

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA



4

ROČNÍK 23 (LI)
PRAHA
DUBEN 1978
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada:

prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc. (předseda), prof. MVDr. Koloman Boda, DrSc., doc. MVDr. Jan Carvaš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., doc. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Emanuel Král, doc. MVDr. Ladislav Polák, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc.

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1978

■

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—.

■

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издает Чехословацкая сельскохозяйственная академия — Институт научно-технической информации по сельскому хозяйству. Выход в свет ежемесячно. Редакция 120 56 Прага 2, Слезска 7.

■

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Czechoslovak Academy of Agriculture — Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

■

Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben von der Tschechoslowakischen landwirtschaftlichen Akademie — Institut für wissenschaftlich-technische Information der Landwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion 120 56 Prag 2, Slezská 7.

IMUNOFLUORESCENCIA S VÍRUSOM PI-3 – IMUNOFLUORESCENTNÉ NÁLEZY NA KULTÚRACH TELACÍCH OBLÍČIEK INFIKOVANÝCH ROZDIELNYMI DÁVKAMI A KMEŇMI VÍRUSU

A. Žuffa, R. Chumchal

ŽUFFA, A. – CHUMCHAL, R. (Výskumné a vývojové pracovisko, Bioveta, Nitra): *Imunofluorescencia s vírusom PI-3 – imunofluorescentné nálezy na kultúrach telacích obličiek infikovaných rozdielnymi dávkami a kmeňmi vírusu*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 193-204.

Pri štúdiu množenia vírusu PI-3 na kultúrach telacích obličkových buniek sme novotvorený intracelulárny vírus dokázali medzi štvrtou až šiestou hodinou a voľný vírus v kultivačnom médiu za šesť hodín od infekcie. Vírusový antigén, vizualizovaný pomocou imunofluorescencie za osem hodín p. i., sa javil ako práškovité alebo jemnozrné žiarenie v perinukleárnej oblasti a prítomnosť vírusu na povrchu buniek sa v tom čase dokázala absorpciou morčacích erytrocytov. Intenzívna produkcia bunečného aj voľného vírusu medzi 10. až 24. hodinou sa imunofluorescentne manifestovala narastaním a splývaním intenzívne žiariacich granúl, ktoré vyplňovali najväčšiu časť cytoplazmy. Hemaglutinín sa zistil až na vrchole vírusového množenia, s rýchlym následným narastaním jeho obsahu pri rovnakej infekčnosti kultivačného média. Časový nástup špecifickej fluorescence je závislý od veľkosti inokula, avšak fluorescentné nálezy na kultúrach infikovaných rozdielnymi dávkami vírusu sú rovnaké. Vo vírusových suspenziách sa imunofluorescenciou zisťovali vyššie titry vírusu ako konvenčnou metódou na skúmvkách podľa CPE (cytoplazmatický efekt). Nežistili sme preukazné rozdiely vo fluorescentných nálezoch pri infekcii kultúr tromi kmeňmi vírusu PI-3.

vírus PI-3; rast vírusu; imunofluorescencia; hemadsorbcia; hemaglutinín

Prítomnosť vírusu parainfluenzy 3 (PI-3) v infikovaných kultúrach možno dokázať viacerými laboratórnymi testami. Popri vizualizovaní vírusových antigénov imunofluorescenciou (Omar, 1965; Valíček a Šmíd, 1967; Ludwig a Paulsen, 1969; Van Der Maaten, 1969) je to predovšetkým hemadsorbčný test, ktorý sa zakladá na schopnosti vírusových častíc uvoľňovaných z infikovaných buniek adsorbovať morčacie erytrocyty. Častice vírusu PI-3 majú tiež schopnosť hemaglutinovať červené krvinky viacerých druhov zvierat (Dinter a i., 1960; Dawson, 1964). Pri fluorescentnom vyšetrení kultúr replikujúcich vírus PI-3 sa zistili rozdielne nálezy pokiaľ ide o primárnu syntézu a následné rozloženie vírusových antigénov (Omar, 1965; Ludwig a Paulsen, 1969), ako aj rozdielny časový nástup hemadsorbcie a hemaglutinínu vo vzťahu k produkcii infekčného vírusu (Bürki a i., 1966; Ludwig a Paulsen, 1968; Luczak a Korbecki, 1970).

Cieľom našich pokusov bolo použitím viacerých laboratórnych metód sledovať časovú nadväznosť dôkazu prítomnosti infekcie bunkovej kultúry vo vzťahu k aktuálnemu štádiu vírusového množenia, určiť citlivosť fluorescentnej techniky pre dôkaz vírusovej infekcie a charakterizovať fluorescentné nálezy pri infekcii kultúr rozdielnymi kmeňmi a dávkami vírusu PI-3.

MATERIÁL A METÓDY

VÍRUSY

Pre pokusy, v ktorých sa študovalo množenie vírusu PI-3 na primárnych kultúrach telacích obličkových buniek (PTOB) stanovením obsahu bunečného a voľného vírusu pomocou imunofluorescencie, hemadsorbcie a hemaglutinácie, sme použili kmeň PI-3(T₁)25 v ôsmej tkanivovej pasáži. Pre charakterizovanie fluorescentných nálezov zisťovaných na kultúrach infikovaných vírusmi rozdielných biologických kvalít sme použili kmeň PI-3(T₁)25 v 8., 40., 56. a 86. pasáži na PTOB, kmeň PI-3(T₆)3 v 5., 29. a 76. tkanivovej pasáži a kmeň PI-3-52 v 102. tkanivovej pasáži. Pôvod a charakteristika týchto kmeňov sa uvádza v predchádzajúcom oznámení (Žuffa a i., 1977). Jednotlivé vírusy, napestované na kultúrach PTOB v Rouxových fľašiach, v médiu predstavujúcom Earlov roztok (ER) s 0,3 % LAH a 5 % fetálneho telacieho séra, sme po vyčistení odstredením rozplnili do ampuliek po 1 ml a až do použitia skladovali pri teplote -70 °C.

BUNKOVÉ KULTÚRY

Skúmavkové a sklíčkové kultúry PTOB sme pripravovali rovnako ako sme už opísali (Žuffa a i., 1970a).

INFEKCIA BUNKOVÝCH KULTÚR

Dostatočný počet skúmavkových a sklíčkových kultúr PTOB sme infikovali – po predchádzajúcom trojnásobnom prepláknutí ER – 0,1 ml vírusu s obsahom 10⁶ TKID₅₀. Po adsorbcií vírusu (60 minút pri teplote 37 °C) sme sklíčkové kultúry znovu oplákli a preniesli do nových skúmaviek s obsahom 1,5 ml udržiavacieho média (UM). Kultúry v skúmavkách sme po trojnásobnom prepláknutí UM zaliali 1,5 ml média s 1 % imúnneho hovädzieho séra (IHS) a inkubovali 1 hodinu pri teplote 37 °C (za účelom neutralizovania neadsorbovaného vírusu). Potom sme médium s IHS odsali, kultúry šesťkrát preplákli predhriatým ER, prevrstvili 1 ml UM a inkubovali pri teplote 37 °C. Na začiatku inkubácie a potom v stanovených časových intervaloch sme brali vždy tri skúmavkové kultúry, v ktorých sme oddelene sledovali obsah bunečného a extracelulárneho vírusu. Infekčné médium sme po zliatí odstredili počas 10 minút pri 3000 obrátkach za minútu a získaný supernatant sme použili pre stanovenie voľného vírusu. Kultúry v skúmavkách sme po trojnásobnom opláknutí prevrstvili pôvodným objemom UM, v ktorom sme predtým resuspendovali centrifugát získaný odstredením infekčného média a podrobili trojnásobnému zmrazeniu (pri teplote -70 °C) a rozmrazeniu (pod tečúcou vodou); po odstredení predstavoval supernatant bunečný vírus. Infekčnosť jednotlivých vzoriek sa testovala na skúmavkových kultúrach PTOB podľa CPE; obsah TKID₅₀ sme vypočítali podľa formuly Reeda a Muencha (1938).

V rovnakých časových intervaloch ako kultúry v skúmavkách pre stanovenie infekčnosti sme odoberali dostatočný počet sklíčkových kultúr pre imunofluorescentné vyšetrenie. S výnimkou prvého pokusu sme sklíčkové kultúry infikovali priamo v Leightonových skúmavkách. Po opláknutí ER sme kultúry očkovali voleným riešením vírusu v množstve po 0,2 ml, a po hodinovej adsorbcií pri teplote 37 °C sme ich zalievali 2 ml UM.

Ďalšie metodické údaje, vzťahujúce sa na veľkosť inokula a na trvanie inkubácie kultúr pred fixovaním a farbením, sa opisujú pri jednotlivých pokusoch.

HEMADSORBČNÝ TEST

Hemadsorbčný test sme robili podľa Vogela a Shelokova (1957). Pre stanovenie prítomnosti a obsahu hemaglutinínu sme zliali vždy obsah štyroch skúma-

vek, v roztoku PBS sme pripravili dvojnásobné riedenia v množstve po 0,5 ml a pridali rovnaké množstvo 0,5% suspenzie morčacích erytrocytov; výsledky sme odčítali po hodinovom staní pri laboratórnej teplote.

IMUNOFLUORESCENCIA

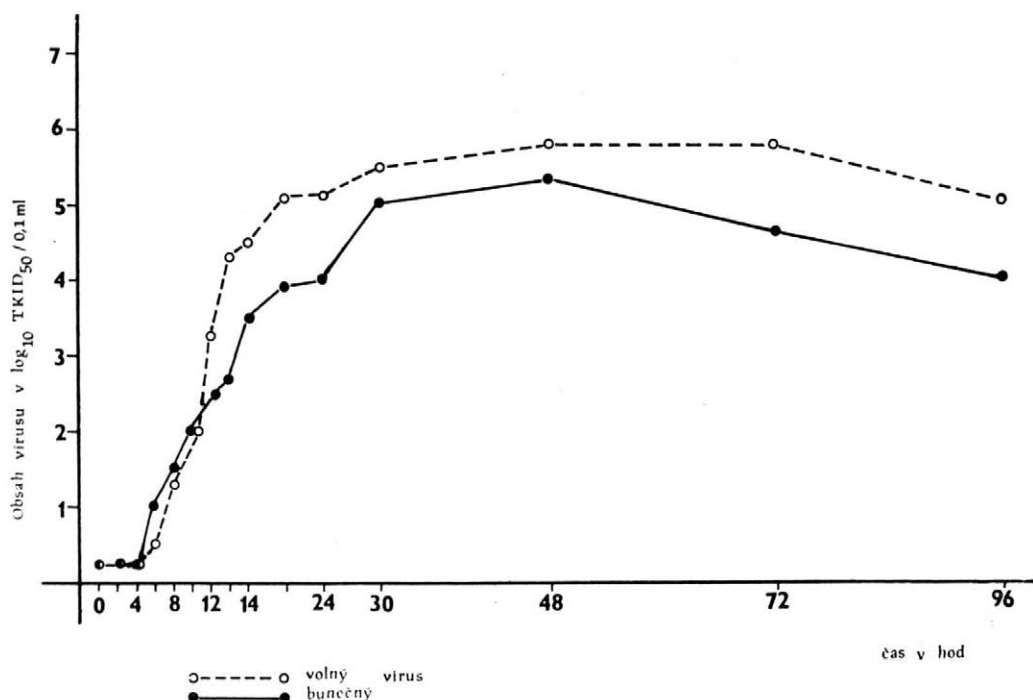
Pracovali sme len priamou metódou. Pre farbenie infikovaných kultúr sme použili jednu šaržu konjugátu pripraveného z imunného teľacieho séra, s pracovným riedením 1:16 (Žuffa a i., 1977). Farbené kultúry sme vyšetrovali mikroskopom FLUOVAL fy Zeiss (filtre G 247 a B 224 g, objektív 6,3 a 16, okulár PK 6,3).

VÝSLEDKY

Štúdium infekcie kultúr PTOB očkovaných veľkou dávkou vírusu PI-3

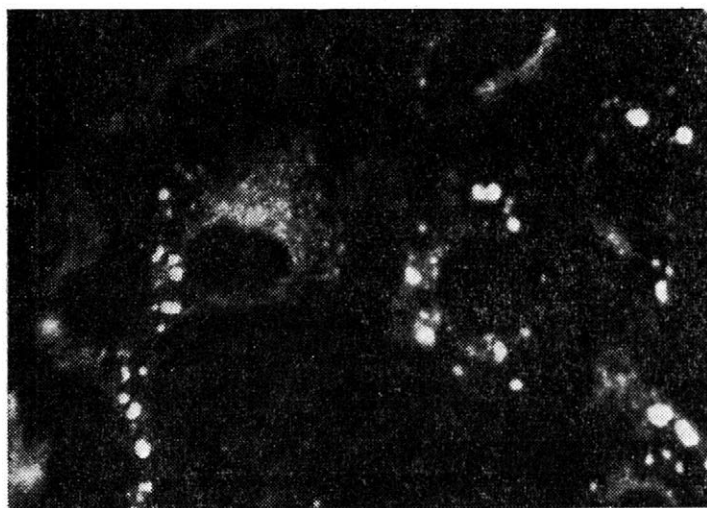
RAST VÍRUSU

Prvý novotvorený intracelulárny vírus sa objavil medzi štvrtou až šiestou hodinou od infekcie. Jeho obsah rýchlo stúpal až do 30. hodiny s miernym vzostupom za 48 hodín a poklesom za 72 hodín. Uvoľňovanie vírusu do kultivačného média nasledovalo bezprostredne po produkcii bunčného vírusu (za šesť hodín od infekcie), voľný vírus dosiahol najvyššie hodnoty po 48 hodinách inkubácie s pretrváváním na rovnakej úrovni do 72. hodiny (obr. 1).



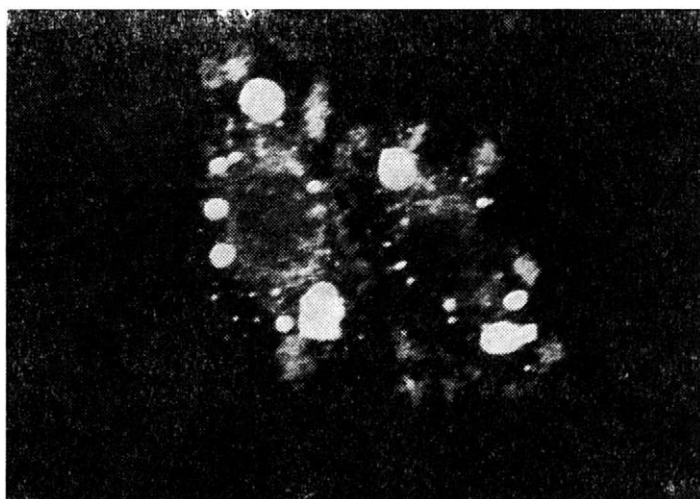
1. Priebeh množenia vírusu PI-3 na kultúrach PTOB infikovaných veľkou dávkou
— The course of the multiplication of virus PI-3 on the cultures PTOB infected with a large dose

Prítomnosť špecifického antigénu sa zisťovala najskôr za osem hodín od infekcie vo forme intenzívnej jemnozrnej cytoplazmatickej fluorescence v perinukleárnej oblasti (obr. 2). V ďalšom priebehu infek-



2. Kultúry PTOB infikované dávkou 10^6 TKID₅₀ vírusu; fluoreskujúce granula situované predovšetkým v perinukleárnej oblasti, zisťované za osem hodín p. i. — PTOB cultures infected with a dose of 10^6 TKID₅₀ virus; the fluorescent granules mostly situated in the perinuclear region, determined in eight hours p. i.

3. Intenzívne fluoreskujúce granula rozložené nepravidelne v cytoplazme za 24 hodín p. i. — Intensive fluorescent granules irregularly distributed in the cytoplasm, as observed 24 hours p. i.



cie bola akumulácia vírusových antigénov charakterizovaná zväčšovaním sa a splývaním fluoreskujúcich granúl rozložených v cytoplazme (obr. 3.). Narastenie cytoplazmatickej fluorescence so zachovaním granulárneho charakteru sme zisťovali až do 30. hodiny. Po 48 hodinách inkubácie vykazovala väčšina buniek monolayera intenzívnu cytoplazmatickú fluorescenciu granulárneho charakteru, s menej intenzívnym žiarením jadier (obr. 4). Za 72 hodín došlo k značnému poškodeniu monolayera, pričom vretenovité bunky vykazovali granulárne cytoplazmatické žiarenie, kým zaguľatené bunky splývajúcu fluorescenciu v celom rozsahu (obr. 5).

4. Pokračujúce akumulácie cytoplazmatického žiarenia, s menej intenzívnou jadernou fluorescenciou, za 48 hodín p. i. — Continuing accumulation of cytoplasmic radiation with a less intensive nuclear fluorescence, 48 hours p. i.



5. Granulárne žiarenie v cytoplazme pretiahlych buniek a splývajúce žiarenie zaguľatených buniek za 72 hodín p. i. — Granular radiation in the cytoplasm of elongated cells and overlapping radiation of rounded cells, 72 hours p. i.

HEMADSORBCIA

Prvé priľnutie moráčacích erytrocytov na povrch buniek sme zistili v hornej časti monolayera za osem hodín od infekcie. Za desať hodín sa zisťovala hemadsorbcia ložiskovite po celej monovrstve buniek. Predlžovaním inkubácie narastal počet buniek s adsorbovanými krvinkami, a to s narastaním hustoty od dna k hornej časti kultúry. Celý monolayer bol pokrytý adsorbovanými krvinkami až za 24 hodiny od infekcie. Od toho času sme zisťovali hemadsorbciu vo všetkých bunkách bez ohľadu na stupeň poškodenia monolayera.

HEMAGLUTINÁCIA

Hemaglutinin sme dokázali najskôr za 20 hodín v titri 1:4, za 24 hodiny už 1:32, kedy jeho obsah ďalej stúpал a za 48 hodín dosiahol hodnotu 1:1024, na ktorej sa udržal po celé sledované obdobie.

Sklíčkové kultúry PTOB sme infikovali dávkami 10^0 až 10^3 TKID₅₀ vírusu a po štyroch sklíčkach farbili za rozličný čas až do 96. hodiny *p. i.* Výsledky jedného z reprezentatívnych pokusov sú zhrnuté v tab. I.

I. Nástup špecifickej fluorescence na kultúrach PTOB infikovaných odstupňovanými dávkami vírusu PI-3 — Onset of specific fluorescence on PTOB cultures infected with gradated doses of virus PI-3

Dávka vírusu v TKID ₅₀	Fluorescentné nálezy na kultúrach za ... hod. <i>p. i.</i>										
	10	12	14	16	20	24	30	36	48	72	96
10^3	—	OFB	OFB	LFB	SLFB	FCM	FCM	FCM	N	N	N
10^2	—	—	—	OFB	OFB	LFB	SLFB	FCM	FCM	FCM	N
10^1	—	—	—	—	—	OFB	OFB	LFB	SLFB	FCM	FCM
10^0	N	N	—	—	—	—	—	OFB	LFB	SLFB	FCM

OFB = ojedinele fluoreskujúce bunky
LFB = ložiska fluoreskujúcich buniek
SLFB = splývajúce ložiská fluoreskujúcich buniek
FCM = fluoreskuje celý monolayer

Vírusšpecifickú fluorescenciu sme zistili najskôr za 12 hodín od infekcie na kultúrach infikovaných dávkou 10^3 TKID₅₀ vírusu. Bola charakterizovaná nálezom ojedinelých buniek vykazujúcich jemnozrné cytoplazmatické žiarenie. Za 16 hodín výrazne stúpol počet infikovaných buniek, pričom sme popri solitárne žiariacich bunkách zistili mikropaky pozostávajúce z dvoch až troch buniek. V tomto čase sme dokázali ojedinelé žiariace bunky aj na kultúrach infikovaných dávkou 10^2 TKID₅₀ vírusu. Po 24 hodinách inkubácie došlo na kultúrach prvej skupiny ku generalizovanej infekcii a na kultúrach druhej skupiny k preukaznému zväčšeniu fluoreskujúcich plakov, s obsahom 10 až 25 žiariacich buniek. Bunky uložené v strede fluoreskujúcich ložísk vykazovali (akumuláciou fluoreskujúceho antigénu) splývajúce cytoplazmatické žiarenie, kým okrajové bunky vykazovali granulárnu perinukleárnu fluorescenciu. Popri primárnych fluoreskujúcich ložiskách vykazoval väčší počet solitárnych buniek vírusšpecifické žiarenie, charakteristické pre iniciálne štádium syntézy vírusových antigénov, čo svedčilo o rozseve vírusovej infekcie. Kultúry infikované dávkou 10^1 TKID₅₀ vykazovali v tom čase (24 hodiny *p. i.*) len primárne niekoľkobunkové plaky s následným rozsevom a generalizovaním infekcie. Na kultúrach infikovaných hraničnou dávkou vírusu sme zistili vírusšpecifické žiarenie až za 48 hodín *p. i.*

Charakter a distribúcia vírusovej fluorescence v jednotlivých bunkách boli pri infekcii kultúr PTOB riedeným inokulom rovnaké ako pri použití veľkej infekčnej dávky.

Keď pri víruse PI-3 chýbajú cytopatické zmeny v bunkových kul-

túrach, neznamená to absenciu vírusovej infekcie. Preto ani obsah TKID₅₀ určený podľa cytopatického účinku nevyjadruje skutočný obsah infekčných jednotiek vo vyšetrovanom materiáli. Imunofluoresenciou možno však identifikovať prítomnosť vírusovej infekcie aj v kultúrach, v ktorých vírus replikujú len ojedinele bunky. V ďalších pokusoch sme preto infikovali dvoma kmeňmi paralelne sklíčkové s skúmavkové kultúry PTOB log₁₀ riedeniami a výsledok odčítali na sklíčkových kultúrach podľa imunofluorescencie v prvom, druhom, treťom a štvrtom dni a na skúmavkových kultúrach podľa CPE v siedmom dni. Za infikované sme považovali aj také sklíčkové kultúry, v ktorých sme zistili len ojedinelé

II. Paralelná titrácia vírusu PI-3 na sklíčkových kultúrach podľa imunofluorescencie a na skúmavkových kultúrach podľa CPE — Parallel titration of virus PI-3 on slide cultures according to immunofluorescence, and on test-tube cultures according to the cytoplasmic effect

Kmeň	Pokus č.	Riedenie vírusu	Dôkaz vírusu FT za dni p. i.				Titer vírusu podľa	
			1	2	3	4	IF	CPE
PI-3/T ₁ /25	1	10 ⁻⁴	4/4 ⁺	4/4	N	N	10 ^{7,5}	10 ^{6,6}
		10 ⁻⁵	1/4	4/4	4/4	N		
		10 ⁻⁶	0/4	4/4	4/4	4/4		
		10 ⁻⁷	0/4	0/4	4/4	4/4		
	2	10 ⁻⁴	3/4	4/4	N	N	10 ^{7,5}	10 ^{6,0}
		10 ⁻⁵	1/4	4/4	4/4	N		
		10 ⁻⁶	0/4	4/4	4/4	4/4		
		10 ⁻⁷	0/4	1/4	4/4	4/4		
PI-3/T ₆ /3	1	10 ⁻⁴	4/4	4/4	N	N	10 ^{7,0}	10 ^{6,3}
		10 ⁻⁵	3/4	4/4	4/4	4/4		
		10 ⁻⁶	0/4	4/4	4/4	4/4		
		10 ⁻⁷	0/4	0/4	0/4	2/4		
	2	10 ⁻⁴	2/4	4/4	N	N	10 ^{7,3}	10 ^{5,5}
		10 ⁻⁵	0/4	4/4	4/4	4/4		
		10 ⁻⁶	0/4	3/4	4/4	4/4		
		10 ⁻⁷	0/4	0/4	2/4	3/4		

+ Čitateľ udáva počet sklíčok s pozitívnym nálezom špecifickej fluorescence, menovateľ počet očkovaných sklíčok

špecificky fluoreskujúce bunky. Dosiahnuté výsledky sú zhrnuté v tab. II.

Pokusy svedčia o tom, že pri infekcii bunkových kultúr hraničnými dávkami vírusu PI-3 nastupuje špecifická fluorescencia v druhom až štvrtom dni, pričom sa pomocou FT zistili vo všetkých prípadoch vyššie titry vírusu ako podľa CPE.

Fluorescentné nálezy na kultúrach PTOB infikovaných viacerými kmeňmi vírusu PI-3

Na bunkových kultúrach infikovaných vírusom PI-3 zistili Omar (1965), Bürki a i., (1966), Valíček a Šmíd (1967) v pozdnom štádiu infekcie popri intenzívnej cytoplazmatickej fluorescencii difúzne menej výrazné žiarenie aj v jadrách buniek, kým Ludwig a Paulsen (1968), Chien Liu a i. (1969) a Vander Maaten (1969) nezaznamenali v jadrách vírusšpecifické žiarenie ani v pokročilom štádiu infekcie. Chceli sme zistiť, či opísané rozdiely môžu súvisieť s biologickou kvalitou kmeňov použitých na infekciu. Sklíčkové kultúry PTOB sme infikovali tromi kmeňmi na rozdielnej úrovni pasážovania na bunkových kultúrach, a to kmeňom PI-3/T₁/25 v 8., 40., 56. a 86. pasáži, kmeňom PI-3/T₆/3 v 5., 29., a 76. pasáži a kmeňom PI-3-52-5 v 102. tkanivovej pasáži. Každým z nich sme infikovali 27 sklíčkových kultúr dávkami 10^3 , 10^4 a 10^5 TKID₅₀ vírusu, deväť sklíčok na každé riedenie, pričom sa tri sklíčka infikované každou dávkou farbili za 24, 48 a 72 hodín *p. i.*

Pri prvých dvoch kmeňoch sa na kultúrach infikovaných dávkou 10^5 TKID₅₀ zistili za 24 hodiny *p. i.* charakteristické granuly rozložené v rozsahu celej cytoplazmy a na kultúrach infikovaných dávkou 10^3 TKID₅₀ jemné zrnité cytoplazmatické žiarenie. Po 48 hodinách inkubácie vykazovali všetky kultúry, bez ohľadu na veľkosť inokula, intenzívne cytoplazmatické žiarenie zrnitého charakteru. Vo fluorescentných nálezoch na bunkách infikovaných vírusmi s rozličným počtom tkanivových pasáží neboli rozdiely. Kultúry infikované kmeňom PI-3-52-5 v 102. tkanivovej pasáži vykazovali už za 24 hodiny vo väčšine buniek splývajúce cytoplazmatické žiarenie, kým kultúry infikované dávkou 10^3 TKID₅₀ vírusu mali charakteristickú granulárnu fluorescenciu v cytoplazme. Za tri dni od infekcie — pri pokročilých cytopatických zmenách — vykazovali zaguľatené bunky intenzívnu splývajúcu fluorescenciu, bunky vretenovitého tvaru granulárne cytoplazmatické žiarenie, s nálezom menej intenzívne žiariacich ložísk aj v jadrách. Uvedené nálezy svedčia o tom, že iníciaľne štádium infekcie tefacích obličkových buniek vírusom PI-3 je charakterizované práškovitou, neskôr zrnitou fluorescenciou prechádzajúcou v splývajúce žiarenie cytoplazmy. Rýchlosť prechodu od zrnitej k splývajúcej fluorescencii je rozdielna a závislá od veľkosti inokula a vlastností použitého kmeňa. Žiarenie v jadrách sme dokázali len v pokročilom štádiu infekcie, po nahromadení vírusových antigénov v cytoplazme morfológicky zmenených buniek.

DISKUSIA

Množenie vírusu PI-3 na kultúrach PTOB vo vzťahu k produkcii antigénov vizualizovaných imunofluorescenciou, hemadsorbciou a he-

maglutinínom prebiehalo takto: Novotvorený infekčný intracelulárny vírus sme dokázali v období medzi štvrtou až šiestou hodinou od infekcie a v krátkej časovej nadväznosti došlo k jeho uvoľňovaniu do kultivačného média. Vírusovú infekciu sme mohli pomocou imunofluorescencie identifikovať za osem hodín *p. i.*, kedy obsah bunecného vírusu vykazoval hodnotu okolo $10^{1,5}$ TKID₅₀ na 0,1 ml, ako práškovité až jemnozrnné žiarenie, lokalizované perinukleárne. V rovnakom čase sme zistili pozitívnu hemadsorbcíu, čo dokumentuje včasné uvoľňovanie zrelého vírusu na povrch buniek a do kultivačného média. Od desiatej hodiny *p. i.* prevyšoval obsah voľného vírusu množstvo na bunky viazaného vírusu po celé sledované obdobie. Hemaglutinín sme v UM dokázali v nízkych titroch až za 20 hodín pri obsahu 10^5 TKID₅₀ infekčného vírusu na 0,1 ml a jeho množstvo až do 48. hodiny rýchle stúpalo. Akumulácia intracelulárneho vírusu, pokračujúca až do 30. hodiny *p. i.*, bola fluorescentne charakterizovaná narastaním a splývaním intenzívne žiariacich granúl, ktoré postupne vyplňovali najväčšiu časť cytoplazmy. Obsah bunecného vírusu ostal približne na rovnakej úrovni až do 48. hodiny, pričom sa charakter cytoplazmatickej fluorescence v podstate nezmenil; jadrá ostali prosté akéhokoľvek vírusšpecifického žiarenia. Následný pokles bunecného vírusu bol doprevádzaný výrazným poškodením monolayera a nálezom splývajúcej cytoplazmatickej fluorescence. Pozdné štádium sa vyznačuje pokročilým rozrušením bunkovej kultúry, poklesom bunecného aj voľného vírusu, všeobecnou hemadsorbciou, vysokým obsahom hemaglutinínu a intenzívnou splývajúcou fluorescenciou v celom rozsahu zaguľatených buniek; vretenovité bunky si však zachovávajú granulárne cytoplazmatické žiarenie.

