



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

2

ROČNÍK 25 (LIII)
PRAHA
ÚNOR 1980
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada:

prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc. (předseda), prof. MVDr. Koloman Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, 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., MVDr. Josef Raszyk, CSc., MVDr. Antonín Tesař, CSc., akademik Jaroslav Vrtiak, DrSc.

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

Redaktorka ing. Jovanka Václavičková .

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1980

■
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozborů 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.

ORGÁNOVÁ REAKCE A PROTILÁTKOVÁ ODPOVĚĎ PŘI EXPERIMENTÁLNÍ CYSTICERKÓZE SKOTU*

K. Blažek, M. Uhlíková, J. Hübner, J. Schramlová, J. Kursá

BLAŽEK, K. — UHLÍKOVÁ, M. — HÜBNER, J. — SCHRAMLOVÁ, J. — KURSA, J. (Parazitologický ústav ČSAV, Praha; Institut pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů, Praha; Vysoká škola zemědělská, Praha, fakulta provozně ekonomická, České Budějovice): *Orgánová reakce a protilátková odpověď při experimentální cysticerkóze skotu*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 65-71.

Sledovali jsme protilátkovou odpověď při experimentální invazi telat vajíčky tasemnice *Taenia saginata* pomocí nepřímé hemaglutinační reakce a mikroprecipitace ve vztahu ke tkáňové reakci. Nepřímá hemaglutinace byla poprvé pozitivní 21. den, mikroprecipitace mezi 16. až 21. dnem, v době akutních patologických změn vyvolaných vyvíjejícími se larvami. V době morfologicky klidového stadia cyst, k němuž dochází přibližně kolem 50. dne p. i., se stabilizovala výše titrů v hemaglutinační reakci, která zůstala pozitivní po celou dobu sérologického sledování (250 dní p. i.). Precipitace byla v naší sestavě prokazatelná nejpozději do 70. a 85. dne po invazi.

skot; experimentální cysticerkóza; patologická reakce; průkaz humorálních protilátek; hemaglutinace; precipitace

Taeniarhynchóza je v posledních letech zjišťována velmi často i v hygienicky vyspělých státech. Možnost nákazy člověka je dána především skutečností, že jateční prohlídka masa nezachytí všechny případy cysticerkózy, a že se tak může dostat do konzumu i maso uhravé. Protože prohlídku poražených zvířat není možné v současné době podstatněji zdokonalit, je snaha zjistit cysticerkózu již u živého zvířete zcela oprávněná. Intravitální detekce této parazitózy sérologickými a imunologickými testy by mohla přispět k dokonalejší záchytnosti uhravého masa na jatcích a umožnila by vyřazení nakaženého mladého skotu z výkrmu, který je u invadovaných zvířat nehygienický (Buchwalder aj., 1978).

V této práci jsme se pokusili objasnit vztah tkáňové reakce hostitelského organismu k protilátkové odezvě a ověřit možnou upotřebitelnost některých sérologických testů pro intravitální detekci experimentální cysticerkózy.

* Tato práce byla částečně realizována grantem WHO č. VPH/Z 2/181/73.

MATERIÁL A METODY

Vajíčka tasemnice *Taenia saginata* jsme získávali z článků, které odešly samovolně bez předchozí léčby.*) Vajíčka byla ze zralých článků uvolněna roztrháním článků ve fyziologickém roztoku a část každého takto získaného vzorku byla podrobena testu podle Silvermana (1954), kterým se prokazuje životnost vajíček. Pro pokusnou invazi byly použity pouze ty vzorky, v nichž onkosféry při zkoušce vitality opustily ve trávicích roztocích oba onkosferální obaly a projevovaly aktivní pohyb háčků.

