýšení hemolýzinů, ale naproti tomu stoupla hladina hemaglutininů. Třebaže se všeobecně uvádí kladné působení tkáňových biostimulátorů na imunobiologické vlastnosti organismu, nezjistili jsme v literatuře konkrétní výsledky sledování těchto hodnot (např. titru spec. protilátek) u prasat.

MATERIÁL A METODIKA

Do pokusu jsme vzali 40 selat ve stáří 7 týdnů z jedné porodny prasnic, plemeno BU, celkem od 6 prasnic. Od každé prasnice byla selata rovnoměrně rozdělena do 4 skupin podle pohlaví a váhy, takže pokusný materiál ve všech 4 skupinách byl vyrovnaný. Selata byla vybrána z porodny, kde nebylo zjišťováno žádné onemocnění a byla do skončení pokusu ve velmi dobrém zdravotním stavu, což považujeme za základní předpoklad objektivního hodnocení imunobiologických reakcí. Selata byla umístěna v izolované stáji o průměrné teplotě 14–17 °C a relativní vlhkosti 80–85 %. V první polovině pokusu byla selata krmena *ad libitum* směsí A₁, v druhé polovině směsí A₂. Prvá skupina byla kontrolní, ve druhé skupině jsme aplikovali Stimulyzát (Bioveta) v dávkách 4 a 5 ml/ks, ve třetí skupině tkáňovou suspenzi z jater a sleziny býčků a jalovic a připravenou podle Filatova v dávce 0,1–0,15 ml/kg ž. v., ve čtvrté skupině Omnadin ve vzestupných dávkách 3, 5, 6 ml/ks. Všechny tři preparáty jsme aplikovali třikrát v desetidenních intervalech. Při druhé aplikaci byly selata, byla prasata simultánně vakcinována. K vakcinaci proti července vepřů preparáty aplikovány u 3 zvířat v každé skupině spolu s Freundovým *adjuvans* (Hořejší 1953). V 56. dni pokusu, tj. za 15 dní po třetí aplikaci preparátů, byla prasata simultánně vakcinována. K vakcinaci proti července vepřů byla použita adsorbátová vakcína v dávce 5 ml/ks. Vakcinaci proti salmonelóze jsme provedli vakcínou *S. enteritidis* Gärtner — základní dávka pro zvíře 2 ml + 1 ml na každých 10 kg ž. v.

Průběh pokusu možno rozdělit na 3 etapy. V prvním kontrolním období (20 dní) byla ověřována fyziologická vyrovnanost jednotlivých skupin. Ve 2. etapě (35 dní) byly v desetidenních intervalech opakovaně aplikovány preparáty. V této části pokusu jsme především sledovali změny bílého krevního obrazu, sérových bílkovin i tvorbu precipitačních protilátek. Ve 3. etapě jsme provedli specifickou vakcinaci a sledovali hladiny protilátek a reakci organismu na perkutánní infekci červenkou vepřů.

Intervaly vyšetření bílého krevního obrazu a sérových bílkovin jsou uvedeny v grafech 1–5. Zjišťovali jsme celkový počet leukocytů a diferenciační

rozpočet, dále refraktometricky celkové množství bílkovin krevního séra i jednotlivé bílkovinné frakce papírovou elektroforézou metodou podle Grassmanna a Hanniga (1954) s vyhodnocením na optickém přístroji ERI 10 (Zeiss).

K vyšetření precipitačních protilátek jsme použili metody dvojité difuze v agaru podle Ouchterlonyho (Kout 1964) v modifikaci podle Kabata a Mayera (1955). Krevní séra jsme vyšetřovali celkem dvakrát, a to 8. a 15. den po 3. aplikaci preparátů.

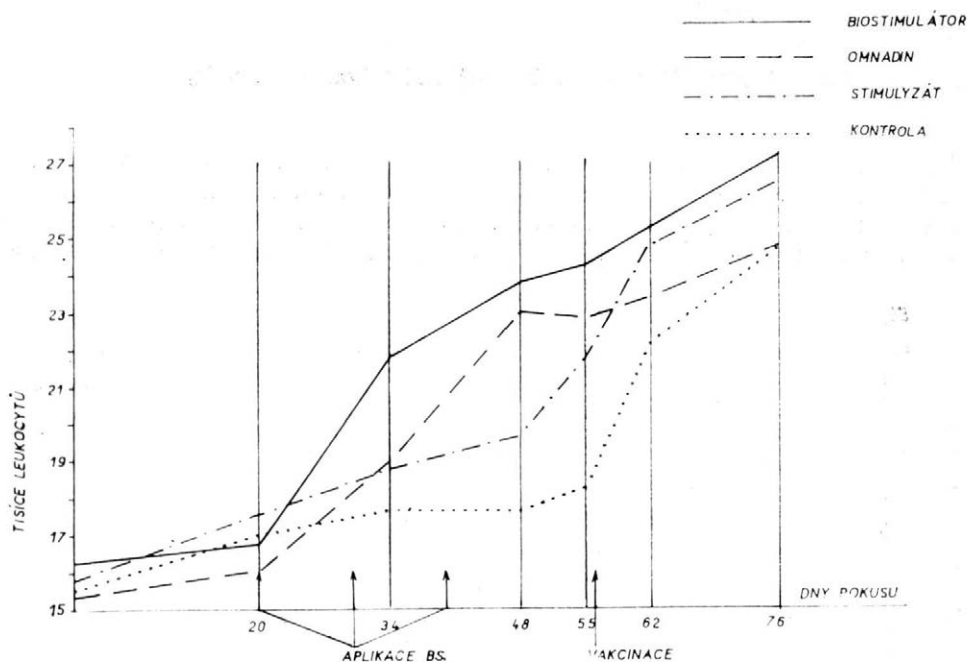
Hladiny specifických protilátek (*S. enteritidis* Gärtner) byly ve všech skupinách zjišťovány pomalou aglutinací, a to před aplikací vakcíny a za 7, 14 a 28 dní po vakcinaci. Vyšetření bylo provedeno v Biovetě v Ivanovicích.

Za 32 dní po vakcinaci jsme provedli perkutánní čelenž metodou podle Dinter-Fortnera (1944). Virulentní lyofilizované kmeny červenky vepřům poskytl dr. Žák z Biovety Nitra. Použili jsme 3 kmeny, které jsme vtírali ve zvýšené dávce 0,5 ml do 3 skarifikačních pruhů na boku zvířete. Reakci jsme posuzovali do 24, 48, 72 a 96 hodinách. Hodnotili jsme jednak lokální reakci, teplotu i celkový zdravotní stav zvířat.

V pravidelných čtrnáctidenních intervalech jsme sledovali individuální váhové přírůstky prasat a spotřebu krmiv v jednotlivých skupinách.

VÝSLEDKY

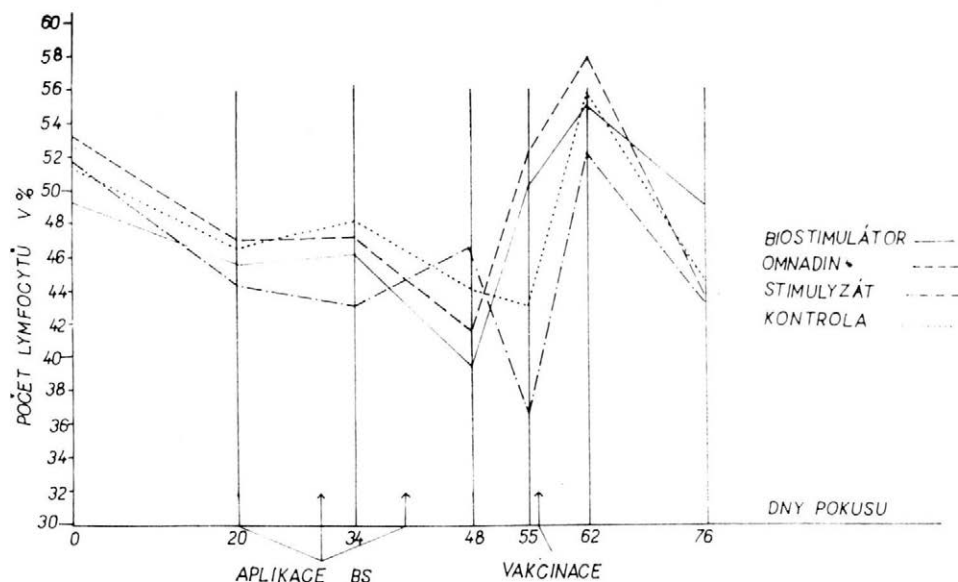
Bílý krevní obraz — pro přehlednost uvádíme výsledky vyšetření v grafech 1–4 v těch případech, kde byly zjištěny statisticky významné rozdíly, tj



Gr. 1.: Průměrný počet leukocytů

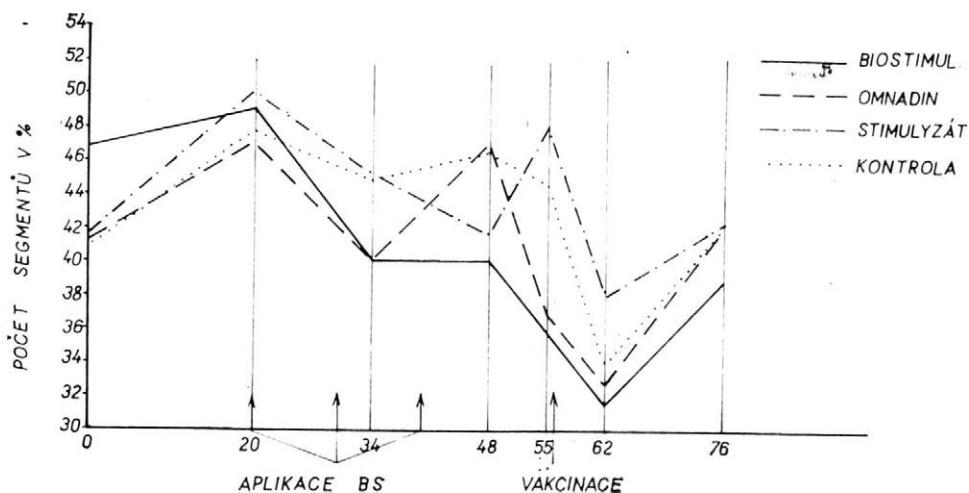
v celkovém počtu leukocytů, v procentu zastoupení lymfocytů, segmentů a tyčků, zatímco v počtu eosinofilů, basofilů a monocytů jsme nezjistili významné rozdíly mezi jednotlivými skupinami.

Bílkoviny krevního séra — celkové množství bílkovin v krevním séru se během pokusu neměnilo, byly zjišťovány hodnoty od 4,5 do 4,98 g%. Rozdíly mezi skupinami v jednotlivých odběrech nebyly statisticky významné. U jednotlivých bílkovinných frakcí se projevíly statisticky významné rozdíly mezi jed-



Gr. 2.: Tkáňové biostimulátory — průměrný počet lymfocytů v %

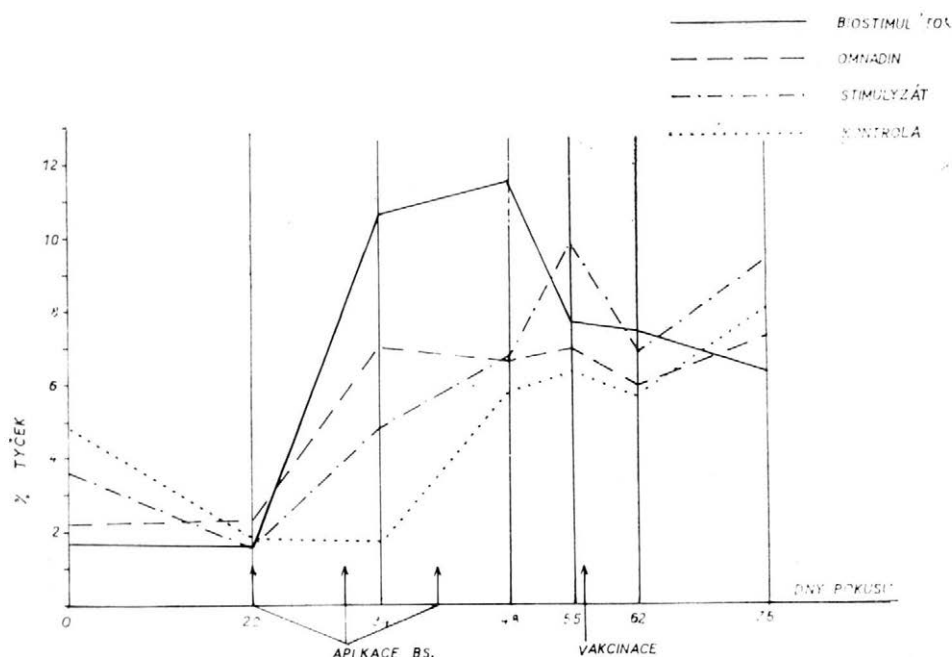
notlivými skupinami u hladin gamaglobulinů a albuminů. Po 2. aplikaci preparátů se zvyšuje hladina gamaglobulinů, nejvíce u Omnadinu a tkáňové suspenze, zatímco po 3. aplikaci stimulátorů dochází naopak k jejich prudkému poklesu. V dalších odběrech se opět projevuje postupný vzestup hladin gamaglo-



Gr. 3.: Tkáňové biostimulátory — průměrný počet segmentů v %

bulinů ve všech pokusných skupinách, nejvíce u tkáňové suspenze. U albuminů se projevuje vzestup po 3. aplikaci preparátů. Rozdíly u alfa a beta-globulinů nebyly statisticky významné, proto je neuvádíme.

Výsledky této části pokusu byly statisticky hodnoceny analýzou rozptylu, pro závěry o rozdílech účinnosti preparátů je rozhodující složka pro interakci mezi odběry a skupinami prasat. Jestliže byly interakce významné, byl pro srovnání 4 skupin prasat v každém odběru vypočten Duncanův test.