V súlade s nálezmi Omara (1965), Bürkiho ai. (1966) a Valíčka a Šmída (1967) sme na infikovaných kultúrach nezaznamenali do šiestej hodiny *p. i.* vírusšpecifické žiarenie ako ho pozorovali Somínina ai. (1967) a Van Der Maaten (1969). Časový nástup fluorescence je závislý od veľkosti inokula a vnímavosti použitého tkaniva, ktoré determinujú rýchlosť navodenia a priebehu infekcie. Veľké inokulum vyvolalo vírusšpecifické žiarenie už za šesť hodín *p. i.*, kým hraničné dávky vírusu vyvolali ojedinelé fluoreskujúce bunky alebo ložiská buniek za 48 až 72 hodiny *p. i.* V súlade s týmito nálezmi zisťovali Ludwig a Paulsen (1969) špecifickú fluorescenciu pri primoizolácii vírusu PI-3 z infekčného materiálu, s malým obsahom vírusu, až po dvoj- až trojdňovej inkubácii kultúr. Rovnaká závislosť medzi veľkosťou inokula a objavením sa špecifickej fluorescence sa zistila aj pri vírusoch vakcínie (Cairns, 1960), varioly (Carter, 1965), Aujeszkeho choroby (Žuffa ai. 1970b) a infekčnej bovinej rinotracheitídy (Žuffa ai., 1976). Charakter fluorescentných nálezov, zistených na kultúrach infikovaných veľkými dávkami alebo hraničnými dávkami vírusu PI-3, boli však rovnaké.

Charakter špecifického žiarenia bol na bunkových kultúrach až do 48. hodiny *p. i.* rovnaký, ako ho opísali iní autori. Uvádzajú sa však rozdiely v pozdnom štádiu infekcie, v ktorom ostávajú jadrá prosté vírusšpecifického žiarenia (Chien Liu ai., 1965; Omar, 1965; Somínina ai., 1967; Ludwig a Paulsen, 1969), alebo sa v nich dokazuje pozitívna, aj keď menej intenzívna fluorescencia ako v cytoplazme (Cohen ai., 1965; Cole a Hetrick, 1965; Bürki ai.,

1966; Valíček a Šmíd, 1967). Aj v našich pokusoch sme zaznamenali v pokročilom štádiu infekcie — na bunkách morfológicky zmenených — fluorescenciu v jadrách, pričom zaguľatené bunky vykazovali intenzívne splývajúce žiarenie. Výsledky našich vyšetrení však nedovoľujú definovať pôvod a povahu nukleárnej fluorescencie. Prihliadajúc k tomu, že žiarenie v jadrách sa objavilo až po ukončení aktívnej produkcie vírusu, možno mať za to, že rovnako ako pri víruse NDV (Reda a i., 1964) a pri víruse infekčnej bovinnej rinotracheitídy (Žuffa a i., 1976) ide v období pokročilého poškodenia buniek o prenikanie vírusu z cytoplazmy do jadier, resp. o prekrytie cytoplazmatického žiarenia na oblasť jadier. Na kultúrach infikovaných odstupňovanými dávkami troch kmeňov vírusu PI-3 s rozdielnym počtom tkanivových pasáží sme nezaznamenali preukazné rozdiely vo fluorescentných nálezoch s výnimkou rýchlejšieho prechodu granulárneho žiarenia na splývajúce cytoplazmatické žiarenie pri kmeni PI-3-52-PTOB 102.

Pri titráciách dvoch kmeňov vírusu PI-3 fluorescentnou technikou a konvenčnou metódou v skúmavkách podľa CPE sa imunofluorescenciou dosiahli vo všetkých prípadoch vyššie hodnoty infekčných titrov. Zistené rozdiely infekčnosti, stanovené obidvoma metódami, vyplývajú z toho, že hraničné dávky vírusu navodia infekciu len ojedinelých buniek, pričom množenie vírusu nastupuje oneskorene, prebieha pozvoľna a nie je doprevádzané vývojom zjavných cytopatických zmien, avšak infikované morfológicky nezmenené bunky sa imunofluorescenciou identifikujú.

Literatúra

- BÜRKE, F. — FISCHER, K. — FEY, H.: Vergleichende virologische, fluoreszenzserologische und cytologische Untersuchungen mit einem bovinen Parainfluenza-3-Virus. Zentbl. Bakt. ParasitKde, I. Orig., 200, 1966, s. 192-201.
- CAIRNS, J.: The initiation of vaccinia infection. Virology, 11, 1960, s. 603.
- CARTER, G. B.: The rapid detection, titration, and differentiation of variola and vaccinia viruses by a fluorescent antibody-coverslip cell monolayer system. Virology, 25, 1965, s. 659.
- CHIEN LIU — SHARP, E. — COLLINS, J.: Studies on the pathogenesis of Parainfluenza type 3 virus infection in hamsters. Arch. ges. Virusforsch., 24, 1968, s. 203-219.
- COHEN, S. M. — BULLIVANT, S. — EDWARDS, G. A.: A morphological study of FL cells infected with Parainfluenza-3-virus. Arch. ges. Virusforsch., 11, 1962, s. 493-515.
- COLE, F. E. — HETRICK, F. M.: Persistent infection of human conjunctiva cell cultures by myxovirus parainfluenza 3. Can. J. Microbiol., 11, 1965, s. 513.
- DAWSON, P. S.: The isolation and properties of a bovine strain (T₁) of Parainfluenza 3 virus. Res. vet. Sci., 5, 1964, s. 81-88.
- DINTER, Z. — HERMODSON, S. — BAKOS, K.: Studies on variants of a bovine strain of parainfluenza 3 virus. Acta path. microbiol. scand., 49, 1960, s. 485-492.
- LUDWIG, H. — PAULSEN, J.: Isolierung und fluoreszenzserologische Untersuchung von Parainfluenza-3-Viren aus Vaginal und Nasentupfen vom Rind. Zentbl. VetMed., B, 16, 1969, s. 231-239.
- LUCZAK, M. — KORBECKI, M.: Comparative studies on susceptibility of established cell lines to Parainfluenza 3 virus. Acta virol., 14, 1970, s. 279-284.
- MAATEN, M. J. VAN DER: Immunofluorescent studies of bovine Para-influenza 3 virus. I. Cell cultures and experimentally infected hamsters. Can. J. comp. Med., 33, 1969, s. 134-140.
- OMAR, A. R.: Cytopathic effects and immunofluorescence produced by the J 121 strain of bovine parainfluenza 3 virus in tissue culture. Comp. Path., 75, 1965, s. 287-297.

- REDA, I. M. — ROTT, R. — SCHÄFER, W.: Fluorescent antibody studies with NDV-infected cell systems. *Virology*, 22, 1964, s. 422.
- REED, L. J. — MUENCH, H. A.: A simple method of estimating fifty per cent end-points. *Am. J. Hyg.*, 27, 1938, s. 493-497.
- SOMININA, A. A. — ZUBZHITSKY, Yu. N. — SMORODINTSEV, A. A.: Dynamics of immunofluorescence and infectivity of Parainfluenza 3 virus in susceptible cells. *Acta virol.*, 11, 1967, s. 424-431.
- VALÍČEK, L. — ŠMÍD, B.: Imunofluorescentní průkaz bovinního kmene myxoviru parainfluenzae 3 v tkáňové kultuře telecích ledvin. *Vet. Med.*, Praha, 12, 1967, s. 403-408.
- ZUFFA, A. — RAJČÁNI, J. — MATIS, J.: Replication of infectious rhinotracheitis virus in calf kidney cells studies by immuno- and acridin orange-fluorescence. *Acta virol.*, 14, 1970a, s. 459-466.
- ZUFFA, A. — MATIS, J. — SALAJ, J.: Microplague titration of pseudorabies virus by immunofluorescence. *Acta virol.*, 14, 1970b, s. 133-144.
- ZUFFA, A. — CHUMCHAL, R. — GRUNERT, Z.: Mikroepidemiologie und Mikroplaque-titration des Virus der infektiösen Rhinotracheitis des Rindes auf primären Kälbernierenzellen mittels Immunofluoreszenz. *Arch. exp. VetMed.*, 30, 1976, s. 441-457.
- ZUFFA, A. — CHUMCHAL, R. — MENŠÍK, J.: Imunofluorescencia s vírusom PI-3 — príprava a vyhodnotenie konjugátov z imúnnych sér viacerých druhov zvierat. *Vet. Med.*, Praha, 22, 1977, s. 577-588.

Došlo dňa 8. 7. 1977

ЖУФТ, А. — ХУМХАЛ, Р. (Научно-исследовательская и экспериментальная база, Биовета, Нитра): Иммунофлуоресценция с вирусом ПИ-3 — иммунофлуоресцентные следы на культурах телячьих почек, зараженных различными дозами и штаммами вируса. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978 (4) : 193-204.

При изучении размножения вируса ПИ-3 в культурах телячьих почечных клеток новый образованный внутриклеточный вирус был доказан в промежутке между четвертым и пятым часом, а свободный вирус в культурной среде за шесть часов до заражения. Вирусный антиген, видимый при помощи иммунофлуоресценции через 8 часов *p. i.*, это порошкообразное, или тонкозернистое излучение в перинуклеарной области, а наличие вируса на поверхности клеток достигается при помощи адсорбции эритроцитов морских свинок. Интенсивность продукции клеточного и свободного вируса между 10 и 24 часом иммунофлуоресцентно демонстрировалась нарастанием и слиянием интенсивно излучаемых гранул, которые занимали большую часть цитоплазмы. Гемагглютинин устанавливался в кульминационный момент размножения вирусов с быстрым последующим нарастанием содержания при одинаковой инфекционности культурной среды. Время наступления специфической флуоресценции зависит от величины инокулы, однако, флуоресцентные следы на культурах, инфицированных различными дозами вируса, одинаковы. В вирусных суспензиях при помощи иммунофлуоресценции были установлены более высокие титры вируса, чем обычным методом в пробирках по ЦПЭ (цитоплазматический эффект). Не были установлены достоверные различия в следах флуоресценции при инфекции культур тремя штаммами вируса ПИ-3.

вирус ПИ-3; рост вируса; иммунофлуоресценция; гемадсорбция; гемагглютинин

ZUFFA, A. — CHUMCHAL, R. (Research and Development Department Bioveta, Nitra): *Immunofluorescence with Virus PI-3 — Immunofluorescent Findings on Calf Kidney Cell Cultures Infected with Different Doses and Strains of the Virus*. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978 (4) : 193-204.

During experiments with the reproduction of virus PI-3 on calf kidney cell cultures, a new-formed intracellular virus was detected between the fourth and sixth hour, and a free virus in the culture medium within six hours of infection. The virus antigen, visualized by the immunofluorescent method within eight hours *p. i.*, manifested itself as powder-like or fine-grained radiation in the perinuclear region and the presence of the virus on cell surface was simultaneously detected by means of the

adsorption of guinea-pig erythrocytes. The intensive production of the cellular and free virus between the 10th and 24th hour was manifested, by immunofluorescence, as enlargement and overlapping of intensively radiating granules, filling the largest part of cytoplasm. Haemagglutinin was detected when virus multiplication culminated, and its content then quickly increased, the infectivity of the culture medium remaining unchanged. The onset of specific fluorescence depends on the size of the inoculum; however, the fluorescent findings on cultures infected with different doses of the virus are the same. Determination by immunofluorescence revealed higher virus titres in the virus suspensions, as compared with the conventional test-tube method based on the CPE (cytoplasmic effect). No significant differences in the fluorescent findings were found in the infection of the cultures with three strains of virus PI-3.

virus PI-3; virus growth; immunofluorescence; haemadsorption; haemagglutinin

ŽUFFA, A. — CHUMCHAL, R. (Forschungs- und Entwicklungsabteilung, Bioveta, Nitra): *Immunofluoreszenz mit dem PI-3-Virus — Immunofluoreszenzbefunde in den mit verschiedenen Virus-Dosen und -Stämmen infizierten Kälbernieren-Kulturen*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 193-204.

Bei Untersuchungen über die Vermehrung des PI-3-Virus auf Kälbernierenzellen-Kulturen wiesen wir das neugebildete intrazelluläre Virus zwischen der vierten und der sechsten Stunde und das freie Virus im Kultivationsmedium in sechs Stunden nach der Infektion nach. Das mit Hilfe der Immunofluoreszenz in acht Stunden *p. i.* visualisierte Virusantigen manifestierte sich als pulverige oder feinkörnige Strahlung im perinuklearen Gebiet und die Anwesenheit des Virus auf der Zelloberfläche äußerte sich in dieser Zeitperiode durch Adsorption der Meerschweinchen-Erythrozyten. Die intensive Produktion des Zellen- und des freien Virus zwischen der 10. bis 24. Stunde manifestierte sich durch Anwachsen und Zusammenfließen der intensiv strahlenden Granula, die den größten Teil des Zytoplasmas ausfüllten. Das Hämagglutinin wurde am Höhepunkt der Virusvermehrung festgestellt, wobei dessen Gehalt bei gleicher Infektiosität des Kultivationsmediums nachfolgend schnell anstieg. Das zeitliche Auftreten der spezifischen Fluoreszenz ist abhängig von der Größe des Inokulums, aber die Fluoreszenzbefunde auf den mit unterschiedlichen Virusedosen infizierten Kulturen sind gleich. In Virussuspensionen wurden mit Hilfe der Immunofluoreszenz höhere Virustiter im Vergleich zur konventionellen Methode auf Reagenzgläsern je nach dem Zytoplasmaeffekt (CPE) festgestellt. Bei Infektion der Kulturen mit drei PI-3-Virusstämmen stellten wir keine signifikanten Unterschiede in den Fluoreszenzbefunden fest.

PI-3-Virus; Viruswachstum; Immunofluoreszenz; Hämadsorption; Hämagglutinin

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Aloiz Žuffa, CSc., MVDr. Richard Chumchal, Výskumné stre-disko Bioveta, 949 91 Nitra

V. Krpata

KRPATA, V. (Státní veterinární ústav, Pardubice): *Protilátky proti vybraným virům a bedsoniím v tělních tekutinách bovinních zmetků*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 205-212.

Po dobu tří let se u bovinních zmetků ve věku od 130 dnů prošetřovaly tělní tekutiny hrudní a břišní, obsah slezu a krev ze srdce zmetka. Protilátky se zjišťovaly proti adenoviru sérotyp 3, bedsonióze, BVD-MD, IBR-IPV a parainfluenze-3. Z 204 zmetků byly protilátky adenoviru sérotypu-3 prokázány u 36 zmetků, přičemž nejméně prokazatelně byly v krvi ze srdce (v 5,33 %). Na bedsoniózu byl vyšetřen 261 zmetek, z toho pozitivní nález se zjistil u 32 zmetků, dubiozní u 20. Záchytnost protilátek v tělních tekutinách se pohybovala mezi 6,74 až 8,07 %. 60 zmetků bylo vyšetřeno na BVD-MD, titry protilátek 1 : 2 až 1 : 256 byly prokázány u 28 zmetků. Protilátky IBR-IPV byly zjištěny u čtyř zmetků z 267 vyšetřených. Na přítomnost hemaglutinačně inhibičních protilátek při parainfluenze-3 bylo vyšetřeno 260 zmetků, z nichž u 173 se prokázaly protilátky v titru 1 : 40 až 1 : 2560. Největší záhyt protilátek byl z obsahu slezu (56,03 %), z hrudní tekutiny (48,10 %) a z břišní tekutiny (41,17 %) a z krevního séra ze srdce (42,10 %). Laboratorní vyšetření rozšířilo sledování komplexu příčin abortů skotu.

skot; zmetci; sérologická vyšetření; adenovirus sérotyp 3; bedsonióza; bovinní virová diarrhoea (mucosal disease) — BVD-MD; infekční boviní rhinotracheitida — infekční postulární vulvovaginitida — IBR-IPV; parainfluenza-3

Bovinní aborty společně s mrtvě narozenými telaty způsobují v chovech skotu určité ztráty. V rozsáhlém komplexu příčin zmetání skotu se uplatňují i příčiny virové. Hubbert aj. (1973) ve vztahu k abortům uvádějí 14 různých virů.

Při rozšiřování laboratorní diagnostiky infekčních abortů je vedle patologicko-anatomického nálezu a vedle někdy náročné a dlouhotrvající izolace mikrobiálního agens v posledních letech věnována pozornost zjišťování protilátkové odpovědi samotného plodu.

U fetu atakovaném v děloze živými mikróby může v určitém časovém období dojít k vývoji a vzniku specifických protilátek. Virová infekce plodu může vést k měřitelné nebo neměřitelné imunologické odpovědi plodu, doprovázené jeho uhytnutím nebo přežitím (Schultz, 1973).

Jednu z prvních zpráv o tvorbě protilátek proti mikrobiálnímu agens u boviních fátů uvádějí Fennestad a Borg-Peterson (1957), kteří prokázali protilátky proti *Leptospira saxoebing* po umělé infekci březích krav u fetů ve věku 164 dnů.

Sledování specifické virové protilátkové odpovědi bovinních fétů se zaměřuje především na virus bovinní virové diarrhoe — mucosal disease (BVD-MD) — slizniční choroby, na virus infekční bovinní rhinotracheitidy — infekční pustulární vulvovaginitidy (IBR-IPV) a na myxovirus parainfluenzy-3 (PI-3).

Virus BVD v souvislosti s protilátkovou odpovědí bovinních fétů sleduje mnoho autorů. Kniazeff aj. (1967) při vyšetření 30 fetálních sér zjistili protilátky proti BVD ve dvou fétách ve věku 120 a 180 dnů. Casaro aj. (1971) uvádějí, že se protilátky dají prokázat ve fétách a precolostrálních sérech telat, pocházejících od krav přirozeně infikovaných virem BVD. Kendrick a Braun (1972) zjistili u čtyř fétů infikovaných ve věku 100 až 123 dní virusneutralizační protilátky ke konci březosti. Braun aj. (1973) při umělé infekci březích krav prokázali protilátky proti BVD z 12 fetálních sér v 10 případech; protilátky zjistili i v alantoidní a amniotické tekutině.

Při sledování protilátek proti viru IBR-IPV zjistili Kahrs aj. (1971) v abortujících plodech pouze stopy protilátek, specifické protilátky ve fetálních sérech prokázali Sawyer aj. (1973). Po umělé infekci bovinních fétů mladších než pět měsíců zjistili Gibbson a Zemjanis (1973) jejich odumření, naproti tomu u fétů infikovaných virem IBR-IPV ve věku pět, sedm a osm měsíců prokázali protilátky. Kendrick a Osburn (1973) infikovali sedm hovězích plodů ve věku tři až osm měsíců a za 30 až 60 dnů po infekci prokázali u šesti fétů virusneutralizační protilátky.

Vliv viru PI-3 na zmetání a sledování fetálních protilátek popisují někteří autoři (např. Sattar aj., 1965), kteří uvádějí jeden z prvních případů izolace viru PI-3 ze zmetku telete, i když ve stádě nebyly pozorovány příznaky onemocnění. Swift a Kennedy (1972) u plodů infikovaných ve věku 128 až 168 dnů prokázali za 20 až 35 dnů po inokulaci protilátky (HIT) v titru 1:40–1:640. Swift a Trueblood (1973) po pokusné infekci dvou bovinních fétů prokázali protilátky v precolostrálním séru těchto telat.

Imunologickou kompetenci proti viru BVD, IBR-IPV a PI-3 podle shrnutí různých údajů (Schultz, 1973) získávají bovinní féty ve věku 90 až 120 dnů.

Virové fetální protilátky dále zjišťují Dunne aj. (1973) proti enterovirům, Storz a Bates (1973) proti bovinním parvovirům, Sawyer aj. (1973) proti chlamydiím, Hubbert aj. (1973) proti arborvirům.

Bovinní fetální protilátky se prokazují především ve fetálním séru získávaném při experimentálních pokusech chirurgickou cestou (Kahrs aj., 1971; Gibbson a Zemjanis, 1973; Swift aj., 1973). Dále se prokazují v tekutině amniotické, alantoidní, v placentě, v umbilikální krvi (Sattar aj., 1965; Braun aj., 1973; Casaro aj., 1973), v extraktech parenchymatózních orgánů, jako je slezina, játra, plíce (Kendrick a Osburn, 1973). Zjišťují se v obsahu slezu (Sattar aj., 1967) a v tekutinách abdominální, thorakální, perikardiální, v krvi ze srdce zmetka (Dunne aj., 1973).

Podle rozboru zmetání v roce 1976 (KTER-ÚSVÚ, Praha) se virová etiologie zjistila u 0,53 % bovinních zmetků doručených k vyšetření. Přitom u 58,3 % zaslanych zmetků se příčina abortu nezjistila.

V našem vyšetření se zjišťovaly v letech 1974 až 1976 protilátky v tělních tekutinách bovinních zmetků proti adenoviru — sérotyp 3, proti bedsonioze, viru BVD-MD, viru IBR-IPV a viru PI-3.

MATERIÁL A METODA

MATERIÁL

Materiály se odebíraly od zmetků zasílaných k běžnému laboratornímu vyšetření z nasávací oblasti SVÚ Pardubice. Od kadaverů autolyzovaných a jinak nevhodných se vzorky nevyšetřovaly. Věk prošetřovaných zmetků se pohyboval od 130 až 140 dnů až do normálního věku a vývinu v době porodu. Ze zmetků se odebíraly: tělní tekutina abdominální, tělní tekutina thorakální, obsah slezu a krevní sraženina ze srdečních dutin. Jednotlivé materiály se centrifugovaly při 2000 obrátkách 10 minut a supernatant se vyšetřil ihned, nebo se skladoval při teplotě -25°C . Obsah slezu, pokud byl rosolovitý, se tlakově rozpipetoval a předředil Earlovým roztokem.

Supernatanty tělních tekutin i fetální sérum zmetků se na přítomnost protilátek vyšetřovaly běžným metodickým způsobem, jakým se vyšetřují krevní séra. Před vlastním vyšetřením se materiály inaktivovaly při teplotě 56 °C po dobu 30 minut.

Pro výrobu antigenu se použily kmeny ze sbírky zoopatogenních mikroorganismů v Brně, a to: adenovirus – sérotyp 3 (CCM V 63) – kmen WBR 1; IBR-IPV (CCM V 132) a PI-3 (V 92). U bedsonií se použil komerční skupinový antigen Bioveta, Ivanovice na Hané. Při vyšetření BVD-MD se pracovalo s kmenem Oregon 24, který jsme získali laskavostí doc. dr. Menšíka a dr. Čepici z VÚVL, Brno.

Protilátky se prokazovaly u adenoviru – sérotyp 3 a IBR-IPV virusneutralizačním testem, u bedsonií komplement-fixačním testem, u PI-3 hemaglutinančně inhibičním testem.

U BVD-MD se protilátky zjišťovaly virusneutralizačním testem na tkáňové kultuře bovinních fetálních ledvin s použitím Earlova roztoku s 0,5 % LAHU, 0,01 % yestolextraktu, 5 % bovinního séra a s antibiotiky. Test se dělal mikrometodou v celkovém objemu 0,15 ml. Tělní tekutiny nebo vyšetřovaná séra zmetků se ředila v poměru 1 : 2 až 1 : 256 a zjišťoval se příslušný titr protilátek.

Při zjištění protilátek v jedné tělní tekutině (i když byly od téhož zmetka další tekutiny vyšetřeny s negativním výsledkem) byl v souhrnném hodnocení zmetek posouzen jako s pozitivním nálezem protilátek.

VÝSLEDKY

Nálezy protilátek zjištěné při celkovém hodnocení u jednotlivých viróz v tělních tekutinách nebo v krevním séru bovinních zmetků jsou uvedeny v tab. I.

I. Virové protilátky v tělních tekutinách bovinních zmetků – Virus antibodies in the body fluids of bovine abortions

	Vyšetřeno zmetků						
	celkem	z toho					
		negativních		pozitivních		kontaminovaných	
Adenovirus-s. 3	204	167	81,86 %	36	17,64 %	1	0,49 %
Bedsoniíza	261	185	70,88 %	32	12,26 %	24	9,19 %
BVD-MD	60	23	38,33 %	28	46,66 %	9	15,00 %
IBR-IPV	267	262	98,12 %	4	1,49 %	1	0,37 %
Parainfluenza-3	260	87	33,46 %	173	66,53 %	0	0

Adenovirus – sérotyp 3

Z 204 vyšetřených kusů se protilátky prokázaly u 36 zmetků. V tělní tekutině hrudní, břišní a v obsahu slezu se zjišťovaly v rozsahu od 11,37 do 11,95 %, nejméně se prokázaly v krvi ze srdce (v 5,33 %).

Bedsoniíza

Celkem se vyšetřil 261 bovinní zmetek, pozitivní protilátky se zjistily u 32 kusů, dubiozní výsledky byly u 20 zmetků. Tělní tekutiny se nedaly vyšetřit od 24 zmetků především pro antikomplementaritu nevhodného materiálu. Při zjišťování výskytu protilátek v jednotlivých těl-

ních tekutinách se záchytnost pohybovala od 6,74 % do 8,07 %. Podrobné výsledky včetně výše titru jsou uvedeny v tab. II.

II. Bedsoniíza protilátky v tělních tekutinách telat zmetků — Antibody bedsoniosis in the body fluids of bovine abortions

	Vyšetřeno					Titř			
	celkem	z toho				1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80
		negativní	pozitivní	dubi- ózní	anti- kom- ple- men- tarita				
Zmetků celkem	261	185	32	20	24	20	17	11	4
Obsah slezu	232	183	17	6	26	6	8	7	2
Tekutina hrudní	223	140	18	9	56	9	12	4	2
Tekutina břišní	163	115	11	8	29	8	9	1	1
Krev ze srdce	89	48	6	10	25	10	1	3	2

BVD-MD

Vyšetřovalo se až v roce 1976, kdy ze 60 zmetků se protilátky v titru 1 : 2 až 1 : 256 zjistily u 28 abortovaných plodů. Z 52 vyšetřených obsahů slezu se prokázaly ve 46,10 % vzorků a ze 47 břišních tekutin ve 40,42 % vzorků.

IBR-IPV

Protilátky z 267 vyšetřených zmetků se zjistily u čtyř kusů, bez současného zjištění v dalších tělních tekutinách téhož vyšetřovaného zmetka.

Parainfluenza-3

Na přítomnost hemaglutinačně inhibičních protilátek se prošetřilo 260 zmetků. Protilátky v titru 1 : 40 až 1 : 2560 se prokázaly u 173 zmetků. Největší záchyt protilátek byl v obsahu slezu — 56,03 % (z 232 vyšetřených), v tělní tekutině hrudní — 48,10 % (z 218 vyšetřených), v tekutině břišní — 41,17 % (ze 153 vyšetřených) a v krevním séru ze srdce — 42,10 % (ze 76 vyšetřených).

Zastoupení protilátek proti několika virům v tělních tekutinách, včetně fetálního séra bovinních zmetků, bylo sledováno ve dvou skupinách.

V první se vyšetřily 184 abortované plody zároveň na protilátky proti adenoviru — sérotyp 3, bedsoniíze, IBR-IPV a PI-3. Nejvíce zmetků, a to 61, mělo v tělních tekutinách pouze protilátky proti PI-3. Na druhém místě bylo 47 zmetků bez protilátek proti sledovaným virózám. U dalších 25 zmetků byly protilátky proti bedsoniíze a PI-3 současně. Následuje 20 zmetků s protilátkami proti adenoviru — sérotyp 3 a PI-3. Podrobný přehled zastoupení jednotlivých protilátek v této skupině uvádí tab. III.

Počet zmetků (celkem 184)	%	Adenovirus sérotyp 3	Bedsoniíza	IBR-IPV	PI-3
61	33,15	0	0	0	+
47	25,54	0	0	0	0
25	13,58	0	+	0	+
20	10,86	+	0	0	+
14	7,60	0	+	0	0
9	4,89	+	0	0	0
4	2,17	+	+	0	+
1	0,54	0	0	+	+
1	0,54	+	0	+	0
1	0,54	0	0	+	0
1	0,54	+	0	+	+

Ve druhé skupině, ve které jsme sledovali 47 zmetků na bedsoniízu, BVD-MD, IBR-IPV, PI-3, byli na prvním místě 22 zmetci s protilátkami proti BVD a současně PI-3, dále 15 zmetků s protilátkami jen proti PI-3 a pět zmetků s protilátkami proti bedsoniíze, BVD a PI-3 zároveň. Bez všech protilátek byly tři féty, dva měly protilátky proti bedsoniíze a PI-3.

DISKUSE

Vyšetřením tělní tekutiny hrudní a břišní, obsahu slezu a krevních sér bovinních zmetků se zjistily protilátky proti adenoviru — sérotyp 3 u 17,64 %, proti bedsoniíze u 12,26 %, proti BVD u 46,66 %, proti IBR-IPV u 1,49 % a proti PI-3 u 66,53 % vyšetřených zmetků.