K pokusu jsme použili celkem deseti telat samčího pohlaví o hmotnosti 100 až 120 kg, plemene české strakaté, asi čtyři měsíce starých, z chovu, v němž se cysticerkóza nevyskytovala. Telata byla sérologicky na cysticerkózu negativní (hemaglutinace, precipitace) a byla chována v izolované stáji. Devět telat jsme invadovali, jedno sloužilo jako kontrola. Šest telat bylo invadováno 200 000, tři telata 85 000 vajíček. Invazní materiál byl telatům podán podavačem pilulek v želatinových kapslích.

Telatům byla dvakrát odebrána krev před invazí v intervalu sedmi dnů. Po invazi byla odebírána krev opakovaně, a to nejčastěji v sedmidenním intervalu, v rozmezí od pěti do devíti dnů, při delším sledování byla odebírána jednou za 14 dní. Po porážce následovala pitva celého těla a rozkrájení svaloviny všech svalových skupin na plátky o síle asi 1 cm. Cysticerky pro morfologické studium byly vybírány a měřeny. Síla invaze byla hodnocena u všech zvířat podle počtu cysticerků na řezech svaly různých svalových skupin a podle počtu cysticerků v určitém objemu svaloviny. Histologicky byly vyšetřovány cysticerky, makroskopicky zjištěné patologické změny, i části orgánů bez makroskopických patologických změn (plíce, játra, ledvina, slezina, příušní slinná žláza). Telata byla porážena takto: za 21 den po invazi dvě telata, za 23 dny jedno tele, za 42 dny jedno tele, za 51 den jedno tele, za 112 dní dvě telata, za 168 dní jedno tele a za 261 den p. i. jedno tele. U jednoho telete byla provedena biopsie maseteru 63 dny po invazi a tele bylo poráženo za 250 dní po invazi. Materiál určený k histologickému vyšetření byl fixován v 10% formalinu, zalit obvyklou parafinovou technikou a řezy byly barveny haemalaun-eozinem, metodou podle Van Giesona, doplněnou někdy barvením na elastické elementy, Gömöriho metodou a podle Kóssy.

Krevní séra, získaná odběrem krve z *vena jugularis*, byla bezprostředně po získání zmrazena na -15°C a ve zmrazeném stavu přechovávána. Séra byla vyšetřena mikrometodami nepřímé hemaglutinace a precipitace v agarovém gelu za použití notoricky negativních a notoricky pozitivních sér jako kontrol. Přitom bylo použito dvou antigenů: jeden byl připraven ze zralých cysticerků *Cysticercus bovis*, tj. ze skolexů a měchýřků *C. bovis* bez makroskopicky patrných regresivních změn, druhý ze zralých článků tasemnice *T. saginata* (Uhlíková, 1973).

VÝSLEDKY

Pokus, zaměřený na sledování patologické reakce, trval 261 den. Nejdelší doba sérologického sledování byla 250 dní p. i.

Kontrolní neinvadované tele bylo sérologicky negativní po celou dobu sledování (112 dní). Z masivně invadovaných zvířat (200 000 vajíček) nastoupila pozitivita hemaglutinační reakce u tří telat ze šesti ve třetím týdnu p. i. Tři telata byla v této době negativní. Jedno z nich bylo zabito 23. den p. i., dvě byla pozitivní teprve při dalším odběru 36. den p. i. U zvířete, které bylo sérologicky sledováno nejdéle, až do 250. dne p. i., se pozitivita reakce udržovala po celou dobu pokusu. U středně silné invaze (85 000 vajíček) jsme u všech zvířat zjistili pozitivní hemaglutinační reakci od 21. dne p. i. Také zde se u nejdéle sérologicky sledovaného zvířete udržela pozitivita reakce do konce sledování, tj. 112 dní p. i.

*) Děkujeme RNDr. H. Červové, CSc., z HES Hl. města Prahy, za dodávání článků.

Výše titrů se u pokusných zvířat pohybovala od 1 : 16 do 1 : 256 (jednou výjimečně 1024). Titr 1 : 16 jsme hodnotili již jako pozitivní.