Gr. 4.: Průměrný počet tyčků v ‰

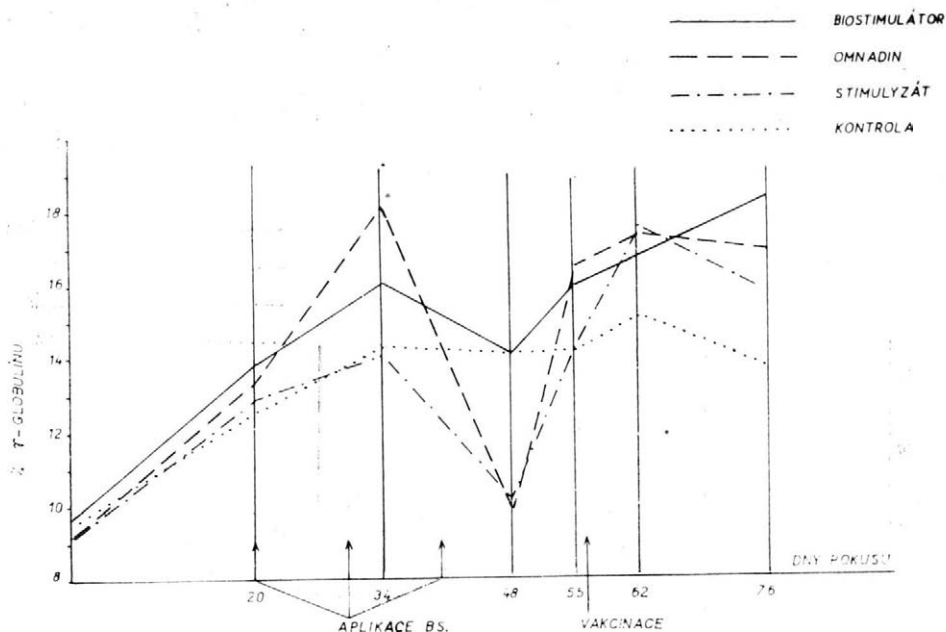
Uvádíme výsledky Duncanova testu u gamaglobulinů při 3. odběru tj. po 2. aplikaci biostimulátorů a u albuminů při 4. odběru tj. po 3. aplikaci preparátu:

Gamaglobuliny — Duncanův test:

Počet případů	10	10	10	10
Průměr (hodnoty v ‰)	14,1	14,3	16,1	18,2
Meze spolehl. pro průměr	Průměr ± 2,44			
Skupina	Stimulyzát	Kontrola	Biostimulátor	Omnadin
Významnost				

Albuminy — Duncanův test:

Počet případů	10	10	10	10
Průměr (hodnoty v ‰)	44,4	46,4	50,9	53,1
Meze spolehl. pro průměr	Průměr ± 2,37			
Skupina	Kontrola	Biostimulátor	Stimulyzát	Omnadin
Významnost				



Gr. 5.: Hladina gamaglobulínu

Precipitační protilátky — účelem těchto vyšetření bylo zjistit stupeň vytváření specifických precipitinů po aplikaci preparátů. Výsledky precipitace ve všech případech včetně sér, kde jsme aplikovali stimulatory s Freundovým adjuvans, byly negativní. V důsledku této negativní reakce jsme založili pomocný pokus, kde jsme prasatům aplikovali vysoké dávky preparátů v pětidenních intervalech, při první dávce s Freundovým adjuvans. K vyloučení našeho předpokladu, že příčinou negativní reakce v hlavním pokuse je desintegrace bílkovin stimulatorů varem, aplikovali jsme současně biostimulátor „syrový“, připravený z jater a sleziny mladého skotu s antiseptickou přísadou. Při prvním vyšetření za 7 dní po aplikaci jsme zjistili u 2 prasat ze skupiny, kde byl aplikován „syrový“ biostimulátor, pozitivní reakce, tj. vytvoření precipitačních zon oproti antigenu, u 1 prasete pouze u séra koncentrovaného, u druhého reagovala pozitivně i séra ředěná 1 : 1, 1 : 2 a 1 : 4. Desintegrace bílkovin vařením při přípravě biostimulátorů metodou podle Filatova byla příčinou negativních výsledků v hlavním pokuse.

Specifické protilátky (*S. enteritidis* Gärtner) — byly zjišťovány pomalou aglutinací s postupným zředěváním séra (1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 100) v intervalech uvedených v metodické části. Pro statistické zhodnocení výsledků jsme křížkové označení reakcí bodově vyčíslili podle následujícího schématu:

Stupeň reakce	Bodové označení při ředění			
	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 100
0	0	0	0	0
±	0,5	1	2	2,5
X	1	2	4	5
XX	2	4	8	10
XXX	3	6	12	15

Součtem bodů reakcí u všech zvířat ve skupině jsme vyjádřili intenzitu tvorby protilátek, kterou jsme statisticky hodnotili analýzou rozptylu, v případě významnosti rozdílů mezi skupinami Duncanovým testem.

Uvádíme statistické hodnocení hladin protilátek za 28 dní po vakcinaci: Analýza rozptylu

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupně vol.	Podíl	F	F _{0,05}
Mezi prasaty	84,0750	36	2,3354	1,372	1,49
Mezi skupinami	35,6188	3	11,8729	5,084 ^{xx}	2,86
Reziduální	204,2500	120	1,7021	—	
Celkový	323,9438	159			

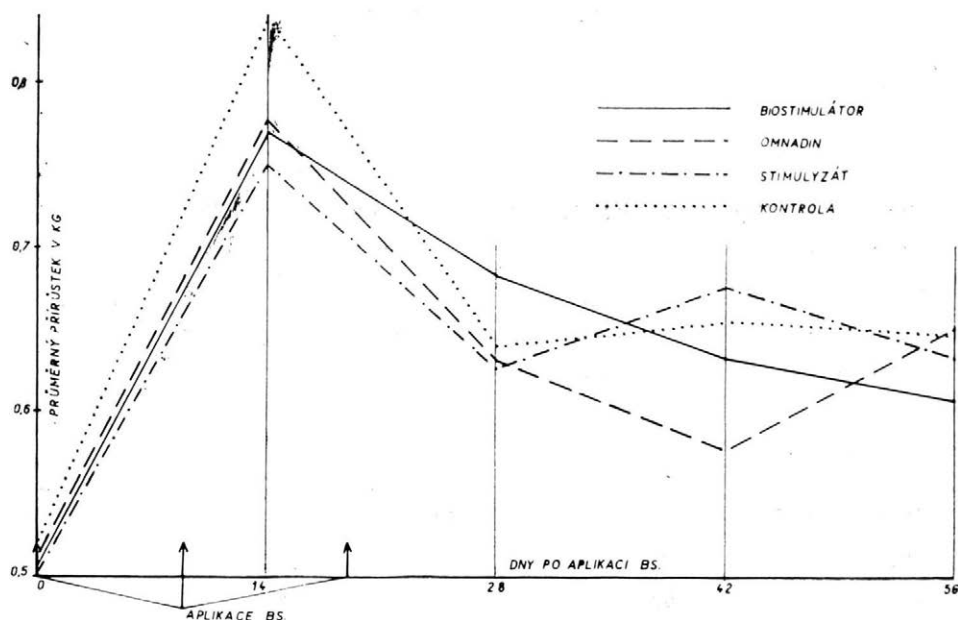
Duncanův test

Počet případů	10	10	10	10
Průměr	1,3	2,4	5,1	5,9
Meze spolehl. pro průměr	Průměr ± 0,98			
Skupina	Kontrola	Stimulyzát	Omnadin	Biostimulátor
Významnost				

Zatímco v kontrolním odběru před vakcinací bylo ve všech případech vyšetření negativní, pak po aplikaci biostimulátorů a Omnadinu se projevuje ve všech pokusných skupinách vyšší tvorba protilátek proti kontrole. Z analýzy rozptylu je patrné, že tyto rozdíly jsou při 3.—4. odběru statisticky významné. Nejvyšší signifikantní ($P < 0,01$) tvorba specifických protilátek byla pozorována u skupiny, kde byla aplikována tkáňová suspenze, dále pak u skupiny s Omnadinem, zatímco po aplikaci Stimulyzátu došlo jen k nepatrnému zvýšení.

Celenž červenkou vepřů — v závěru pokusu byla prasata perkutánně infikována červenkou vepřů způsobem uvedeným v metodice. Vedle čtyřiceti prasat v pokusných skupinách byla do pokusu přihrána jako negativní kontrola další tři prasata, která nebyla vakcinována, pouze infikována. Použité lyofilizované kmeny červenky vepřů byly vysoce virulentní, neboť vyvolaly u všech tří nevakcinovaných prasat těžké septické stavy. Také u vakcinované kontroly (bez předchozí aplikace preparátů) došlo vzhledem k vysokým dávkám virulentní kultury k značným lokálním reakcím a u jednoho zvířete i k celkové sepsi. Silné lokální reakce jsme zjistili i ve skupině, která byla před vakcinací ošetřena Stimulyzátem. Bez reakcí byly skupiny s Omnadinem a tkáňovou suspenzí, kde se projevila plná imunita.

Váhově přírůstky a spotřeba krmiv — vedle imunologických reakcí jsme v pokusu hodnotili i váhové přírůstky a spotřebu krmiv, neboť vzhledem k vyrovnanosti pokusného materiálu bylo možno objektivně posoudit vliv biostimulátorů na přírůstky u zdravých zvířat. Tkáňové biostimulátory podávané v optimálních dávkách při plnohodnotném krmení a v dobrých hygienických podmínkách nezvýšily váhové přírůstky u prasat, naopak tyto byly nižší než u kontroly (snížení statisticky nevýznamné). Spotřeba krmiv byla v pokusných skupinách vyšší než u kontroly. Průměrný váhový přírůstek v jednotlivých pokusných skupinách je uveden v grafu č. 6.



Gr. 6.: Průměrný přírůstek po aplikaci biostimulátorů

DISKUSE

Po aplikaci biostimulátorů i Omnadinu dochází k statisticky významnému ($P < 0,01$) vzestupu celkového počtu leukocytů. Tento výrazný příznivý vliv tkáňových preparátů na bílou krevní složku odpovídá literárním údajům (K a l a š n í k 1963 aj.) i našim poznatkům z předpokusů (Š e v č í k 1964) a úzce souvisí s aktivací RES. Zajímavé je sledování dynamiky změn v diferenciačním rozpočtu bílých krvinek. Dosažené výsledky (počáteční posun doleva, pozdější zvýšení lymfocytů) odpovídají vcelku údajům I l i n s k é h o (1955) a Š u l j u m o v é (1956), avšak na rozdíl od těchto autorů nebyly pozorovány významné změny v počtu monocytů. Ve skladbě sérových bílkovin jsme zjistili statisticky významné rozdíly ($P < 0,01$) pouze u albuminové a gamaglobulinové složky, v jejichž poměru se projevila reciproká závislost. Po významném vzestupu hladiny gamaglobulinů po prvních dvou aplikacích se po další aplikaci preparátů projevuje jejich náhlý pokles, a naopak vzestup hladiny albuminů. Dochází v těchto případech zřejmě k přesycení RES antigenem. Tyto výsledky odpovídají údajům Z u b a k i n y (1954), která obdobnou dynamiku změn sérových bílkovin popsala u lidí. V souvislosti se změnou hladin sérových bílkovin po aplikaci tkáňových preparátů jsme sledovali povahu zmnožení gamaglobulinů z hlediska specifických precipitačních protilátek. Vycházeli jsme z teoretického předpokladu, že tkáňové preparáty jako látky bílkovinné povahy vyvolávají tvorbu specifických precipitinů. Abychom zjistili i prahové hodnoty, použili jsme při aplikaci preparátů Freundova adjuvans. Ani v tomto případě jsme však nepozorovali u standardně připravených biostimulátorů a Omnadinu vznik precipitinů, na rozdíl od preparátů s obsahem nativních bílkovin, které vyvolávaly pozitivní reakce. Zvýšení hladiny gamaglobulinů po nespecifické stimulaci se projevilo i zvýšenou tvorbou specifických protilátek po

následné aplikaci antigenů. Naše výsledky potvrdily u prasat podobné pozitivní účinky na tvorbu protilátek, jaké zjistili např. u králíků Šuljuma (1956), u koní, skotu a psů Kalašnik (1959) aj. Zvýšená tvorba specifických protilátek se projevila i při experimentální infekci červenkou vepřů. Konkrétní údaje o sledování vlivu biostimulátorů na tvorbu specifických protilátek u prasat považujeme za důležitou pro praxi vzhledem ke kombinované aplikaci biostimulátorů a specifických vakcín v našich chovech.

Vedle účinku na imunobiologické funkce organismu jsme v našich předpokusech i v hlavním pokuse sledovali vliv biostimulátorů na váhové přírůstky u zvířat. Pozitivní i negativní výsledky dosavadních rozsáhlých pokusů v SSSR i jiných zemích jsou diskutovány z mnoha hledisek. V úvahu jsou brány hygienické podmínky, výživa, fyziologický stav zvířat, druhy preparátů i způsob aplikace ap. (Konstantinov a kol. 1964, Ševčík 1964). Jak jsme již uvedli, zjistili jsme v předpokusech pozitivní výsledky při zvyšování váhových přírůstků v chovech s chronickým výskytem infekční bronchopneumonie (obdobně Haladěj 1962, Hladík 1963 aj.), zatímco u zdravých prasat a býků se zvýšení přírůstků neprojevilo (obdobně Jehlička 1965, Radkevič 1962). Také v hlavním exaktním pokuse, do kterého byla zastavena prasata ve čtyřech zcela vyrovnaných skupinách po stránce původu, stáří, průměrné váhy, zdravotního stavu i pohlaví a stimulatory byly aplikovány v optimálních dávkách a zvířata byla ustájena v průměrných hygienických podmínkách a krmena *ad libitum*, nedošlo k zvýšení váhových přírůstků. Na základě těchto výsledků a dalších literárních údajů je možno usoudit, že v našich podmínkách se zvyšování přírůstků projevuje souběžně se zlepšením zdravotního stavu prasat po aplikaci biostimulátorů v chovech s chronickými nákazami. Uplatňuje se tedy především popudově terapeutický účinek preparátů, zvýšení imunobiologické reaktivity organismu, zastavení nebo zeslabení patologických procesů a tím i sekundární zvýšení přírůstků. Z uvedeného vyplývá, že tkáňové preparáty, zejména tkáňová suspenze (Stimul), se mohou v našich chovech uplatnit jako prostředek popudové terapie. Upřesnění indikace pro použití tkáňových biostimulátorů přispěje k jejich skutečnému ekonomickému využití v praxi.

Došlo dne 25. 8. 1967

Za technickou spolupráci děkujeme pracovníkům Biovety n. p. v Ivanovicích na Hané a v Nitře, za statistické hodnocení výsledků Ing. Z. Rothovi.