Protilátky proti bovinním adenovirům se převážně sledují při respiračních poruchách telat. Bovinní adenovirus při abortu krav v přirozeně infikovaném stádu uvádí M o h a n t y (1968). V prošetřovaném období se u nás prokázaly virusneutralizační protilátky v titru 1:4 u 28,29 % krav zmetalek ze 417 vyšetřených. Tato zjištění spolu s protilátkovou odpovědí v tělních tekutinách telat zmetků si vyžadují v rámci celkové problematiky další sledování a pozornost.

U bedsoniízy byly v tělních tekutinách bovinních zmetků zjištěny protilátky u 12,2 % vyšetřených zmetků. V době sledování se pohybovaly v naší oblasti sérologicko-pozitivní nálezy u krav zmetalek v ročních průměrech od 16,7 % do 24,2 % z vyšetřených. Určitý podíl bedsoniízy na abortech skotu lze vyvozovat i ze zvýšených izolačních záchytů bedsonií od telat zmetků, které se pohybovaly od 5,1 % do 17,1 % ze 41 až 73 vyšetřených.

Protilátková odpověď proti BVD-MD se zjistila u 46,6 % zmetků v titru 1:2 až 1:256. V tomto období se virusneutralizační protilátky prokázaly u 55,7 % krav zmetalek ze 456 vyšetřených. Sérologické

údaje o promóřenosti skotu se u nás týkají problematiky při onemocnění telat; Žuffa aj. (1972) uvádějí protilátky u 71,5 % telat, Čepica aj. (1975) u 75,0 % až 90,0 % telat. Kahrs (1968) uvádí až 90 % sérologickou pozitivitu v promóřených chovech, Schaal aj. (1972) zjišťují 76,4% pozitivitu. Aborty krav původu BVD, doprovázené v některých případech malformacemi abortovaného plodu, si vynucují podrobnější laboratorní diagnostiku, včetně zjišťování protilátek v tělních tekutinách telat zmetků.

Protilátky proti IBR-IPV se prokázaly v našem vyšetření u bovinních zmetků ojediněle (1,49 %) bez současného průkazu v další vyšetřované tekutině téhož zmetka. U krav zmetalek ve sledované oblasti se zjistily virusneutralizační protilátky u 1,4 % kusů z 2563 vyšetřených. Při našem vyšetření došlo také k opakovanému zmetání bez zjištění IBR protilátek u zmetků v lokalitě H., kde persistují protilátky u krav ve více než 50 % již třetí rok. Získali jsme tak obdobné údaje, jaké popisují Hubbert aj. (1973) nebo Kendrick a Osburn (1973).

Proti parainfluenze-3 se prokázaly protilátky u 66,53 % vyšetřených zmetků. Pozitivní protilátky se zjistily u 85,25 % krav zmetalek naší vyšetřované oblasti, což odpovídá všeobecně vysoké sérologické pozitivitě skotu, kterou uvádějí Menšík a Kočí (1967) — 87 až 100 %. Dunne aj. (1973) zjistili ze 100 vyšetřených fétů hemaglutinačně inhibiční protilátky proti PI-3 u 53 kusů, naproti tomu Hubbert aj. (1973) ze 105 vzorků neprokázali protilátky ani v jednom kuse.

Při současném zjišťování protilátek z tělních tekutin zmetků a příslušných krav zmetalek byly zjištěny souhlasné výsledky u IBR-IPV (negativní) a odpovídající u PI-3. Výsledky u bedsoniízy a adenoviru si vyžádají větší početní sledování souboru — zmetalka a příslušný zmetek.

Technická spolupráce: O. Hamplová, H. Janků.

Literatura

- BRAUN, R. K. — OSBURN, B. I. — KENDRICK, J. W.: Immunologic response of bovine fetus to bovine viral diarrhea virus. *Am. J. vet. Res.*, 34, 1973, s. 1127-1132.
- CASARO, A. P. E. — KENDRICK, J. W. — KENNEDY, P. C.: Response of the bovine fetus to bovine viral diarrhea-mucosal disease virus. *Am. J. vet. Res.*, 32, 1971, č. 10, s. 1543-1562.
- ČEPICA, A. — MENŠÍK, J. — POSPÍŠIL, Z. — ŘEZNÍČEK, P.: Izolace a identifikace viru bovinní virové diarrhoey — slizniční choroby (BVD-MD) v ČSR. *Vet. Med., Praha*, 20, 1975, č. 10-11, s. 569-581.
- DUNNE, H. W. — AJINKYA, S. M. — BUBASH, G. R. — GRIEL, L. C.: Parainfluenza-3 and bovine enteroviruses as possible important causative factors in bovine abortion. *Am. J. vet. Res.*, 34, 1973, č. 9, s. 1121-1126.
- FENNESTAD, K. L. — BORG-PETERSON, C.: Antibody and plasma cells in bovine fetuses infected with *Leptospira saxkoebing*. *J. infect. Dis.*, 110, 1962, s. 63-69.
- GIBSON, C. D.: The immune response of the bovine fetus. Ph. D. thesis University of Minnesota. In: SCHULTZ, R. D.: *Cornell Vet.*, 63, 1973, č. 4, s. 507-535.
- GIBSON, C. D. — ZEMJANIS, R.: Immune response of the bovine fetus to several antigens. *Am. J. vet. Res.*, 34, 1973, č. 10, s. 1277-1280.
- HUBBERT, W. T. — BRYNER, J. H. — FERNELIUS, A. L. — FRANK, G. H. — ESTES, P. C.: Viral infection of the bovine fetus and its environment. *Arch. ges. Virusforsch.*, 41, 1973, s. 86-98.
- KAHRS, R. F.: The relationship of bovine viral diarrhea-mucosal disease to abortion in cattle. *J. Am. vet. med. Ass.*, 153, 1968, č. 12, s. 1652-1655.
- KAHRS, R. F. — SCOTT, F. W. — HILLMAN, R. B.: An appraisal of fetal serology for the diagnosis of bovine abortion and congenital defects. *Proc. U. S. anim. Health Ass.*, 75, 1971, s. 588-594.

- KENDRICK, J. W. — BRAUN, R. K.: Fetal infection with the bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus. VII. Intern. Cong. Artific. Insem. Reprod., München, 1, 1972, s. 327-329.
- KENDRICK, J. W. — OSBURN, B. I.: Immunologic response of the bovine fetus to inactivated infections, bovine rhinotracheitis-infections, pustular vulvovaginitis virus. Am. J. vet. Res., 34, 1973, č. 12, s. 1567-1571.
- KNIAZEFF, A. J. — RIMER, V. — GAETA, L.: Gamma-globulin in foetal bovine sera: Significance in virology. Nature, 214, 1967, s. 805-806.
- MENŠÍK, J. — KOČÍ, J.: The involvement of myxovirus parainfluenza-3 in bovine respiratory infections in large-capacity rearing houses. III. Serological examination, Docum. Vet., Brno, 1967, č. 6, s. 169-174.
- MOHANTY, S. B.: Comments on bovine adenoviruses. J. Am. vet. med. Ass., 152, 1968, č. 6, s. 792-794.
- SATTAR, S. A. — BOHL, E. H. — SENTURK, M.: Viral causes of bovine abortion in Ohio. J. Am. vet. med. Ass., 147, 1965, s. 1207-1210.
- SATTAR, S. A. — BOHL, E. H. — TRAPP, A. L. — HAMDY, A. H.: In utero infection of bovine fetuses with Myxovirus parainfluenza-3. Am. J. vet. Res., 28, 1967, s. 45-49.
- SAWYER, M. — OSBURN, B. I. — KNIGHT, H. D. — KENDRICK, J. W.: A quantitative serologic assay for diagnosing congenital infections of cattle. Am. J. vet. Res., 34, 1973, č. 10, s. 1281-1284.
- SCHALL, E. — ERNST, H. — HOLLING, F.: Untersuchungen über Verbreitung und Verlauf der Virusdiarrhoe-Mucosal-Disease in natürlich infizierten Rinderbeständen. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 85, 1972, č. 13, s. 245-251.
- SCHULTZ, R. D.: Developmental aspects of the fetal bovine immune response: a review. Cornell Vet., 63, 1973, č. 4, s. 507-535.
- STARKE, G.: Virologische Praxis. 2. Auflage. Jena 1968.
- STORZ, J. — BATES, R. C.: Parvovirus infections in calves. J. Am. vet. med. Ass., 163, 1973, č. 7, s. 884-886.
- SWIFT, B. L. — KENNEDY, P. C.: Experimentally induced infection of in utero bovine fetuses with bovine parainfluenza-3 virus. Am. J. vet. Res., 33, 1972, s. 57-63.
- SWIFT, B. L. — TRUEBLOOD, M. S.: Failure to induce fetal infection by inoculation of pregnant immune heifers with bovine parainfluenza-3 virus. J. infect. Dis., 127, 1973, s. 713-717.
- ZUFFA, A. — SALAJ, J. — DUŠEK, I. — ČERNÍK, K.: Výskyt protilátok proti vírusom infekčnej bovinnej rinotracheitidy (IBR), parainfluenzy (PI-3) a slizničnej choroby (VDV) v chovoch mladého dobytku v oblasti juhozápadného Slovenska. Vet. Med., Praha, 17, 1972, č. 6, s. 309-320.

Došlo dne 29. 7. 1977

КРПАТА, В. (Государственный ветеринарный институт, Пардубице): Антитела от избранных вирусов и бедсоний в жидкостях тела у выкидышей крупного рогатого скота. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 205-212.

На протяжении трех лет у выкидышей кр. р. скота в возрасте от 130 дней изучались грудная и брюшная жидкости тела, содержание слизи и крови в сердце выкидыша. Антитела определялись против аденовируса серотипа 3, бедсонии, вирусной диареи кр. р. скота, инфекционного ринотрахеита кр. р. скота — инфекционного пустулярного вульвовагинита, БВД-МД, ИБР-ИПВ и параинфлюэнцы-3. Из 304 выкидышей антитела аденовируса серотипа-3 были доказаны у 36 выкидышей, причем, наименее достоверными были в крови из сердца (5,33 %). На бедсонии было обследовано 261 выкидыш, положительные результаты дало 32 выкидыша, дубиозными были 20. Приживаемость антител в жидкостях тела колебалась от 6,74 до 8,07 %. 60 выкидышей было обследовано на БВД-МД, титры антител 1:2—1:256 были доказаны у 28 выкидышей. Антитела ИБР-ИПВ были установлены у 4 выкидышей из 267 обследуемых. На наличие гемагглютинационно ингибиционных антител при параинфлюэнце-3 было обследовано 260 выкидышей, в том числе у 173 были доказаны антитела в титре 1:40—1:2560. Самое большое поглощение антител из содержания слизи (56,03 %) и из грудной жидкости (48,1), из брюшной жидкости (41,17 %) и из сыворотки крови из сердца (42,1 %). Лабораторные исследования расширили изучение комплекса выкидышей кр. р. скота.

кр. р. скот; выкидыши; серологическое обследование; аденовирус серотип 3; бедсонии; БВД-МД; ИБР-ИПВ; параинфлюэнца

The body fluids (thoracic and abdominal), reticulum content, and blood from the heart were studied for three years in bovine abortions (from 130 days of age). Antibodies to the following diseases and viruses were investigated: adenovirus serotype 3, bedsoniosis, bovine virus diarrhoea — mucosal disease (BVD-MD), infectious bovine rhinotracheitis — infectious pustular vulvovaginitis (IBR-IPV), and parainfluenza-3. Of the total number of 204 abortions, antibodies to adenovirus serotype-3 were detected in 36; their lowest occurrence was in the blood of the heart (in 5.33 %). Two hundred and sixty-one abortions were examined for bedsoniosis, a positive finding being obtained in 32 and a dubious finding in 20. The capture rate of antibodies in the body fluids ranged between 6.74 and 8.07 %. Sixty abortions were examined for BVD-MD and antibody titres 1:2 to 1:256 were proved in 28 of them. Antibodies to IBR-IPV were detected in four abortions of the 267 examined. Two hundred and sixty abortions were examined for the presence of haemagglutination-inhibition antibodies in parainfluenza-3, and in 173 of them antibodies were found in titres 1:40 to 1:2560. The highest capture rate of antibodies was ascertained in the reticulum content (56.03 %), in the thoracic fluid (48.1 %), in the abdominal fluid (41.17 %), and in the heart blood serum (42.1 %). The laboratory examination enriched the examination of the complex of the causes of abortions in cattle.

cattle; abortions; serological examinations; adenovirus serotype-3; bedsoniosis; BVD-MD; IBR-IPV; parainfluenza-3

KRPATA, V. (Staatliche Veterinäranstalt, Pardubice): *Antikörper gegen ausgewählte Viren und Bedsonien in Körperflüssigkeiten von bovinen Fehlgeburten*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 205-212.

Drei Jahre hindurch wurden bei bovinen Fehlgeburten im Alter von mehr als 130 Tagen die Brust- und Bauchkörperflüssigkeiten, der Labmageninhalt sowie das Herz derselben untersucht. Antikörper wurden festgestellt gegen der Adenovirus-Serumtyp 3, gegen Bedsoniosis, bovine Virus-Diarrhoea (angl. mucosal disease), ferner gegen infektiöse bovine Rhinotracheitis, infektiöse pustuläre Vulvovaginitis (BVD-MD, IBR-IPV) und Parainfluenza-3. Von insgesamt 304 Fehlgeburten wurden bei 36 Fehlgeburten Antikörper des Adenovirus-Serumtyps-3 nachgewiesen, wobei diese am wenigsten im Herzblut (in nur 5,33 % der Fälle) nachweisbar waren. Auf Bedsoniosis wurden 261 Fehlgeburten untersucht. Davon wurden bei 32 Fehlgeburten positive Befunde, bei 20 Fehlgeburten dubiose Befunde festgestellt. Die Erfassbarkeit der Antikörper in Körperflüssigkeiten schwankte zwischen 6,74 und 8,07 %. Sechzig Fehlgeburten wurden auf BVD-MD untersucht; bei 28 dieser Fehlgeburten wurden Antikörpertiter von 1:2 bis 1:256 nachgewiesen. IBR-IPV-Antikörper wurden bei vier von insgesamt 267 untersuchten Fehlgeburten festgestellt. Auf die Anwesenheit von der Hämagglutination inhibierenden Antikörper gegen Parainfluenza-3 wurden 260 Fehlgeburten untersucht, von denen bei 173 Antikörpertiter von 1:40 bis 1:2560 nachgewiesen wurden. Das höchste Auftreten von Antikörpern wurde im Labmageninhalt (56,03 %), in der Brustflüssigkeit (48,1 %), in der Bauchflüssigkeit (41,17 %) und im Herzblutserum (42,1 %) festgestellt. Die Laboruntersuchungen erweiterten das Verfolgen des Rinderabortus-Ursachenkomplexes.

Rind; Fehlgeburten; serologische Untersuchungen; Adenovirus-Serumtyp 3; Bedsoniosis; BVD-MD; IBR-IPV; Parainfluenza-3

Adresa autora:

MVDr. Václav Krpata, Státní veterinární ústav, Štrossova 239, 530 03 Pardubice

Adresa autora:

MVDr. Václav Krpata, Státní veterinární ústav, Štrossova 239, 530 03 Pardubice

V. Kadlec

KADLEC, V. (Státní veterinární ústav, Terežín): *Pozorování antigenní příbuznosti leptospir a brucel při sérologickém vyšetřování skotu*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 213-218.

36,9 % bovinních sér, která reagovala při vyšetření na brucelózu nespecificky, mělo titer $\geq 1:400$ leptospirózních aglutininů. 15,1 % sér reagovalo pozitivně ($> 1:800$) převážně proti *L. sejroe* a *L. grippotyphosa*. Zkřížené reakce, zjišťované v individuálních případech nejdéle do 39 dnů od prvního vyšetření, byly působeny rodově specifickým leptospirovým antigenem. Nespecifické reakce na brucelózu mohou u skotu signalizovat rané infekce leptospirami.

brucelóza; leptospiróza; sérodiagnostika; zkřížené reakce

Impuls leptospirového antigenu vyvolá u prasat a skotu kromě tvorby specifických protilátek detekovatelných aglutinačně lytickou reakcí také dílčí imunologickou odezvu, projevující se při séroreakcích na brucelózu [Kadlec, 1972]. Na tento vztah v prasečím séru upozornili Ionica aj. [1966], kteří jej potvrdili experimentálně.

Vzhledem k povaze obou antigenů nebylo možné pokusy rumunských autorů rozšířit na skot, a tak anamnestická odpověď na ně byla sledována jen při hromadném preventivním vyšetřování bovinních sér na brucelózu v Severočeském kraji.

Zároveň uskutečněné séroreakce na brucelózu a leptospirózu měly objasnit příčiny tzv. nespecifických nálezů, zjišťovaných především v pomalé aglutinaci s brucelovým antigenem; v některých případech byly pokusem o vysvětlení etiologie abortů u důležitého druhu hospodářských zvířat.

MATERIÁL A METODY

V letech 1976 a 1977 byla krevní séra s nespecifickými séroreakcemi na brucelózu, zjišťovanými v rámci preventivního vyšetřování skotu v západní části Severočeského kraje, vyšetřována také na leptospirózu.

Sérodiagnostika brucelózy (BA) i leptospirózy se dělala podle Veterinární laboratorní vyšetřovací metodiky (1975). Při reakci mikroaglutinace — lyze (MAL) na leptospirózu byla mimo sérotypů uvedených v metodice používána navíc *L. bulgarica* (séroskopina *Autumnalis*) a sérotyp *L. ballum* byl nahrazen antigenně příbuznou *L. arborea*, která se podle Šebka a Rosického (1974) vyskytuje na území ČSSR v antropургických ohniskách.

Pohyb hladiny protilátek byl sledován u 28 krevních sér dvěma vyšetřeními v odstupu 14 až 25 dní, z toho šest zvířat jsme vyšetřovali třikrát a jedno pětikrát při zachování přibližně stejného časového odstupu.

BRUCELOZA

V údobí 17 měsíců v letech 1976 a 1977 reagovalo ze 73 067 boviních sér, vyšetřených na BA, 288 (tj. 0,4 %), především v pomalé aglutinaci (PA) nespecificky v titru od 1:20 do 1:40. V ojedinělých případech byly tyto reakce doprovázeny zvýšeným titrem i v Coombsově testu (1:10). Ve všech uvedených případech byla BA vyloučena dalšími vyšetřeními.

I. Celkový přehled o vyšetřování sér s nespecifickou reakcí BA na leptospirózu — A survey of the examination of serums with a non-specific BA reaction to leptospiriosis

Počet vyšetření	Z toho		
	pozitivní > 1 : 800 >	dubiózní	negativní
165	25	36	104

II. Výsledek MAL s bovinními séry, u nichž byl zjištěn nespecifický titr na bruceulózu — MAL results with bovine serums in which non-specific titre to brucellosis was found

Počet	Pomalá aglutinace na bruceulózu					
	1 : 20	32	23	titr	1 : 40	
	91	32	23	13	4	2
	—	±	+	—	±	+
	mikroaglutinace — lýze					

— = negativní MAL

± = dubiózní MAL

+

LEPTOSPIRÓZA

Z nespecificky reagujících sér na BA bylo 165 vyšetřeno na leptospirózu. Leptospirózní protilátky v titru $\geq 1:400$ byly shledány u 61 ku-su, tj. u 36,9 % ze všech vyšetřených kusů hovězího dobytka (tab. I). Séra reagovala proti jednomu nebo více z těchto sérotypů: *L. icterohaemorrhagiae*, *sorex-jalna*, *canicola*, *arboreae*, *bulgarica*, *bratislava*, *pomona*, *grippotyphosa*, *sejroe*, *bataviae*, *tarassovi*. Pozitivní nález (> 1:800) leptospirózních imunoglobulinů byl zjištěn ve 25 případech (tj. 15,1 %), dubiózní ve 36 případech, což je 21,8 % (tab. I).

Séra s BA titrem 1:20 reagovala ve srovnání se séry s titrem 1:40 proti leptospirovým antigenům devětkrát častěji. Zvlášť markantní je tento rozdíl při porovnání pozitivních nálezů. Při pozitivních reakcích byly nejčastěji shledány protilátky proti *L. sejroe* (14×), dále protilátky proti *L. grippotyphosa* (6×) a [*L. bratislava* (1×)]. Zbytek tvořily smíšené reakce proti dvěma nebo více sérotypům.

III. Dynamika hladiny protilátek u skotu při zkřížených reakcích na brucelózu a leptospirózu — Dynamics of the antibody level in cattle in cross reactions to brucellosis and leptospirosis

1.			2.		
Vyšetření			Vyšetření		
BA			BA		
PA	Coombs-test	MAL	PA	Coombs-test	MAL
1 : 40	1 : 10	0	1 : 40	1 : 10	1 : 400
20	0	0	0	0	800
20	0	0	0	0	800
20	0	0	0	0	800
20	0	0	0	0	1600
20	0	0	40	0	3200
20	0	0	0	0	3200
20	0	0	0	0	6400
20	0	1 : 200	20	0	800
20	0	400	0	0	1600
20	0	800	0	0	0
20	0	800	0	0	1600
20	0	800	0	0	1600
20	0	1600	0	0	400
20	0	1600	0	0	400
20	0	1600	0	0	800
20	0	1600	0	0	1600
20	0	3200	0	0	0
20	0	3200	0	0	0
20	0	3200	20	0	800
20	0	6400	0	0	0

0 při MAL znamená titr < 1 : 400

Nespecifické reakce s BA antigenem při opakovaném vyšetření, až na výjimky (4) vymizely, hladina specifických leptospirózních imunoglobulinů však měla vzestupnou tendenci. Vzestup byl patrný v sérech zvířat, u nichž mohla být dynamika sledována při více vyšetřeních (tab. IV).

Pokles titru leptospirózních aglutininů byl zaznamenán celkem u osmi zvířat (tab. III a IV), čtyřikrát zůstávala hladina téměř na stejné výši (v rozpětí jednoho titračního stupně — tab. III).

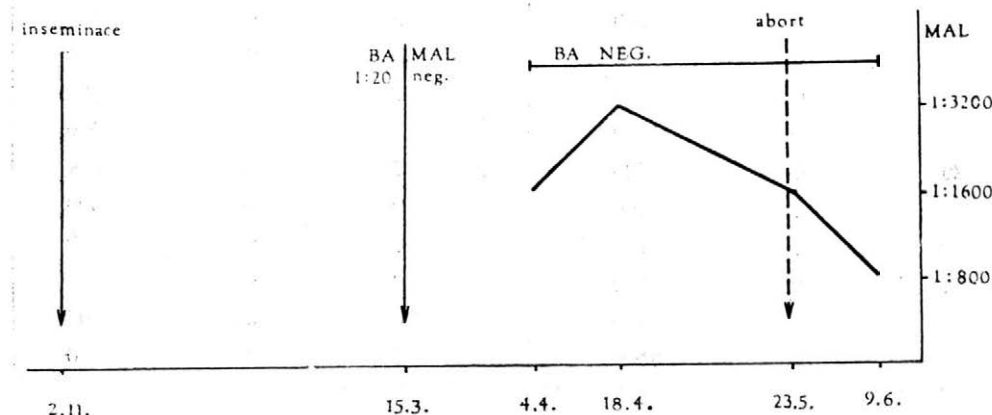
Jiné aspekty, především klinický stav zvířat, se nepodařilo sledovat.

Pozoruhodný výsledek měla tříměsíční sérologická kontrola jedné březí krávy (obr. 1). Po nespecifické reakci na BA byly u ní později zjištěny protilátky proti *L. seje* a v sedmém měsíci březosti pak kráva zmetala. Abortovaný plod ani placenta nebyly k laboratornímu vyšetření zaslány.

IV. Dynamika hladiny protilátek při zkřížených reakcích na brucelózu a leptospirózu, sledovaná u skotu třemi vyšetřeními po dobu 50 dní — Dynamics of the antibody level in cross reactions to brucellosis and leptospirosis, examined in cattle by means of three examinations for 50 days

Vyšetření								
1.			2.			3.		
BA PA	Coombs- test	MAL	BA PA	Coombs- test	MAL	BA PA	Coombs- test	MAL
1 : 20	0	0	0	0	1 : 1600	0	0	1 : 3200+
20	0	0	0	0	1600	0	0	12800
40	0	0	0	0	6400	0	0	1600
20	0	1 : 400	0	0	800	0	0	3200
20	0	400	0	0	3200	0	0	1600
20	0	400	0	0	6400	0	0	6400
20	0	800	1 : 20	1 : 10	1600	0	0	3200

+ označený vzorek byl sledován celkem pěti vyšetřeními (viz obr. 1)



1. Grafické znázornění průběhu sérologického vyšetřování březí krávy č. 47145 z JZD Krbice (okr. Chomutov) — Graphical representation of the course of serological examinations of pregnant cow no. 47145 on the Krbice co-operative farm (Chomutov district)

DISKUSE

Souběžné sledování závislosti nespecifických BA reakcí na pozitivním nálezů leptospirózních protilátek v krevním séru skotu nedalo jednoznačný výsledek. Při nálezů zvýšeného titru sérových BA protilátek reagovaly na leptospirózu téměř dvě třetiny vyšetřené skotu negativně. Pozitivní nálezy však určitou závislost naznačují.

Při zjištěných zkřížených reakcích hrál pravděpodobně důležitou úlohu časový faktor. Nasvědčuje tomu sledování dynamiky protilátek v delším časovém odstupu (tab. III a IV). Podle dosažených výsledků

se zdá, že k přechodnému zvýšení brucelových aglutininů v nespecifické výši titru (převážně 1 : 20) dojde v rané fázi tvorby protilátek a většinou při jeho odeznívání se začínají tvořit specifické leptospirózní imunoglobuliny. V ojedinělých případech se hladina nespecifických BA protilátek udržuje na téže hodnotě až v rozpětí jednoho titračního stupně s titrem leptospirózních aglutininů v rozmezí 1 : 400 až 1 : 3200 (tab. III). Jeden případ svědčí i pro delší přetrvávání nespecifických reakcí na BA do doby, kdy již dochází k poklesu leptospirózních protilátek z 1 : 3200 na 1 : 800.

Maximálně do 39 dnů od prvního vyšetření však nespecifické BA reakce vymizely úplně (tab. IV). Hypotézu o časovém průběhu zkřížených reakcí by bylo nutné potvrdit v širším měřítku nebo experimentálně. Důležitou úlohu hraje samozřejmě individualita hostitelského organismu.

Antigenní příbuznost brucel a leptospir není vázána sérotypovou příslušností leptospir. Odpovědnost za ni nese asi u leptospir rodově specifický lipopolysacharidový komplex, což potvrzuje, že nespecifické reakce BA probíhaly při reakcích se všemi sérotypy.

Průběh tvorby protilátek, který se podařilo zachytit u březí krávy (obr. 1), svědčí pro infekci leptospirami, vedoucí ke zmetání. Tvorba a vzestup protilátek proti *L. sejroae* byly signalizovány nespecifickou BA reakcí v časovém předstihu. Ve shodě s poznatky mnoha autorů (Ellis a Michna, 1974; Johnson aj., 1974; Hunter, 1975) v době abortu však již hladina leptospirových imunoglobulinů klesala.

V pokusech Fennestada a Borg-Petersena (1956) docházelo k abortům mezi 23. až 28. dnem po experimentální infekci, zatímco v popsaném případě se březí kráva infikovala nejméně 49 dní před zmetáním, spíše ještě dříve. Tento časový interval mezi infekcí a abortem vyvolaným leptospirami séroskupiny *Hebdomadis* odpovídá údajům Hoarea a Claxtona (1972) i Ellise a Michny (1974), podle nichž trvá 6 až 12 týdnů. Je třikrát až čtyřikrát delší než při infekcích způsobených sérotypy jiných séroskupin, které uvádí Stonner (1968).

L. sejroae, proti které byly u této krávy prokázány protilátky, může u skotu, podobně jako jiné sérotypy ze séroskupiny *Hebdomadis* (Willing, 1966; Sullivan, 1972; Antal a Gönye, 1974; Ellis a Michna, 1974; Johnson aj., 1974; Hunter, 1975; Bajmocy aj., 1976), zmetání vyvolat. Pokus o přímý průkaz infekčního agens jsme nemohli udělat, protože abortovaný plod ani placenta nebyly do laboratoře k vyšetření zaslány.

Poděkování: Za technickou spolupráci děkuji s. V. Janečkové.

Literatura

- ANTAL, Á. — GÖNYE, S.: A *Leptospira sejroae* okozta szarvasmarhealvetelés előfordulása hazánkban. Magy. Állatorv. Lap., 29, 1974, s. 625-627.
BAJMOCY, E. — STIRLING, G. — SZABÓ, J.: Abortion in a herd of cattle of Hungarian breed, due to leptospiras in the sejroae-hebdomadis group. Magy. Állatorv. Lap., 32, 1976, s. 506-508.
ELLIS, W. A. — MICHNA, S. W.: Experimental leptospiral abortion in cattle. Vet. Rec., 94, 1974, s. 255.

ELLIS, W. A. — MICHNA, S. W.: Bovine leptospirosis: Infection by the *Hebdomadis* serogroup and abortion — A herd study. *Vet. Rec.*, 99, 1976, s. 409-412.