Při séropozitivitě jsme zjišťovali při hemaglutinační reakci vyšší titry protilátek s antigenem připraveným z článků *T. saginata*, ale rozdíly byly pouze v rozsahu jednoho ředění.

Precipitiny byly poprvé prokázány mezi 16. až 21. dnem *p. i.* a precipitační reakce byla u dlouhodoběji sledovaných zvířat prokazatelná nejdéle 70. a 85. den po invazi.

Při postmortálním vyšetření zvířat porážených v průběhu pokusu jsme zjistili masivní cysticerkózu (ve svalovině rozměrů 10×20×2 cm bylo v průměru 10 cysticerků) u obou invazních dávek. Síla invaze byla po dávce 85 000 vajíček jen nepatrně slabší.

21. a 23. den měla ložiska s cysticerky vzhled šedobílých šťavnatých uzlíků o velikosti kroupy až hrachu (rozměr uzlíku 7×4 mm, průměr měchýřku menší než 1 mm), s krvavým nebo žlutozeleně zbarveným pastózním centrem. Histologicky jsme zde prokázali čerstvou hemoragii, nekrózu centra uzlíku s imigrací leukocytů a excesivní proliferaci histiocytů a lymfoidních buněk v okolí. Byla zde také výrazná tvorba kolagenních vláken. Larvy měly tvar drobného měchýřku s terčíkovým nahloučením buněk, někdy již s náznakem počínajícího vchlípnutí.

42 dny po invazi dosahovaly cysty velikosti asi 7×6 mm, některé byly průsvitné, jiné vyplněné žlutozeleným obsahem. Cysticerky byly v průměru 3 mm velké a měly vyvinutý skolex se základem přísavky. Histologicky byly kromě těchto cyst zjištěny migrační kanálky a granulární fibroplastická tkáň s novotvořenými cévami. U tohoto zvířete jsme pozorovali eozinofilní zánět některých skupin kosterních svalů a svalů srdečního.

51. den po invazi byly zjištěny cysticerky se skolem a diferencovanými přísavkami v tenkostěnné cystě (8×6 mm), jejíž stěna byla zesílena proliferovanými histiocyty jen na straně přivrácené ke skolexu.

63 dny po invazi (biopsie masseteru) byly cysty ve svalovině průsvitné a obsahovaly morfologicky zcela diferencovanou larvu. Jen v místě přivráceném ke skolexu byla stěna cysty zesílena nahloučením histiocytů a lymfocytů.

112 dní po invazi byly zjištěny cysty asi 10×9 mm velké, většinou průsvitné, obsahující cysticerky o velikosti 5×4 mm. V srdci byly cysticerky ve velkém počtu odumřelé. Histologicky jsme zjišťovali typ klidové cysty (jako za 63 dny *p. i.*).