Literatura

1. BALUN, J., AUGUSTINSKÝ, V., FLOCH, F.: Tkanivové biostimulátory. = „Vet. medicina“, 10, 1965: 49-60
2. DINTER, Z., FORTNER, J.: Ist das Rotlaufbakterium der alleinige Erreger des Schweinerotlaufs? = „Zschr. Inf. Krankh. Haustiere“, 60, 1944: 157-179
3. FILATOV, V. P.: Tkaněvaja terapija. Klin. medicina, 28, 1950: 22-28
4. FILATOV, V. P.: Biogene Stimulatoren. = „Münch.med.Wschr.“, 97, 1955: 1016-1019
5. GLUCHOVA, G. S.: Tkaněvyje preparaty v životnovodstve. = „Vetěrinarija“, 35, 1958: 82
6. GRASSMANN, W., HANNING, K.: Beiträge zur Methodik der Papierelkektrophoretischen Serumanalyse. = „Klin. Wschr.“, 32, 1953: 838

7. HALADEJ, S.: Tkáňové biostimulátory — významná rezerva ve výrobě masa. = „*Náš chov*“, 21, 1962: 664-665
8. HLADÍK, V., KOZÁK, K.: Použití tkáňových biostimulátorů v chovu prasat. = „*Náš chov*“, 4, 1963: 22-26
9. HOŘEJŠÍ, J., SLAVÍK, K.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. *Státní zdrav. nakl. Praha*, 1953: 227
10. ILINSKIJ, E. V.: K voprosu primeneniya tkaněvoj terapiji v chirurgii. = *Vetěrinarija*, 32, 1955: 58-60
11. JEHLÍČKA, L., MARKOVIČ, P.: Tkáňové biostimulátory. = „*Vet. medicína*“, 10, 1965: 625-632
12. KABAT, E. A., MAYER, M. M.: Experimentální imunochemie. *Nakl. ČSAV Praha*, 1965: 120-127
13. KALAŠNIK, I. A.: Tkanina tērapija u vetērinarnij praktici. *Gos. izd. sel'skochozj. lit. USSR, Kijev*, 1963
14. KALAŠNIK, I. A., DOROGAJA, Z. I.: Vlijanije tkaněvych preparátov na reaktivnost organizma životnych. = „*Vetērinarija*“, 36, 6, 1959: 57-60
15. KALMYKOV, G. M.: Primeneniya tkaněvych preparátov pri někotorych zabolevanijach porosjat. = „*Selsk. ch. Severo-zapadnoj zony*“, 3, 1961: 55-56
16. KONSTANTINOV, P., DVORÁK, M., VĚŽNÍK, Z.: Použití tkáňových preparátů podle Filatova u selat a mladého skotu chovaných v nepříznivých podmínkách. = „*Veterinářství*“, 13, 1963: 299-302
17. KOUT, M., MÁJSKÝ, A., HERZOG, P.: Sérologické metody vyšetřovací v imunohematologii. *Státní zdrav. nakl.*, 1964: 54-58, 254
18. KUNSTÝŘ, I., ŠEVČÍK, B.: Biostimulátory a imunita. = „*Imunoprofylaxia*“ II, 1967: 82-85
19. MĚLKA, J.: K fyziologickému mechanismu Filatovy biostimulačské terapie. = „*Čas. lēk. čes.*“ 91, 1952: 1220-1222
20. RADKEVIČ, P. E.: Biostimulátory i primeneniye ich v životnovodstve. = „*Životnovodstvo*“, 24, 1962: 24-32
21. ŠEVČÍK, B.: Příspěvek k použití tkáňových biostimulátorů u prasat. = „*Veterinářství*“, 14, 1964: 260-265
22. ŠEVČÍK, B.: Tkáňové biostimulátory ve veterinární medicíně. „*Studijní informace ÚVTI*“ 3, 1964: 1-44
23. ŠULJUMOVA, E. S. a kol.: Využití tkáňových preparátů ke stimulaci růstu a vývoje mladých zvířat. = „*Sov. zeměděľ.*“ 6, 1956: 721-726
24. Tkaněvyje preparaty v životnovodstve. Materialy naučno-proizvodstvennoj konferencii *Gos. izd. sel'skochozj. lit. USSR, Kijev*, 1962: Sborník referátů
25. VASIL, M.: Naše zkušenosti s tkáňovými biostimulátory. = „*Veterinářství*“, 15, 1965: 535-537
26. ZUBAKINA, A. I., LEONTĚVA, A. A., MATUSIS, Z. E.: Někotoryje reaktivnyje izmeneniya krovi pod vlijanijem tkaněvoj terapii. = „*Bjull. exp. biol. i med.*“ 37, 1954: 27-30.

ШЕВЧИК, Б. (Научно-исследовательский центр ветеринарных медикаментов, Погоржи-Хотоунь, Чехословакия) Действие тканевых биостимуляторов на некоторые иммунологические реакции у свиней. *Вет. мед. (Прага)* 13 (6) : 357-368, 1968.

Производя этот опыт, мы использовали следующие препараты: по Филатову изготовленную суспензию и препарат Стимулизат (Биовета) для сравнения с Омнадином (Гехст). Препараты апплицировали 3 раза подряд в интервалах 10 дней. Через 15 дней после третьей аппликации свиней симультанно вакцинировали адсорбированной вакциной против рожи свиней и вакциной *S. enteritidis* Gärtner. После применения тканевой суспензии и Омнадина произошло значительное повышение количества лейкоцитов ($P < 0,01$), начальное передвижение налево и последующее значительное умножение лимфоцитов ($P < 0,01$). Общее количество белков в кровяной сыворотке не изменилось, после двойного применения тканевой суспензии и Омнадина появилось в белковых фракциях значительное повышение уровня гамма-глобулинов ($P < 0,01$), после третьей аппликации — значительное повышение альбуминов. После применения препаратов не установили образования специфических преципитинов ни при применении вспомогательного вещества Фройнда, между тем как при применении биостимуляторов с нативным белком мы установили положительную преципитацию. Исследуя специфические антитела (*S. enteritidis* G.), мы установили статистически важное ($P < 0,01$) повышение титров в группах, в которых до вакцинации применяли Омнадин и тканевую

супензию. В этих группах наступил полный иммунитет даже при экспериментальном заражении рожей свиней. После применения тканевых стимуляторов не проявилось в течение опыта повышение приростов веса. На основании установленного воздействия тканевых биостимуляторов при тканевой терапии не могут приведенные препараты найти себе применение в наших условиях, особенно в хозяйствах, где имеют место хронические заразы.

тканевые биостимуляторы.

ŠEVČÍK, B. (Research Centre for Veterinary Drugs, Pohoří-Chotouň, Czechoslovakia). *The Effects of Tissue Biostimulators on Certain Immunobiological Reactions in Pigs*. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 357—368, 1968.

In the experiment we applied the following preparations: a suspension prepared according to Filatov and the Stimulyzat (Bioveta) preparation compared with Omnadin (Hoechst). We applied the preparations to pigs repeatedly 3 times in ten days' intervals. 15 days after the third application of the preparations we vaccinated pigs simultaneously with the swine erysipelas vaccine and with the vaccine of *S. enteritidis* Gärtner. After application of the tissue suspension and of Omnadin there occurred a significant rising of the number of leucocytes ($P < 0.01$), an initial shifting to the left, and a later significant propagation of lymphocytes ($P < 0.01$). The total quantity of proteins in the blood serum did not change, in the ratio of the different proteinic fractions there occurred, after two applications of the tissue suspension and of Omnadin, a significant rising of the gamma-globulin level ($P < 0.01$), and after the third application there occurred a significant increasing of albumins. After application of the preparations no forming of specific precipitins was determined, and that not even in the case of application of Freund's adjuvant, whereas in the case of application of biostimulators with native proteins positive precipitation was found. In the investigation of specific antibodies (*S. enteritidis* G.) we found a statistically significant ($P < 0.01$) rising of titres in groups, in which Omnadin and tissue suspension had been applied before the vaccination. In these groups a full immunity could be proved also in the case of an experimental infection with swine erysipelas. In the experiment no increasing of weight gains was found after application of tissue stimulators. On the basis of the ascertained stimulatory-therapeutic effect of tissue biostimulators these preparations may be applied under the conditions of this country especially to herds with an occurrence of chronic infections in sties.

tissue biostimulators.

ŠEVČÍK, B. (Forschungszentrum für Veterinärarzneien, Pohoří-Chotouň, Tschechoslowakei). *Die Wirkung der Zellgewebe-Biostimulatoren auf einige immunobiologische Reaktionen bei Schweinen*. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 357—368, 1968.

Im Versuch haben wir folgende Präparate angewendet: die nach Filatov vorbereitete Suspension und das Präparat Stimulyzat (Bioveta) im Vergleich mit Omnadin (Hoechst). Die Präparate haben wir wiederholt den Schweinen 3 X in zehntägigen Intervallen verabreicht. Nach 15 Tagen nach der dritten Applikation der Präparate vakzinieren wir simultan die Schweine mit der Adsorbat-Rotlaufvaccine und der Vakzine *S. enteritidis* Gärtner. Nach der Applikation der Gewebesuspension und des Omnadins trat eine signifikante Erhöhung der Leukozytenanzahl ($P < 0,01$), eine anfängliche Verschiebung nach links und spätere signifikante Vermehrung der Lymphozyten ($P < 0,01$) ein. Die Gesamteiweißmenge des Blutserums veränderte sich nicht; im Verhältnis der einzelnen Eiweißfraktionen trat nach zwei Applikationen von Gewebesuspension und Omnadin eine signifikante Erhöhung des Gammaglobulin-Niveaus ($P < 0,01$), nach der dritten Applikation eine signifikante Albuminerhöhung ein. Nach der Applikation von Präparaten konnte keine Bildung spezifischer Präzipitine, nicht einmal bei der Anwendung von Freund's Adjuvans festgestellt werden; demgegenüber bei der Applikation von Biostimulatoren mit nativen Eiweißstoffen stellten wir eine positive Präzipitation fest. Bei der Beobachtung der spezifischen Antikörper (*S. enteritidis* G.) stellten wir eine statistisch signifikante ($P < 0,01$) Titererhöhung bei denjenigen Gruppen, bei denen vor der Vakzination das Omnadin und die Gewebesuspension appliziert wurde, fest. Bei diesen Gruppen konnte eine

vollkommene Immunität auch bei der experimentellen Infektion mit Rotlauf nachgewiesen werden. Bei diesem Versuch zeigte sich nach der Applikation von Gewebestimulatoren keine Erhöhung der Gewichtszunahmen. Auf Grund der ermittelten unspezifischen therapeutischen Wirkung der Gewebestimulatoren können diese Präparate bei unseren Bedingungen vor allem in Zuchten mit dem Vorkommen von chronischen Stallseuchen Anwendung finden.

Gewebe-Biostimulatoren.

Adresa autora:

MVDr. Bohumil Ševčík, CSc., Výzkumné středisko pro veterinární léčiva,
Pohoří-Chotouň, p. Jílové u Prahy

MALÉ INFORMACE

● Komparativní onkologie

(autor E. Cotchin, Departement of Pathology, Royal Veterinary College, London, Great Britain)

Vyšetřování o spontánních tumorech u zvířat mohlo by přispět k osvětlení zhoubných tumorů u lidí, zvláště též po sránce epidemiologické. Světová zdravotnická organizace založila komparativní výzkum rakoviny a byla pro něj ustavena mezinárodní referenční centra, a to: pro srovnávací onkologii vojenský Istitut of Pathology, Washington, D. C., pro leukózu Departement of Experimental Veetrinary Medicine, University of Glasgow, pro plicní tumory Veterinary Pathological Institut Zürich, pro kožní nádory Institutu for Animal Pathology München, pro tumory mléčné žlázy a reprodukčního traktu Netherland Cancer Institut Amsterdam, pro tumory nervového systému Veterinary Ambulatory Clinic Berne, pro leukózu a tumory trávicího traktu a jater Departement of Pathology, Royal Veterinary College London.

V diskusi o komparativní onkologii (č. 2 Zpráv kongresu) uvedl Überreiter (Östereich), že pozorovali stav u 820 psů po do až 7½ r. po operaci tumorů. Po dobu 3 roků po operaci se nevyskytli recidivy nebo metastázy, takže lze u psů mluvit o trvalém vyléčení, prošly-li 3 roky. Z 619 případů, u nichž prošla doba 3 r., v 63 případech (10,18 %) se dostavily recidivy a v 80 případech (13 %) metastázy. U mammálních tumorů byly v 10,66 % recidivy a v 15,53 % metastázy. Podle Stürzi-ho (Švýcary) dominují u domácích zvířat primární adenokarcinomy, kdežto epidermoidální a anaplastické tumory (tzv. Reizkarzinome) jsou u zvířat řídké. Domnívá se, že se snad v jejich poměrně dlouhém nose filtrují karcinogenní látky. Histologická klasifikace tumorů u zvířat má sloužit epidemiologickému a etiologickému bádání.

(Podle Zpráv a sdělení XVIII. světového veterinárního kongresu) Nk.

MORFOLOGIE ZMĚN ZPŮSOBENÝCH VELKOU MOTOLICÍ (*Fascioloides magna*, Bassi 1875) U SKOTU

Z. Záhoř, C. Prokš, J. Vítovec

Okresní veterinární zařízení, Písek, Okresní ústav národního zdraví, Písek, Státní veterinární ústav, České Budějovice

ZÁHOŘ, Z., PROKŠ, C., VÍTOVEC, J. (Okresní veterinární zařízení, Písek, okresní ústav národního zdraví, Písek, Státní veterinární ústav, Č. Budějovice.) *Morfologie změn způsobených velkou motolicí (*Fascioloides magna*, Bassi 1875) u skotu*. Vet. Med. (Praha) 13 (6): 369—375, 1968.

V období mezi červnem r. 1965 a říjnem r. 1967 bylo pozorováno 35 případů napadení skotu velkou motolicí (*Fascioloides magna*, Bassi 1875), a to u devatenácti býčků, sedmi jalovic a devíti krav, poražených v oblastních jatkách (Masokombinát) v Písku. Byly zjištěny 4 typy morfologických změn.

1) Čerstvé chodbičky, způsobené exempláři velké motolice, provrtávanými se parenchymem postižených orgánů. V obsahu čerstvých chodbiček byla vždy nalézána vajíčka. 2) Starší chodbičky a pseudocysty, charakterizované pigmentovaným vazivovým opouzdrněním s velmi zřetelnými morfologickými rysy specifického granulonu. V pseudocystách byly obvykle exempláře velké motolice. 3) Pigmentované jizvy. Hrubší jizvy vznikají pravděpodobně zhojením starších chodbiček a pseudocyst. Sítovina jemných, pigmentovaných jizev, vázaných na interstitium by mohla představovat stopu po pronikání motoliček z počátečního období invaze. 4) Hyperplasie regionálních mízních uzlin s pigmentací doprovázena pravidelně kterýmkoliv z ostatních typů změn. V 33ti případech z 35ti popsanych byla postižena játra, ve dvou případech byly postiženy plíce. Popsané případy pocházely z lokalit, kde s lukami a pastvinami sousedí lesní porosty s vysokou zvěří, zamořenou velkou motolicí.

motolichotnost jater a plic; čerstvá a starší chodbička; pseudocysta; černý pigment; hyperplasie mízních uzlin.

■ Výskyt motolice *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) u skotu je znám již od konce minulého století a byl popsán mnoha autory v Severní Americe, která je mateřskou zemí tohoto cizopasnika. Při tom zprávy těchto autorů o morfologických změnách, způsobených motolicí *F. magna* u skotu i jiných zvířat, jsou nečetné a poměrně neúplné (Swales 1935, Olsen 1949, Sinclair 1949).

Promořenost skotu velkou motolicí dosahuje v některých státech v USA vysokého stupně. Tak např. Píman (1942) zjistil u 85 volků, poražených na jatkách v Houstonu, stát Texas, napadená játra v šedesátiosmi případech. Obdobně White (1945) zjistil napadená játra u 86 kusů mladého skotu z celkového množství 123 kusů, starých 8—12 měsíců, poražených na jatkách v San Antonio, stát Texas. Tyto údaje svědčí o tom, že skot v Severní Americe je velmi vnímavý pro motolicí *F. magna*.

V evropských zemích, kam byla *F. magna* zavlečena dovezenými jeleny, byla zatím zjištěna pouze v jediném případě u skotu v Itálii (Garcia 1935). V ostatních evropských státech byla velká motolice popsána pouze u divoce žijících přežvýkavců, u kterých došlo během několika desítek let k značnému rozšíření, takže byly vzneseny oprávněné obavy z možnosti napadení skotu velkou motolicí (Slusarski 1955, Erhardová 1960, Rosický 1963, Záhoř 1965).

V roce 1965 byly zachyceny v ČSSR první dva případy výskytu *F.magna* u skotu a napadení jater touto motolicí bylo v jednom případě potvrzeno na základě histologického vyšetření (Z á h o ř et al. 1965).