FENNESTAD, K. L. — BORG-PETERSEN, C.: Experimentelle Leptospirose beim trächtigen Jungrind. *Nord. VetMed.*, 8, 1956, s. 815.

HOARE, R. J. — CLAXTON, P. D.: cit. podle ELLIS — MICHNA (1976), *Aust. vet. J.*, 48, 1972, s. 228.

HUNTER, R.: *Leptospira hardjo* infection in a dairy herd. *Vet. Med. small Anim. Clin.*, 70, 1975, s. 794.

IONICA, C. — TUDORIU, C. S. — CAMBIR, S. — PREDOTU, I. — LELUTIU, C.: Issledovanija v svjazi s nespecifičeskimi reakcijami v uslovijach testa medlennoj seroagglutinacii dlja diagnoza bruceleza u sviněj v chozajstvach, zaražennyh leptospirozom. *Arhiva vet.*, II, 1966, s. 65-72.

JOHNSON, R. H. — ALLAN, P. J. — DENNETT, D. P.: Association of *Leptospira hardjo* with abortions in a group of heifers. *Aust. vet. J.*, 50, 1974, s. 325-326.

KADLEC, V.: Imunogenní vztah mezi rodem *Brucella* a *Leptospira* v krevním séru prasat a skotu. *Vet. Med.*, Praha, 17, 1972, s. 413-416.

STOENNER, H. G.: In: FAULKNER, L. C. (Ed.): *Abortion Diseases of Livestock*. Springfield, Thomas, 1968.

SULLIVAN, N. D.: Further observations on *Leptospira hardjo* infections in pregnant cows. *Aust. vet. J.*, 48, 1972, s. 388-390.

ŠEBEK, Z. — ROSICKÝ, B.: K rozšíření, charakteristice a struktuře ohnisek leptospirozy v ČSSR. *Čs. Epidem.*, 23, 1974, s. 10-21.

WILLINGER, H.: Infektiöser Abortus bei bangnegativen Rindern. *Wien. tierärztl. Mschr.*, 53, 1966, s. 824-834.

—: Veterinární laboratorní vyšetřovací metodika, II. 1975, s. 55-60; 301-303.

Došlo dne 10. 8. 1977

КАДЛЕЦ, В. (Государственный ветеринарный институт, Терезин): Наблюдения антигенной родственности лептоспир и бруцелл при серологическом обследовании крупного рогатого скота. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978 (4): 213-218.

36,9 % сывороток кр. р. скота, которые реагировали при обследовании на бруцеллез неспецифически, имели титр $\geq 1:400$ лептоспирозных агглютининов. 15,1 % сывороток реагировало положительно ($> 1:800$) в большинстве случаев против *L. sejroe* и *L. grippotyphosa*. Перекрестные реакции, установленные в индивидуальных случаях максимально до 39 дней после первого обследования, были вызваны специфическим для рода лептоспирным антигеном. Неспецифические реакции на бруцеллез могут у скота сигнализировать о ранней инфекции лептоспирами.

бруцеллез; лептоспироз; сывороточная диагностика; перекрестные реакции

KADLEC, V. (State Veterinary Institute, Terezín): *Studying the Antigenic Affinity of Leptospira and Brucella in Serological Examination of Cattle*. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978 (4): 213-218.

36,9 % bovine serums which showed a non-specific reaction in examination for brucellosis had titre $\geq 1:400$ leptospirosis agglutinins. 15,1 % of the serums showed a positive reaction ($> 1:800$), mostly those against *L. sejroe* and *L. grippotyphosa*. The cross reactions, found in individual cases within up to 39 days since the first examination, were caused by a genus-specific *Leptospira* antigen. The non-specific reaction to brucellosis in cattle may signalize early *Leptospira* infections.

brucellosis; leptospirosis; serodiagnostics; cross reactions

Adresa autora:

RNDr. Vít Kadlec, Krajská hygienická stanice, 400 48 Ústí nad Labem - Bukov

A. Piskač, O. Zapletal, P. Jagoš, R. Dvořák, J. Bouda

PISKAČ, A. — ZAPLETAL, O. — JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — BOUDA, J. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Vylučování aflatoxinů mlékem při experimentální aflatoxikóze dojníc*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 219-224.

V modelovém pokuse jsme ověřovali u osmi dojníc účinek vysokých dávek aflatoxinů (200 mg B₁ a 80 mg B₂). Vyvolaná aflatoxikóza se projevila výrazným narušením zdravotního stavu, především funkčního stavu jater. Mléčnou žlázou byly vylučovány aflatoxiny od 9. až 18. hodiny po aplikaci, po dobu tří až čtyř dnů, v celkovém množství kolem 0,3 až 0,4 % podaných aflatoxinů. U skupiny dojníc, která obdržela uvedenou dávku aflatoxinů najednou, se kromě běžně vylučovaných aflatoxinů M₁ a M₂ vylučovaly také aflatoxiny B₁ a B₂, a to v rozpětí třetího a čtvrtého dne po aplikaci. Zatímco vylučování aflatoxinů trvalo tři až čtyři dny, biochemické ukazatele poruchy činnosti jaterního parenchymu trvaly tři až pět týdnů. Aflatoxin M₁ a M₂ zjišťovaný v mléce pokusných dojníc byl autory izolován, podroben chromatografické purifikaci a po spektrálně fotometrické charakterizaci byl upraven jako standard pro vyšetřování mléka a mléčných výrobků. Současně je poukázáno na to, že výskyt aflatoxinů B₁ a B₂ v kravském mléce a mléčných výrobcích nemusí být vždy jen v důsledku sekundární kontaminace toxigenními plísněmi při technologickém zpracování, ale i v důsledku příjmu vysokých dávek aflatoxinů krmivem dojnícemi.

skot; toxické produkty plísní; metabolity aflatoxinů; standard pro vyšetřování mléka

Schopnost některých druhů plísní produkovat toxické metabolity je v současné době již dobře známou a stále pečlivě studovanou skutečností. Ve středu zájmu stojí hojně rozšířený kmen *Aspergillus flavus* a jeho vysoká schopnost produkovat toxické a cancerogenní metabolity — aflatoxiny. Jeho závažnost závisí v tom, že je široce zastoupen v mikroflóře půdy, je hojně přítomen na rostlinách a rozličných rostlinných produktech (Goldblatt, 1969; Moreau, 1974; Frank, 1966; Polster, 1975 aj.). V současné době se dostává do popředí i otázka vztahu potravou přijatých aflatoxinů k organismu člověka i zvířat. Zde byla zjištěna a prokázána široká možnost jeho hepatotoxického a cancerogenního účinku (Piskač aj., 1975). Z hygienického hlediska se proto studují zejména otázky, jakým způsobem jsou aflatoxiny požitě hospodářskými zvířaty ukládány v jejich organismu, jak jsou metabolizovány a z organismu vylučovány. Děje se tak zejména vzhledem k tomu, že se tvoří rezidua v některých tkáních nebo orgánech (v játrech, ledvinách, svalovině), nebo že se vylučují z organismu (především mlékem).

Alcroftová a Roberts (1968) zjistili, že u dojnic, jimž byly v dietě podány arašídové pokrutiny s obsahem aflatoxinů, speciálně aflatoxinu B₁, se v mléce vylučují toxické látky, které u jednodenních kachňat vyvolávají podobné onemocnění a patologicko-anatomické změny jako aflatoxin B₁. Rovněž Holzappel aj. (1966) zjistili, že toxicita tohoto mlékem vylučovaného toxinu, nazvaného M₁ a M₂, je podobná i co do hodnoty LD₅₀ aflatoxinu B₁. Iongh aj. (1964) a Buttler, Clifford, (1965) prokázali tuto látku v mléce laktujících krys i v jejich játrech po jednorázovém podání aflatoxinu B₁. Zjistili rovněž, že v játrech se mění aflatoxin B₁ na aflatoxin M₁. Holzappel aj. (1966), Purchase a Steyn (1967) pak zjistili, že aflatoxin M je tvořen dvěma deriváty, a to M₁, jenž je hydroxylovým derivátem aflatoxinu B₁, a M₂, jenž je obdobným derivátem aflatoxinu B₂.

Při studiu vylučování aflatoxinů mlékem je důležité zjištění Lindeho aj. (1965) a jiných autorů, podle nichž po přijetí krmiva kontaminovaného aflatoxiny dochází k vylučování aflatoxinů M již za 12 až 24 hodiny. Přestanou-li se aflatoxiny podávat, končí toto vylučování za tři až čtyři dny; podle Kiermeiera aj. (1976) se aflatoxiny začínají vylučovat již při prvním dojení po zkrmení krmiva, které je obsahuje, a toto vylučování dosahuje maxima za dva až čtyři dny.

Z kvantitativního hlediska je mlékem vylučována pouze část přijatých aflatoxinů. Z původního množství přijatého krmivem se mlékem vylučuje od 1 do 3 % aflatoxinu M (Masri aj., 1967). I když množství mlékem vyloučeného aflatoxinu M je poměrně nízké, vzhledem k jeho toxicitě a kancerogenitě má jeho sledování značný význam. Také u nás byla v letech 1971 až 1973 prokázána souvislost s toxickým poškozením jater u lidí (Dvořáčková aj., 1974), a proto se staly syrové mléko, sušené mléko a mléčné výrobky předmětem šetření na přítomnost aflatoxinů. V této oblasti zaznamenala pozitivní výsledky i Neumann-Kleinpaulová (1972) a další.

MATERIÁL A METODY

PŘÍPRAVA AFLATOXINŮ

Kultura plísně *Aspergillus flavus* byla ze Sabouraudova agaru přeočkována na produkční substrát tvořený vrstvou sterilních a zvlhčených sucharů. Takto připravený inokulát byl kultivován 14 dní při teplotě laboratoře. Když skončilo období růstu, byl získaný materiál, jenž byl silně prorostlý kulturou plísně, opakovaně extrahován chloroformem. Získaný hrubý extrakt byl odfápen ve vakuu a hrubý odparek pak podroben purifikaci a separaci chromatografií na vrstvě silikagelu (Zapletal aj., 1973). Semikvantitativně byla zjištěna koncentrace aflatoxinů metodou chromatografie na tenké vrstvě silikagelu podle Piskače aj. (1975).

EXPERIMENTY NA ZVÍRATECH

a) V prvním pokuse bylo čtyřem dojnícím (plemeno červenostrakaté, věk čtyři až devět roků) intraruminálně ve dvou dnech podáno 200 mg aflatoxinu B₁ a 80 mg aflatoxinu B₂.

b) V druhém pokuse byla stejná dávka obou aflatoxinů podána čtyřem dojnícím (plemeno červenostrakaté, věk čtyři až devět roků), jednorázově, opět intraruminálně.

Od dojnic obou pokusných skupin byly třikrát denně odebírány vzorky mléka, které byly vyšetřeny na přítomnost aflatoxinů jednak ihned, jednak po úpravě vzorků lyofilizací.

POUŽITÉ METODY PRO STANOVENÍ AFLATOXINŮ V MLÉCE

K průkazu přítomnosti aflatoxinů typu B a M byla použita metoda podle Stubblefielda aj. (1973) a Kiermeiera a Weisse (1976). K tenkovrstvené chromatografické metodě byly použity chromatografické desky Silufol nebo skleněné desky s litou vrstvou silikagelu G podle Stahla (Kieselgel G-Stahl, Typ 60, Merck) o vrstvě 0,6 mm, aktivované při teplotě 80 °C po dobu 30 minut. K průkazu aflatoxinů bylo použito vnitřního i vnějšího standardu. Abychom si přítomnost aflatoxinů ověřili a vyloučili přítomnost látek podobných aflatoxinu, postříkovali jsme

chromatografickou desku 20% kyselinou sírovou (sledovali jsme změnu fluorescence aflatoxinů z modré na žlutou) a stanovovali jsme typické absorpční křivky aflatoxinů s dvěma maximy absorpce při vlnové délce 262 nm a 366 nm (po seškrabu se skleněných desek a po extrakci do spektrálně čistého metanolu) na přístroji Spekkord UV-VIS (Zima a Zapletal, 1970).

KONTROLA ZDRAVOTNÍHO STAVU POKUSNÝCH DOJNIC

Pravidelně jsme kontrolovali zdravotní stav pokusných zvířat, biochemicky jsme vyšetřovali aktivitu nejvýznamnějších enzymů, bilirubinu v krevní plazmě, dále pak jsme sledovali průběh fermentačních procesů v bachoru a dělali jsme základní biochemické vyšetření moči (Bouda aj., 1977; Dvořák aj., 1977).

VÝSLEDKY

Pokusy na dvou skupinách pokusných dojníc bylo prokázáno, že po aplikaci vysokých dávek aflatoxinů se během jednoho až dvou dnů nejen naruší zdravotní stav zvířat, ale dochází i k výraznému vylučování aflatoxinů mlékem.

V prvním pokuse u skupiny čtyř dojníc, kterým byla aplikována dávka 200 mg aflatoxinu B₁ a 80 mg aflatoxinu B₂ v průběhu dvou dnů, došlo již po devíti hodinách po první aplikaci aflatoxinů k vylučování aflatoxinů M₁ a M₂ mlékem a toto vylučování trvalo celkem tři dny od posledního perorálního příjmu.

V druhém pokuse, u skupiny čtyř dojníc, kterým byla aplikována dávka 200 mg aflatoxinu B₁ a 80 mg aflatoxinu B₂ jednorázově, se začaly aflatoxiny M₁ a M₂ vylučovat mlékem za 18 hodin po aplikaci a jejich vylučování trvalo čtyři dny. Ve třetím a čtvrtém dni byly v mléce vedle aflatoxinů typu M prokázány i původní aflatoxiny typu B.

Klinicky se aplikace aflatoxinů projevila alterací ruminální motility, zvířata jevila výraznou inapetenci. Bachorová tekutina vykazovala sníženou redukční aktivitu. Dále byla zjištěna proteinurie, v některých případech dokonce hematurie. V biochemických ukazatelích byly sledovány změny aktivity některých enzymových systémů jako odraz zejména funkční poruchy jaterního parenchymu.

Produkce mléka pokusných dojníc se v průběhu akutní aflatoxikózy rychle snižovala.

DISKUSE

Výsledky našich sledování jsou ve shodě s údaji Alcroftové aj. (1966) a Alcroftové a Robertse (1968) a dokládají, že část aflatoxinů B₁ a B₂ přijatých dojnícemi podléhá hydroxylaci, a tím přeměně na aflatoxiny M₁ a M₂ (Buttler, Clifford, 1965); tato část je pak vylučována mléčnou žlázou v množství 0,3 až 0,4 % původně přijatých aflatoxinů typu B. Našimi pokusy na dojnících bylo prokázáno, že aflatoxin je vylučován mlékem již za 9 až 18 hodin po prvním příjmu a že vylučování trvá tři až čtyři dny, což je v souladu s nálezy Kiermeiera (1976).

V průměrném vzorku lyofilizovaného mléka od jednotlivých dojníc za celou dobu vylučování bylo 730 ($\pm$ 120) μ g aflatoxinů na kilogram při zjištěné nízké dojivosti pokusných zvířat (průměrně 3,0 l mléka

denně). Zajímavé je zjištění, že dojnice, které dostaly jednorázově vysokou dávku aflatoxinů B₁ a B₂ (200 mg B₁ a 80 mg B₂), v prvních dvou dnech vylučovaly mlékem pouze aflatoxiny M₁ a M₂, ale třetí a čtvrtý den byly v mléce prokazovány i aflatoxiny B₁ a B₂. Tuto skutečnost vysvětlujeme tím, že se narušila činnost jater, a tím i činnost enzymatických systémů odpovídajících za hydroxylaci aflatoxinů typu B na aflatoxiny typu M.

Dvořák aj. [1977] a Bouda aj. [1977] shodně zjistili, že zatímco vylučování aflatoxinů trvá pouze několik dní po příjmu aflatoxinů B₁ a B₂ (v našich pokusech to byly tři až čtyři dny), změny v hodnotách biochemických ukazatelů, zejména aktivity enzymů GOT, LDH, BLDH, přetrvávají tři až pět týdnů, což svědčí o vážné poruše organismu, provázené zejména poškozením funkce jaterní tkáně.

Je tedy nutné považovat příjem aflatoxinů užitkovými zvířaty za otázku dotýkající se nikoli pouze kvality a zdravotní nezávadnosti některých potravin živočišného původu, v tomto případě mléka a mléčných výrobků, ale i za otázku dotýkající se dlouhodobě zdravotního stavu a užitkovosti zvířat. Rovněž v této souvislosti nelze opomenout i možnost negativního vlivu vylučování původních či transformovaných aflatoxinů na zdravotní stav odchovávaných mláďat.

Literatura

- ALCROFT, R. — ROGERS, H. — LEWIS, G. — NABNEY, J. — BEST, P. E.: Metabolism of aflatoxin in sheep: excretion of the "milk toxin". *Nature*, 209, 1966, s. 154-155.
- ALCROFT, R. — ROBERTS, B. A.: Toxic groundnut meal: the relationship between Aflatoxin B₁ intake by cows and excretion of Aflatoxin M₁ in milk. *Vet. Rec.*, 82, 1968, s. 116-118.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — PISKAČ, A. — ONDROVÁ, J. — ZAPLETAL, O.: Změny v aktivitě enzymů při experimentální aflatoxikóze dojnic. *Vet. Med.*, Praha, 22, 1977, s. 137-142.
- BUTLER, W. H. — CLIFFORD, J. J.: Extraction of aflatoxin from rat liver. *Nature*, 206, 1965, s. 1045-1046.
- DVOŘÁČKOVÁ, I. — BRODSKÝ, F. — CERMÁN, J.: Aflatoxin — možný faktor jaterního poškození u dětí. *Čs. Hyg.*, 19, 1974, s. 211-216.
- DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — BOUDA, J. — PISKAČ, A. — ZAPLETAL, O.: Změny klinicko-biochemických ukazatelů v bacherové tekutině a moči při experimentální aflatoxikóze dojnic. *Vet. Med.*, Praha, 22, 1977, s. 161-169.
- FRANK, H. K.: Aflatoxine in Lebensmitteln. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 17, 1966, s. 237-242.
- GOLDBLATT, L. A.: Aflatoxin. New York and London, Acad. Press, 1969, 472 s.
- HOLZAPFEL, C. W. — STEYN, P. S. — PURCHASE, J. F. H.: Isolation and structure of aflatoxin M₁. *Tetrahedron Lett.*, 25, 1966, s. 2799-2803.
- IONGH, H. De. — VLES, R. O. — PELT, J. G. Van: Milk of mammals fed an aflatoxin-containing diet. *Nature*, 202, 1964, s. 466-467.
- KIERMEIER, F.: Zur Aflatoxinbildung in Milch und Milchprodukten. *Z. Lebensmittel Unters. Forsch.*, 146, 1971, s. 262-265.
- KIERMEIER, F.: The significance of aflatoxins in the dairy industry. *Int. Dairy Fed. A. Bull.*, F-Doc-51, 1976, 68 s.
- KIERMEIER, F. — WEISS, G.: Zur Untersuchung von Milch und Milchprodukten auf die Aflatoxine B₁, B₂, G₁, G₂, und M₁. *Z. Lebensmittel Unters. Forsch.*, 160, 1976, s. 337-344.
- KIERMEIER, F. — WEISS, G. — BEHRINGER, G. — MILLER, M. — RANFFT, K.: Vorkommen und Gehalt an Aflatoxin M₁ in Molkerei-Anlieferungsmilch. [Výzkumná zpráva.] München, Freising, Süddeutsche Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft 1976.
- LINDE, J. A. van der — FRENS, A. M. — ESCH, G. J. van: Experiments with cows

fed groundnut meal containing aflatoxin. In: *Mycotoxins in foodstuffs*, WOGAN G. N., Cambridge, Press Cambridge 1965, s. 247-249.

MASRI, M. S. — LUNDIN, R. E. — PAGE, J. R. — GARCIA, V. C.: Crystalline aflatoxin M₁ from urine and milk. *Nature*, 215, 1967, s. 753-755.

MOREAU, C.: Moisissures toxiques dans l'alimentation. Masson edid., Paris 1974, 471 s.

NEUMANN-KLEINPAUL, A.: Erhebungen über den Aflatoxin M₁ — Gehalt in Trockenmilchprodukten. [Inaugural-Dissertation.] München, Tierärztliche Fakultät der Universität München 1972.

PISKAC, A. — ZAPLETAL, O. — MALÁ, J.: Sledování účinku a toxicity metabolitů některých plísní na organismus zvířat a jejich metabolické funkce a využití získaných poznatků v diagnostice a prevenci. [Závěrečná zpráva výzk. úkolu.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975.

POLSTER, M.: Zdravotní nebezpečí plísňové mikroflóry v potravinách. *Čs. Hyg.*, 20, 1975, s. 314-315.

PURCHASE, H. F. H. — STEYN, P. S.: Determination of aflatoxin M₁ in milk powder. *JAOAC*, 30, 1967, s. 363-366.

STUBBLEFIELD, R. D. — SHANNON, G. M. — SHOTWEL, O.: Aflatoxin in milk. *JAOAC*, 56, 1973, s. 1107-1108.

ZAPLETAL, O. — KOBR, K. — STANĚK, J. — PISKAC, A.: Evaluation of the methods of extraction, purification of aflatoxins B₁ and G₁ for their qualitative and quantitative determinations in feed and feeding mixtures. *Acta vet.*, Brno, 42, 1973, s. 185-194.

ZIMA, S. — ZAPLETAL, O.: Některé faktory ovlivňující kvantitativní stanovení aflatoxinů spektrální fotometrií. *Vet. Med.*, Praha, 15, 1970, s. 535-543.

Došlo dne 19. 9. 1977

ПИСКАЧ, А. — ЗАПЛЕТАЛ, О. — ЯГОШ, П. — ДВОРЖАК, Р. — БОУДА, Й. (Ветеринарный институт, Брно): Выделение афлатоксинов с молоком при экспериментальном афлатоксикозе дойных коров. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978 (4): 219-224.

В модельном опыте у восьми дойных коров проверялось действие высоких доз афлатоксинов (200 мг В₁ и 80 мг В₂). Вызванный афлатоксикоз проявился в заметном нарушении состояния здоровья, прежде всего, функционального состояния печени. Молочная железа выделяла афлатоксины с 9 до 16 часов после применения, на протяжении трех-четырех дней, общим количеством около 0,3—0,4 % подаваемых афлатоксинов. У группы коров, которая указанную дозу получила сразу, кроме обычно выделяемых афлатоксинов М₁ и М₂, выделялись также афлатоксины В₁ и В₂, а именно, в диапазоне третьего и четвертого дня после применения. В то время, как выделение афлатоксинов продолжалось три-четыре дня, биохимические показатели нарушения действия печеночной паренхимы наблюдались в течение трех-пяти недель. Афлатоксины М₁ и М₂, установленные в молоке опытных коров, были автором изолированы и подвержены хроматографическому очищению, а после спектрально фотометрической характеристики, из них были приготовлены стандарты для исследования молока и молочных изделий. Одновременно обращается внимание на то, что появление афлатоксинов В₁ и В₂ в коровьем молоке и молочных продуктах не всегда результат вторичного загрязнения токсигенными грибами при технологической обработке, а иногда они появляются и в результате высоких доз афлатоксинов в кормах для дойных коров.

кр. р. скот; токсические продукты грибов; метаболиты афлатоксинов; стандарт для исследования молока

PISKAC, A. — ZAPLETAL, O. — JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — BOUDA, J. (University of Veterinary Medicine, Brno): Aflatoxin Excretion with the Milk of Dairy Cows Suffering from Experimentally Induced Aflatoxicosis. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978 (4): 219-224.

A model experiment was conducted to test the effect of high aflatoxin doses (200 mg B₁ and 80 mg B₂) in eight dairy cows. The aflatoxicosis induced in the experiment

badly affected the health condition of the animals, particularly the function of the liver. Aflatoxins were excreted by the mammary gland from the 9th to 18th hour after the administration for three to four days, and the amount was about 0.3 to 0.4 % of aflatoxins administered. The cows given the mentioned amount of aflatoxins in a single dose excreted also aflatoxins B₁ and B₂, besides the current aflatoxins M₁ and M₂, on the third to fourth day after administration. Aflatoxins were excreted with the milk for three to four days, but the biochemical indices of the disturbed function of the hepatic parenchyma persisted for three to five weeks. Aflatoxins M₁ and M₂, detected in the milk of the experimental cows, were isolated, subjected to chromatographic purification, and — after spectro-photometric characterization — adjusted as a standard for the examination of milk and dairy products. Attention was also drawn to the fact that the occurrence of aflatoxins B₁ and B₂ in cow's milk and dairy products need not always be the result of secondary contamination with toxigenic fungi during technological processing, but may also be due to ingestion of high doses of aflatoxins in feed.

cattle; toxic products of fungi; metabolites of aflatoxins; standard for milk examination

PISKAČ, A. — ZAPLETAL, O. — JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — BOUDA, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Aflatoxinausscheidung durch die Milch bei experimenteller Aflatoxikose der Milchkühe*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 219-224.

In einem Modellversuch überprüften wir bei acht Kühen die Wirkung hoher Aflatoxindosen (200 mg B₁ und 80 mg B₂). Die ausgelöste Aflatoxikose manifestierte sich durch ausgeprägte Störungen des Gesundheitszustandes, vor allem des Leberfunktionszustandes. Durch die Milchdrüse wurden die Aflatoxine in der 9. bis 18. Stunde nach der Applikation, und zwar drei bis vier Tage hindurch in einer Gesamtmenge von zirka 0,3 bis 0,4 % der verabreichten Aflatoxine ausgeschieden. Bei der Milchkühegruppe, der die angeführte Aflatoxindosis einmalig verabreicht wurde, wurden außer den ausgeschiedenen M₁ und M₂-Aflatoxinen auch die B₁ und B₂-Aflatoxine und zwar in der Zeitspanne vom dritten bis zum vierten Tag ausgeschieden. Während die Ausscheidung der Aflatoxine drei bis vier Tage dauerte, traten die biochemischen Kennziffern von Störungen der Leberparenchymtätigkeit drei bis fünf Wochen hindurch auf. Die in der Milch der Versuchsmilchkühe festgestellten Aflatoxine M₁ und M₂ wurden von den Autoren isoliert, der chromatographischen Purifikation unterworfen und nach der spektralphotometrischen Charakterisierung als Standard für die Milch- und Milchproduktenuntersuchungen adjustiert. Gleichzeitig wird darauf hingewiesen, daß das Auftreten der B₁ und B₂-Aflatoxine in der Kuhmilch nicht immer die Folge einer sekundären Kontaminierung mit toxigenen Schimmelpilzen bei der technologischen Milchverarbeitung sein muß, sondern auch durch die Aufnahme hoher Dosen von Aflatoxinen in der Futterration der Milchkühe verursacht werden kann.

Rind; toxische Schimmelpilzprodukte; Aflatoxinmetaboliten; Standard für die Milchuntersuchung

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Alois Piskač, CSc., MVDr. Oldřich Zapletal, CSc., prof. MVDr. Přemysl Jagoš, CSc., MVDr. Rudolf Dvořák, MVDr. Jan Bouda, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

KVANTITATÍVNE CYTOLOGICKÉ A KARYOMETRICKÉ ZMENY ADENOHYPOFÝZY A GONADOTROPNÁ AKTIVITA KRVNÉHO SÉRA JALOVÍC PO APLIKÁCIÍ MELENGESTROL ACETÁTU

I. Maraček, J. Arendarčík

MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Kvantitatívne cytologické a karyometrické zmeny adenohipofýzy a gonadotropná aktivita krvného séra jalovíc po aplikácii melengestrol acetátu*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 225-237.

Študovali sme simultánne percentuálny rozpočet bunkových typov adenohipofýzy; veľkosť jadier gonadotropných buniek predného laloka hypofýzy a gonadotropnú aktivitu FSH (folikuly stimulujúci hormón) i LH (luteinizačný hormón) v krvnom sére tých istých jalovíc počas aplikácie a po vysadení melengestrol acetátu (MGA). Pozorovali sme hypofýzu 15 jalovíc, 20 až 24-mesačných, slovenského strakatého plemena. MGA sme aplikovali *per os* 1,0 mg na kus a deň počas 14 dní. Päť skupín po troch jaloviciach bolo odporazených v 0. (kontrola-metestrus), 7., 14., 20. a 23. dni pozorovania. FSH-tropné bunky sa zmnožili počas aplikácie a ich počet sa znížil po vysadení MGA. Variačné krivky jadrového objemu FSH-tropných buniek v priebehu aplikácie i po vysadení vykazovali posun doprava. LH-tropné bunky boli znížené v relatívnom počte počas aplikácie MGA a zmnožené po vysadení MGA. Variačné krivky nukleárneho objemu LH-tropných buniek počas aplikácie MGA boli mierne posunuté doľava oproti 0. dňu a po vysadení MGA bol posun doľava výraznejší. Hladina FSH v krvnom sére významne poklesne v siedmom dni oproti kontrole a v 14. dni vykazuje maximálnu hodnotu. V ďalších intervaloch sledovania má aktivita FSH klesajúcu tendenciu. LH aktivita krvného séra signifikantne poklesla v siedmom dni oproti nultému dňu. V 20. dni pozorovania sa LH aktivita významne zvýšila, aby v 23. dni opäť mierne poklesla. Pozorovali sme koreláciu medzi zmenou počtu LH-tropných buniek a zmenou sérovej aktivity LH ($r = 0,9819 \pm 0,0065$, $t = 18,6827$, $P < 0,01$). Opísané kvantitatívne cytologické i karyometrické zmeny a zmeny aktivity FSH i LH krvného séra podporujú názor, že MGA pôsobí na hypotalamus a hypofýzu ovplyvnením sekrécie, prípadne i syntézy hypofyzárnych gonadotropínov hlavne cez LH-tropnú funkciu adenohipofýzy.

adenohipofýza; gonadotropné bunky; percentuálny rozpočet; karyometria; FSH a LH aktivita; MGA; jalovice; synchronizácia estru

Značná nezhoda je v literárnych údajoch, pokiaľ ide o pôsobenie gestagénov na bunky *pars distalis* hypofýzy. Ich odpoveď na melengestrol acetát (MGA) je zvlášť zaujímavá preto, že ide o jednu z najsilnejších syntetických gestagénnych látok a je používaná ako kontraceptívna a estrus synchronizujúca látka (Baker a i., 1972). Synchronizácia estru a indukcia ovulácie je významným článkom plánovitej ekonomickej regulácie rozmnožovania hospodárskych zvierat v intenzívnych technológiách živočíšnej veľkovýroby (Zimbelman,

Smith, 1966; 1966a; Hafez, 1968; Roberts a Hafez, 1969; Roussela Beatty, 1969; Arendarčík ai., 1973; Kudláč, 1974; Vrtěl, Kudláč, 1975 a iní).