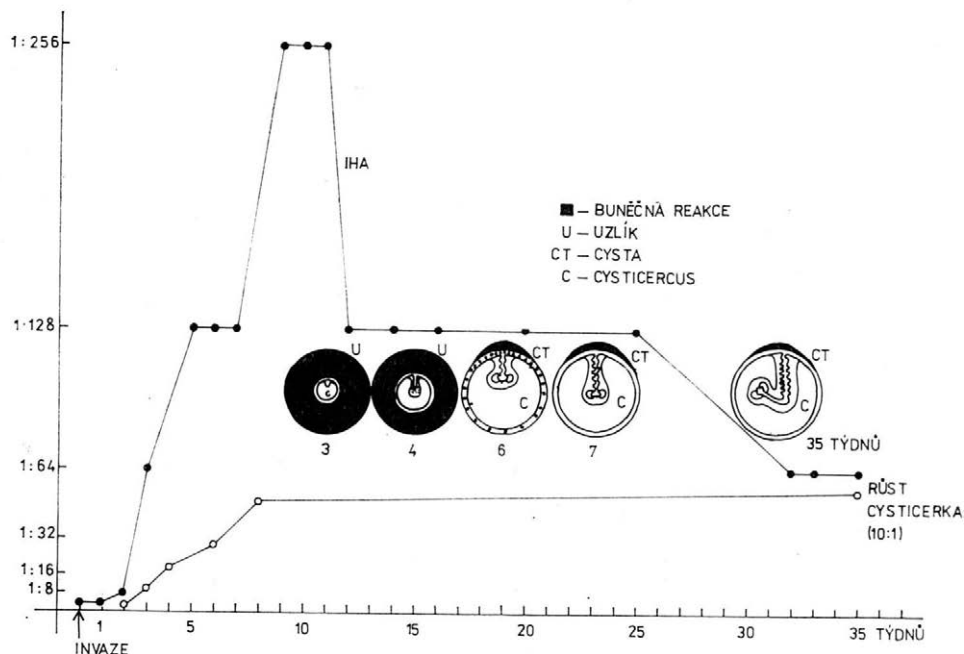
168 dní po invazi byly zjištěny vyvinuté cysticerky o velikosti 8×3 mm v cystách o velikosti 10×8 mm. Cysty byly průsvitné, v srdci a v bránici však byly cysticerky většinou odumřelé a některé z nich i kalcifikované.

Za 250 dní po invazi byly cysticerky vitální, v průsvitných cystách bez význačnější celulizace.

261 den po invazi byl nálezní obdobný: ve svalovině kosterní dosahovaly cysticerky velikosti až 9×5 mm a byly v převážné většině živé. V srdci však byly většinou odumřelé a byly v cystách se silnou stěnou.

Histologicky se cysty ani patologická reakce v okolí cyst ve skupině zvířat se silnou a středně silnou invazní dávkou nelišily.

Na obr. 1 je schematicky znázorněn růst cysticerky, rozsah buněčné reakce kolem cysticerky a cysty a dynamika protilátkové odpovědi. Je



1. Vývoj cysticerka, orgánová reakce a protilátková odpověď — The development of cysticercus, organ reaction, and antibody response

patrné, že růst cysticerka (zvětšování i morfologická diferenciacie) byl nejintenzivnější v prvních sedmi až osmi týdnech a že v prvních čtyřech týdnech po invazi docházelo k excesivní buněčné reakci v okolí larvy. Tato buněčná reakce rychle odezněla v průběhu dalšího vývoje cysticerka, takže již za šest týdnů po invazi byla jen sektorová. Titr aglutininů se rychle zvýšil ve třetím a čtvrtém týdnu po invazi a později se udržoval přibližně na stejné výši, s lehkým dalším vzestupem mezi devátým a jedenáctým týdnem a s nesignifikantním poklesem ve 32. až 35. týdnu po invazi.

DISKUSE

Při experimentální invazi uhra hovězího (*Cysticercus bovis*) byly v séru nakažených telat prokázány aglutininy a precipitiny, poprvé ve třetím týdnu po invazi. V nepřímé hemaglutinaci byly dosažené titry protilátek v nižších a středních hodnotách, ale proti kontrolním odběrům před invazí a proti neinvadovanému teleti byly signifikantní. Domníváme se, že již titr 1:16 můžeme při použití uvedených antigenů v experimentální práci pokládat za pozitivní.

Při srovnání výsledků sérologického vyšetření a tkáňové odezvy hostitelského organismu na invazi můžeme uzavřít, že humorální protilátky lze poprvé detekovat v období, které je charakterizováno transformací vazivových buněk v aktivní histiocyty a aktivací lymfocytů. Je to období 14 až 23 dny po invazi a krátce po něm, kdy se larva prudce vyvíjí. Bouřlivá tkáňová reakce v časně fázi invaze je výrazem kontaktu

buněk mesenchymu s antigenem. Později celulizace ustupuje a přibližně kolem 50. dne *p. i.* se setkáváme s klidovým stadiem cyst, i když se cysticerky stále ještě morfologicky diferencují. V této době se stabilizuje výše titru protilátek v hemaglutinační reakci. Signifikantní rozdíl mezi protilátkovou odezvou při masivní a středně silné invazi jsme nezjistili.