MATERIÁL A METODIKA

V tomto sdělení bychom chtěli shrnout především morfologické poznatky ze všech našich dosavadních pozorování.

Od 14. VI. 1965 do 26. X. 1967 jsme při porážkách zvířat (Masokombinát Písek) viděli změny, způsobené velkou motolicí u skotu, pětatřicetkrát. Postižený skot pocházel z dvanácti lokalit (Cerhonice, Cerhonická Obora, Radobytce, Varvažov, Smetanova Lhota, Vrábsko, Mirovice, Ostrovce, Kučěř, Jetětice, Květov, Sobědraž), při čemž v první lokalitě dosahuje promoření skotu podle nálezů na jatcích přibližně 10 %. V této lokalitě bylo souběžně provedeno i koprologické vyšetření 273 kusů skotu.

VÝSLEDKY

Vyšetřením pětatřiceti orgánů skotu, napadeného velkou motolicí, zjistili jsme čtyři základní typy morfologických změn, pro které užíváme deskriptivního označení čerstvá chodbička, starší chodbička a pseudocysta, pigmentované jizvy a konečně hyperplasie regionálních mízních uzlin s pigmentací.

1. ČERSTVÁ CHODBIČKA

Má nepravidelně klikatý průběh, je vyplněna tekutou krví nebo krevní sraženinou vzhledu posmrtného kruoru; průřez je oválný, rozměrů asi 7 až 10 × 4 až 6 mm. Na konci chodbičky jsme obvykle našli exemplář velké motolice, stočený do kornoutu (obr. 1-A), přísavkami směrem dopředu. Jen ve dvou případech se nám v čerstvé chodbičce nepodařilo motolici zjistit. Začátek chodbičky je charakterizován pozvolným narůstáním průsvitu v úseku 2 až 3 cm, do shora uvedených rozměrů. V okolí chodbičky je vždy více nebo méně zřetelné nakupení jemných pigmentovaných jizev v interstitiu. Čerstvou chodbičku jsme našli v osmnácti z třicetipěti případů.

Mikroskopicky je lumen chodbičky vyplněno krví, buněčnou drtí nebo v těsném okolí motolice bezbuněčnou bílkovinou (obr. 2). Červené krvinky v luminu vykazují různý stupeň regresivních změn od sraštění až po úplný rozpad. Vždy je zde v různém množství černý pigment, uložený buď volně nebo fagocytovaný v leukocytech (obr. 3).

V luminu čerstvé chodbičky jsme vždy našli vajíčka motolice, někdy ve větších shlucích (obr. 3). Stěnu chodbičky tvoří jaterní tkáň, na které jsou vidět známky poškození v podobě lehkých dystrofických změn jaterních buněk až ložisek nekrózy. Zánětlivá infiltrace je z lymfocytů a neutrofilních leukocytů. Zprvu je celkem nevýrazná, ale později, s nástupem proliferativních změn ve stěně chodbičky, nabývá na intenzitě.

2. STARŠÍ CHODBIČKA A PSEUDOCYSTY

Jde o duté útvary, charakterizované vazivovým opouzdřením, jež je různě silné (0,5 až 4–5 mm). Obsah tvoří šedočerná až černá, někdy nazelenalá beztvářá hmota, tekuté nebo kašovitě konzistence. Pseudocysty (obr. 1-B) mají

průměr 3 až 6 cm; je-li jich více, jsou navzájem spojeny vazivově opouzdřenými chodbičkami. V některých případech bylo zřejmé, že pseudocysty vlastně představují lokální rozšíření starší chodbičky. V dosavadních pozorováních se nám nepodařilo prokázat komunikaci pseudocyst nebo starších chodbiček s jinými dutými strukturami jater (žlučovody), ani nastříkováním. V pseudocystách jsme našli, kromě případu 19, jeden nebo více exemplářů velké motolice. Starší chodbičky a pseudocysty jsme pozorovali ve dvanácti z třicetipěti případů, z toho jedenkrát v plicích, bez současného napadení jiného orgánu.

Histologicky se starší chodbičky a pseudocysty vyznačují specifickým lemem z epitheloidních buněk (obr. 4-A, 5), jež obklopují nekrotický obsah těchto dutin, a specifickými granulomy (obr. 6), ve kterých epitheloidní buňky lemuji ložisko nekrózy, prostoupené leukocytárním exsudátem s větší nebo menší účastí eosinofilů. Buňky epitheloidního lemu a granulomů většinou obsahují ve značném množství zrněčka fagocytovaného pigmentu. V jizevnatém, zánětlivě infiltrovaném vazivu, jež tyto struktury obklopuje, je vždy velké množství pigmentu a často ložisko dystrofické kalcifikace (obr. 4-B). Pseudocysty v plicích (případ č. 7 a č. 20) se lišily od pseudocyst v játrech větší účastí až naprostou převahou eosinofilních leukocytů v zánětlivých infiltrátech.

3. PIGMENTOVANÉ JIZVY

Prosvítají pod Glissonským pouzdrém a jsou viditelné na řezné ploše jater jako černá, síťovitá a pruhovitá kresba, nebo jako plošné pigmentace a průměru až 15 mm. V některých pozorováních byly takové pigmentace i na parietálním peritoneu a na bránici. Pigmentované jizvy jsme v játrech našli ve všech případech, kromě pozorování č. 3 a č. 7.

Mikroskopicky se skládají z kolagenního vaziva a obsahují velká kvantita černého, hrudkovitého pigmentu, většinou fagocytovaného v hystiocytech. Některé jizvy jsou poměrně široké a obsahují vajíčka a jejich zbytky, zčásti za přítomnosti obrovskobuněčných granulomů z cizích těles (případ č. 2 — Záhoř et al. 1965). Jiné jsou jemné, pruhovité a síťovité, zřejmě lokalizované v interstitiu. Zdá se, že sledují průběh lymfatických cév (obr. 7-A). Ložiskovitě jsou v nich poměrně husté, zánětlivé infiltráty z lymfocytů (obr. 8). Dále jsou zde porůznu roztroušené bizarní útvary, jež se skládají z transparentní, hyalinní, světle hnědé hmoty, jež neotáčí rovinu polarizovaného světla a je ložiskovitě pigmentovaná. Některé z těchto útvarů obsahují zvláštní struktury, jež dovolují předpokládat jejich parazitární původ, jiné mají charakter vícebuněčných elementů, které se skládají z velmi světlé, zrnité plazmy a obsahují kulatá, světlá buněčná jádra s řídkou chromatinovou sítí (obr. 9). O bližší analýzu těchto útvarů jsme se nepokusili.

4. HYPERPLASIE MÍZNÍCH UZLIN S PIGMENTACÍ

Regionální mizní uzliny orgánů se změnami, vyvolanými velkou motolicí, byly vždy mírně nebo výrazněji hyperplastické a velmi zřetelně ložiskovitě pigmentované (obr. 1-C). Ve dvacetiosmi případech byly takto změněny uzliny jaterního hilu a ve dvou případech (pozorování č. 7 a 20) byly také pigmentované mizní uzliny plic.

Mikroskopicky jde o intracelulární ukládání černého, hrudkovitého pigmentu v retikuloendothelu splavů kůry i dřene uzlin (obr. 7-B). Ve splavech se tu a tam najdou parazitární útvary s pigmentací, někdy složené jen z hyalinní, transparentní světle hnědé hmoty, jindy se zachovalými buněčnými strukturami

a rozeznatelnými jádry (obr. 9). Takové útvary jsme při dostatečně velkém počtu vyšetřených řezů zastihli ve všech vyšetřených hyperplastických pigmentovaných uzlinách.

DISKUSE

Pro rozpoznání změn, způsobených velkou motolící, je rozhodující nález charakteristického pigmentu. Jde o černý, hrudkovitý pigment, rozpustný v alkáliích a neobsahující železo; vyskytuje se jednak v zažívacím traktu motolice, jednak v lézích, touto motolící způsobených. Campbell (1960) jej spektroskopicky určil jako sloučeninu hemu — lze tedy předpokládat, že je to pigment hematogenní — a vyslovil domněnku, že právě tento pigment představuje chemickou škodlivinu, která po jistou dobu po průchodu parazita dává lézím progresivní charakter. Domníváme se, že nálezy v našem materiálu, především chybění zánětlivé reakce na pigment v uzlinách a jizvách a dále zjištění, že se stářím pigmentu přibývá, svědčí spíše pro jiný výklad: že totiž pigment vzniká jako vedlejší produkt působení jiné chemické škodliviny na tkáň v místech, kde prošla nebo setrvává *F. magna*. Lze říci, že chemické produkty *F. magna* (na rozdíl od *F. hepatica*) mají u skotu výrazně alergizující účinek. Ukazuje na to, vedle účasti eosinofilních leukocytů v zánětlivých infiltrátech, i vysloveně specifický ráz lézí středního stáří (starší chodbičky a pseudocysty).

Pro opouzdřené dutiny, obsahující velkou motolici, se v písemnictví užívá názvu „cysty“ (Swales 1935). Abychom se vyhnuli této nepřenosti (dutiny nemají vlastní stěnu), používáme popisného označení „pseudocysta“.

Čerstvé chodbičky jsou rovněž typické pro napadení velkou motolící. Lze ztěžší předpokládat, že by mohly vznikat jinak, než provrtáváním motolice jaterním parenchymem. Protože je při tom motolice stočena do „kornoutu“, je jejich průsvit menší, než by se dalo teoreticky očekávat podle velikosti dospělého exempláře. Provrtávající se motolice je pohlavně dospělá, pro což svědčí konstantní nález vajíček v luminu čerstvých chodbiček. Lze si ztěžka představit, že by při tak rozsáhlé destrukci parenchymu jater nedocházelo k narušení drobných žlučovodů a k hemobilii. Domníváme se, že tímto způsobem by se část vajíček mohla dočasně vylučovat navenek. Tento předpoklad by se částečně shodoval s údaji Sinitsina (1933), který nalezl vajíčka ve střevech a vyslovil domněnku, že jsou vajíčka přenášena krevní cestou. Příímý důkaz obnovování parazitárního cyklu u skotu, např. tím, že by se našla vajíčka *F. magna* v trusu, zatím podán nebyl (Krull 1935, Swales 1935, Olsen 1949, Campbell, Todd 1954). Podobně všechna naše koprologická vyšetření skotu z lokalit *F. magna* byla až dosud negativní. Nepodařilo se nám prokázat komunikaci mezi lumenem vazivově opouzdřených pseudocyst a žlučovými cestami. Stádium „starších chodbiček a pseudocyst“ bychom proto u skotu považovali spíše za fázi hojení procesu, ve které motolice v hostiteli pasivně přežívá, než za stav pravého parazitismu, při kterém by docházelo k masivnímu vylučování vajíček a obnovování parazitárního cyklu.

Pigmentované jizvy by mohly mít dvojí rozdílnou patogenезu. Domníváme se, že široké jizvy se zbytky vajíček vznikají zhojením chodbiček a představují konečnou fázi změn. Naproti tomu pro jemné, síťovité jizvy v interstitiu se nám nezdá tento výklad pravděpodobný. Tyto jemné jizvy by mohly vznikat primární zánětlivou proliferací v interstitiu, kudy probíhají lymfatické cévy, odvádějící z motolice poškozených míst pigment a metabolické produkty motolice. Částečným důkazem této domněnky by byl i konstantní nález pigmentu v regionálních mizních uzlinách, svědčící o tom, že je skutečně pigment přenášen lymfou. Dále se domníváme, že je pro přítomnost pigmentu v jemných jizvách a mizních uzlinách možný i jiný výklad: že tudy totiž prošly malé motolice, snad zčásti lymfatickými cévami proti proudu lymfy, zanechaly za sebou typický pigment a v místě jejich průchodu došlo k zjizvení.

Infekce zvířete metacerkáriemi, jak je všeobecně známo, se děje tak, že se do hostitele dostane s potravou větší množství metacerkárií, většina motoliček z nich

vylišnutých zahyne a několika jedincům se podaří dosáhnout pohlavní zralosti. Světelně, transparentní útvary v jizvách a regionálních mizních uzlinách by pak mohly být regresivně změněné zbytky odumřelých motoliček. Je-li tomu tak, pak by některá pozorování naší sestavy (č. 6, 16, 17, 18, 28, 29, 32) představovala abortivní infekci, při které nedošlo k vývoji *F. magna* až do dospělosti. Jiný možný výklad, že totiž popsané útvary v jizvách a mizních uzlinách jsou vajíčka, zanášena lymfou, neb jejich zbytky, se nám zdá méně pravděpodobný.

Nález změn, způsobených motolicí *F. magna*, v plicích je podle některých autorů ojedinělý. Swales (1935) uvádí, že nenalezl jediného případu motolichnatosti plic. Cituje pouze nálezy jiných autorů (Curtice 1897, Murray 1882), kteří popsalí několik případů napadení plic. Tento výskyt je jím označen jako nepravidelná migrace, způsobená výskytem v nenormálním hostiteli. Dále uvádí, že nenalezl tohoto cizopasnika ani u těžce napadeného jelena wapiti, nebo jiných přežvýkavců, či hlodavců, ačkoliv plicní tkáň byla vždy prohledána s velkou pečlivostí. Opakem těchto údajů je naše zjištění dvou případů motolichnatosti plic z třicetipěti výskytů *F. magna* u skotu a jednoho případu motolichnatosti plic u pitvané uhynulé srny. Domníváme se, že lze tento nález srovnat a zdůvodnit s podobnými nálezy motolice jaterní, *F. hepatica*, v plicích skotu a jiných přežvýkavců.

Domníváme se, že morfologické změny, způsobené velkou motolicí u skotu jsou dostatečně vyhraněné, aby dovolovaly jednoznačnou diagnózu při porážce nebo uhynutí zvířete. Běžné rozpoznání invaze motolicí *Fascioloides magna* na jatcích by podle našeho názoru mohlo podstatně přispět k racionálnímu řízení preventivních zásahů proti tomuto druhu motolichnatosti.

Došlo dne 29. 11. 1967

Literatura

1. CABELL W. C., TODD A. C.: Natural infections of *Fascioloides magna* in Wisconsin sheep. = „*J. Parasit.*“ 40 : 100, 1954.
2. CABELL W. C.: Nature and possible significance of the pigment in fascioloidiasis. = „*J. Parasit.*“ 46 : 769-775, 1960.
3. ERHARDOVÁ B.: Vývojový cyklus motolice obrovské *Fasciola magna* v podmínkách ČSSR. = „*Zoologické listy*“ 10 : 9-18, 1961.
4. GÁRZIA G.: Un caso di distomatosi epatica da *Distomum magnum* (Bassi, 1875) nel bovino. = „*Nuovo Ercolani*“, 40 : 126-132, 1935 (cit. Slusarski, 1955).
5. KRULL W. H.: Experiments with *Fascioloides magna* involving the final host. = „*North American Veterinarian*“, 16 : 22-28, 1935.
6. OLSEN O. W.: White-tailed deer as a reservoir host of the large American liver fluke. = „*Veterinary Medicine*“, 44 : 126-30, 1949.
7. PIGMAN E. G.: Personal communication, Oct. 21, 1942 (cit. Olsen, 1949).
8. ROSICKÝ B.: Types of animal migrations and influence on natural foci of diseases, *Symposium o teoretických otázkách přírodní ohniskovosti nákaz*, Praha, 26.-29. 11. 1963.
9. SINCLAIR L. R.: Observations on liver flukes in cattle. = „*Veterinary Medicine*“, 44, 2 : 26-30, 1949.
10. SINITSIN D. F.: Studien über die Phylogenie der Trematoden. VI. The life histories of some American liver flukes. = „*Z. Parasit.*“, 6, 2 : 170-191, 1933.
11. SLUSARSKI W.: Studia nad europejskimi przedstawicielami przywry *Fasciola magna* (Bassi, 1875) Stile, 1894. = „*Acta parasit. Polonica*“, 3 : 1-59, 1955.
12. SWALES W. E.: The live cycle of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) the large liver fluke of ruminants in Canada. With observation on the bionomics of the larval stages and the intermediate hosts, pathology of *Fascioloides magna*, and control measures. = „*Can. J. Research*“, 12 : 177-215, 1935.
13. WHITE B.: Personal communication, Spt. 25, 1945 (cit. Olsen, 1949).