Predkládaná práca vychádza z literárnych údajov (Dubois, Herlant, 1968; Mikami, 1970; Tassell, Kennedy, 1972), z našich prv publikovaných histologických a cytologických pozorovaní adenohypofýzy u kráv a jalovic v priebehu estrálneho cyklu (Maraček a Arendarčík, 1971a, 1973), ako aj z našich skúseností pri synchronizácii ruje u bahničiek (Arendarčík, a i., 1971, 1972; Maraček a i., 1971).

V práci sme sústredili pozornosť na simultánne štúdium percentuálneho rozpočtu mukoidných bunkových typov a karyometrickú analýzu FSH-tropného i LH-tropného bunkového typu spolu so sledovaním gonadotropnej aktivity krvného séra u tých istých jalovic počas aplikácie a po vysadení MGA.

MATERIÁL A METÓDY

EXPERIMENTÁLNY MATERIÁL A ODBIER VZORIEK

Prácu sme vykonali na hypofýzach z 15 jalovic. Zvieratá boli slovenského strakatého plemena 20 až 24-mesačné a boli chované v štandardných podmienkach. Pozorovanie sme vykonali v mesiacoch apríl a máj. Melengestrol acetát – chemicky 6 α -methyl-6-dehydro-16-methylen-17-acetoxypregesteron (MGA – 100 Upjohn, Michigan) sme podávali *per os* v dávke 1,0 mg na kus a deň počas 14 dní. Hypofýzy sme odoberali pri porážke. Hlavný dôraz sme kladli na rýchle vykrájanie hypofýz. Po odrezaní hlavy zvierata sme čo najrýchlejšie vypreparovali hypofýzu cez lebkovú dutinu, ktorú sme otvorili odseknutím temennej kosti. Vykrojenú hypofýzu sme vložili do fixačného média. Krvné vzorky sme odoberali pri porážke. Získané sérum sme lyofilizovali a uchovávali v mrazničke do biologickej titrácie sledovaných gonadotropných hormónov.

HISTOLOGICKÉ A HISTOCHEMICKÉ METÓDY

Hypofýzy sme fixovali vo fixačnom roztoku zo sublimátu s kyselinou trichlór-octovou a formalínom (SUSA) podľa Heidenhaina (Wolf, 1952). Fixované a vypraté hypofýzy sme po odvodnení zaliali do parafínu. Parafínové bločky hypofýz sme krájali na sánkovom mikrotóme. Hrúbka rezov bola 5 až 7 μ m.

Nakrájané rezy po odparafinovaní a zavodnení sme ofarbili metódami:

1. Schiffov reagens po predchádzajúcej oxidácii s kyselinou jodistou (HJO₄) ako McManus-Hotchissova reakcia PAS (Kodoušek, 1961).
2. PAS reakcia s jadrovým farbením Harrisovým hematoxylínom ako dichrómová metóda (Purves, Griesbach, 1951).
3. Trichrómová metóda reakcie PAS s jadrovým farbením celestínovou modrou a Meyerovým hematoxylínom a dofarbením oranžou G v modifikácii, ako uvádza inde (Maraček, 1969; Maraček, Arendarčík, 1971).
4. Histochemická metóda na identifikáciu dvoch typov adenohypofýznych bazofilov pomocou kyseliny permravčej-alciánovej modrej reakcie PAS-oranž G (Kodoušek, 1961).
5. Tetrachrómová metóda podľa Herlanta (1960).

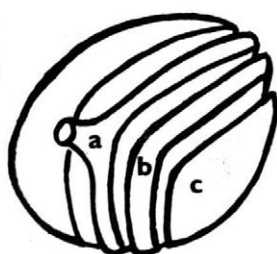
Na prípravu kyslého roztoku alciánovej modrej sme použili špecifické farbivo (Alcianblau 8 GS „KEPEC“ C. I. No 74240). Schiffov reagens sme pripravili podľa De Tamásiho, pričom sme použili špecifický bázičný fuchsín – BASIC FUCHSIN C. I. No 687.

Kvantitatívnu mikroskopickú analýzu pre stanovenie percentuálneho rozpočtu skúmaných bunkových typov adenohypofýzy sme vykonali podľa Rassmussen-Herricka, ako uvádza Mess (1962) (obr. 1).

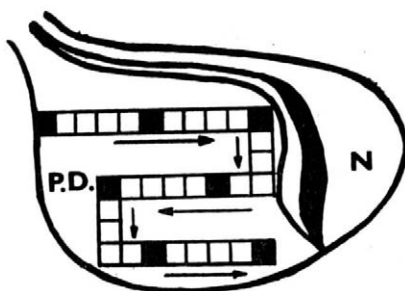
Karyometrickú analýzu sme urobili pomocou karyometra navrhnutého Pal-kovitsom (1962) pri 3000-násobnom zväčšení a meraní 200 buniek z jedného

preparátu za použitia semiautomatického vyhodnocovacieho zariadenia (Palkovits, Fischer, 1968), ktoré zkonštruovali v Ústave experimentálnej endokrinológie SAV v Bratislave.

1. Kvantitatívna mikroskopická analýza — Quantitative microscopic analysis



Rezy hypofýzou pre kvantitatívnu mikroskopickú analýzu



Postup pri počítaní adenohypofýzárnych buniek pre kvantitatívnu cytológiu

BIOLOGICKÉ TESTY

Folikuly stimulujúci hormón (FSH) sme stanovili augmentačnou metódou podľa Steelmana a Pohleya (1953) na infantilných, 21-dňových potkaních samičkách kmeňa Wistar, 36 až 44 g živej hmotnosti; ako štandardný preparát sme použili Foliotropin „SPOFA“. Luteinizačný hormón (LH) sme stanovili biologickou metódou podľa Diczfalusyho a Heinrichsa (1956), princípom ktorej je prírastok hmotnosti ventrálnej prostaty 21-dňových potkaních samcov živej hmotnosti 36 až 44 g. Physex „Leo“ sme použili ako štandard.

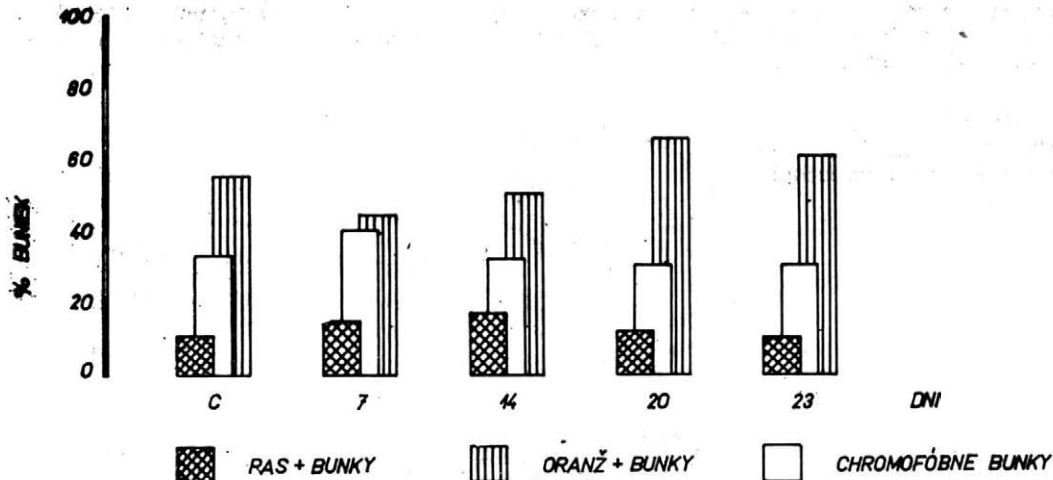
ŠTATISTIKA

Biologickú titráciu sme zhodnotili štatistickou metódou podľa Gadduma, ako uvádzajú Borth a i. (1957). Kvantitatívne cytologické zmeny gonadotropných hormónov buniek adenohypofýzy a zmeny aktivity sledovaných hormónov sme štatisticky hodnotili korelačnou analýzou podľa Homolku (1956).

VÝSLEDKY

Dosiahnuté výsledky simultánneho štúdia zmien percentuálneho rozpočtu mukoidných bunkových typov, objemu jadier gonadotropných buniek adenohypofýzy a hormonálnej aktivity FSH i LH v krvnom sére jalovic sme zhrnuli do obrázkov a tabuliek.

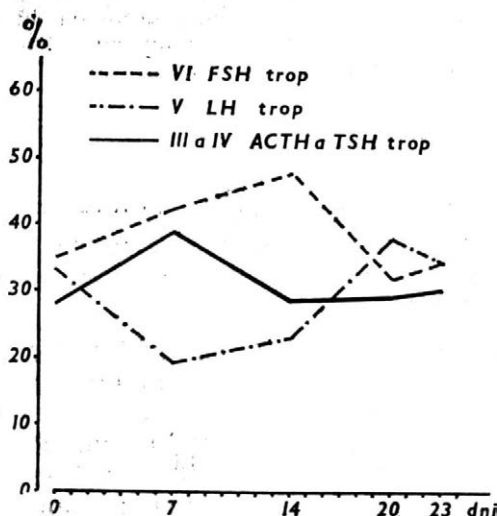
Na obr. 2 znázorňujeme percentuálny rozpočet adenohypofýzárnych buniek na základe histologickej farbiacej metódy histochemickej povahy PAS — hematoxylín — oranž G. Z obrázku vidieť, že PAS pozitívne mukoidné bunky sa v porovnaní s nultým dňom v štádiu metestru zmnožia v siedmom a štrnástom dni skrmovania MGA 100 a poklesnú v 20. a 23. dni pozorovania na úroveň kontroly. Významné sú zmeny



2. Percentuálny rozpočet adenohypofyzárnych buniek jalovíc po aplikácii a po vysadení MGA — Percentual count of adenohypophysis cells of heifers during administration of MGA and after interruption of its administration

počtu oranž G pozitívnych buniek, v rámci ktorých sa vyskytujú bunkové typy produkujúce LTH. Počet oranžofilov klesá v siedmom a štrnástom dni podávania MGA 100 oproti metestru, naproti tomu sa v 20. a 23. dni experimentu zmnožia. Pozoruhodná je skutočnosť, že kvantitatívne zmeny rozpočtu na úkor chromofóbných buniek sú väčšinou až v siedmom dni podávania preparátu.

Na obr. 3 sú prezentované výsledky percentuálneho rozpočtu mukoidných buniek v adenohypofýze jalovíc, vykonané na základe tinktorickej metódy histochemickej povahy: kyselina permravčia — alciánová modrá — PAS — oranž G. Z grafu je vidieť, že k siedmemu a štrnástemu dňu experimentu sú zmnožené FSH-tropné bunky a je zmenšený počet LH-tropných buniek. V 20. a 23. dni pozorovania sa zmnožia LH-tropné bunky tak, že najmä v 20. dni sú v prevahe nad ostatnými mukoidnými bunkovými typmi.



3. Percentuálny rozpočet mukoidných bunkových typov *pars distalis* adenohypofýzy jalovíc po aplikácii a po vysadení MGA — Percentual count of mucoid cell types of the *pars distalis* of the adenohypophysis of heifers during administration of MGA and after interruption of its administration

I. Aktivita FSH v krvnom sére jalovic po skŕmovaní MGA — Activity of the FSH in the blood serum of heifers after administration of MGA

Skupina	Počet zvierat	FSH v k. j. na 100 ml séra	λ	Hranice prípustnosti pri 95% pravdepodobnosti
Kontrola	3	42,81	0,206	25,95—68,28
7. deň pokusu	3	28,64	0,211	16,39—44,87
14. deň pokusu	3	47,03	0,208	25,12—76,95
20. deň pokusu	3	37,38	0,206	22,15—59,61
23. deň pokusu	3	35,96	0,202	21,56—53,26

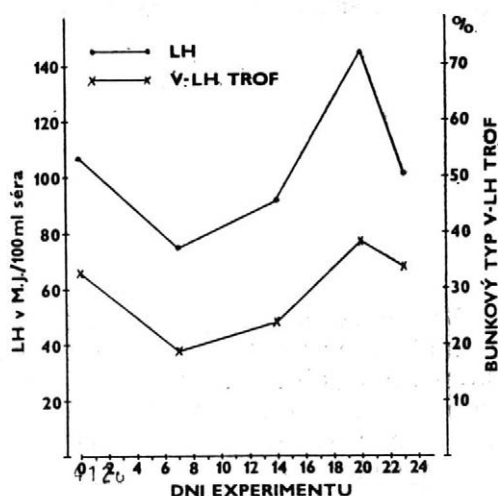
II. Aktivita LH v krvnom sére jalovic po skŕmovaní MGA — Activity of the LH in the blood serum of heifers after administration of MGA

Skupina	Počet zvierat	LH v m. j. na 100 ml séra	λ	Hranice prípustnosti pri 95% pravdepodobnosti
Kontrola	3	135,82	0,177	83,28—201,63
7. deň pokusu	3	74,53	0,243	28,80—133,29
14. deň pokusu	3	75,26	0,240	28,85—133,37
20. deň pokusu	3	126,87	0,209	68,03—201,96
23. deň pokusu	3	100,04	0,236	48,43—172,94

Výsledky stanovenej aktivity sledovaných gonadotropných hormónov sme zhrnuli v tab. I a II.

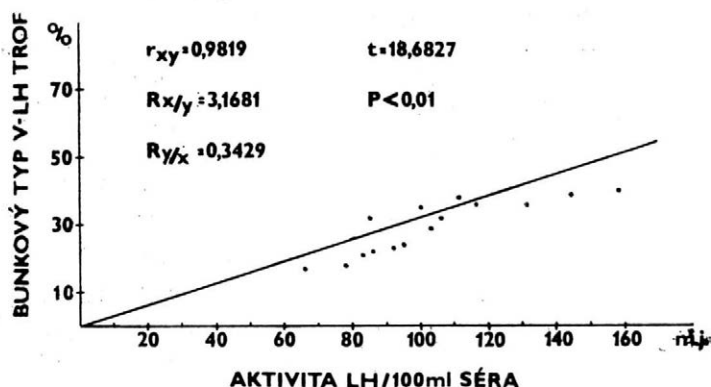
Aktivita FSH v sére poklesne významne v siedmom dni aplikácie MGA oproti kontrole. V 14. dni skŕmovania MGA 100 dosahuje maximálnu hodnotu a v ďalších intervaloch sledovania má klesajúcu tendenciu. Aktivita LH v sére kontrolných jalovic vykazuje hodnotu 135,82 m. j. na 100 ml krvného séra. Počas podávania MGA 100 jeho aktivita v sére

4. Zmeny počtu LH-tropných buniek adenohypofýzy a aktivity LH v krvnom sére jalovic po aplikácii a po vysadení MGA — Changes in the number of the cells of adenohypophysis stimulating the LH and the activity of the LH in the blood serum of heifers during administration of MGA and after interruption of its administration



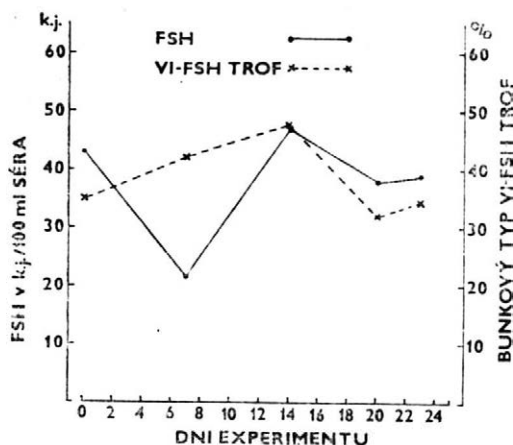
signifikantne poklesla v siedmom a v štrnástom dni. V 20. dni pozorovania, t. j. šiesty deň vysadenia MGA, sa aktivita LH významne zvýšila a ku 23. dňu opäť poklesla.

Na obr. 4 sú simultánne znázornené zmeny LH aktivity v krvnom sére a počty adenohypofyzárnych buniek typu V-LH-trope buniek v pozorovaných časových intervaloch. Nápadná podobnosť v priebehu kriviek znázorňujúcich LH aktivitu a počet LH-trope buniek nás viedla ku korelačnej analýze tohoto pozorovania. Výsledky analýzy znázorňuje obr. 5. Na obr. 6 sú simultánne zhrnuté výsledky pozorovania aktivity FSH v sére a počtu adenohypofyzárnych buniek typu VI-FSH-trope bunky v sledovaných intervaloch. Z grafu je zrejmy rozdielny priebeh kriviek študovaných parametrov.

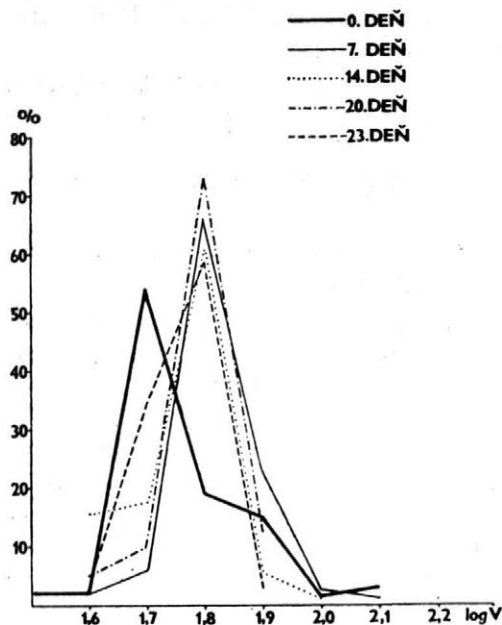


5. Výsledok korelačnej analýzy medzi zmenou počtu LH-trope buniek predného laloka hypofýzy a LH aktivitou krvného séra jalovic a po vysadení MGA — Results of the analysis of correlation between the changes in the number of the LH-tropic cells of the anterior lobe of hypophysis and the LH activity of the blood serum of heifers during administration of MGA and after interruption of its administration

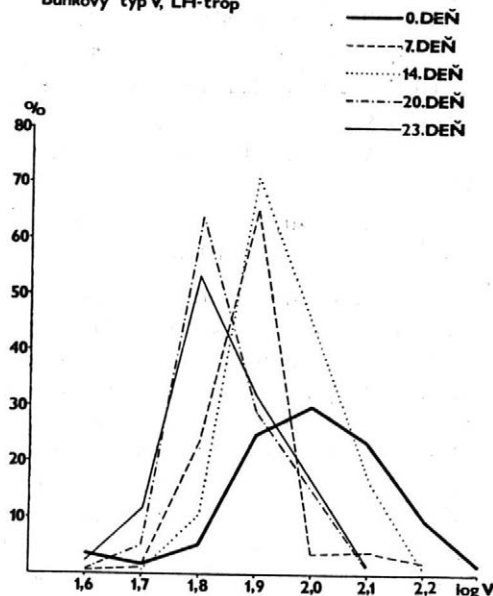
6. Zmeny počtu FSH-trope buniek adenohypofýzy a aktivity FSH v krvnom sére jalovic po aplikácii a po vysadení MGA — Changes in the number of the FSH-tropic cells of adenohypophysis and FSH activity in the blood serum of heifers during administration of MGA and after interruption of its administration



Variačné krivky jadrového objemu FSH-trope buniek počas aplikácie i po vysadení rovnako vykazovali posun doprava v porovnaní s kontrolou (obr. 7). Variačné krivky nukleárneho objemu LH-trope buniek počas aplikácie MGA boli mierne posunuté doľava oproti kontrole. Posun variačných kriviek LH-trope buniek doľava bol výraznejší po vysadení MGA (obr. 8).



7. Variačné krivky jadrového objemu FSH-tropných buniek adenohipofýzy jalovic po aplikácii a po vysadení MGA — Variation curves of the nuclear volume of FSH-tropic cells of heifer adenohipophysis during administration of MGA and after interruption of its administration



8. Variačné krivky jadrového objemu LH-tropných bunkových typov adenohipofýzy jalovic po aplikácii a po vysadení MGA — Variation curves of the nuclear volume of LH-tropic cell types of heifer adenohipophysis during administration of MGA and after interruption of its administration

DISKUSIA

Komplexné funkčne-morfologické štúdium predného laloka hypofýzy hovädzieho dobytku prinieslo výsledky, ktoré dovoľujú diferencovať bunkové typy adenohipofýzy s ohľadom na ich sekrečný význam a určenie proveniencie tropných hormónov hypofýzy (Dubois, Herlant, 1968; Mikami, 1970; Maraček, 1969; Maraček, Arendarčík, 1971, 1971a).

Zmeny percentuálneho rozpočtu jednotlivých bunkových typov adenohipofýzy jalovic a kráv v čase estrálneho cyklu sme už opísali (Maraček, 1969; Maraček, Arendarčík, 1971a), rovnako ako zmeny nukleárneho objemu hypofyzárnych gonadotropných buniek so simultánnym stanovením aktivity FSH a LH u tých istých zvierat (Maraček, Arendarčík, 1973).

Moghissi (1973) podľa vlastných experimentálnych i klinických štúdií a podľa literárnych údajov zhrnul poznatky o účinku syntetických gestagénov používaných pre antikoncepciu v humánnej medicíne a vyvodil záver, že pôsobia týmito cestami:

1. alterujú fyziologické a chemické vlastnosti cervikálneho hlienu a inhibujú transport semena,

2. ovplyvňujú funkciu systému hypotalamus — hypofýza — ovária tým, že potlačia alebo modifikujú mohutné uvoľnenie FSH a LH do krvného obehu uprostred cyklu v čase pred ovuláciou,

3. v niektorých prípadoch inhibujú ovuláciu a snáď interferujú s funkciou syntetizujúcou steroidy u morfológicky normálneho žltého telieska,

4. vyvolávajú zmeny v endometriu, ktoré znemožňujú implantáciu zygoty,

5. porušujú ďalšie funkcie sťažujúce také reprodukčné procesy, ako sú kapacitácia, motilita vajcovodu a transport oocyty.

U jalovic pokusne ošetrovaných chlormadinon acetátom pre synchronizovanie estru sledovala Molnárová (1975) inhibičnú kapacitu natívneho cervikálneho hlienu. Inhibičný efekt hlienu z cervixu a maternice sa v ôsmom a šestnástom dni aplikácie CAP zvyšoval i vyrovnával.

Aplikácia 500 μ g chlormadinon acetátu (6-chlor-6-dehydro-17 α -acetoxyprogesteron) u žien zabránila mohutnému uvoľneniu LH do obehu uprostred menštruačného cyklu v podobe preovulačného LH peaku (Diczfalusy ai., 1969). Toto prvé pozorovanie Diczfalussyho ai. (1969) bolo ďalej potvrdené viacerými autormi a bolo zistené, že nielen preovulačný vrchol LH, ale i preovulačný vrchol FSH je progrestínmi potlačený, ba dokonca posledné komplexné štúdium hladiny gonadotropných hormónov RIA metódami umožnilo zistiť, že aj bazálna hladina FSH a LH je znížená v čase celého menštruačného cyklu žien, ktoré boli ošetrované mikrodózami syntetických progestínov za účelom antikoncepcie (Moghissi, 1973).

Z výsledkov pozorovania Hacketta ai. (1972) a Randela ai. (1972) pri sledovaní účinku syntetických gestagénov na synchronizáciu estru u jalovic vyplýva, že počas aplikácie gestagénov je uvoľnenie LH do obehu utlmené. Po vysadení preparátu v druhom až štvrtom, prípadne v treťom až šiestom dni v závislosti od druhu a spôsobu aplikácie gestagénu, je možné pozorovať preovulačný peak LH. Podobné výsledky sme opísali o synchronizácii estru u bahníc chlormadinon acetátom (Arendarčík ai., 1976).

Aplikácia medroxyprogesteron acetátu potkanom vyvolala zmenšenie buniek produkujúcich prolaktín a zväčšenie i zmnoženie bunkových typov produkujúcich rastový hormón. Účinok na gonadotropné bunky sa menil, ale u niektorých potkanov bolo významné zväčšenie a intenzívne zafarbenie bunkových typov produkujúcich gonadotropné hormóny. Bunky produkujúce ACTH neboli signifikantne ovplyvnené (Baker ai., 1972).

V dostupnej literatúre je známa práca Dharma ai. (1965), ktorá sa zaoberá vplyvom 17 α -etynyltestosterónu na gonadotropné bunky adenohipofýzy potkanov metódou funkčnej karyometrie. Vo všetkých experimentálnych skupinách pozorovali inhibičný účinok sledovanej látky, najmä však na centrálné gonadotropné bunkové typy, ktorým sa pripisuje tvorba a sekrecia LH. Inhibícia sa manifestovala hlavne redukciou veľkosti povrchu jadra gonadotropných buniek.

Z porovnania dosiahnutých výsledkov s dostupnými literárnymi údajmi i s našimi už publikovanými výsledkami kvalitatívneho charakteru u jalovic a pozorovaniami u oviec vyplýva, že študovaný MGA pôsobí na

gonadotropnú funkciu adenohipofýzy. Z percentuálneho rozpočtu adenohipofyzárnych bunkových typov vyplýva, že u PAS pozitívnych buniek je siedmy deň porovnateľný s hodnotou po doznení ruje, 14. deň je podobný obdobiu pred estrom a 20. deň je porovnateľný so zistením bezprostredne pred ovuláciou u kráv a jalovíc (Maraček, Arendarčík, 1971a). Zmeny percentuálneho rozpočtu mukoidných bunkových typov predného laloka hypofýzy počas skrmovania a po vysadení MGA sú v súlade s prv prezentovanými kvalitatívnymi zmenami, najmä s obsahom cytoplazmatických glykoproteínových granúl (Maraček, Arendarčík, 1974), čo sa dá porovnať s výsledkom pozorovania u potkanov (Baker a i., 1972) a u oviec po aplikácii medroxyprogesterónu [6 α -methyl-17 α -hydroxyprogesteron] (Maraček a i., 1971). Významné je zistenie úzkeho vzájomného vzťahu medzi zmenami percentuálneho výskytu LH-tropných buniek a sérovej aktivity LH u tých istých zvierat. Testovanie týchto dvoch sledovaných parametrov dalo pozitívnu koreláciu. Na tomto mieste treba zdôrazniť, že porovnanie počtu LH-tropných bunkových typov a LH aktivity krvného séra nám umožnilo použitie metód histochemickej povahy na glykoproteíny; ide najmä o kombináciu metódy kyselina permravčia — alciánová modrá — PAS — oranž G a o tetrachrómovú metódu. Zmnoženie buniek typu V-LH tropov je reprezentované hlavne degranulovanými formami týchto buniek. Dynamika zmien LH aktivity v krvnom sére pozorovaných zvierat je veľmi dobre porovnateľná s dynamikou zmien koncentrácie LH v krvnej plazme jalovíc, určenej rádioimunologickou metódou (Hackett a i., 1972; Randel a i., 1972). Sme toho názoru, že rozdielny výsledok v porovnaní medzi zmenami počtu buniek s hormonálnou aktivitou krvného séra v prípade LH-tropných buniek a LH aktivity séra, FSH-tropných buniek a FSH aktivity súvisí so samotnou funkciou hypofyzárnych gonadotropínov v regulácii estrálneho cyklu a ovulácie. Z nášho prv publikovaného kvalitatívneho pozorovania výskytu gonadotropných buniek s bohatým obsahom cytoplazmatických granúl počas aplikácie MGA a objavenia sa degranulácie cytoplazmy gonadotropných bunkových typov po vysadení gestagénu u jalovíc (Arendarčík a i., 1973) v súlade s dosiahnutými výsledkami predkladanej práce vyplýva, že je potrebné pri hodnotení výsledkov pozorovania na gonadotropných bunkách adenohipofýzy venovať pozornosť nielen syntéze, ale i uvoľňovaniu gonadotropných hormónov z hypofýzy do krvného obehu. Pre interpretáciu výsledkov karyometrickej analýzy FSH a LH-tropných bunkových typov je potrebné za celulárnu aktivitu považovať nielen syntézu hormónov, ale i ich uvoľnenie na podnet hypotalamických uvoľňovacích hormónov (RH — releasing hormones). Dosiahnuté zmeny jadrového objemu sledovaných bunkových typov naznačujú, že zväčšený jadrový objem môžeme pozorovať pri stimulácii syntézy hormónu a náhle uvoľnenie hormonálnej aktivity do obehu je skôr späté so zmenšením jadrového objemu.