Naše poznatky z tohoto pokusu se zhruba shodují s výsledky dosaženými některými jinými autory. O spolehlivosti hemaglutinace pro detekci cysticerkózy skotu mluví Lerche (1963), Bezubik a Machnicka (1970), Walther a Grossklaus (1972) a Machnicka (1974). Frick (1975) naproti tomu udává citlivost nepřímé hemaglutinace pouze 46 % při výskytu 8,3 % nesprávně pozitivních reakcí. Machnicka (1974) pozorovala první pozitivní reakce v nepřímé hemaglutinaci ve čtvrtém týdnu po invazi při nákaze 80 000, 125 000 a 150 000 onkosfér. U jednoho telete, invadovaného 180 000 onkosférami, se pozitivní reakce objevila již ve třetím týdnu. Domníváme se však, že také v pohotovosti k protilátkové odpovědi může jít o individuální variabilitu a že vyšší dávky vajíček nebo onkosfér nemusí vždy vyvolávat časnější nebo bouřlivější protilátkovou odpověď. Je však přece jen pozoruhodné, že Walther a Grossklaus (1972), kteří pozorovali první pozitivní reakce v nepřímé hemaglutinaci také ve třetím týdnu *p. i.*, zjistili při slabé uhřivosti pozitivitu reakce teprve v desátém týdnu a titry protilátek nedosahovaly ani průměrné výše titrů zjišťovaných u telat silně uhřivých. Tito autoři označují otázku vztahu protilátkové odezvy k intenzitě reakce za dosud stále nedořešenou. Zdůrazňují také, že použití různých typů antigenů, které mnohdy obsahují množství balastních látek, může mít vliv na hodnocení reakcí stejně tak jako nestandardní metodika jejich provedení.

Grossklaus a Walther (1970) uvádějí, že se precipitiny v jejich pokusech v imunoelektroforetické reakci objevily ve druhém týdnu po invazi a že reakce byla nejvýraznější v osmém a dvanáctém týdnu, Dewhirst aj. (1960) pozorovali naproti tomu pozitivní precipitaci až v šestém týdnu *p. i.* (aniž uvedli typ precipitační reakce) a precipitiny byly v séru prokazatelné po celých šest měsíců, kdy byl pokus ukončen. V naší sestavě byla precipitace pozitivní po druhém týdnu *p. i.*

Spolehlivost sérologických reakcí je závislá, jak jsme již uvedli, kromě jiných faktorů, také na použití vhodného antigenu (Walther a Grossklaus, 1972). Dnes by mělo být proto samozřejmým požadavkem, aby k těmto účelům bylo používáno standardně připravovaného purifikovaného antigenu. Ukázalo se, že naše antigeny jsou citlivé a jsou použitelné nejen při detekci některých orgánových parazitóz člověka (Uhlíková, 1973), ale i pro detekci uhřivosti skotu. Machnicka (1974) dosáhla vyšších titrů v hemaglutinaci při použití antigenu z tekutiny měchýře, než při použití extraktu ze skolexu a stěny měchýře. Nám se v tomto smyslu osvědčil jak antigen ze skolexu a měchýře *C. bovis*, tak i antigen z článků tasemnice *T. saginata*.

Předkládané výsledky tedy ukazují, že experimentální masivní cysticerkózu skotu je možno detekovat sérologicky. Zatím však nevíme, jak dalece je např. hemaglutinační reakce spolehlivá při cysticerkóze spontánní. Problémem zatím zůstává otázka hodnocení reakcí a nízkých

titrů při vyšetřování zvířat bez anamnézy, podle které by se dalo usuzovat na možnost invaze *C. bovis*.