14. ZÁHOŘ Z.: Výskyt velké motolice (*Fascioloides magna*, Bassi 1875) u srnčí zvěře. = „*Veterinářství*“, 15 : 322-324, 1965.
15. ZÁHOŘ Z., PROKŠ C., VÍTOVEC J.: Nález vajíček motolice *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) a fascioloidózních změn v játrech skotu. = „*Veter. medicina*“, 11, 6 : 397-402, 1966.

ЗАГОРЖ, З., ПРОКШ, Ц., ВИТОВЕЦ, Й. (Районный ветотдел, Писек, Районный институт народного здравоохранения, Писек, Государственный ветеринарный институт, огд. гистологии, Ч. Будейовице, Чехословакия). Морфология изменений, вызванных фасциолой (*Fascioloides magna*, Bassi 1875) у крупного рогатого скота. Вет. мед. (Прага) 13 (6) : 369-375, 1968.

С июня 1965 г. по октябрь 1967 г. исследовали 35 случаев поражения крупного рогатого скота *Fascioloides magna*, Bassi 1875. Это было 19 бычков, 7 телок и 9 коров, убитых в областной бойне (мясокомбинат) в гор. Писек. Установили 4 типа морфологических изменений: 1. Непосредственно сделанные ходы, вызванные экземплярами этого паразита, пробуравливающимися через паренхиму пораженных органов. В содержимом этих ходов всегда найдены яйца. 2. Более старые ходы и псевдоцисты, характеризованные пигментированной, связной капсулой с очень выразительными морфологическими признаками специфической грануломы. В псевдоцистах обыкновенно бывают экземпляры вышеприведенного паразита. 3. Пигментированные язвочки. Более грубые язвочки возникают вероятно излечением ходов, имевших здесь раньше место, и псевдоцист. Ткань тонких, пигментированных язвочек, связывающихся с межклеточной тканью, могла бы представлять собой след проникновения молодых трематод в начальной стадии инвазии. 4. Гиперплазия региональных лимфатических узлов с пигментацией сопровождала регулярно любой из остальных типов изменений. В 33 случаях из 35 оказалась пораженной печень, в двух случаях легкие. Описанные случаи появились в местностях, в которых с лугами и пастбищами стояли в соседстве леса с высокой дичью, пораженной *Fascioloides magna*, Bassi 1875.

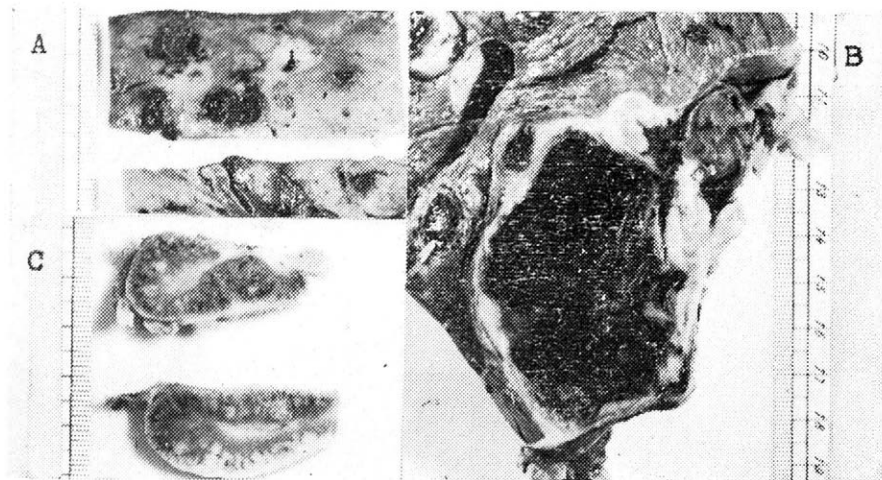
трематодозы печени и легких; непосредственно и раньше пробуравленные ходы; псевдоциста; черный пигмент; гиперплазия лимфатических узлов.

ZÁHOŘ, Z., PROKŠ, C., VÍTOVEC, J. (District Veterinary Establishment, Písek, District Institute of National Health, Písek, State Veterinary Institute, České Budějovice, Czechoslovakia). *The Morphology of Changes Caused by Fascioloides magna, Bassi 1875 in Cattle*. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 369—375, 1968.

In the period between June 1965 and October 1967 35 cases of attacking of cattle by *Fascioloides magna*, (Bassi 1875) were observed, i. e. of 19 bulls, 7 heifers, and nine cows killed at the regional slaughter-house (meat-combine) at Písek. Four types of morphological changes were recorded. 1) Fresh canals caused by specimens of the large fluke boring through the parenchyma of the affected organs. In the contents of fresh canals eggs were always found. 2) Older canals and pseudocysts characterized by pigmented tissue casing with very distinctive morphological features of specific granuloma. In the pseudocysts as a rule specimens of the large fluke were found. 3) Pigmented scars. Coarser scars probably result from the healing of older canals and pseudocysts. The network of fine pigmented scars fixed to the interstice might be a trace after the penetration of flukes at the initial stage of the invasion. 4) Hyperplasia of regional lymphatic nodes with pigmentation regularly accompanied any of the other types of changes. In 33 out of the 35 described cases the livers were affected, in two cases the lungs were affected. The described cases had come from localities where meadows and pastures bordered on forests with deer, which was infected with the large fluke.

fluke infection of livers and lungs; fresh and older canals; pseudocyst; black pigment; hyperplasia of lymphatic nodes.

ZÁHOŘ, Z., PROKŠ, C., VÍTOVEC, J. (Kreis- Veterinäreinrichtung, Písek, Kreis-institut für Volksgesundheit, Písek, Staats-Veterinärinstitut, České Budějovice, Tschechoslowakei). *Morphologie der Veränderungen, die durch den Großen Leberegel*



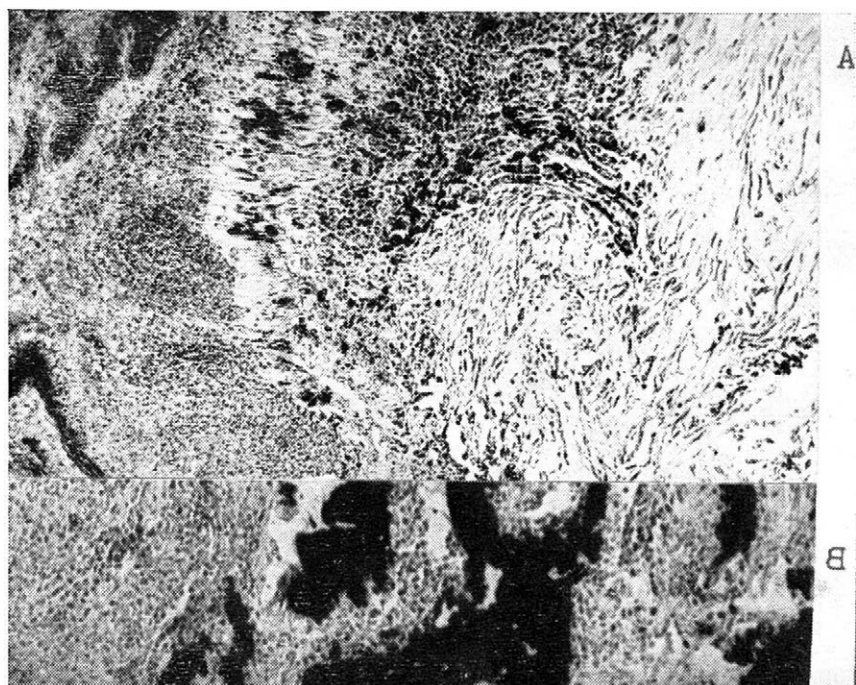
Obr. 1. A — Průřez fixovanými játry s třemi čerstvými chodbičkami. V jedné z nich (vlevo nahoře) je velká motolice. B — Průřez pseudocystou, jež je charakterizována vazivovým opouzdřením a černou pigmentací. Vlevo nahoře vazivově ztlustělý žlučovod (změny způsobené motolicí jaterní). C — Hyperplastické mizní uzliny jaterního hilu s ložisky černé pigmentace v kůře.



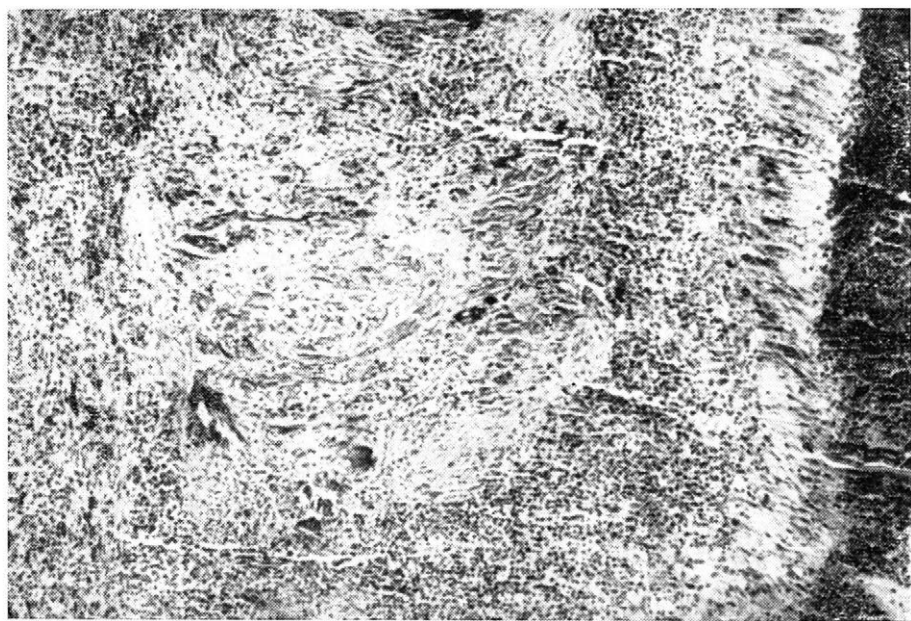
Obr. 2. Frontální průřez velkou motolicí v čerstvé chodbičce. V okolí motolice jsou erythrocyty, leukocyty a bílkovina. V zaživacím traktu parazita typický pigment. H. E., 99X.



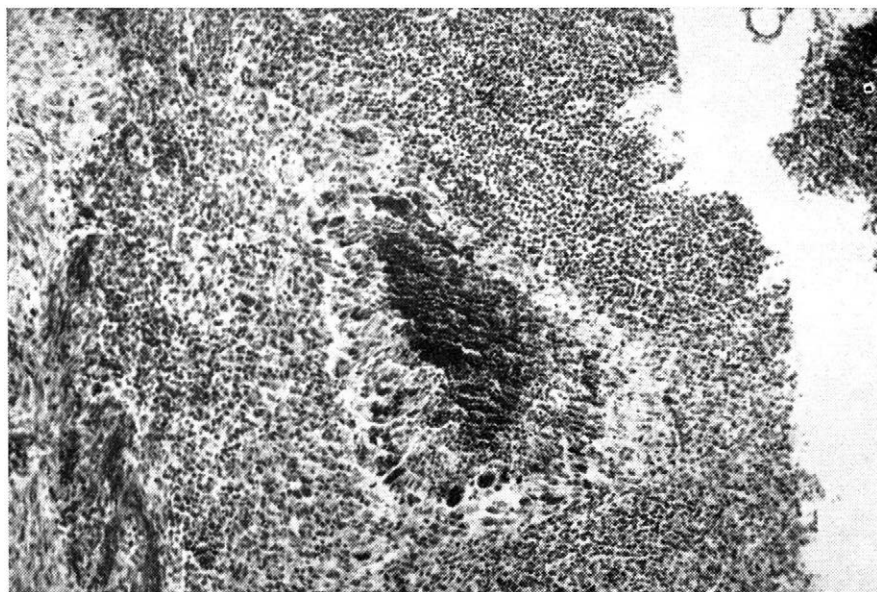
Obr. 3. Vajíčka velké motolice v luminu čerstvé chodbičky. Vpravo dole leukocyty s fagocytovaným pigmentem. H. E., 99X.



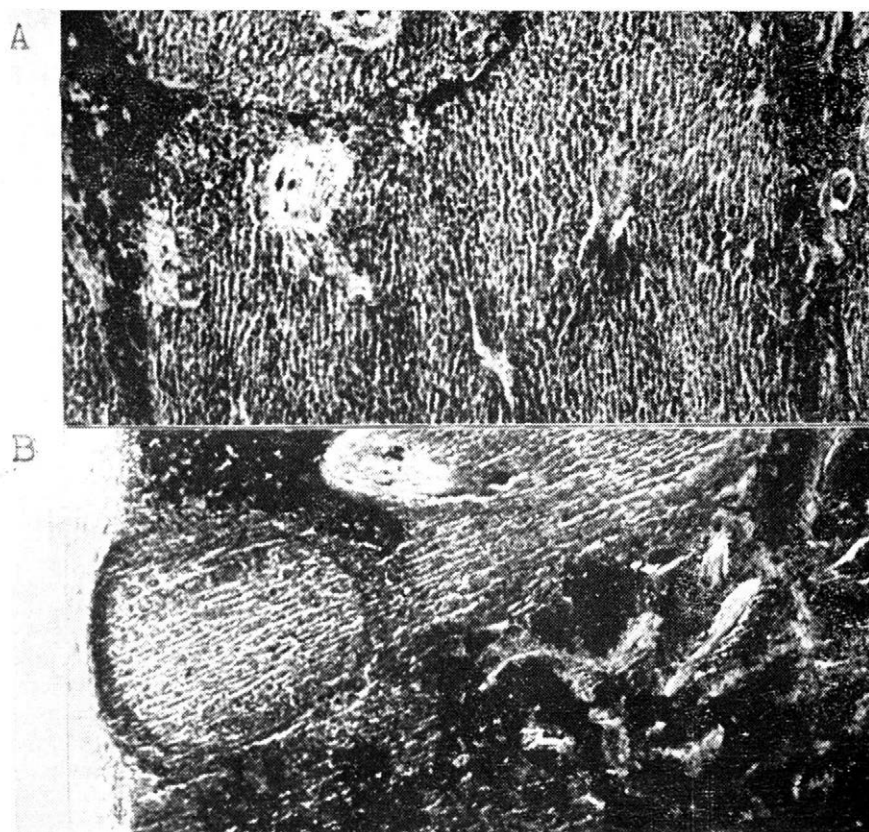
Obr. 4. A — Vazivová stěna „starší chodbičky“ s lemem epitheloidních buněk, který obklopuje nekrotický obsah kanálků (vpravo), jednak v epitheloidních buňkách a vazivu (uprostřed a vlevo). H. E., 100X.
B — Dystrofická kalcifikace ve stěně pseudocysty. Kossa, 92X.