Záverom porovnávanie dosiahnutých výsledkov s literárnymi údajmi a našimi prv publikovanými výsledkami môžeme uviesť, že MGA pôsobí na bunky produkujúce gonadotropné hormóny predného laloka hypofýzy prostredníctvom spätnoväzobných mechanizmov jednak centrálnym systémovým účinkom priamo na adenohipofýzu, alebo nepriamo cez uvoľňovacie hormóny hypotalamu, jednak periférnym účinkom na po-

hlavný aparát cez systém ovária — uterus, ako sme to podrobne rozviedli (ARENDARČIK, MARAČEK, 1976; ARENDARČIK a. i., 1976). Predložené výsledky podporujú dnes už všeobecne uznávanú koncepciu dvojúrovňovej regulácie adenohipofýzy hypofyziotropnou a preoptickou areou hypotalamu neurohumorálnymi účinnými látkami — peptidami — označovanými ako uvoľňovacie hormóny (RH) na zabezpečenie bazálnej sekrécie gonadotropných hormónov na jednej úrovni a realizáciu cyklickej sekrécie gonadotropínov na úrovni druhej (FLERKÓ, 1970; MARTINI, 1973; SHORT, 1974; DOMAŇSKI, 1976).

Literatúra

- ARENDARČIK, J. — MARAČEK, I.: Regulácia sekrécie hypofyzárnych gonadotropínov FSH, LH a centrálny účinok progesterónov používaných na synchronizáciu estru. In: Zborník Štátnej veterinárnej správy MPVŽ SSR, 1, 1976, s. 29-40.
- ARENDARČIK, J. — HALAGAN, J. — GAMČÍK, P. — TIELESCHOVÁ, V.: Die Östrusynchronisation mit Medroxyprogesteron bei Schafen. In: Tierische Reproduktion und Produktion. Ed.: K. H. Chemnitz, Schriftenreihe des VEB Jenapharm, 4, 1971, s. 405-417.
- ARENDARČIK, J. — MARAČEK, I. — HALAGAN, J.: Synchronizácia estru medroxyprogesterónom (VERAMIX) u oviec, sledovanie aktivity FSH a LH hodnôt estrogénov v krvi a cytologická analýza adenohipofýzy. Veterinaria SPOFA, XIV, 1972, s. 75-94.
- ARENDARČIK, J. — MARAČEK, I. — HALAGAN, J.: Effect of melengestrol acetate on estrus synchronization, serum FSH and LH activity blood estrogens and histology of anterior pituitary and reproductive organs in heifers. "Seventh Conference of European comparative endocrinologists" Akadémiai Kiadó, Budapest, 1973, 184 s.
- ARENDARČIK, J. — MARAČEK, I. — HALAGAN, J. — ITZE, L.: Regulácia estrálneho cyklu so zameraním na ovuláciu a periférny účinok liečiv používaných na synchronizáciu estru. Zborník Štátnej veterinárnej správy MPVŽ SSR, 2, 1976, s. 17-35.
- BAKER, B. L. — ESKIN, T. A. — CLAPP, H. W.: The effect of medroxyprogesterone on cells of the pituitary pars distalis. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 140, 1972, s. 357-361.
- BORTH, R. — DICZFALUSY, E. — HEINRICHS, H. D.: Grundlagen der statistischen Auswertung biologischer Bestimmungen. Arch. Gynäkol., 188, 1957, s. 497-538.
- DHOM, G. — KRULL, P. — MAUSLE, E. — STRUBE, R.: Der Einfluß eines Ovulations-hemmers (17-alfa-aethinyl-19-nortestosteron) auf die gonadotropen Zellen der Rattenhypophyse. Beitr. path. Anat., 132, 1965, s. 1-24.
- DICZFALUSY, E. — HEINRICHS, H. D.: Gonadotropine und ihre Bestimmung. Arch. Gynäkol., 187, 1956, s. 556-594.
- DICZFALUSY, E. — GOEBELSMAN, U. — JOHANNISSON, E. — TILLINGER, K. G. — WIEDE, L.: Pituitary and ovarian function in women on continuous low dose progestagens; effect of chlormadinone acetate and norethindrone. Acta endocr., Copenh., 62, 1969, s. 679.
- DOMAŇSKI, E.: The role of the limbic formations of the central nervous system in the control of gonadotropic hormones secretion and ovulation. VIIIth International congress on animal reproduction and artificial insemination. Krakow, Proceedings, II, 1976, s. 1-51.
- DUBOIS, M. P. — HERLANT, M.: Caractères cytologiques des cellules gonadotropes, thyroïdiques, corticotropes, somatotropes, et des cellules à prolactine présentes dans le lobe antérieur de l'hypophyse des bovins. Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys., 8, 1968, č. 1, s. 5-26.
- FLERKÓ, B.: Control of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone secretion. In: Hypothalamus, Ed.: L. Martini, M. Motta, F. Fraschini, Academic Press 1970, s. 351-363.
- HACKETT, A. J. — SCHLECHTER, R. J. — HOBSON, W. C. — HANSEL, W. — ROSS, P. J.: Luteinizing hormone and estrogens during synchronization. J. anim. Sci., 35, 1972, s. 244.
- HAFAZ, E. S. E.: Reproduction in farm animals. Lea and Febiger, Philadelphia 1968.
- HERLANT, M.: Étude critique de deux techniques nouvelles destinées à nutre en évidence les différentes catégories cellulaires dans la glande pituitaire. Bull. Micr. Appl., 10, 1960, s. 37-44.

- HOMOLKA, J.: Chemická diagnostika v dětském věku. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1956.
- KOĐOUSEK, R.: Histologie a histochemie lidské hypofýzy. Stát. zdravot. nakl. Praha, 1961.
- KUDLÁČ, E.: Možnosti řízení reprodukčního cyklu u skotu. Veterinářství, 1974, č. 2, s. 54-56.
- MARAČEK, I.: Cytológia a cytochémiá bazofilných buniek adenohipofýzy a gonadotropná aktivita vo vzťahu k proveniencii FSH a ICSH u oviec a kráv. [Kandidátska dizertačná práca.] Košice 1969. 263 s. — Vysoká škola veterinárska.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J.: 1971, Histochemical study of basophil cells in *pars distalis* of bovine anterior pituitary. Endocr. exp., 5, 1971, s. 167-170.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J.: On the cellular origin of FSH and ICSH in the anterior pituitary of cows. Endocr. exp., 5, 1971a, s. 223-235.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J.: Objem jadier gonadotropných bunkových typov adenohipofýzy a aktivita FSH a ICSH (LH) u kráv počas estrálneho cyklu. Folia vet., Košice, 17, 1973, č. 1-2, s. 93-102.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J.: Histologické a cytologické zmeny adenohipofýzy jalovic po podávaní melengestrolu acetátu. Čs. Fysiol., 23, 1974, č. 3, s. 265.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. — MAROSSY, A.: Die Zytologie der Adenohypophyse und die Übersichtsmorphologie der Geschlechtsorgane im Bezug zur FSH und LH Aktivität in der Adenohypophyse von Mutterschaften nach Applikation von Medroxyprogesteron (Veramip plus). In: Tierische Reproduktion und Produktion. Ed.: K. H. Chemnitz, Schriftenreihe des VEB Jenapharm, 4, 1971, s. 418-445.
- MARTINI, L.: Hypothalamic mechanisms controlling anterior pituitary function. Ed. by K. Lissák, Akadémiai, Kiadó, Budapest 1973, s. 123-142.
- MESS, B.: Morfológiai vizsgálati (étrekazési) módszerek a hypothalamo-hypophysealis rendszerben. V. A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei. Szerkesztette Kovács A., Budapest, Akadémiai Kiadó, 1962, s. 298-306.
- MIKAMI, S.: Light and electron microscopic investigations of six types of glandular cells of the bovine adenohypophysis. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat., 105, 1970, s. 457-482.
- MOGHISSI, K. S.: Newer approaches to steroidal contraceptives. In: Human reproduction conception and contraception. Ed. E. S. E. Hafez and I. N. Evans, Medical Department Harper, Row, Publishers, New York 1973, s. 447-469.
- MOLNÁROVÁ, M.: Inhibitory trypsínu v cervikálnom hliene niektorých hospodárskych zvierat. [Kandidátska dizertačná práca.] Košice 1976, 178 s. — Vysoká škola veterinárska.
- PALKOVITS, M.: A sejtmagvariációs statisztikai eljárás módszerének egyszerűsítése és a mérési hibaforrások kiküszöbölésének feltételei. Kísérlet. Orvostud., Budapest, 14, 1962, s. 249-262.
- PALKOVITS, M. — FISCHER, J.: Karyometric investigations. Budapest, Akadémiai Kiadó, 1968, s. 1-347.
- PURVES, H. D. — GRIESBACH, W. E.: The site of thyrotropin and gonadotropin production in the rat pituitary studied by Manus-Hotchkiss staining for glycoprotein. Endocrinology, 49, 1951, s. 224-264.
- RANDEL, R. D. — CALLAHAN, C. J. — ERB, E. — GARVERICK, H. A. — BROWN, B. L.: Effect of melengestrol acetate on plasma progesterone, luteinizing hormone and total corticoids in dairy heifers. J. anim. Sci., 35, 1972, s. 389-397.
- ROBERTS, E. W. — HAFEZ, E. S.: Synchronization of estrus in cyclic Merino ewes with vaginal sponges and pregnant mare serum. Am. J. vet. Res., 30, 1969, č. 2, s. 207-209.
- ROUSSEL, J. D. — BEATTY, J. F.: Effect of melengestrol acetate on synchronization of estrus subsequent fertility and milk constituents of lactating dairy cows. J. Dairy Sci., 52, 1969, s. 2020-2023.
- SHORT, R. V.: Role of hormones in sex cycles. In: Reproduction in mammals. vol. 3. Hormones in reproduction. Ed. by C. R. Austin, R. V. Short, Cambridge Univ. Press, 1974, s. 42-72.
- STEELMAN, S. L. — POHLEY, F. M.: Assay of the follicle stimulating hormone based on the augmentation with human chorionic gonadotropin. Endocrinology, 53, 1953, s. 604-616.
- TASSELL, B. — KENNEDY, J. P.: Tinctionial differentiation of the cell types in the *pars anterior* of the sheep. Aust. J. Biol. Sci., 25, 1972, s. 1249-1257.
- VRTĚL, M. — KUDLÁČ, E.: Synchronizace říje u skotu chlormadinonacetátem (Bovisynchron). Veterinářství, 25, 1975, č. 3, s. 115-118.

WOLF, J.: Mikroskopická technika. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1952.
ZIMBELMAN, R. G. — SMITH, L. W.: Control of ovulation in cattle with melen-gestrol acetate. I. Effect of dosage and route of administration. J. Reprod. Fert., 11, 1966, s. 185-191.
ZIMBELMAN, R. G.: — SMITH, L. W.: Control of ovulation in cattle with melen-gestrol acetate. II. Effect on follicular size and activity. J. Reprod. Fert., 11, 1966a, s. 193-201.

Došlo dňa 5. 4. 1977

МАРАЧЕК, И. — АРЕНДАРЧИК, Й. (Ветеринарный институт, Кошице): Количественные цитологические изменения аденогипофиза и гонадотропная активность сыворотки крови у нетелей после применения меленгестрола ацетата. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4): 225-237.

Изучались одновременно процентные исчисления типов клеток аденогипофиза, величина ядер гонадотропных клеток передней доли гипофиза, и гонадотропная активность ФСГ (фолликулярно стимулирующий гормон) и ЛГ (лютеинизирующий гормон) в сыворотке крови данных нетелей во время применения и после прекращения подачи меленгестрола ацетата (МГА). Наблюдались гипофизы 15 нетелей, 20—24 месячных, словацкой пестрой породы. МГА подавали через рот дозой 1,0 мг на голову в день на протяжении 14 дней. Пять групп по три нетеля были отведены на убой на 0 (контроль-метэструс), 7., 14., 20. и 23. день наблюдений. ФСГ-тропные клетки размножились во время применения, и их число после подачи МГА понизилось. Вариационные кривые объема ядер ФСГ-тропных клеток при подаче и без подачи перемещались вправо. ЛГ-тропные клетки относительно понизились во время применения МГА и размножились после прекращения подачи МГА. Вариационные кривые нуклеарного объема ЛГ-тропных клеток во время применения МГА слегка переместились влево по сравнению с 0. дней и после прекращения подачи МГА переместились влево более заметно. Уровень ФСГ в сыворотке крови заметно понизился на седьмой день по сравнению с контролем и на 14 день достиг максимальной величины. В другие интервалы исследования активность ФСГ имела понижающуюся тенденцию. ЛГ активность сыворотки крови достоверно понизилась на седьмой день по сравнению с нулевым днем. На 20-ый день наблюдений ЛГ активность достоверно повысилась, а на 23-ий день слегка понизилась. Мы наблюдали корреляцию между изменением числа ЛГ-тропных клеток и изменением активности ЛГ сыворотки ($r = 0,9819$, $\pm 0,0065$, $t = 18,6827$, $P < 0,01$). Описанные количественные цитологические и кариометрические изменения и изменения активности ФСГ и ЛГ сыворотки крови свидетельствуют о том, что МГА действует на гипоталамус и гипофиз под влиянием секреции, или синтеза гипофизарных гонадотропинов главным образом посредством ЛГ-тропной функции аденогипофиза.

аденогипофиз; гонадотропные клетки; процентное исчисление; кариометрия; ФСГ и ЛГ активность; МГА; нетели; синхронизация половой охоты

MARACEK, I. — ARENDARČIK, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): Quantitative Cytological Changes of the Adenohypophysis and the Gonadotropic Activity of the Blood Serum of Heifers after Administration of Melengestrol Acetate. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4): 225-237.

An experiment was conducted to study simultaneously the percentual count of the cellular types of adenohypophysis, the size of nuclei of gonadotropic cells of the anterior lobe of hypophysis, and the gonadotropic activity of the FSH (follicle-stimulating hormone) and LH (luteinizing hormone) in the blood serum of the same heifers during administration of melengestrol acetate (MGA) and after interruption of administration. Hypophyses were studied in 15 heifers of the Slovak Spotted breed, 20 to 24 months of age. MGA was applied orally in the dose of 1.0 mg per heifer per day for 14 days. In five groups with three heifers each the animals were killed on the 0th (control — metestrus), 7th, 14th, 20th, and 23rd day of study. The FSH-tropic cells multiplied in the course of administration and their number dropped when MGA application was interrupted. The variation curves of the nuclear volume of the FSH-tropic cells showed a shift to the right during and after administration. The LH-tropic cells were reduced in their relative number in the course of MGA administration and multiplied after interruption of MGA application.

The variation curves of the nuclear volume of the LH-tropic cells were slightly shifted to the left, as compared with the 0th day, and after interruption of MGA administration the shift was somewhat more pronounced. The FSH level in the blood serum significantly decreases on the seventh day, as compared with the control, and on the 14th day it shows the maximum value. In further intervals of study the activity of FSH has a descending trend. The LH activity of the blood serum significantly dropped on the 7th day, compared with the 0th day. On the 20th day of study the LH activity significantly increased and this increase was followed by a slight drop on the 23rd day. A correlation was observed between the change in the count of LH-tropic cells and in the serum activity of LH ($r = 0.9819 \pm 0.0065$, $t = 18, 6827$, $P < 0.01$). The described quantitative cytological and caryometric changes and the changes in the FSH and LH activity of the blood serum corroborate the opinion that MGA acts on the hypothalamus and hypophysis by influencing the secretion and/or synthesis of hypophysis gonadotropins, mainly through the LH-tropic function of adenohypophysis.

adenohypophysis; gonadotropic cells; percentual count; caryometry; FSH and LH activity; MGA; heifers; synchronization of oestrus

MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Quantitative zytologische Veränderungen der Adenohypophyse und die gonadotrope Aktivität des Blutserums von Färsen nach Applikation des Melengestrolacetats*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 225-237.

Wir untersuchten simultan die perzentuelle Vertretung der Adenohypophysen-Zellentypen, die Kerngröße der gonadotropen Zellen des Vorderlappens der Hypophyse sowie die gonadotrope Aktivität des follikelstimulierenden Hormons (FSH) sowie des Luteinisierungshormons (LH) im Blutserum der gleichen Färsen während der Applikation und nach der Ausschaltung des Melengestrolacetats (MGA). Wir verfolgten die Hypophysen von 15 zwanzig- bis vierundzwanzigmonatigen Färsen der slowakischen Fleckviehrasse. Das MGA wurde 14 Tage hindurch in Dosen von 1,0 mg je Tier und Tag *per os* appliziert. Je fünf dreigliedrige Färsengruppen wurden am 0. (Kontrolle — Metoestrus), 7., 14., 20. und 23. Tag der Untersuchung geschlachtet. Während der Applikationszeit vermehrten sich die FSH-tropen Zellen und die Anzahl derselben verringerte sich nach Aussetzen des MGA. Die Variationskurven des Kernvolumens der FSH-tropen Zellen wiesen im Verlauf der Applikation und nachher eine Verschiebung nach rechts auf. Die relative Anzahl der LH-tropen Zellen verringerte sich während der Applikation und vermehrte sich nach der Anwendung des MGA. Die Variationskurven des nuklearen Volumens der LH-tropen Zellen verschoben sich während der MGA-Applikation mäßig nach links im Vergleich zum 0. Tag und nach der Ausschaltung des MGA war die Linksverschiebung ausgeprägter. Das FSH-Niveau im Blutserum verringerte sich am siebten Tag im Vergleich zur Kontrolle wesentlich und erreichte am 14. Tag den Höchstwert. In den weiteren Untersuchungsintervallen wies die FSH-Aktivität eine abfallende Tendenz auf. Die LH-Aktivität des Blutserums nahm am siebenten Tag im Vergleich zum 0. Tag signifikant ab. Am 20. Beobachtungstag erhöhte sich die LH-Aktivität wesentlich, um am 23. Tag wiederum mäßig zu sinken. Wir stellten eine Korrelation zwischen der Veränderung der Anzahl der LH-tropen Zellen und der Veränderung der Serum-LH-Aktivität ($r = 0.9819 \pm 0.0065$, $t = 18, 6827$, $P < 0.01$). Die beschriebenen quantitativen zytologischen und karyometrischen Veränderungen sowie die Veränderungen der FSH- und der LH-Aktivität des Blutserums bekräftigen die Ansicht, daß das MGA auf den Hypothalamus und die Hypophyse durch Beeinflussung der Sekretion beziehungsweise auch der Synthese der hypophysären Gonadotropine hauptsächlich auf dem Wege über die LH-trope Funktion der Adenohypophyse einwirkt.

Adenohypophyse; gonadotrope Zellen; perzentueller Anteil; Karyometrie; FSH- und LH-Aktivität; MGA; Färsen; Oestrus-Synchronisierung

Adresa autorů:

MVDr. Imrich Maraček, CSc., prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 71, 041 81 Košice

Výběr z přírůstků
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTIZ
z úseku veterinární medicína

Uvedené publikace je možné si vypůjčit osobně nebo písemně v ÚZLK, výpůjční oddělení, 120 56 Praha 2, Slezská 7. Výpůjční doba: pondělí až pátek od 9 do 18 hodin. U každé žádané publikace uveďte signaturu.

PEDERSEN, K. B. D 30.900/600

Isolation of Yersinia enterocolitica from Danish swine and dogs.

København, Statens veter. serumlab. 600. (Yersinia enterocolitica — prase a pes — izolace — výzkum — Dánsko)

MAHNEL, H. — MAYR, A.

D 61.700/16

Schweinepest.

Jena, VEB, G. Fischer 1974. 163 s. obr. tab. Infektionskrankheiten und ihre Erreger. Eine Sammlung von Monographien. Bd. 16. (Prase — nemoci virové — mor — výzkum — NDR)

MARSCHALL, H. J.

E 38.066/25

Untersuchungen über den Verlauf der Europäischen Schweinepest im Land Niedersachsen in den Jahren 1971—1974 anhand der Unterlagen der niedersächsischen Tierseuchenkasse. Inaug.-Diss. d. Tierärztl. Hochschule Hannover.

Hannover, n. vl. 1975. 79 s. 21 obr. 16 tab. (Mor prasat — ochrana a léčení — Evropa — NSR — Dolní Sasko — výzkum)

HENRIKSEN, S. A. — AAGAARD, K.

D 30.900/599

En enkel flotations- og McMastermetode. (Souhrn též angl.).

København, Statens veter. serumlab. 1976. 8 s. obr. Meddelelser 599. (Parazitologický výzkum — metody — flotační — použití — Dánsko)

PFLUGFELDER, O.

D 66.978

Wirtstierreaktionen auf Zooparasiten.

Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1977. 378 s., 117 obr. (Veterinární parazitologie — cizopasníci živočišní — hostitelská zvířata — reakce — příručka)

D 24.093/37

Prostejšije — vzbuditeli boleznej životnyh Kazachstana.

Alma-Ata, AN KazSSR — Inst. zoologii 1977. 174 s. obr. tab. Trudy tom 37. (Veterinární parazitologie — prvoci — sborník — SSSR)

E 38.530

Materialy dokladov k II-oi Vsesojuznoj konferencii po probleme trichinelleza čeloveka i životnyh. (27—28 maja 1976 g.).

Viňjus, AN Lit. SSR 1976. 219 s. res. angl. (Vilnius — konference o problémech trichinózy člověka a zvířat — sborník / Trichinóza — diagnóza — metody / Trichinóza — profylaktika / Trichinóza — epizootologie — sborník — SSSR)

NEUROSEKRÉT A PAS POZITÍVNE MUKOPOLYSACHARIDY V NEURÓNOCH HYPOTALAMU JALOVÍC PO APLIKÁCIÍ MELENGESTROL ACETÁTU

I. Maraček, J. Arendarčík

MARAČEK, I. — ARENDARČÍK, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Neurosekrét a PAS pozitívne mukopolysacharidy v neurónoch hypotalamu jalovic po aplikácii melengestrol acetátu*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 239-250.

V práci sme sledovali neurosekrét a PAS pozitívne mukopolysacharidy v neurónoch *nucleus paraventricularis*, *nucleus supraopticus*, *nucleus arcuatus s. infundibularis* hypotalamu jalovic po aplikácii a po vysadení melengestrol acetátu v prípravku MGA-100 (chemicky: 17-acetoxy-6-methyl-6-methylenpregnan-4,6-dien-3,20-dion). Pozorovali sme vzorky mozgu od 12 jalovic, 20 až 24-mesačných, slovenského strakatého plemena. Melengestrol acetát (MGA) sme podávali ako premix do jadrového krmiva v dávke 1,0 mg na kus a deň, počas 14 dní. Vzorky sme odobrali 7., 14., 20. a 23. deň pokusu. Počas podávania MGA sme pozorovali v neurosekrečných bunkách *nucleus paraventricularis* degranuláciu v blízkosti jadra a malé vakuoly v perikaryone neurónov, ktoré vykazovali slabú PAS pozitivitu. V *nucleus supraopticus* a *nucleus arcuatus s. infundibularis* bola PAS pozitivita perikaryonu výraznejšia ako v *nucleus paraventricularis*, počas aplikácie MGA. Výrazné zmeny sme pozorovali na neurónoch sledovaných jadier po vysadení MGA. Neuróny sa zväčšili, zmnožil sa PAS pozitívny materiál. Výrazné vakuolizácie sme pozorovali v niektorých neurosekrečných bunkách Gömöriho chrómhemaťoxylínovou metódou. Opísané zmeny v súlade s literárnymi údajmi po kastrácii a koite u králikov podporujú názor, že sledované štruktúry sú zapojené do regulačných mechanizmov riadiacich gonádotropnú sekréciu adenohypofýzy.

neurosekrét; mukopolysacharidy; hypotalamus; jalovice; melengestrol acetát; histológia

Všeobecne sa uznáva, že centrálny nervový systém hrá základnú úlohu v regulácii mnohých endokrinných funkcií a hypotalamus je rozhodujúcim článkom tejto regulácie. Kľúčové postavenie hypotalamu spočíva po prvé v jeho strategickej lokalizácii s tesným tkanivovocievny kontaktom s adenohypofýzou, po druhé v skutočnosti, že obsahuje neuróny syntetizujúce a produkujúce chemické pôsobky nevyhnutné pre stimuláciu alebo inhibíciu predného laloka hypofýzy a po tretie, že predstavuje miesto, kde sú lokalizované receptory spätnoväzobného (feedback) mechanizmu, ktorých aktivita je modifikovaná hormonálnymi vplyvmi (Martini, 1973; Martini ai. 1968; Mess a Martini, 1968; Motta ai., 1970; Szentágothai ai., 1968; McCahn ai., 1974 a iní).

Martinez-Rodriguez a i. (1976) referujú o výsledku štúdia mukopolysacharidov v hypotalamických neurónoch potkanov.

Vo vzťahu k reprodukcií opísal Nakahara (1962, 1963) zmeny neurosekrečných štruktúr v rámci vzťahu medzi neurosekrétom a cytologickými zmenami adenohipofýzy u králikov po kastrácii a po koite. Vychádzajúc z komplexných štúdií Martini (1973) uvádza, že syntéza FSH uvoľňujúceho hormónu (FSH-RH) je lokalizovaná v oblasti okolo *nucleus paraventricularis* a LH uvoľňovací hormón má provenienciu v suprachiazmatickej arei v oblasti *nucleus arcuatus s. infundibularis*.

V predkladanej práci sme sa zamerali na štúdium neurosekrétu a mukopolysacharidov v *nucleus paraventricularis*, *nucleus supraopticus* a *nucleus arcuatus s. infundibularis* hypotalamu jalovic počas aplikácie a po vysadení melengestrol acetátu (MGA-100) s cieľom prispieť k poznaniu pôsobenia syntetických gestagénov, ktoré sa používajú na synchronizáciu estru jalovic a kráv.

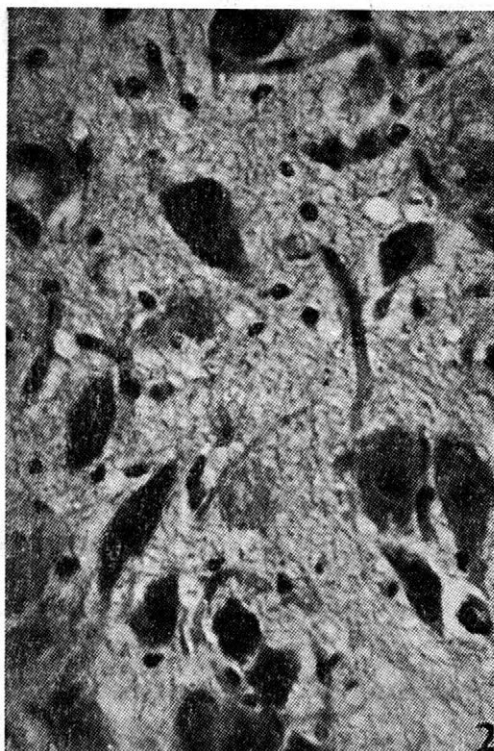
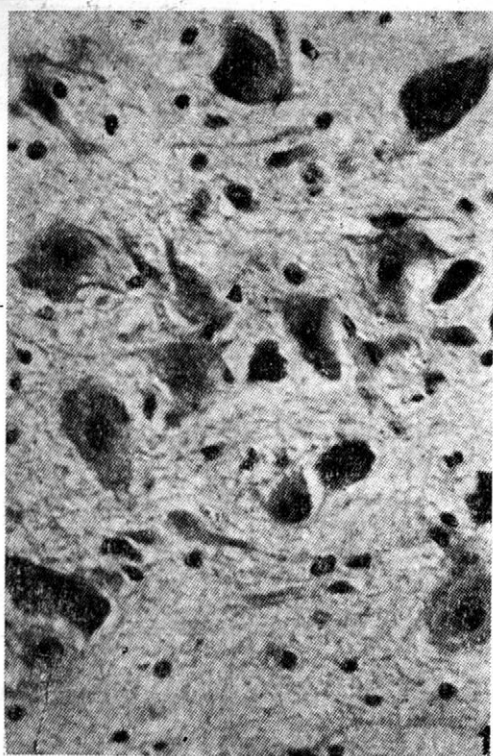
MATERIÁL A METÓDY

Pre výskum sme použili vzorky od 12 jalovic, 20 až 24-mesačných, slovenského strakatého plemena. Jalovice boli držané za štandardných podmienok. Experimenty sme vykonali v mesiacoch apríl-máj. Pred zaradením do pokusu boli zvieratá rektálne vyšetrené. Pohlavné orgány boli bez patologických zmien a na základe klinického pozorovania boli v štádiu diestru. Melengestrol acetát v podobe prípravku MGA-100 (Upjohn, Michigan, USA), chemicky: 17-acetoxy-6-methyl-methylenpregnan-4,6-dien-3,20-dion, sme podávali v dávke 1,0 mg na kus a deň ako premix do jadrového krmiva počas 14 dní.