Literatura

- BEZUBIK, B. — MACHNICKA-ROGUSKA, B.: Badania nad zjawiskami odpornościowymi w układzie żywicieli — pasożyt. Wiad. parazyt., XVI, 56, 1970, s. 556-571.
- BUCHWALDER, R. — NICKEL, S. — HIEPE, T.: Experimental *Cysticercus bovis* infections in cattle. Proc. IV. Int. Congr. Parasit., Warszawa, Section C, 1978, s. 133.
- DEWHIRST, L. W. — TRAUTMAN, R. J. — PISTOR, W. J. — REED, R. E.: Studies on ante-mortem diagnostic procedures in bovine cysticercosis infections. J. Parasit., 46, Suppl., 1960, s. 10.
- FRICK, W.: Serodiagnostik der bovinen Zystizerkose. Angew. Parasit., 16, 1975, s. 195-196.
- GROSSKLAUS, D. — WALTHER, M.: Zur Serodiagnose der Zystizerkose des Rindes. Zentbl. VetMed., B, 17, 1970, s. 828-839.
- LERCHE, M.: Das Rinderfinnenproblem. Proc. XVIIth World veter. Congr., Hannover, Vol. 1, 1963, s. 853-860.
- MACHNICKA, B.: Studies on antigens common to *Cysticercus bovis* and *Taenia saginata*. In: SOULSBY, E. J. L.: Parasitic zoonoses. Acad. Press 1974, s. 213-221.
- SILVERMAN, P. H.: Studies on the biology of some tapeworms of the genus *Taenia*. I. Factors affecting hatching and activation of taenii ova, and some criteria of their viability. Ann. trop. Med. Parasit., 48, 1954, s. 207-215.
- UHLÍKOVÁ, M.: Sérologické metody pro diagnostiku některých helmintóz. [Kandidátská disertace.] Praha 1973 — Institut pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů. Katedra nemocí tropů a subtropů.
- WALTHER, M. — GROSSKLAUS, D.: Untersuchungen zur Frage der Diagnose der Rinderzystizerkose mit Hilfe der indirekten Hämagglutination. Zentbl. VetMed., B, 19, 1972, s. 309-319.

Došlo dne 16. 7. 1979

БЛАЖЕК, К. — УГЛИКОВА, М. — ГУБНЕР, Й. — СХРАМЛОВА, Й. — КУРСА, Я. (Паразитологический институт АН СССР; Институт по совершенствованию врачей и фармацевтов, Прага; Сельскохозяйственный институт, Прага; Производственно-экономический факультет, Ческе Будеёвице): Реакция органов и антител на экспериментальный цистицеркоз крупного рогатого скота. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2): 65-71.

Определяли реакцию антител на экспериментальную инвазию телят яйцами тении *Taenia saginata* с помощью косвенной гемагглютинационной реакции и микропреципитации по отношению к тканевой реакции. Косвенная гемагглютинация была впервые положительной на 21-й день, а микропреципитация — между 16 — 21-м днями, в период острых патологических изменений, вызываемых развивающимися личинками. Во время спокойной морфологической стадии кист (примерно на 50-й день п. и.) уровень титров в гемагглютинационной реакции стабилизируется, реакция остается положительной на протяжении всего серологического исследования — 250 дней п. и. Преципитация была достоверной в нашей системе не позднее 70-го и 80-го дней после инвазии.

крупный рогатый скот; экспериментальный цистицеркоз; патологическая реакция; доказательство гуморальных антител; гемагглютинация; преципитация

BLAŽEK, K. — UHLÍKOVÁ, M. — HÜBNER, J. — SCHRAMLOVÁ, J. — KURSA, J. (Parasitological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha; Institute for the Post-gradual Studies of Physicians and Pharmacists, Praha; University of Agriculture, Praha, Faculty of Economics and Management, České Budějovice): The Organ Reaction and Antibody Response in the Course of Experimental Bovine Cysticercosis. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2): 65-71.