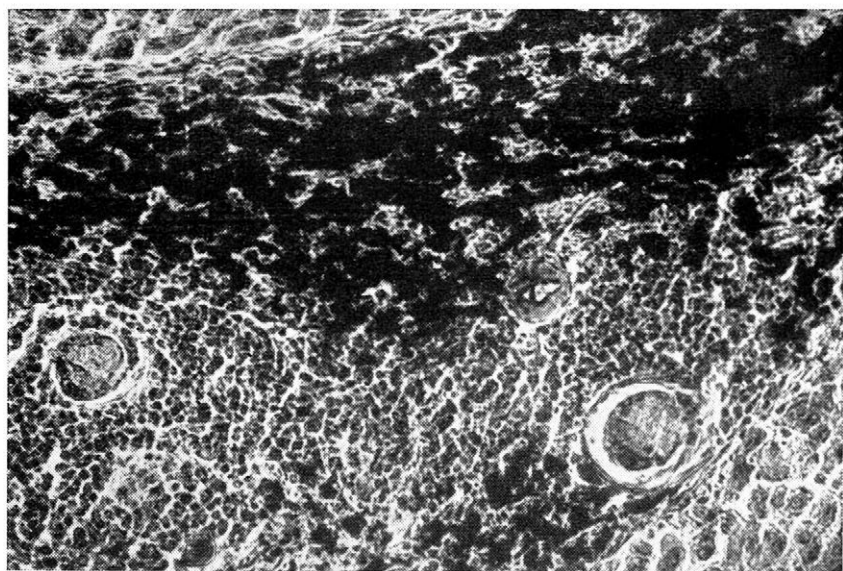
Obr. 5. Stěna „pseudocysty“ s lemem epitheloidních buněk (vpravo) a s lymfocytární zánětlivou infiltrací. H. E. 99X.



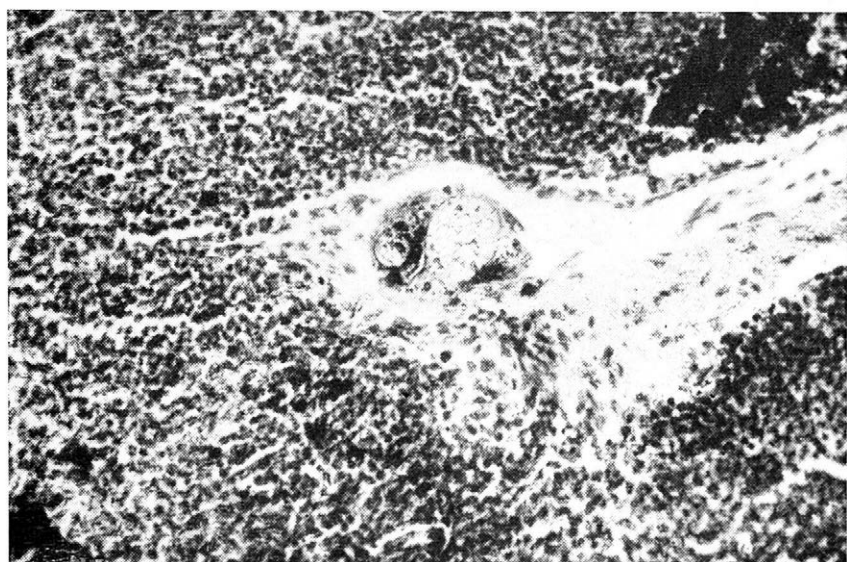
Obr. 6. Epitheloidní specifický granulom ve stěně pseudocysty. H. E. 99X.



Obr. 7. A — Pružovité, pigmentované jizvy v játrech. H. E., 56X.
B — Pigmentace v mízní uzlině jaterního hilu. H. E., 56X.



Obr. 8. Tři „parazitární útvary“ v pigmentované jizvě v játrech. H. E., 289X.



Obr. 9. Pigmentovaný „parazitární útvar“ ve splavu mízní uzliny. H. E., 289X.

(*Fascioloides magna*, Bassi 1875) beim Rind verursacht werden. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 369—375, 1968.

Im Zeitraum zwischen dem Juni des Jahres 1965 und Oktober 1967 wurden 37 Fälle des Befalles des Rindes durch den Großen Leberegel (*Fascioloides magna*, Bassi 1875) beobachtet, und zwar bei 19 Jungbullen, bei 7 Färsen und bei 9 Kühen, die in den Kreisschlachthäusern (Fleischkombinat) in Písek geschlachtet wurden. Es wurden 4 Typen der morphologischen Veränderungen festgestellt. 1) Frische Gängchen, die durch die Exemplare des Großen Leberegels verursacht werden, die sich durch das Parenchym der befallenen Organe durchbohren. Im Inhalt der frischen Gängchen wurden stets Eier gefunden. 2) Ältere Gängchen und Pseudozysten, die durch die pigmentierte Bindegewebe-Einkapselung mit sehr deutlichen morphologischen Merkmalen des spezifischen Granuloms charakterisiert werden. In den Pseudozysten waren gewöhnlich Exemplare des Großen Leberegels vorhanden. 3) Pigmentierte Narben. Größere Narben entstehen wahrscheinlich durch die Heilung der älteren Gängchen und Pseudozysten. Das Netzgewebe der feinen pigmentierten Narben, die an das Interstitium angeschlossen sind, könnte eine Spur nach der Durchdringung der Leberegel aus dem beginnenden Zeitraum der Invasion vorstellen. 4) Die Hyperplasie der regionalen Lymphknoten mit Pigmentierung begleitete regelmäßig jedwede von den übrigen Typen der Veränderungen. In 33 Fällen von 35 beschriebenen wurde die Leber, in zwei Fällen die Lunge befallen. Die beschriebenen Fälle stammten aus den Lokalitäten, wo mit den Wiesen und Weiden die Forstbestände mit Hochwild, das durch den Großen Leberegel verseucht ist, grenzen. Leberegelinfektion der Leber und Lungen; frische und ältere Gängchen; Pseudozyste; schwarzes Pigment; Lymphknotenhyperplasie.

Adresy autorů:

MVDr. Zdeněk Z á h o ř, Okresní veterinární zařízení, Písek

Vedoucí pracoviště: MVDr. Jiří Kofroň

MUDr. Ctirad P r o k š, CSc., primář pathologicko-anatomického odd., Okresní ústav národního zdraví, Písek

MVDr. Jiří V í t o v e c, Státní veterinární ústav, odd. histologie, České Budějovice

Vedoucí pracoviště: MVDr. Otta Vrbický

● **Vliv zkrácené doby kojení u prasnic na jejich zdraví a plodnost**

Na podkladě čtyřletých pozorování v zemědělském výrobním družstvu „Pionier“ nedaleko Lipska (NDR) bylo zjištěno, že raný odstav selat nemá na zdraví jejich matek žádný vliv. Jejich mléčné žlázy přestaly fungovat už 2., nejpozději 5. dne po odstavení selat. Chuť k žrádlu i ostatní ukazatelé chování prasnic byly normální.

Z 55 prasnic, od kterých byla odstavena selata ve stáří od 10 do 49 dnů bylo 32 (tj. 58,2 %) zapuštěno a oplodněno již v prvním týdnu potom, 10 prasnic (tj. 18,2 %) ve druhém týdnu, 3 (tj. 5,5 %) ve čtvrtém týdnu, 6 (tj. 10,9 %) v šestém týdnu, 3 (tj. 5,5 %) v sedmém týdnu a 1 prasnice (tj. 1,7 %) 67. dne po odstavení selat. U prasnic, od nichž byla selata odstavena 10.—19. dne po oprášení, činilo období mezi odstavem a dalším zapuštěním průměrně 34 dnů. U 12 prasnic z 15, jejichž selata byla odstavena ve čtvrtém týdnu života, se dostavila říje během 10 dnů po odstavu. Období mezi odstavem a zapuštěním u těchto 15 prasnic činilo průměrně 12,2 dne. U 22 prasnic s odstavem selat v 5. týdnu bylo toto období 12,7 dne.

Do jaké míry se raný odstav a brzké další zapuštění projevují na velikost následujícího vrhu, je obtížné přesně říci, protože se přitom může uplatnit i vliv jiných faktorů, jako například doba zapuštění, stav vyživenosti a tělesná kondice prasnic vůbec, ale i oplodňující schopnost kance aj. Při prováděných pozorováních však žádné nepříznivé zjevy zatím pozorovány nebyly.

(Podle časop. Tierzucht, NDR, r. 1967, č. 4, str. 192-193, zpracoval Dr. Stanislav Mudra)

● **Salmonely v syrovém mléku**

Při vyšetřování 353 vzorků syrového mléka dodávaného do mlékárny a 215 vzorků syrového mléka plněného v zemědělském závodu v Severním Irsku byl ve 2 vzorcích mléka plněného do láhví zjištěn výskyt Salmonelly dublin. Při pátrání po zdroji infekce bylo zjištěno, že jedna kráva vylučovala salmonely ve výkalech a dále že se salmonely téhož typu nacházely též na omytém strukovém násadci. U žádné krávy nebylo zjištěno vylučování salmonel mlékem.

(Autor Murray, J. G. — Zprávy XVII. mezinárodního mlékařského kongresu).
Nk.

● **Enterokoky — zjišťování v zahřátém mléku**

Mnohá živná prostředí pro selektivní průkaz enterokoků tlumí růst buněk, které přežívají pasteraci mléka. Používání takových živných půd může vést k falešnému posouzení hygienické jakosti mléka.

(Autor Nelson, F. E. — Zprávy XVII. mezinárodního mlékař. kongresu).
Nk.

● **Charakteristika stafylokokových kmenů izolovaných z různých zdrojů**

Sovětská výzkumnice G. P. Šamanová uvádí v níže uvedeném časopise, že z 558 kmenů stafylokoků bylo prokázáno patogenních 122 (tj. 21,9 %). Základním zdrojem infekce mléka bylo zánětlivě změněné vmeno krav. Nedostatečně čištěné a dezinfikované dojící přístroje predisponují infekci mléka stafylokoky během jeho získávání. Ke kontaminaci dojících přístrojů dochází s povrchu vemene, s rukou dojíčů a z podestýlky. Byla potvrzena možnost používat k průkazu dermonekrotické reakce bílých myší místo králíků. Infekční dávka 0,1 ml 24hodinové suspenze obsahující 29 zárodků, aplikované v bederní oblasti úplně stačí pro vznik reakce.

(Podle sověť. časopisu Veterinarija, r. 1967, č. 3, zprac. Dr. Stan. Mudra)

PROCES PRENIKANIA INVÁZNYCH LARIEV *Bunostomum phlebotomum* (Railliet, 1900) DO TELA HOSTITEĽA

J. Pačenovský, M. Brezanská

Katedra veterinárskej prevencie VŠP, Nitra

PAČENOVSKÝ, J., BREZANSKÁ, M. (Katedra veterinárskej prevencie VŠP, Nitra.) *Proces prenikania inváznych lariev Bunostomum phlebotomum* (Railliet, 1900) do tela hostiteľa. Vet. Med. (Praha) 13 (6): 377—383, 1968.

V práci sme študovali otázky aktívneho a pasívneho prenikania inváznych lariev *Bunostomum phlebotomum* do hovädzieho dobytká a rýchlosť prenikania týchto lariev cez kožu pri perkutánnej invázii. Pri štúdiu sme použili dve skupiny zvierat po 5 ks pokusných a 3 ks kontrolných. Výsledky týchto pokusov boli overované helmintoovoskopickými vyšetreniami a pitevnou analýzou. Perkutánna invázia bola sledovaná a zisťovaná histologicky. Na základe dosiahnutých výsledkov našich experimentov vyplývajú tieto poznatky: 1. Experimentálna invázia helmintami *Bunostomum phlebotomum* sa u pokusných zvierat — hovädzieho dobytká podarilo ako perorálnou, tak aj perkutánnou cestou cez neporušenú kožu. Najvhodnejší spôsob invadovania je perorálny spôsob pri pití vody znečistenej larvami a perkutánnu prevedený priložením inváznych lariev na kožu zvieraťa. Usudzujeme, že v prírode prebieha invadovanie bunostomami oboma spôsobmi približne v rovnakom pomere. 2. Larvy prenikajú aktívne kožou hostiteľa. Cez epidermis prenikajú veľmi rýchlo, pretože za 15 min. po invázii sa nachádzajú v kóriu. Po dvoch hodinách pravdepodobne opúšťajú kožu hostiteľa krvnými cievami a sú pasívne krvou zanášané do hlbších orgánov.

hovádzí dobytok; invázne choroby; *Bunostomum phlebotomum*; proces invázie.

■ Z pomedzi gastrointestinálnych nematodóz hovädzieho dobytká zvlášť závažným parazitom je hematofágnym nematód *Bunostomum phlebotomum*. Z epizootologického hľadiska je dôležité poznať okrem špecifity parazita aj cesty prenikania inváznych lariev do tela hostiteľa.

Štúdie týkajúce sa špeciálne problematiky bunostomózy u hovädzieho dobytká nie sú rozsiahle. Málo sú rozpracované otázky procesu invázie. Prvými, ktorí sa touto problematikou zaoberali, boli Conrad a Barnatte (cit. ex Sprent 1946). Uvedení autori boli tej mienky, že proces invázie sa deje perorálnou cestou pri požívaní potravy potriesnutej trusom. Podobnej mienky bol aj Schwartz (1924), ktorému sa nepodarilo perkutánnou cestou invadovať laboratórne zvieratá, ani pozorovať prenikanie inváznych lariev cez kožu, ktorá bola histologicky spracovaná. Mayhem (1939) naproti tomu spozoroval, že u teľata opatreného náhubkom došlo k invázii bunostomami. Sprent (1946) invadoval 6 teliat perkutánnou cestou. Autor na základe týchto výsledkov tvrdí, že invázne larvy môžu vniknúť aj do kože.

Cieľom nášho štúdia bolo ujednotiť rozdielnosť názorov citovaných autorov.

MATERIÁL A METODIKA

Pri experimentálnom sledovaní aktívneho prenikania inváznych lariev *Bunostomum phlebotomum* do hovädzieho dobytká sme použili celkom 10 pokusných zvierat a 6 ks slúžilo ako kontrola. Zvieratá boli rozdelené do dvoch sku-

pín po 5 pokusných a 3 kontrolných zvierat. Pokus u prvej skupiny bol prevedený v jarnom, u druhej skupiny v jesennom období. Vybrané zvieratá — jalovice — boli slovenského strakatého plemena, v dobrom výživnom stave, priemernej váhy 200—225 kg. Pred pokusom bol trus u všetkých zvierat trikrát ovoskopicky vyšetrený na vajíčka helmintov. Pretože výsledky boli negatívne, zvieratá boli zaradené do pokusu a kontroly.