Vzorky mozgu sme odobrali v 7., 14., 20. a 23. dni pozorovania vždy od troch zvierat v skupine. Bezprostredne po vykrvení zvierat sme odrezali hlavu a po odseknutí temennej kosti sme čo najrýchlejšie vypreparovali hypotalamickú oblasť z bazálnej strany mozgu. Hlavný dôraz sme kládli na rýchle vykrojenie hypotalamickej oblasti a preloženie excízy do fixačného média. Excízy sme fixovali v 10% formálne. Po fixácii sme vzorky od dvoch zvierat zo skupiny prirezali do troch transversálnych tretín tak, že prvá bola z oblasti predného hypotalamu nad *chiasma opticum*, druhá predstavovala oblasť nad infundibulom a tretia časť nad *corpus mammillare*. Od jedného zvierata z každej skupiny sme vzorku hypotalamu rozpoltili v mediálnej línii. Excízy sme po vypratí, odvodnení a vyjasnení zaliali do parafínu a krájali na sánkovom mikrotóme. 7 až 10 μ m hrubé rezy sme ofarbili metódami: 1. hematoxylínom-eozínom, 2. aldehydfuchsínom podľa Gömöriho (ako uvádza Kodousek, 1961), 3. chrómovým hematoxylínom podľa Gömöriho (Kovács, Davidová, 1962), 4. reakciou PAS v modifikácii ako uvádzame inde (Marček, Arendarčík, 1971).

VÝSLEDKY

Mikroskopickou analýzou hypotalamických rezov, ktoré boli ofarbené podľa vyššie uvedených metód, sme sa zamerali na sledovanie neurosekrétu a mukopolysacharidov v neurónoch z *nucleus paraventricularis*, *nucleus supraopticus* a *nucleus arcuatus s. infundibularis*. Na obr. 1 a 2 sú vidieť neurosekrečné bunky z *nucleus paraventricularis* (PV) jalovic v siedmom dni pokusu z prehľadného farbenia hematoxylínom a eozínom. Na obr. 3, 4 a 5 sú neurosekrečné bunky z Gömöriho chrómhemoxylínu, kde je vidieť degranuláciu v blízkosti jadier a vakuolizáciu v neuroplazme (obr. 4 a 5) neurosekrečných buniek. Aldehydfuchsínom pozitívne neurosekrečné bunky z PV sú patrné na obr. 6. Výsledok PAS reakcie zo skupiny zvierat v siedmom dni pozorovania sme znázornili na mikroskopických obr. 7 a 8. Z obrázkov je vidieť, že neurosekrečné bunky PV vykazujú slabú PAS pozitivitu a u niektorých buniek je v oblasti blízkosti jadra v podobe granúl výraznejší PAS pozitívny materiál. Na obr. 9 je vidieť PAS pozitivitu v neurónoch



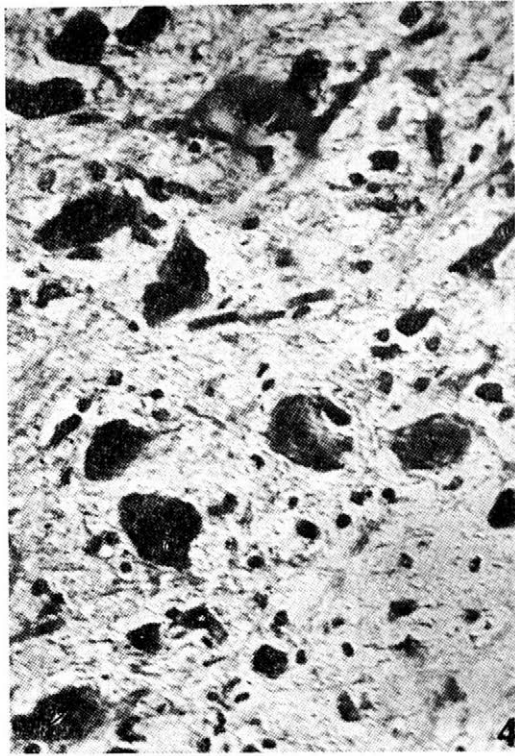
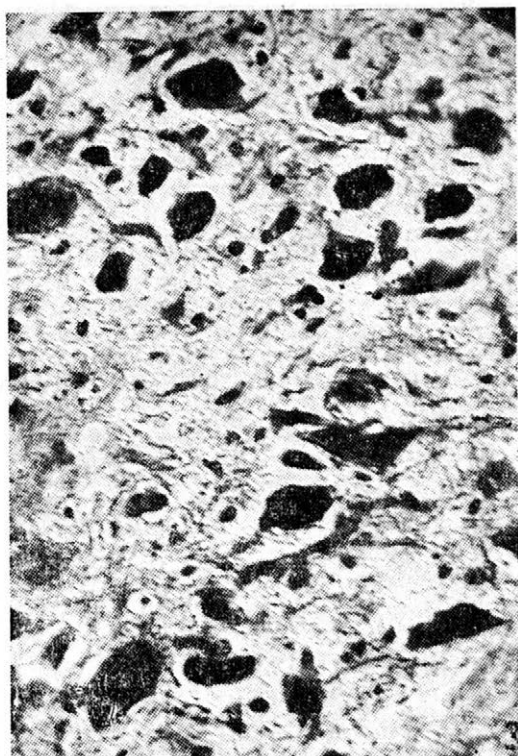
1. a 2. Neurosekrečné neuróny z *nucleus paraventricularis* jalovic na siedmy deň pokusu — Neurosecretory neurons from *nucleus paraventricularis* of heifers on the 7th day of experiment

Farbenie hematoxilín-eozínom, zväčšenie: obj. 40, ok. 4

nucleus supraopticus a obr. 10 znázorňuje PAS pozitivitu v neuroplazme neurónov z *nucleus arcuatus s. infundibularis* v siedmom dni pozorovania.

Pozorovali sme výrazné zmeny neurosekrečných buniek PV v 20. dni pokusu, t. j. 6. deň po vysadení MGA.

Na obr. 11 je vidieť mierne zväčšenie neurosekrečných buniek, ktoré vykazujú intenzívnejšiu PAS pozitivitu (obr. 12). Rovnako sme pozorovali zmnoženie PAS pozitívneho materiálu v neuroplazme buniek *nucleus arcuatus s. infundibularis* (obr. 13). Pozorovali sme PAS pozitívny mukopolysacharidný materiál aj v nervových vláknach v oblasti *eminentiá medialis* (obr. 14). Zo špeciálneho Gömöriho farbenia na neurosekrét zvlášť dobre vynikajú zmeny neurosekrečných buniek *nucleus paraventricularis* a *nucleus arcuatus* (obr. 15 a 16).



3. Neurosekrečné bunky z *nucleus paraventricularis* hypotalamu jalovic na siedmy deň pokusu — Neurosecretory cells from the *nucleus paraventricularis* of the hypothalamus of heifers on the 7th day of experiment

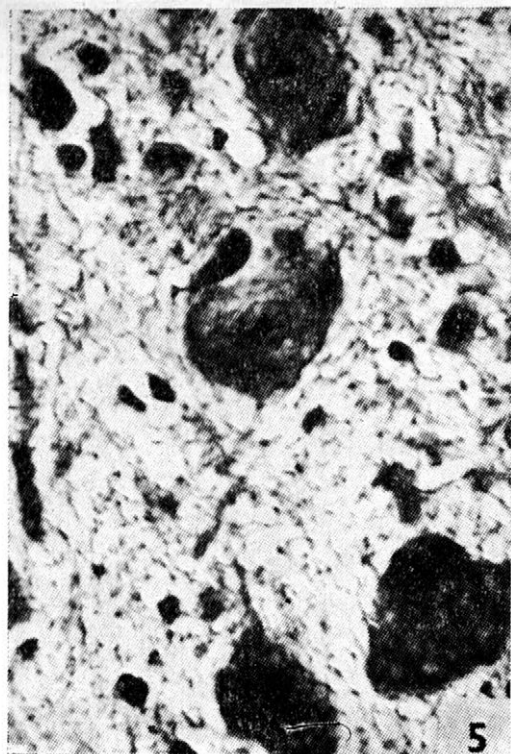
Farbenie Gömöriho chrómhemaťoxilínom, zväčšenie: obj. 20, ok. 6,3

4. Neurosekrečné bunky *nucleus paraventricularis* — degranulácia blízko jadier a vakuolizácia v neuroplazme na siedmy deň pokusu — Neurosecretory cells of *nucleus paraventricularis* — degranulation in the proximity of nuclei and vacuolization in the neuroplasm on the 7th day of experiment

Gömöriho chrómhemaťoxilín, zväčšenie: obj. 20, ok. 6,3

DISKUSIA

Neurosekrécia je stupňovite augmentovaná v prvom mesiaci po kastrácii králikov. Veľké množstvo neurosekrečných granúl je uvoľnených z hypotalamo-neurohypofyzárneho neurosekrečného systému do krvného obehu a do adenohipofýzy. Po kastrácii králikov sa objavuje dlhá hypersekrečtorická a krátka hyposekrečtorická fáza, naznačujúca cyklickú fluktuáciu neurosekrečtorickej aktivity u kastovaných králikov. Zmeny neurosekrečtorického systému po gonadektómii boli nasledované histologickými zmenami adenohipofýzy. Gonadotropné bunky sa po-



5. Neurosekrečné bunky *nucleus paraventricularis* (ako na obr. 8) pri väčšom zväčšení — degranulácia a vakuoly v neuroplazme na siedmy deň pozorovania — Neurosecretory cells of *nucleus paraventricularis* (as in Fig. 8) in greater magnification — degranulation and vacuoles in the neuroplasm on the 7th day of observation

Gömöriho chrómhemoxilín, zväčšenie: obj. 40, ok. 6,3

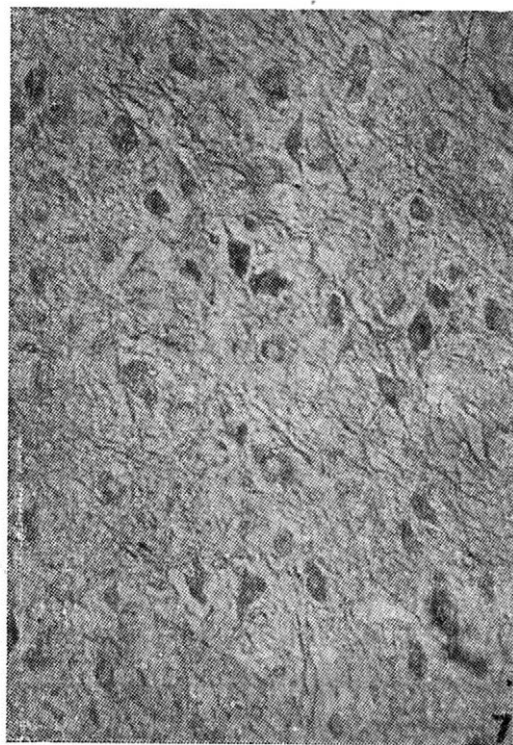


6. Aldehydfuchsin pozitívne neurosekrečné bunky z *nucleus paraventricularis* jaľovic na siedmy deň pozorovania — Aldehyde-fuchsin-positive neurosecretory cells of the *nucleus paraventricularis* of heifers on the 7th day of experiment

Zväčšenie: obj. 40, ok. 6,3

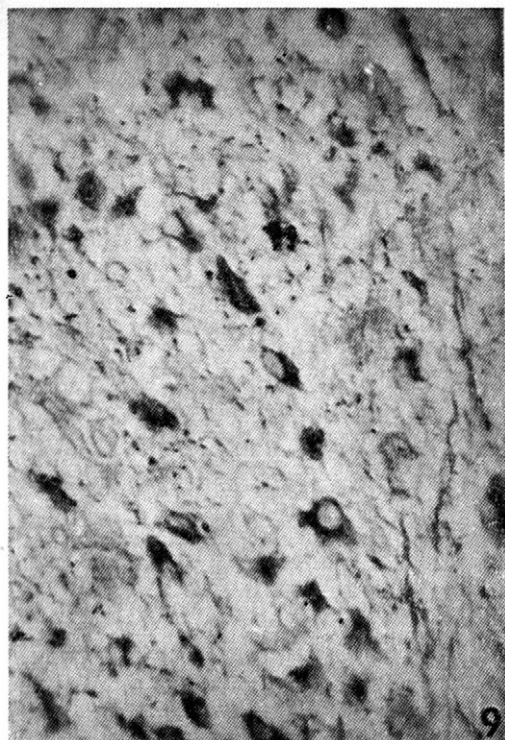
stupne zmnožili a zväčšili po operácii s augmentáciou sekretorických granúl [N a k a h a r a, 1962].

Histologickými metódami študoval N a k a h a r a [1963] riadiace mechanizmy hypotalamu, regulujúce gonadotropnú sekréciu po koite kráľikov. Neuróny supraoptického a paraventrikulárneho jadra kráľikov po koite vykazujú výrazné prejavy vysokej sekretorickej aktivity v podobe zväčšenia perikaryonu, bunkového jadra, degranulácie „vytvorenie dvora“ a vakuolizáciu. V niektorých neurónoch týchto jadier boli často

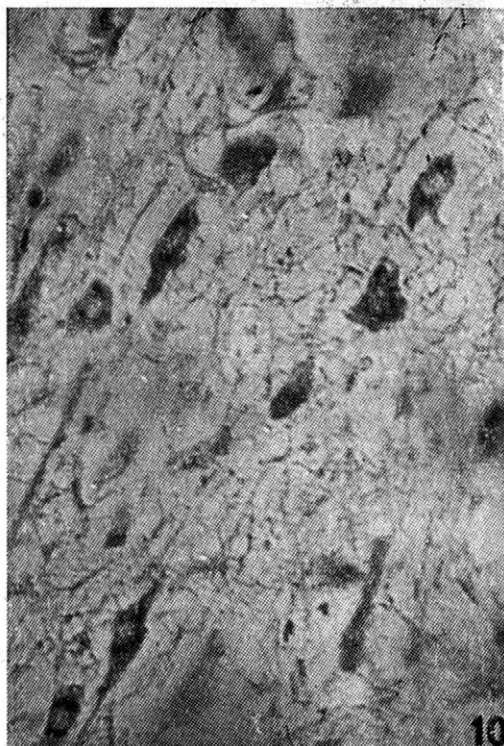


7. a 8. Výsledok PAS reakcie z oblasti *nucleus paraventricularis* jalovic na siedmy deň pokusu — Result of PAS-reaction from the region of *nucleus paraventricularis* of heifers on the 7th day of experiment
Zväčšenie: obr. 7 — obj. 20, ok. 4; obr. 8 — obj. 40, ok. 4

pozorované degranulované a vakuolizované bunky podobné Herringovým telieskam (Herring body-like cells) ako výsledok stresu po koite. Zmnoženie neurosekreторických granúl v hypotalamo-hypofyzárnom trakte korešpondovalo s augmentáciou sekreторickej aktivity neurosekrečných buniek, ktorá svedčí o zvýšenom transporte týchto granúl do neurohypofýzy. Po koite sa množstvo granúl v neurohypofýze výrazne znížilo. Degranulácia bola významná v periférnej zóne krvných ciev svedčiacich o zvýšení uvoľnenia granúl do týchto ciev. Granuly, ktoré penetrovali z hypotalamo-hypofyzárneho neurosekrečného systému do adenohypofýzy, sa významne zmnožia po koite, čo bolo možné dobre vidieť v prednom laloku hypofýzy v prvých 20 minútach po koite. Z týchto výsledkov vyvodil Nakahara (1963) záver, že taktilné stimulácie pri koite sú aferentnými nervovými cestami vedené do hypotalamu, kde aktivujú hypotalamo-hypofyzárny neurosekrečný systém,



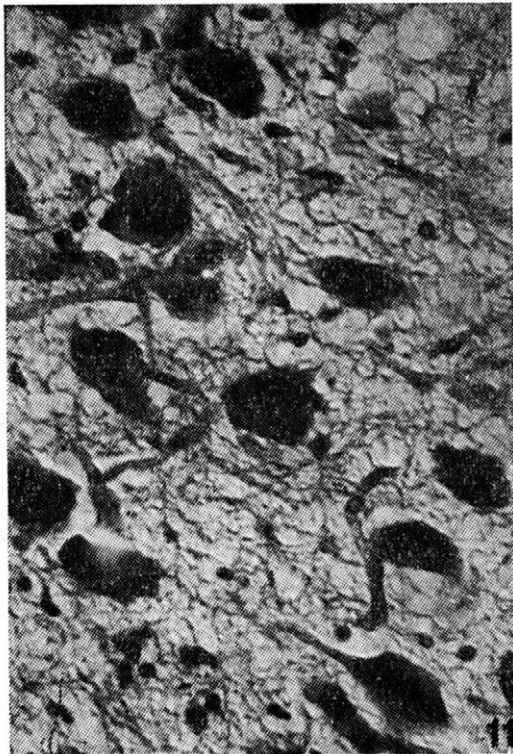
9. Výsledok PAS reakcie z *nucleus supraopticus* jalovic na siedmy deň pozorovania — Result of PAS-reaction from *nucleus supraopticus* of heifers on the 7th day of observation
Zväčšenie: obj. 40, ok. 4



10. Výsledok PAS reakcie z oblasti *nucleus arcuatus* jalovic na siedmy deň pozorovania — Result of PAS-reaction from the region of *nucleus arcuatus* of heifers on the 7th day of observation
Zväčšenie: obj. 40, ok. 4

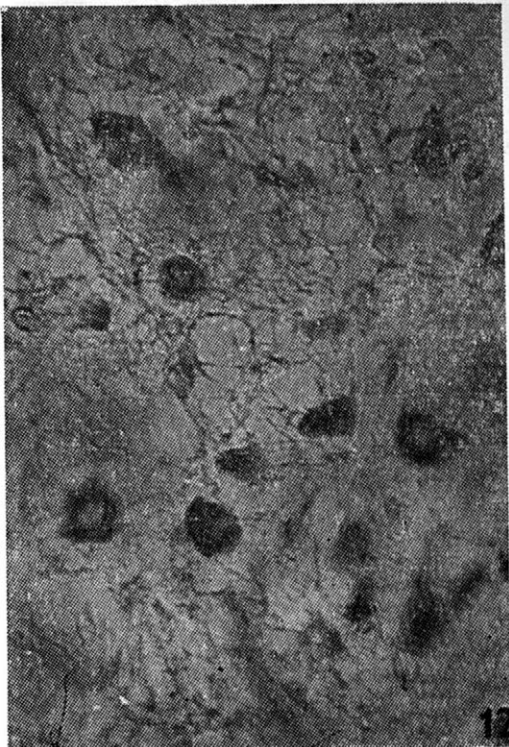
ktorý stimuluje neurohypofýzu na uvoľnenie neurosekréту. Neurosekrét zvýšene penetrovaný z hypotalamo-hypofyzárneho neurosekreторického systému do adenohypofýzy po koite podporuje uvoľnenie gonadotropných a ďalších eutropných hormónov z predného laloka hypofýzy.

Keď porovnáваме výsledky nášho pozorovania s údajmi z dostupnej literatúry, zistíme, že počas aplikácie MGA sú sledované neurosekreторické štruktúry hypotalamu utlmené. Po vysadení MGA dochádza k stimulácii neurosekreторickej činnosti pozorovaných neurónov a k zvýšeniu aktivity PAS pozitívnych mukopolysacharidov v perikaryone týchto neurónov. Zistené histologické zmeny sú v podstate podobné nálezom Nakaharu [1962, 1963] po kastrácii a hlavne 5 až 15 minút po koite. Zmnožený PAS pozitívny materiál tiež dokladá zvýšenú aktivitu



11. Neurosekrečné bunky z *nucleus paraventricularis* jalovic na 20. deň pokusu — Neurosecretory cells from *nucleus paraventricularis* of heifers on the 20th day of experiment

Hematoxilín-eozín, zväčšenie: obj. 40, ok. 4

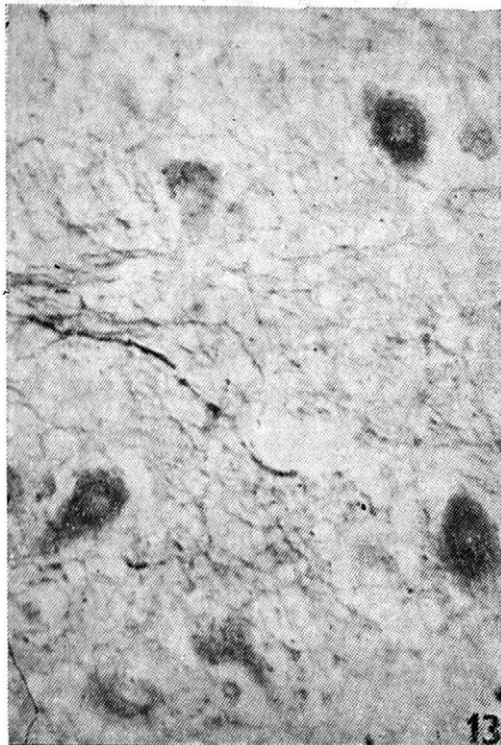


12. Výraznejšia PAS pozitivita perikaryonu neurosekrečných neurónov *nucleus paraventricularis* na 20. deň pozorovania — Pronounced PAS-positivity of the perikaryon of neurosecretory neurons in *nucleus paraventricularis* on the 20th day of observation

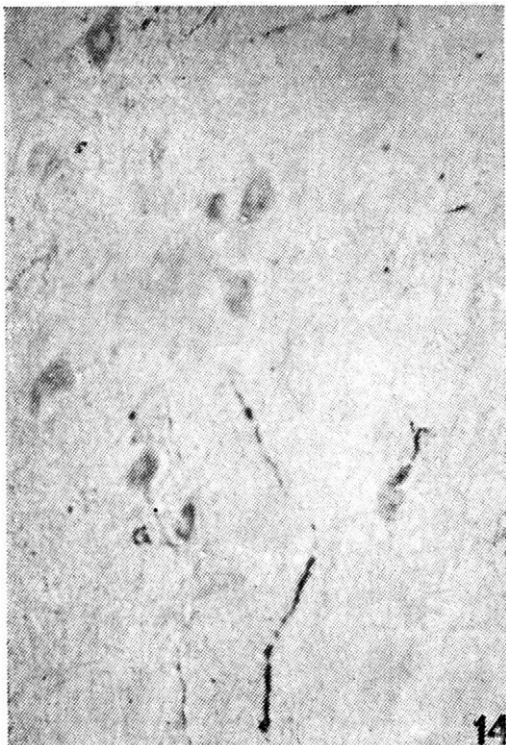
Zväčšenie: obj. 40, ok. 4

neurónov sledovaných štruktúr. Považujeme za potrebné pre správnu interpretáciu našich výsledkov uviesť, že použité farbiace metódy histochemickej povahy nie sú špecifické a dovoľujú identifikovať len peptidernú neurosekreciu v komplexe s bielkovinným nosičom (Němeček, 1972). Pre celulárnu vizualizáciu hormónov produkovaných neurosekrečnými neurónmi hypotalamu je potrebné použiť imunofluorescenčné alebo imunohistochemické metódy (Barry, Carette, 1975; Sétáló ai., 1975; Barry, Dubois, 1976; Castel, Hochman, 1976; Krisch, 1976; Naik, 1976 a iní).

Po hodnotení a porovnávaní dosiahnutých výsledkov s dostupnými literárnymi údajmi a našimi publikovanými výsledkami pozorovania his-

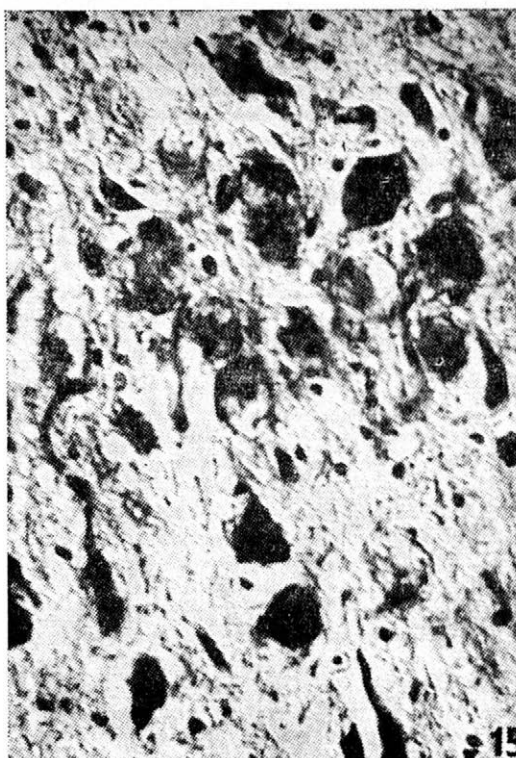


13. Neurosekrečné neuróny z oblasti *nucleus arcuatus* s výraznou PAS pozitivitou v perikaryone, ako aj v nervovom vlákne na 20. deň pokusu – Neurosecretory neurons from the region of *nucleus arcuatus* with pronounced PAS-positivity in the pericaryon as well as in the nerve fibre on the 20th day of experiment
Zväčšenie: obj. 40, ok. 4



14. Výsledok PAS reakcie z oblasti *eminetia medialis* na 20. deň pozorovania – Result of PAS-reaction from the region of *eminetia medialis* on the 20th day of observation
Zväčšenie: obj. 20, ok. 4

to cytologických zmien adenohipofýzy u tých istých pokusných zvierat (Maraček, Arendarčík, 1977) môžeme uviesť, že MGA ovplyvňuje gonadotropnú sekréciu adenohipofýzy jalovic nielen priamym pôsobením na bunky predného laloka hypofýzy, ale aj prostredníctvom ovplyvnenia hypotalamických štruktúr zapojených do regulácie sekrécie hormónov hypofýzy. Predkladané výsledky podporujú názor, že pre dokonalé zvládnutie synchronizácie estru s indukciou ovulácie a ďalších biotechnologických metód na riadenie reprodukčných procesov hospodárskych zvierat je opodstatnený mimoriadne intenzívny vedecký výskum neuroendokrinných štruktúr, zapojených do regulácie rozmnožovania hospodárskych zvierat.



15. a 16. Výrazná vakuolizácia až úplná strata neurosekréty z niektorých neurónov *nucleus paraventricularis* jalovic na 20. deň pozorovania — Pronounced vacuolization up to total loss of neurosecretion from some neurons of *nucleus paraventricularis* of heifers on the 20th day of observation

Gömöriho chromový hematoxilín, zväčšenie: obr. 15 — obj. 20, ok. 6,3; obr. 16 — obj. 40, ok. 6,3

Literatúra

- BARRY, L. — CARETTE, B.: Neuro-endocrinologie. Étude en immunofluorescence des neurones élaborateurs de LRF chez les Cébidés. C. r. Acad. Sci., Paris, 1, 281, 1975, s. 735-738.
- BARRY, L. — DUBOIS, M. P.: Immunoreactive LRF neurosecretory pathways in mammals. Acta anat., 94, 1976, s. 497-503.
- CANN, Mc S. M. — COOPER, K. — HARMS, P. G. — LIBERTUN, C. — NEGRO-VILAR, A. — OJEDA, S. R. — ORIAS, R. — MOSS, R. L. — FAWCETT, C. P. — KRULICH, L.: Control of gonadotropin and prolactin secretion by hypothalamic releasing and inhibiting hormones: In: Recent studies of hypothalamic function. Ed.: K. Lederis and K. E. Cooper, S. Karger, Basel, München, Paris, London, New York, Sydney, 1974, s. 80-89.
- CASTEL, M. — HOCHMAN, J.: Ultrastructural immunohistochemical localization of vasopressin in the hypothalamic-neurohypophyseal system of three murids. Cell. Tiss. Res., 1976, s. 69-81.
- KODOUSEK, R.: Histologie a histochemie lidské hypofýzy. Praha, 1961, s. 1-85. Stát. zdravot. nakl.
- KOVÁCS, K. — DÁVID, M.: A neurohypophysis és a hypothalamus (*nucleus supra-opticus* és *paraventricularis*) vizsgáló módszerei. In: A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei. VI. kötet, szerkesztette Kovács A., Akadémiai Kiadó, Budapest, 1962, s. 445-448.
- KRISCH, B.: Immunohistochemical and electron microscopic study of the rat hypothalamic nuclei and cell clusters under various experimental conditions. Cell. Tiss. Res., 174, 1976, s. 109-127.

- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J.: Histochemical study of basophil cells in *pars distalis* of bovine anterior pituitary. *Endocr. exp.*, 5, 1971, s. 167-170.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J.: Kvantitativné cytologické zmeny adenohypofýzy a gonádotropná aktivita krvného séra jalovic po aplikácii melengestrolu acetátu. *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978, č. 4, s. 225-237.
- MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, R. — TOLEDANO, A. — GARCIA-SEGURA, L. M. — GONZÁLES-ELORRIAGA, M. — GAMONAL, A. — DIAZ-GONZÁLEZ, P. — DE AGUSTÍN, M. — RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, C.: Mucopolysaccharides in hypothalamic neurons of the rat. *J. Anat.*, 121, 1975, č. 2, s. 231-239.
- MARTINI, L.: Hypothalamic mechanisms controlling anterior pituitary functions. In: *Hormones and brain functions*. Ed.: by K. Lissák, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1973, s. 123-142.
- MARTINI, L. — FRANSCHINI, F. — MOTTA, M.: Neural control of anterior pituitary functions. *Recent Prog. Horm. Res.*, 24, 1968, s. 439-496.
- MESS, B. — MARTINI, L.: The central nervous system and the secretion of anterior pituitary trophic hormones. In: *Recent Advances in Endocrinology*, Ed. by V. M. T. James, Churchill, London, 1968, s. 1-49.
- MOTTA, M. — PIVA, F. — MARTINI, L.: The hypothalamus as the center of endocrine feedback mechanism. In: *The hypothalamus*. Ed.: by L. Martini, M. Motta and F. Fraschini, Academic Press, New York and London, 1970, s. 463-489.
- NAIK, D. V.: Immuno-histochemical localization of LH-RH during different phases of estrus cycle of rat, with reference to the preoptic and arcuate neurons and the epidymal cells. *Cell. Tiss. Res.*, 173, 1976, s. 143-166.
- NAKAHARA, T.: Neurosecretion and anterior pituitary cells. III. Correlation between neurosecretion and cytological changes in the anterior hypophysis following castration in rabbits. *Jap. J. zootech.*, 33, 1962, č. 3, s. 111-120.
- NAKAHARA, T.: Neurosecretion and anterior pituitary cells. VII. Correlation between neurosecretion and cytological changes in the anterior hypophysis following the act of coitus in rabbits. *Jap. J. zootech.*, 34, 1963, č. 6, s. 409-418.
- NĚMEČEK, S.: Neurosekrece. In: S. Němeček, Z. Lodin, J. Wolf, F. Vyskočil, *Neurobiologie*. Avicenum, Praha 1972, s. 235-246.
- SÉTÁLO, G. — VIGH, S. — SCHALLY, A. V. — ARIMURA, A. — FLERKÓ, B.: LH-RH containing neural elements in the rat hypothalamus. *Endocrinology*, 96, 1975, s. 1, 135-142.
- SZENTÁGOTHAJ, J. — FLERKÓ, B. — MESS, B. — HALÁSZ, B.: Hypothalamic control of the anterior pituitary — an experimental-morphological study. Budapest, Akadémiai Kiadó 1968.

Došlo dňa 6. 6. 1977

MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. (Veternárny inštitút, Košice): **Nejrosekret a PAS pozitivné mukopolisacharidy v nejroch hipotaláma neteľov po aplikácii melengestrolu acetátu.** *Vet. Med.*, Praha, 23, 1978 (4): 239-250.

V práci študovali nejrosekret a PAS pozitivné mukopolisacharidy v nejroch *nucleus paraventricularis*, *nucleus supraopticus*, *nucleus arcuatus s. infundibularis* hipotaláma neteľov po aplikácii a prerušení podávania melengestrolu acetátu v preparáte MGA-100 (chemicky: 17-acetoxi-6-metyl-6-metylenpregnan-4, 6-dien-3, 20-dion). Načítania pripravovali nad vzorkami mozgu 12 neteľov, 20-24-mesačných, slovačkej pestréj porody. Melengestrol acetát podávali v podobe premixu v koncentrovaných krmách dávkou 1,0 mg na hlavu v deň na trvaní 14 dní. Vzorky brali na 7, 14, 20-ý a 23-ý deň skúšky. Počas podávania MGA v nejrosekretných bunkách *nucleus paraventricularis* my načítali degranuláciu v blízkosti jadra a malých vakuol v perikarióne nejroch, ktoré sa odlišovali slabou pozitivnosťou PAS. V *nucleus supraopticus* a *nucleus arcuatus s. infundibularis* PAS pozitivnosť perikarióna bola viac zreteľnejšia, ako v *nucleus paraventricularis* počas aplikácie MGA. Zreteľné zmeny načítali v nejroch študovaných jadier po prerušení podávania MGA. Nejroch sa zväčšovali, rozmnožili PAS pozitivný materiál. Zreteľnú vakuolizáciu my načítali v niektorých nejrosekretných bunkách po chromatóxikálnom metóde Hemeri. Opisované zmeny podľa literárnych údajov po kastrácii a koitusu u kráľov svedčia o tom, že študované štruktúry sú zahrnuté v mechanizme regulácie riadenia gonádotropným sekretným adenohypofýzou.

nejrosekret; mukopolisacharidy; hipotalám; neteľi; melengestrol acetát; histológia

MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Neurosecretion and PAS-positive Mucopolysaccharides in the Neurons of the Hypothalamus of Heifers Given Melengestrol Acetate*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 239-250.

The neurosecretion and PAS-positive mucopolysaccharides in the neurons of *nucleus paraventricularis*, *nucleus supraopticus*, *nucleus arcuatus s. infundibularis* of the hypothalamus of heifers after administration of melengestrol acetate in the MGA-100 preparation (chemically 17-acetoxy-6-methyl-6-methylenepregnan-4,6-dien-3,20-dion) and after interruption of melengestrol acetate treatment were studied. Samples for the study were taken from the brain of 12 heifers of the Slovak Spotted breed, old 20 to 24 months. Melengestrol acetate was given to the animals as premix added to concentrate feed and the daily dose, administered for 14 days, was 1.0 mg. The samples were taken on the 7th, 14th, 20th and 23rd day of experiment. Degranulation of the neurosecretory cells of *nucleus paraventricularis* in the proximity of the nucleus and small vacuoles in the pericaryon of neurons which showed slight PAS-positivity, were observed during MGA administration. In *nucleus supraopticus* and *nucleus arcuatus s. infundibularis*, the PAS-positivity of pericaryon was more pronounced than in *nucleus paraventricularis* during MGA treatment. Marked alterations were observed on the neurons of the studied nuclei when MGA administration was stopped. The neurons dilated and the PAS-positive material multiplied. Pronounced vacuolization was observed by Gömöri's chromhaematoxylin method in some neurosecretory cells. The described changes, being in accordance with literary data on changes after castration and coitus in rabbits, give evidence in favour of the opinion that the structures studied are involved in the regulatory mechanisms controlling the gonadotropic secretion of the adenohypophysis.

neurosecretion; mucopolysaccharides; hypothalamus; heifer; melengestrol acetate; histology

MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Das Neurosekret und die PAS-positiven Mukopolysaccharide in den Hypothalamus-Neuronen von Färsen bei Melengestrolazetat-Applikation*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 239-250.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir das Neurosekret und die PAS-positiven Mukopolysaccharide in den Neuronen *Nucleus paraventricularis*, *Nucleus supraopticus*, *Nucleus arcuatus s. infundibularis* des Hypothalamus bei Färsen nach Applikation und nach Ausschaltung des Melengestrolazetats als Wirkstoff des Präparats MGA-100 (chemisch: 17-Azetoxy-6-Methyl-6-Methylpregnat-4,6-Dien-3,20-Dion). Wir untersuchten Hirnproben von 12 zwanzig- bis vierundzwanzigmonatigen slowakischen Fleckviehfärsen. Das Melengestrolazetat verabreichten wir als Prämix im Kraftfutter in Dosen von 1,0 mg je Tier und Tag 14 Tage hindurch. Die Proben entnahmen wir am 7., 14., 20. und 23. Versuchstag. Während der MGA-Verabreichung beobachteten wir in den Neurosekretionszellen des *Nucleus paraventricularis* eine Degranulation in der Nähe des Kerns und kleine Vakuolen im Neuronen-Perikaryon. Diese Neuronen wiesen eine geringe PAS-Positivität auf. Im *Nucleus supraopticus* und *Nucleus arcuatus s. infundibularis* war die PAS-Positivität des Perikaryons ausgeprägter als im *Nucleus paraventricularis*, und zwar während der MGA-Applikation. Ausgeprägte Veränderungen stellten wir bei den Neuronen der untersuchten Kerne nach Ausschaltung der MGA-Applikation fest. Die Neuronen vergrößerten sich und das PAS-positive Material vermehrte sich. In einigen Neurosekretionszellen stellten wir mit Hilfe der Gömörischen Chromhämatoxylinmethode eine ausgeprägte Vakuolisierung fest. Im Einklang mit den Literaturangaben bekräftigen die beschriebenen Veränderungen nach der Kastration und dem Koitus bei Kaninchen die Ansicht, daß die untersuchten Strukturen in die die gonadotrope Sekretion der Adenohypophyse steuernden Regulationsmechanismen eingeschaltet sind.

Neurosekret; Mukopolysaccharide; Hypothalamus; Färsen; Melengestrolazetat; Histologie

Adresa autorů:

MVDr. Imrich Maraček, CSc., prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 71, 041 81 Košice

Z. Kolář, D. Zajíček, M. Lávička

KOLÁŘ, Z. — ZAJÍČEK, D. — LÁVIČKA, M. (Státní veterinární ústav pro lovnou zvěř, Jihlava; Ústřední státní veterinární ústav, Praha): *Vývojová stadia Taenia krabbei Moniez, 1879 (Cysticercus tarandi) u srnčí zvěře (Capreolus capreolus L.) v ČSR*. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 251-256.

V prsní a lopatkové svalovině srny (*Capreolus capreolus* L.) ulovené v honitbě v západních Čechách byly nalezeny cysticerky odpovídající morfologickými znaky a velikostními poměry *Cysticercus tarandi* — vývojovému stadiu tasemnice *Taenia krabbei* Moniez, 1879. V povrchových i hlubších vrstvách svaloviny byly jeden až dva cysticerky na 100 cm² plochy. V práci je uveden popis larvocysty a histologických změn v místě lokalizace. V diskusi se mluví o druhové příslušnosti cysticerek.

cysticerkóza; larvální stadia; popis

U srnčí zvěře (*Capreolus capreolus* L.) byl poprvé popsán nález cysticerek v kosterní svalovině Dujardinem v roce 1845 a druhově zařazen jako *Cysticercus cellulosae*. Další zprávy o svalové cysticerkóze srnčí zvěře z různých oblastí světa uvádějí Aronsohn (1898), Claussen (1906, 1937), Bundle (1907), Christiansen (1927, 1931), Richter (1959), Abuladze (1964) a Rukavina aj. (1973). Podle morfologie, velikosti a počtu háčků z nálezů Christiansena (1931), Richtera (1959), Abuladzeho (1964) a Rukaviny aj. (1973) šlo o larvální stadium tasemnice *Taenia cervi* Christiansen, 1931. Tuto druhovou diagnózu potvrdil zkrmením cysticerek Claussen (1937).

VÝSLEDKY

K diagnostickému posouzení byla dodána část prsní a lopatkové svaloviny ulovené srny z honitby MS Mělnice u Horšovského Týna, okres Domažlice, obsahující cysticerky. Cysticerky o velikosti 5,0—10,0 × 2,5 — 5,0 mm, protáhle oválného tvaru, bělavé barvy, byly rozesety v povrchových i hlubokých vrstvách svaloviny. Při povrchové lokalizaci mírně vystupovaly nad povrch svaloviny pod povázkou. Na ploše 100 cm² svaloviny jsme nacházeli jednu až dvě cysticerky. V dodaném materiálu bylo nalezena celkem 11 cysticerek. Makroskopicky byly kry-

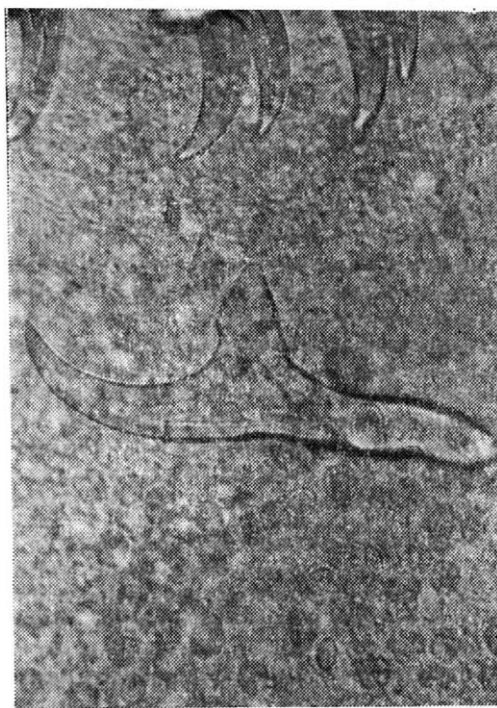
I. Přehled morfologických údajů cysticereků nalezených ve svalovině srnčí zvěře (*Capreolus capreolus* L.) — A survey of the morphological data on the cysticerci found in the muscle of roe deer (*Capreolus capreolus* L.)

Rozměry v mm		Taenia cervi				Taenia krabbei Abuladze, 1964	Vlastní nálezy
		Christiansen, 1931	Claussen, 1937	Rukavina aj., 1973	Abuladze, 1964		
Velikost cysticerku ve svalovině d.		4,0–4,5	—	5,0	4,0–9,0	7,0–10,5	5,0–10,0
	š.	2,5–4,0	—	3,0	2,5–4,0	2,5–4,5	2,5–5,0
Larvocysta d.		—	—	—	—	3,0–9,2	3,8–8,5
	š.	—	—	—	—	1,0–3,2	1,2–2,8
Skolex d.		—	—	—	—	0,520–638	0,594–608
	š.	—	—	—	—		0,522–532
Počet háčků celkem		26–32	24–34	28–30	24–32	26–32	28–30
Velké háčky (1. ř.) d.		0,160–177	0,154–162	0,154–168	0,177–166	0,137–179	0,123–136
Malé háčky (2. ř.) d.		0,093–123	0,113–121	0,099–128	0,093–123	0,098–120	0,078–098
Průměr rostella		—	—	—	—	0,200–420	0,414–420
Průměr přísavek		0,500	—	0,445–504	0,5	0,140–242	0,306–324
Ocasní měchýřek d.		4,6–8,0	—	—	—	4,6–8,5	3,5–5,5
	š.	—	—	—	—	3,7–4,6	2,8–3,8
Lokalizace		svalovina				srdce, jazyk, svalovina	kosterní svalovina
Mezihostitel mimo Capreolus capreolus						Cervidae	

ty tužším vazivovým pouzdrém, přes nějž prosvítala bělavé čočkovitá hlavička s částí krčku a malý měchýřek naplněný tekutinou. Uvolněná larvocysta dosahovala velikosti $3,8-8,5 \times 1,2-2,8$ mm. Skolex měřil $0,594-0,608 \times 0,522-0,532$ mm a nesl dvě řady háčků v celkovém počtu 28 až 30. Háčky byly taeniidního typu; velké háčky první řady dosahovaly velikosti 0,123 až 0,132 mm a malé háčky druhé řady 0,078 až 0,098 mm. Průměr rostella v tlakovém preparátu měřil 0,414 až 0,420 mm a průměr přísavek 0,306 až 0,324 mm. Ocasní měchýřek dosahoval velikosti $3,5-5,5 \times 2,8-3,8$ mm. Parenchym larvocysty obsahoval množství vápenatých zrn.



1. Lokalizace cysticerku ve svalovině – Localization of the cysticercus in the muscle



2. Detail háčku první řady – Detail of first-row hook

Na základě porovnání morfologických znaků nalezených cysticerků s dosud popsányi cysticerky vyskytujícími se u srnčí zvěře (*Capreolus capreolus* L.) (tab. I) pokládáme je za *Cysticercus tarandi* — vývojové stadium tasemnice *Taenia krabbei* Abuladze, (obr. 1–4).

Při histologickém vyšetření svaloviny jsme našli cysticerky výrazně ohraničené od okolní tkáně vrstvou tvořenou téměř výhradně fibrilární vazivovou tkání s ojedinělou buněčnou infiltrací. V sériových řezech se podařilo zachytit organizaci skolexu i s háčky, i když v neuspořádané formě, neboť při histologickém zpracování docházelo v řezech k vytrhání tvrdých chitinózních háčků z parenchymu. Jako vedlejší nález jsme zjistili ve svalových vláknech četné sarkosporidiové míšky.



3. Detail háčku druhé řady — Detail of second-row hook



4. Histologický řez skolexem — Histological incision into the scolex

DISKUSE

Druhovou příslušnost cysticerek jsme neměli možnost prověřit zkrmením dodaného materiálu některému druhu masožravců a stanovili jsme druhovou diagnózu na základě morfologických znaků. Při porovnání jsme vycházeli z údajů Abuladzeho (1964), který po popisu shrnul vlastní pozorování a poznatky Monieze (1879) a Olse-
na, Williamse (1959). Pro druhové určení svědčila nejen velikost cysticerek, larvocysty, skolexu, průměr rostella, přísavek a ocasního měchýřku, ale především počet a morfologie háčků první i druhé řady. Háčky svými rozměry dosahovaly v maximálních hodnotách nejnižších údajů o rozměrech uváděných v literatuře u *Taenia krabbei*, a to zejména u první řady háčků. Ve druhé řadě háčků odpovídaly maximální hodnoty nalezeného druhu cysticerek minimálním hodnotám rozmezí udávaným Abuladzem (1964). Rovněž byly shodné s minimálními hodnotami háčků druhé řady u *Taenia cervi* Christiansen, 1931, jejíž cysticerky se velmi často nacházejí u srnčí zvěře (Christiansen, 1931; Rukavina aj., 1973). Vzhledem k ostatním hodnotám zjištěným u nalezených cysticerek považujeme za vývojová stadia *Taenia krabbei* Abuladze, 1964.

Vezmeme-li v úvahu ekologické možnosti invaze v dané oblasti z epidemiologického hlediska, mohou být potenciálním šířitelem vajíček dospělých tasemnic psovitě šelmy. U psů byla prokázána *Taenia krabbei* i *Taenia cervi*, u lišek byla experimentálně prokázána *Taenia cervi*. Přesto nelze vyloučit možnost, že i *T. krabbei* může invadovat lišky zejména

v případě zimního nedostatku potravy, kdy lišky velmi snadno načnou zhaslý kus. Na území SSSR je konečným hostitelem *Taenia krabbei* mimo řadu psovitých šelem i pesec; *Cysticercus tarandi* je nacházen jak u sibiřských, tak i u evropských srnců. Dosavadní znalosti o rozšíření vývojového stadia tasemnice *Cysticercus tarandi* se lokalizují do severní Evropy (Norsko, Island a SSSR), zatímco znalosti o rozšíření stadia *Cysticercus cervi* do Dánska, Německa a SSSR. Nelze však vyloučit ani možnost importu sibiřských srnců ke zkvalitnění trofejí do šlechtických oborů u Horšovského Týna, a tím přínos tohoto druhu tasemic k nám. Tento druh může být popřípadě přenesen při migraci srnčí zvěře a lišek z oblastí Šumavy a Českého lesa.

Literatura

- ABULADZE, K. I.: Teniaty, lentočnyje gelminty životnyh i čeloveka i vyzyvaemye imi zabolevaniya. Osnovy cestodologii. Tom IV, Moskva 1964.
- ARONSOHN, H.: Finnen beim Reh. Z. Fleisch- u. Milchhyg., 8, 1898, č. 6, s. 252.
- BUNDLE, K.: Finnen beim Reh. Z. Fleisch- und Milchhyg., 18, 1907, č. 5, s. 177.
- CLAUSSEN, L.: Finnen beim Reh. Z. Fleisch- u. Milchhyg., 16, 1906, č. 10, s. 324.
- CLAUSSEN, L.: Über einen Fütterungsversuch mit Muskelfinnen vom Reh. Dte tierärztl. Wschr., 45, 1937, č. 48, s. 521.
- CHRISTIANSEN, M.: Muskelfinnen bei Rehen. Z. Fleisch- u. Milchhyg., 37, 1927, č. 23, s. 442.
- CHRISTIANSEN, M.: Die Muskelfinne des Rehes und deren Bandwurm (*Cysticercus et Taenia cervi* n. sp. ad interim). Z. Parasitkde, 4, 1931, č. 2, s. 146-151.
- MONIEZ, R.: Note sur le *Taenia krabbei*, espèce nouvelle de *Taenia armée*. Bull. Sci. départ. Nord., 2, 1879, č. 11, s. 226.
- OLSEN, O. W. — WILLIAMS, J. E.: Cysticerci of *Taenia krabbei* in deer in Colorado. J. Wildlife Manag., 23, 1959, č. 1, s. 26-28.
- RICHTER, S.: Parazitiska fauna srne (*Capreolus capreolus* L.) u NR Hrvatskoj. Vet. Arh., 29, 1959, č. 1-2, s. 34-45.
- RUŠKAVINA, J. — ČANKOVIČ, M. — KUBELKA, D.: Cisticerkoza (cervi) kod srna. Veterinaria, Sarajevo, 22, 1973, č. 3, s. 409-412.

Došlo dne 6. 10. 1977

КОЛАРЖ, З. — ЗАИЧЕК, Д. — ЛАВИЧКА, М. (Государственный ветеринарный институт для охотничьей дичи, Йиглава; Центральный государственный ветеринарный институт, Прага): Стадии развития *Taenia krabbei* Moniez, 1879 (*Cysticercus tarandi*) у косуль (*Capreolus capreolus* L.) в ЧСР. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 251-256.

В грудной и плечевой мышце косули (*Capreolus capreolus* L.) пойманной на охотничьем участке в западной Чехии, были обнаружены цистицерки, по своим морфологическим признакам и величине соответствующие *Cysticercus tarandi* — стадии развития солитера *Taenia krabbei* Moniez, 1879. В поверхностных и глубоких слоях мышцы были одна-два цистицерки на 100 м². В работе приводится описание цисты личинки и гистологических изменений в месте локализации. В дискуссии говорится о видовой характеристике цистицерков.

цистицеркоз; стадия личинок; описание

KOLÁŘ, Z. — ZAJÍČEK, D. — LÁVIČKA, M. (State Veterinary Institute for Game, Jihlava; Central State Veterinary Institute, Praha): *Developmental Stages of Taenia krabbei* Moniez, 1879 (*Cysticercus tarandi*) in Roe Deer (*Capreolus capreolus* L.) in the Czech Socialist Republic. Vet. Med., Praha, 23, 1978 (4) : 251-256.

The breast and shoulder-blade muscles of a roe (*Capreolus capreolus* L.), shot in a hunting district in western Bohemia, were found to contain cysticerci with mor-

phological characters and size corresponding to those of *Cysticercus tarandi*, which is a developmental stage of the tapeworm *Taenia krabbei* Moniez, 1879. The surface as well as deeper layers of muscle contained one to two cysticerci per 100 cm² of area. The authors describe the larvocysts and histological changes in the site where the micro-organisms were found. The cysticerci are discussed as to the species to which they belong.

cysticercosis; larval stages; description

KOLÁŘ, Z. — ZAJÍČEK, D. — LÁVIČKA, M. (Staatliche Veterinäranstalt für Jagdwild, Jihlava; Staatliche Zentralveterinäranstalt, Praha): *Entwicklungsstadien der Taenia krabbei* Moniez, 1879 (*Cysticercus tarandi*) beim Rehwild (*Capreolus capreolus* L.) in der ČSR. Vet. Med., 23, 1978 (4) : 251-256.

In der Brust- und Schulterblattmuskulatur einer in einem Jagdrevier in Westböhmen erlegten Rehgeiß (*Capreolus capreolus* L.) wurden Zystizerken vorgetroffen, deren morphologische Merkmale und Größenverhältnisse dem *Cysticercus tarandi* — dem Entwicklungsstadium des Bandwurms *Taenia krabbei* Moniez, 1879, entsprachen. In den oberflächigen und tieferen Muskelschichten entfielen ein bis zwei Zystizerken auf je 100 cm² Fläche. In der vorliegenden Arbeit werden die Larvozysten sowie die histologischen Veränderungen auf der Lokalisationsstelle beschrieben. In der Diskussion wird die Artenzugehörigkeit der Zystizerken erläutert.

Zystizerkose; Larvalstadien; Beschreibung

Rukopis odevzdán k tisku 3. 2. 1978 — Podepsáno k tisku 6. 4. 1978

Adresa autorů:

MVDr. Zdeněk Kolář, Státní veterinární ústav pro lovnou zvěř, Horní Kosov, 586 00 Jihlava

MVDr. Dalibor Zajíček, CSc., MVDr. Miroslav Lávička, Ústřední státní veterinární ústav, Sídlištní 156, 165 03 Praha 6 — Lysolaje

Žuffa A., Chumchal R.: Imunofluorescencia s vírusom PI-3 — imuno- fluorescentné nálezy na kultúrach tefacích obličiek infikovaných rozdielnymi dávkami a kmeňmi vírusu	193
Krpata V.: Protilátky proti vybraným virům a bedsoniím v tělních tekuti- nách bovinních zmetků	205
Kadlec V.: Pozorování antigenní příbuznosti leptospir a brucel při séro- logickém vyšetření skotu	213
Piskač A., Zapletal O., Jagoš P., Dvořák R., Bouda J.: Vylu- čování aflatoxinů mlékem při experimentální aflatoxikóze dojnic	219
Maraček I., Arendarčík J.: Kvantitativne cytologické a karyometrické zmeny adenohipofýzy a gonadotropná aktivita krvného séra jalovic po apli- kácii melengestrol acetátu	225
Maraček I., Arendarčík J.: Neurosekrét a PAS pozitívne mukopolys- acharidy v neurónoch hypotalamu jalovic po aplikácii melengestrol acetátu	239
Kolář Z., Zajíček D., Lávička M.: Vývojová stadia <i>Taenia krabbei</i> Moniez, 1879 (<i>Cysticercus tarandi</i>) u srnčí zvěře (<i>Capreolus capreolus</i> L.) v ČSR	251

СОДЕРЖАНИЕ

Жуффа А., Хумхал Р.: Иммунофлуоресценция с вирусом ПИ-3 — иммунофлю- ресцентные следы на культурах телячьих почек, зараженных различными дозами и штаммами вируса	193
Крпата В.: Антитела от избранных вирусов и бедсоний в жидкостях тела у вы- кидышей крупного рогатого скота	205
Кадлец В.: Наблюдения антигенной родственности лептоспир и бруцелл при сериологическом обследовании крупного рогатого скота	213
Пискач А., Заплетал О., Ягош П., Дворжак Р., Боуда Й.: Вы- деление aflatoxинов с молоком при экспериментальном aflatoxикозе дойных коров	219
Мараček И., Арендарчик Й.: Количественные цитологические изменения аденогипофиза и гонадотропная активность сыворотки крови у нетелей после при- менения меленгестрол ацетата	225
Мараček И., Арендарчик Й.: Нейросекрет и ПАС положительные муко- полисахариды в нейронах гипоталама нетелей после применения меленгестрола ацетата	239
Коларж З., Заичек Д., Лавичка М.: Стадии развития <i>Taenia krabbei</i> Moniez, 1879 (<i>Cysticercus tarandi</i>) у косуль (<i>Capreolus capreolus</i> L.) в ЧСР	251

CONTENTS

Žuffa A., Chumchal R.: Immunofluorescence with Virus PI-3 — Immuno- fluorescent Findings on Calf Kidney Cell Cultures Infected with Different Doses and Strains of the Virus	193
Krpata V.: Antibodies to Selected Viruses and Bedsonia in the Body Fluids of Bovine Abortions	205
Kadlec V.: Studying the Antigenic Affinity of Leptospira and Brucella in Serological Examination of Cattle	213
Piskač A., Zapletal O., Jagoš P., Dvořák R., Bouda J.: Afla- toxin Excretion with the Milk of Dairy Cows Suffering from Experimentally Induced Aflatoxicosis	219
Maraček I., Arendarčík J.: Quantitative Cytological Changes of the Adenohypophysis and the Gonadotropic Activity of the Blood Serum of Heifers after Administration of Melengestrol Acetate	225
Maraček I., Arendarčík J.: The Neurosecretion and PAS-positive Mu- copolysaccharides in the Neurons of the Hypothalamus of Heifers Given Me- lengestrol Acetate	239
Kolář Z., Zajíček D., Lávička M.: Development Stages of <i>Taenia</i> <i>krabbei</i> Moniez, 1879 (<i>Cysticercus tarandi</i>) in Roe Deer (<i>Capreolus capreolus</i> L.) in the Czech Socialist Republic	251

INHALT

Žuffa A., Chumchal R.: Immunofluoreszenz mit dem PI-3-Virus — Immunofluoreszenzbefunde in den mit verschiedenen Virus-Dosen und -Stämmen infizierten Kälbernieren-Kulturen	193
Krpata V.: Antikörper gegen ausgewählte Viren und Bedsonien in Körperflüssigkeiten von bovinen Fehlgeburten	205
Kadlec V.: Untersuchungen über die antigene Verwandtschaft der Leptospiren und Brucellen bei serologischen Untersuchungen von Rindern	213
Piskač A., Zapletal O., Jagoš P., Dvořák R., Bouda J.: Aflatoxinausscheidung durch die Milch bei experimenteller Aflatoxikose der Milchkühe	219
Maraček I., Arendarčík J.: Quantitative zytologische Veränderungen der Adenohypophyse und die gonadotrope Aktivität des Blutserums von Färsen nach Applikation des Melengestrolazetats	225
Maraček I., Arendarčík J.: Das Neurosekret und die PAS-positiven Mukopolysacharide in den Hypothalamus-Neuronen von Färsen bei Melengestrolazetat-Applikation	239
Kolář Z., Zajíček D., Lávička M.: Entwicklungsstadien der <i>Taenia krabbei</i> Moniez, 1879 (<i>Cysticercus tarandi</i>) beim Rehwild (<i>Capreolus capreolus</i> L.) in der CSR	251