Spôsoby invadovania u oboch skupín boli nasledovné:

Zvieratám boli podané invázne larvy *Bunostomum phlebotomum*, vypestované v laboratórnych podmienkach *per os* a *per cutim*. Každé pokusné zviera dostalo dávku po cca 1000 invázných lariev. Zvieratá boli invadované:

I. Experimentálne sledovanie procesu invázie lariev

Skupiny		Poradové čísla zvierat	Kontrolné vyšetrenie trusu pred exp.	Spôsob invadovania	Počet podaných inváz. lariev cca
I.	Pokusné	9	negat.	<i>per os</i> sondou	1000
		10	negat.	<i>per os</i> vo vode	1000
		11	negat.	<i>per os</i> s potravou	1000
		12	negat.	<i>per cutim</i> priložením lariev	1000
		13	negat.	<i>per cutim</i> ponorením končatiny	1000
	Kontrolné	14	negat.	—	—
		15	negat.	—	—
		16	negat.	—	—
II.	Pokusné	17	negat.	<i>per os</i> sondou	1000
		18	negat.	<i>per os</i> vo vode	1000
		19	negat. -	<i>per os</i> s potravou	1000
		20	negat.	<i>per cutim</i> priložením lariev	1000
		21	negat.	<i>per cutim</i> ponorením končatiny	1000
	Kontrolné	22	negat.	—	—
		23	negat.	—	—
		24	negat.	—	—

- per os* pomocou sondy do sústavy predžalúdkov,
- per os* vo vode, pričom boli napojené z fľaše,
- per os* s krmivom so pšeničnými otrubami,
- perkutánne priložením lariiev na vyholenú kožu metakarpu alebo metatarsu,
- perkutánne ponorením končatiny pokusného zvierata do vody po dobu 30 min., v ktorej sa nachádzali invázne larvy.

Výsledky pokusov sme overovali počas 8 týždňov ovoskopickým vyšetrením trusu. V 10. týždeň (po porážke zvierat) sa vykonala helmintologická pitva.

Bunostomum phlebotomum u hovädzieho dobytku

Výsledky									Porovnávacie výsledky predbežného pokusu z r. 1965		
ovoskopické vyšetrenie po experimentálnom invadovaní									pitevná analýza		
týždne									10 týždň	čísla zvierat	počet červov
1	2	3	4	5	6	7	8	počet červ.			
—	—	—	—	—	—	—	+	3 ex.	1	18 ex.	
—	—	—	—	—	+	+	+	24 ex.	2	78 ex.	
—	—	—	—	—	+	+	+	7 ex.	3	51 ex.	
—	—	—	—	—	+	+	+	18 ex.	4	64 ex.	
—	—	—	—	—	—	—	—	0 ex.	5	0 ex.	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	6	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	—	
—	—	—	—	—	+	+	+	12 ex.	—		
—	—	—	—	—	+	+	+	6 ex.	—		
—	—	—	—	—	+	+	+	21 ex.	—		
—	—	—	—	—	—	—	—	0 ex.	—		
—	—	—	—	—	—	—	—	0 ex.	—		
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		

Pri perkutánnej a perorálnej experimentálnej invázii sme histologicky preukázali prenikanie invázných lariev cez kožu, resp. sliznicu jazyka. Pri tomto pokuse sme u teľaťa po 15, 30, 60, 90, 120 a 240 minútach po priložení lariev na oholenú kožu túto vyrezali skalpelom až po subkútis na ploche 3 × 3 cm. Z kože sme pripravili bežnú histologickou technikou rezy o hrúbke 20–25 a farbili eoziín hemalaunom.

VÝSLEDKY

1. PROCES INVÁZIE U HOVÄDZIEHO DOBYTKA

V tabuľke I sú uvedené experimentálne výsledky u oboch skupín mladého dobytká. Pre porovnanie sú v tabuľke uvedené výsledky aj nášho prvého pokusu, o ktorom sme už referovali (Pačénovský 1965).

V prvej skupine pokusných zvierat (č. 9–č. 13) sa v štyroch prípadoch podarila invázia larvami *Bunostomum phlebotomum*, okrem zvierata č. 13 invadovaného perkutánne, ponorením končatiny do vody s inváznymi larvami. U pozitívnych zvierat sa objavili vajíčka vo fekáliách na 6. týždeň a u jedného až o 8 týždňov. U jednotlivých pokusných zvierat bol rozdielny počet najdených parazitov. Najviac (24 exemplárov) bolo u zvierata č. 10, menej u zvierata č. 12 (18 exemplárov), pomerne málo bolo u zvierata č. 11 (7 exemplárov) a najmenej u zvierata č. 9 (3 exemplárov). Kontrolné zvieratá č. 14 až 16 boli na nálezy bunostomov negatívne.

V druhej skupine pokusných zvierat (č. 17 až č. 22) sa invázia podarila iba u troch zvierat, a to u zvierata č. 18 (12 exemplárov), ďalej u zvierata č. 19 (6 exemplárov) a u zvierata č. 20 (21 exemplárov).

Oproti predchádzajúcej skupine sa nám nepodarilo invadovať zviera (č. 17), ktorému boli podané invázne larvy *per os* sondou do sústavy predžalúdka. Podobne, ako v predchádzajúcej skupine sa nám nepodarilo invadovať zviera tým, že sa ponorila jeho končatina do vody s inváznymi larvami. Kontrolné zvieratá č. 22 až 24 boli na nálezy bunostomov negatívne.

2. PROCES PRENIKANIA INVÁZNYCH LARIEV CEZ KOŽU

Výsledky štúdia aktívneho prenikania invázných lariev *Bunostomum phlebotomum* nás presvedčili o tom, že larvy vnikajú aj do nepoškodenej kože a sliznice tráviaceho aparátu hostiteľa. Výsledky pokusu sú uvedené v tabuľke II.

Z výsledkov je možné usudzovať, že larvy prenikajú tak rýchlo cez po-

II. Rýchlosť prenikania lariev *Bunostomum phlebotomum* cez kožu hovädzieho dobytká

Doba prenikania lariev cez kožu	Nálezy častí lariev vo vrstvách kože
15 min.	<i>stratum papillare</i> a <i>stratum reticulare</i>
30 min.	vlasové vačky (<i>folliculus pili</i>), krvné cievy škáry
60 min.	vlasové vačky (<i>folliculus pili</i>), krvné cievy škáry
90 min.	nález negatívny
120 až 240 min.	nález negatívny

kožku zvierat, že za 15 min. sa nachádzajú už v škáre. Potom prenikajú do krvných ciev v škáre a ďalej pasívne do organizmu hostiteľa. Nálezy lariev vo vlasových vačkoch by poukazovali na to, že larvy vnikajú do hostiteľa cez vlasovú pošvu (obr. č. 1). Do dvoch hodín larvy pravdepodobne opúšťajú kožu krvnými cestami, o čom svedčí okolnosť, že po tomto čase boli naše nálezy negatívne.

DISKUSIA

Výsledky štúdia procesu aktívneho a pasívneho prenikania invázných lariev *Bunostomum phlebotomum* nám ukázali, že larvy sa dostávajú do zvierat ako pasívnou, tak aj aktívnou cestou. V prvom prípade, pri pasívnej invázii (pitím a potravou), sa experimentálne podarilo invadovať všetky pokusné zvieratá podobne, ako v našom pokuse, o ktorom sme už referovali (P a č e n o v s k ý 1965). Iba v jednom prípade sa invázia nepodarila pri aplikácii lariev sondou do predžalúdkov. Usudzujeme, že larvy prenikajú už v dutine ústnej alebo v pažeráku do krvných ciest a odtiaľ do vnútorných orgánov hostiteľa. To sa zhoduje s tvrdením C o n r a d i a B a r n e t t e h o (1908), S c h w a r z a (1924) a ďalších autorov, ktorí sú tej mienky, že invázia *Bunostomum phlebotomum* vzniká požíaraním invázných lariev.

Aktívna invázia bunostómami sa podarilo priložením invázných lariev na kožu hovädzieho dobytká. Pri histologickým spracovaní kože sme zistili, že larvy sa prevrtávajú cez epidermis do kória veľmi rýchlo. Po dvoch hodinách sú larvy krvnou cestou zanášané do vnútorných orgánov, pretože sa v koži už nenachádzajú. Experimentálne invadovanie hovädzieho dobytká prevedené priložením lariev na vyholenú kožu zvierata sa nám podarilo vo všetkých nami prevedených prípadoch. Tým sme potvrdili uzávery M a y h e w a (1939), K r u g a a M a y h e w a (1946) a S p r e n t a (1946), že invázia larvami *Bunostomum phlebotomum* je možná aj cez neporušenú kožu hovädzieho dobytká.

Skutočnosť, že pri perkutánnej invázii u zvierat, ktorých končatiny boli ponorené do nádob s vodou s inváznymi larvami, nedošlo k invadovaniu pripisujeme tomu, že larvy klesajúc v nádobách vlastnou váhou na dno sa ku koži pravdepodobne ani nedostali. Osobitým pozorovaním sme zistili, že larvy pri tlaku vodného stĺpca vyššieho ako 10 cm strácajú pohyblivosť a stávajú sa imobilnými.

Pri invadovaní zvierat larvami *per os* sondou do sústavy predžalúdkov bol nález nematódov oproti iným perorálnym metódam invadovania markantne nižší až negatívny. Usudzujeme, že je tomu tak preto, lebo larvy mali malú event. žiadnu možnosť fixácie a tým aj prenikania cez sliznicu pažeráka do krvných ciest. Prostredie predžalúdkov je podľa našich predpokladov nevhodným prostredím pre invázne larvy.

Najvyšší počet nematódov sme pri helmintologickej pitve zistili pri spôsobe invadovania *per os* vo vode a pri perkutánnom invadovaní cez vyholenú kožu pokusných zvierat. Z týchto výsledkov usudzujeme, že v prírodných podmienkach dochádza k invázii lariev *Bunostomum phlebotomum* u hovädzieho dobytká oboma týmito cestami rovnakou mierou.

Pri invadovaní zvierat *per os* larvami v potrave sme mali vo všetkých prípadoch pozitívne výsledky, hoci počet nematódov nájdených pri analýze čriev bol menší ako pri invadovaní larvami pitnou vodou. Môže to súvisieť s tým, že časť lariev sa v žvancoch nedostane do styku so sliznicou úst alebo pažeráka, ale preniká priamo pasívne do predžalúdkov. Podľa nášho predpokladu nemajú tam larvy bunostomov vhodné prostredie a hynú. Tieto naše výsledky nemôžeme porovnávať so žiadnymi údajmi, lebo sme podobné v literatúre nenašli.

V práci sme študovali otázky aktívneho a pasívneho prenikania invázných

lariev *Bunostomum phlebotomum* do hovädzieho dobytku a rýchlosť prenikania týchto lariev cez kožu pri perkutánnej invázii. Pri štúdiu sme použili dve skupiny zvierat po 5 ks pokusných a 3 ks kontrolných.

Výsledky týchto pokusov boli overované helmintoovoskopickými vyšetreniami a pitevnou analýzou. Perkutánná invázia bola sledovaná a zisťovaná histologicky.

Na základe dosiahnutých výsledkov našich experimentov vyplývajú tieto poznatky:

1. Experimentálna invázia helmintami *Bunostomum phlebotomum* sa u pokusných zvierat — hovädzieho dobytku — podarila ako perorálnou, tak aj perkutánnou cestou cez neporušenú kožu. Najvýhodnejší spôsob invadovania je perorálny spôsob pri pití vody znečistenej larvami a perkutánnu prevedený priložením invázných lariev na kožu zvierata. Usudzujeme, že v prírode prebieha invadovanie bunostomami oboma spôsobmi približne v rovnakom pomere.

2. Larvy prenikajú aktívne kožu hostiteľa. Cez epidermis prenikajú veľmi rýchlo, pretože za 15 min. po invázii sa nachádzajú v kóriu. Po dvoch hodinách pravdepodobne opúšťajú kožu hostiteľa krvnými cievami a sú pasívne krvou zanášané do hlbších orgánov.

Došlo dne 1. 12. 1967

Literatúra

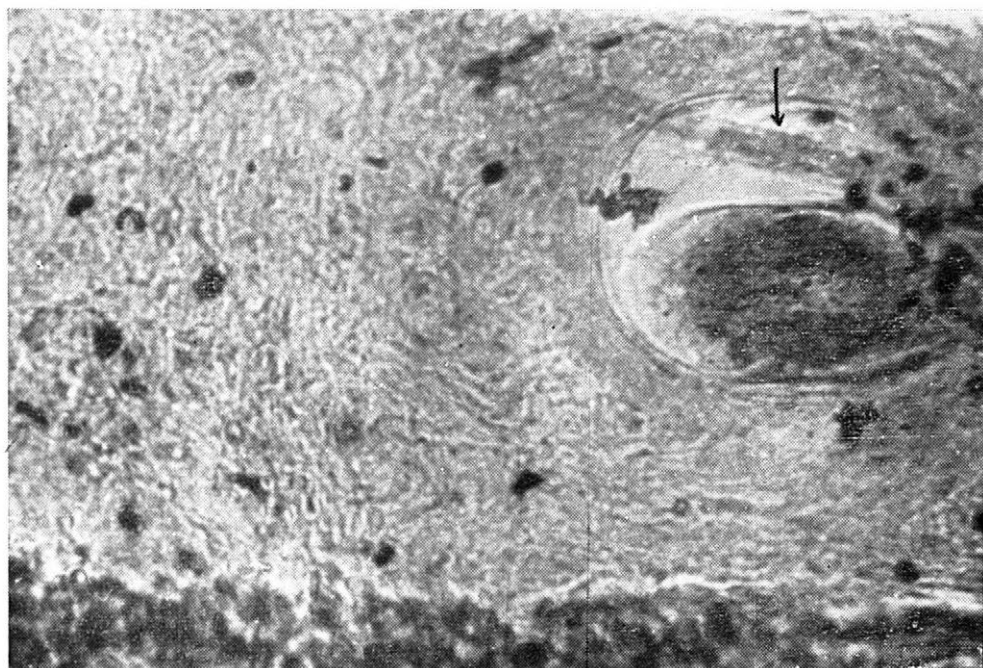
1. ERHARDOVÁ, B.: Výsledky laboratorných a terénnych pokusů o přežívání larválních stadií cizopasných červů jako podklad pro prevenci některých pastevních parazitóz. — *Závěrečná zpráva Paraz ústavu ČSAV Praha* 1963.
2. HOVORKA, J.: Helmintózy ČSSR I. — SAV Bratislava 1963.
3. MAYHEW, R. L.: Studies on Bovine Gastro-intestinal Parasites. = „*Cornell Vet.*“ 29, 1939 : 367-76.
4. MAYHEW, R. L.: Studies on Bovine Gastro-intestinal Parasites. = „*Journal of Parasit.*“, 35, 1949 : 315-21.
5. PAČENOVSKÝ, J.: Experimentálny priebeh invázie *Bunostomum phlebotomum* u jaloviek. = „*Widomości parazytolog.*“ XI. 1965 : 305-6.
6. SCHWARTZ, B.: Preparasitic stages in the life-history of the cattle hookworms. = „*Jour. Agr. Res.*“, 29, 1924 : 451-58.
7. SPRENT, J. F. A.: Studies on the life-history of *Bunostomum phlebotomum* (Railliet, 1900) a Hookworm parasite of cattle. = „*Parasitology*“ 37, 1946 : 192-201.

ПАЧЕНОВСКИ, Й., БРЕЗАНСКА, М. (Кафедра ветеринарной профилактики Сельскохозяйственного института, Нитра, Чехословакия) Процесс проникания инвазионных личинок *Bunostomum phlebotomum* (Railliet, 1900) в тело хозяина. *Вет. мед. (Прага)* 13 (6) : 377-383, 1968.

В предложенной работе авторы исследовали вопросы активного и пассивного проникновения инвазионных личинок *Bunostomum phlebotomum* в организм крупного рогатого скота и скорость проникновения этих личинок при инвазии через кожу. Для этой цели мы пользовались 2 группами животных; в первой находилось 5 подопытных, во второй 3 контрольных животных. Результаты опытов проверялись при помощи гельминтоовоскопического исследования и вскрытия. Инвазию через кожу наблюдали и устанавливали гистологически. На основании полученных результатов мы пришли к следующим выводам: 1. Экспериментальное заражение нематодами *Bunostomum phlebotomum* удалось у подопытных животных — крупного рогатого скота — не только через рот, но также через неповрежденную кожу. Самым подходящим способом заражения является заражение через рот при поике загрязненной личинками водой и через кожу путем приложения инвазионных личинок на кожу



Obr. 1. Invázna larva prechádzajúca vlasovým folikulom. Orig. mikrofoto 240X



Obr. 2. Invázne larvy vo väzive kožnej škáry. Orig. mikrofoto 60X

животного. Мы того мнения, что в природе заражение буностомами протекает обоим способом приблизительно в одинаковом отношении. 2. Личинки проникают активно через кожу хозяина. Надкожицей они проникают очень быстро, так как через 15 минут они находятся уже в основе кожи. Спустя 2 часа они по всей вероятности покидают кожу хозяина кровеносными сосудами и с кровью заносятся пассивно в более глубокие слои организма.

крупный рогатый скот; инвазионные заболевания; *Bunostomum phlebotomum*; процесс заражения.

PAČENOVSKÝ, J., BREZANSKÁ, M. (School of Veterinary Prevention of the Agricultural College, Nitra, Czechoslovakia). *The Process of the Penetration of Invasive Larvae of Bunostomum phlebotomum (Railliet, 1900) into the Host Body*. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 377—383, 1968.

In this work we studied the problems of the active and passive penetration of invasive larvae of *Bunostomum phlebotomum* in cattle and the speed of the penetration of these larvae through the skin in the case of percutaneous invasion. In the investigation we used two groups of animals of 5 experimental and 3 control animals each. The results obtained in these experiments were checked by means of helmintho-ovoscopic examinations and dissection. The percutaneous invasion was followed and determined histologically. On the basis of the results obtained in our experiments the following conclusions may be drawn: 1. In the experimental animals — cattle — the experimental invasion with helminths of the species *Bunostomum phlebotomum* was successfully carried out both *per os* and *percutaneously* through undamaged skin. The most suitable method of invasion is *per os* application in drinking water polluted with larvae, and percutaneous infection by means of a placing of invasive larvae on the skin of the animals. We assume that in nature the course of invasion of *Bunostomum* takes place by means of both methods at an equal ratio. 2. The larvae actively penetrate the skin of the host. Through the epidermis they penetrate very rapidly, as in 15 minutes after the penetration they reach the corium. After two hours they probably leave the skin of the host via the bloodvessels and are carried passively by the blood to deeper organs.

cattle; invasive diseases; *Bunostomum phlebotomum*; invasion process.

PAČENOVSKÝ, J., BREZANSKÁ, M. Lehrstuhl für veterinärmedizinische Prävenz der Landwirtschaftlichen Hochschule, Nitra, Tschechoslowakei). *Der Prozeß der Durchdringung der Invasionslarven von Bunostomum phlebotomum (Railliet, 1900) in den Körper des Wirtes*. Vet. Med. (Praha) 13 (6) : 377—383, 1968.

In der Arbeit wurden Fragen der aktiven und passiven Durchdringung der Invasionslarven von *Bunostomum phlebotomum* in den Körper der Rinder sowie die Schnelligkeit der Durchdringung dieser Larven durch die Haut bei perkutaner Invasion untersucht. Es wurden zwei Versuchsgruppen je 5 Tiere und 3 Kontrolltiere angewendet. Die Ergebnisse dieser Versuche wurden mittels helminthoovoskopischer Untersuchungen und Sezierungsanalyse überprüft. Die perkutane Invasion wurde histologisch beobachtet und festgestellt. Aus den Versuchen ergeben sich folgende Erkenntnisse: 1. Die experimentelle Invasion durch die Helminthen *Bunostomum phlebotomum* gelang bei den Versuchstieren (Rindern) sowohl auf *peroralem* als auch auf *perkutanem* Wege durch unversehrte Haut. Die geeignetste Invasionsart ist die *perorale* beim Trinken von durch Larven verunreinigtem Wasser und die *perkutane* Art, durchgeführt durch das Anlegen von Invasionslarven auf die Haut des Tieres. Man kann schließen, daß in der Natur die Invasion durch *Bunostomum* auf beiderlei Weise annähernd in demselben Verhältnis vor sich geht. 2. Die Larven durchdringen aktiv die Haut des Wirtes. Das Durchdringen durch die Epidermis geschieht sehr schnell, denn in 15 Minuten nach der Invasion befinden sie sich im Corium. Nach zwei Stunden verlassen sie wahrscheinlich die Haut des Wirtes durch die Blutgefäße und werden durch das Blut den tieferen Organen passiv zugeführt.

Adresa autorov:

MVDr. Július Pačenovský, CSc., Ing. Marta Brezanská, Katedra veterinárskej prevencie VŠP Nitra, Nábřežie mládeže č. 1

Vedúci katedry: Prof. m. MVDr. Martin Torda, CSc.

● Umělé oplodňování hovězího dobytka v USA

V roce 1966 bylo ve Spojených státech uměle oplodněno 7,933.700 krav (z 540.265 stád), z nich 7,286.600 krav mléčných plemen a 647.100 masných. Semenem býků mléčných plemen bylo osemeno 6,143.000 krav. Počet krav mléčných plemen, trpících mastitidami a uměle oplodněných býků masných plemen, dosáhl v roce 1966 celkem 963.650 krav. V roce 1965 bylo z celkového počtu 15,2 miliónu mléčných krav a jalovic uměle oplodněno 47,9 ‰. Procento krav, oplodněných mléčnými býky, se v roce 1965 rovnalo 42,2.

Je třeba poznamenat, jak píše americký časopis A. I. Digest v 15. čísle r. 1967, že početní stav mléčného skotu v USA se v posledních letech snížil. V roce 1966 činilo toto snížení ve srovnání s rokem 1965 asi milión kusů. Početní stav masného dobytka v USA v posledních letech stoupá (viz tabulka).

Růst početního stavu mléčného skotu v USA

Rok	Krávy masných plemen oplodněné masnými býky (v tisících)	Krávy masných plemen oplodněné mléčnými býky (v tisících)	Počet plemenných býků masných plemen
1963	235	970	398
1964	465	1117	449
1965	615	964	439
1966	647	873	364

V roce 1966 dosahoval v USA početní stav krav a jalovic masných plemen ve stáří 1—2 let a starších 34,59 mil. kusů. Počet krav na jednoho plemníka v roce 1966 činil 3322 proti 3402 v roce 1965. V roce 1966 bylo v USA používáno k umělému oplodňování 2376 plemenných býků (z toho 2012 býků mléčných plemen).

(Podle sovět. měsíčníku „Sel'skoje chozjajstvo za rubežom“, řada „Životnovodstvo“, r. 1968, č. 4. zprac. Dr. Stan. Mudra)

Podépsáno k tisku dne 10. července, dáno k tisku dne 22. 3. 1968.

Kudláč E.: Vliv progesteronu na říji prasnic . . .	315
Semotán K., Weger L., Šišák M.: Charakteristika sérového gonadotropinu pro veterinární použití . . .	323
Černík K., Rajtár V., Černíková E.: Rozšíření infekční bronchitidy kuřat na Slovensku . . .	329
Bartoš S., Škarda J.: Utilizace acetátu a glukózy sledovaná <i>in vitro</i> na tukové tkáni skotu a krys . . .	337
Bartoš S., Škarda J., Doležel F.: Vliv acetátu, bikarbonátu, glukózy a inzulínu na hladinu NEMK, glukózy a ketolátek v krvi koz . . .	343
Dvořák J., Valoušek J., Čermák O.: Respirace býčích spermií v prostředí sekretu samičích genitálií <i>in vitro</i> . . .	351
Ševčík B.: Působení tkáňových biostimulátorů na některé imunobiologické reakce u prasat . . .	357
Záhoř Z., Prokš C., Vítovec J.: Morfologie změn způsobených velkou motolicí (<i>Fascioloides magna</i> , Bassi 1875) u skotu . . .	369
Pačenovský J., Brezanská M.: Proces prenikania invázných lariev <i>Bunostomum phlebotomum</i> (Railliet, 1900) do tela hostiteľa . . .	377

СОДЕРЖАНИЕ

Кудлач Е.: Влияние прогестерона на охоту и плодовитость свиноматок . . .	321
Семотан К., Вегер Л., Шишак, М.: Характеристика сывороточного гонадотропина для ветеринарного использования . . .	327
Черник К., Райтар В., Черникова Е.: Распространение инфекционного бронхита цыплят в Словакии . . .	335
Бартош С., Шкарда Й.: Использование ацетата и глюкозы при изучении <i>in vitro</i> на жировой ткани крупного рогатого скота и крыс . . .	341
Бартош С., Шкарда Й., Долежел Ф.: Влияние ацетата, бикарбоната, глюкозы и кетонных веществ в крови коз . . .	349
Дворжак Й., Валоушек Й., Чермак О.: Респирация бычьих сперматозоидов в среде секретов половых органов самок <i>in vitro</i> . . .	356
Шевчик Б.: Действие тканевых биостимуляторов на некоторые иммунологические реакции у свиней . . .	366
Загорж З., Прокш Ц., Витовец Й.: Морфология изменений, вызванных фасциолой (<i>Fascioloides magna</i> , Bassi 1875) у крупного рогатого скота . . .	374
Паченовски Й., Брезанска М.: Процесс проникания инвазионных личинок <i>Bunostomum phlebotomum</i> (Railliet, 1900) в тело хозяина . . .	382

CONTENT

Kudláč E.: Influence of Progesterone on the Oestrus and the Fertility of Sows . . .	321
Semotán K., Weger L., Šišák M.: Characterization of Pregnant Mare Serum Gonadotrophin for the Veterinary Application . . .	327
Černík K., Rajtár V., Černíková E.: The Distribution of Infectious Bronchitis of Chickens in Slovakia . . .	336
Bartoš S., Škarda J.: Utilization of Acetate and Glucose Examined <i>in vitro</i> in the Adipose Tissue of Cattle and Rats . . .	342
Bartoš S., Škarda J., Doležel F.: The Influence of Acetate, Bicarbonate, Glucose, and Insulin on the Level of NEFA Glucose, and KETONE-BODIES in the Blood of Goats . . .	349
Dvořák J., Valoušek J., Čermák O.: Respiration of Bull Spermatozoa in the Environment of Secretions in Female Genitals <i>in vitro</i> . . .	356
Ševčík B.: The Effects of Biostimulators on Certain Immunobiological Reactions in Pigs . . .	367
Záhoř Z., Prokš C., Vítovec J.: The Morphology of Changes Caused by <i>Fascioloides magna</i> , Bassi 1875 in Cattle . . .	374
Pačenovský J., Brezanská M.: The Process of the Penetration of Invasive Larvae of <i>Bunostomum phlebotomum</i> (Railliet, 1900) into the Host Body . . .	383

Kudláč E.: Einfluß des Progesterons auf die Brunst und Fertilität bei Sauen	322
Semotán K., Weger L., Šišák M.: Die Charakteristik des Serum Gonadotropin für veterinäre Zwecke	327
Černík K., Rajtár V., Černíková E.: Verbreitung der infektiösen Bronchitis der Hühner in der Slowakei	336
Bartoš S., Škarda J.: Utilisierung des Azetates und der Glukose, verfolgt in vitro am Rinder- und Rattenfettgewebe	342
Bartoš S., Škarda J., Doležel F.: Der Einfluß des Azetates, des Bikarbonates, der Glukose und des Insulins auf den Spiegel der nichtesterifizierten Fettsäuren (NEFS), der Glukose und der Ketonstoffe im Ziegenblut	349
Dvořák J., Valoušek J., Čermák O.: Die Respiration der Bullspermien im Milieu der Sekrete der weiblichen Geschlechtsorgane in vitro	356
Ševčík B.: Die Wirkung der Zellgewebe-Biostimulatoren auf einige immunobiologische Reaktionen bei Schweinen	367
Záhoř Z., Prokš C., Vítovec J.: Morphologie der Veränderungen, die durch den Großen Leberegel (<i>Fascioloides magna</i> , Bassi 1875) beim Rind verursacht werden	375
Pačenovský J., Breznanská M.: Der Prozeß Durchdringung der Invasionslarven von <i>Bunostomum phlebotomum</i> (Railliet, 1900) in den Körper des Wirtes	383

TABLE DES MATIÈRES

Kudláč E.: Influence de la progestérone sur les chaleurs et la fertilité des truies (res. An/321, Al/322). —	
Samotán K., Weger L., Šišák M.: Caractéristique de la gonadotropine de sérum destinée à l'utilisation dans la pratique vétérinaire (res. An, Al/327). —	
Černík K., Rajtár V., Černíková E.: Extension de la bronchite infectieuse aviaire en Slovaquie (res. An, Al/336). —	
Bartoš S., Škarda J.: Utilisation de l'acétate et du glucose suivie <i>in vitro</i> dans le tissu adipeux des bovins et des rats (res. An, Al/342). —	
Bartoš S., Škarda J., Doležel F.: Influence de l'acétate, du bicarbonate, du glucose et de l'insuline sur le niveau de AGNE, de la glucose et des matières cétoniques dans le sang des chèvres (res. An, Al/349). —	
Dvořák J., Valoušek J., Čermák O.: Respiration des spermatozoïdes de taureaux dans le milieu des produits de sécrétion des organes génitaux femelles <i>in vitro</i> (res. An, Al/356). —	
Ševčík B.: Effets des biostimulateurs de tissus sur certaines réactions immunobiologiques des pores (res. An, Al/367). —	
Záhoř Z., Prokš C., Vítovec J.: Morphologie des changements dûs à l'action de la grande douve (<i>Fascioloides magna</i> , Bassi 1875) chez les bovins (res. An/374 Al/375). —	
Pačenovský J., Breznanská M.: Pénétration des larves parasites <i>Bunostomum phlebotomum</i> (Railliet 1900) dans le corps hôte (res. An, Al/383). —	

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS - ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, Legerova 22, Praha 2.