Antibody response in the course of experimental invasion of calves with the eggs of tapeworm (*Taenia saginata*) was studied with the use of indirect haemagglutination

reaction and microprecipitation in relation to tissue reaction. Indirect haemagglutination was positive for the first time the 21st day, microprecipitation between the 16th and 21st day, at the time of acute pathological changes induced by the developing larvae. In the period of the morphological rest of cysts, beginning about the 50th day p. i., the level of titres stabilized in the haemagglutination reaction which remained positive throughout the time of serological study (250 days p. i.). Precipitation was detectable in our set the 70th and 85th day after invasion at the latest.

cattle; experimental cysticercosis; pathological reaction; demonstration of humoral antibodies; haemagglutination; precipitation

BLAŽEK, K. — UHLÍKOVÁ, M. — HÜBNER, J. — SCHRAMLOVÁ, J. — KURSA, J. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha; Institut für Fortbildung von Ärzten und Pharmazeuten, Praha; Hochschule für Landwirtschaft in Praha, Betriebsökonomische Fakultät České Budějovice): *Organ- und Antikörperreaktion bei experimenteller Zystizerkose des Rindes*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 65-71.

Wir untersuchten die Antikörperreaktion bei experimenteller Invasion von Kälbern mit *Taenia-saginata*-Bandwurmeiern mit Hilfe der indirekten Hämagglutinationsreaktion und der Mikropräzipitation mit Bezug auf die Gewebereaktion. Die indirekte Hämagglutination war erstmals positiv am 21. Tag, der Mikropräzipitationstest zwischen dem 16. und 21. Tag und zwar in der Zeit des Auftretens von durch die sich entwickelnden Larven hervorgerufenen akuten pathologischen Veränderungen. In der Zeitperiode des Ruhestadiums der Zysten, die sich ungefähr am 50. Tag p. i. einstellt, stabilisierte sich die Titerhöhe beim Agglutinationstest, der positiv während der gesamten Zeit der serologischen Untersuchung (250 Tage p. i.) verblieb. Die Präzipitation stellte sich bei unseren Untersuchungen nachweisbar am spätesten bis zum 70. und 85. Tag nach der Invasion ein.

Rind; experimentelle Zystizerkose; pathologische Reaktion; Nachweis der humoralen Antikörper; Hämagglutination; Präzipitation

Adresy autorů:

Doc. MVDr. Karel Blažek, CSc., RNDr. Jana Schramlová, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Flemingovo nám. 2, 166 32 Praha 6

RNDr. Marcela Uhlíková, CSc., RNDr. Jiří Hübner, CSc., Institut pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů, Srobárova 48, 120 00 Praha 2

MVDr. Jaroslav Kursá, CSc., Vysoká škola zemědělská, 370 05 České Budějovice - Čtyři Dvory

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.

STANČEV, CH.

E 39.492

Issledovanija po voprosu ob usvojajemosti i obmene mineralnych veščestv u sel'skochozjajstvennyh životnyh i pticy v Narodnoj respublikе Bolgarii.

Sofija. Nac. centr. nauč.-techn. i ekon. inf. po sel. choz. 1978. 87 s., 11 obr., 29 tab. (Látková přeměna — živočišná — minerální látky — výzkum — Bulharsko)

D 64.620/183

Untersuchungen über die wahre Aminosäurenverdaulichkeit bei Broilerküken.

Dummerstorf-Rostock, Forschungszentrum f. Tierproduktion d. ALW d. DDR 1976. S. 93-98., tab. Tag.-Ber. Akad. Landw.-Wissensch. d. DDR, Berlin (1976). 142. (Aminokyseliny — stravitelnost — kuřata jatečná — výzkum / Krmivové směsi — aminokyseliny — stravitelnost — kuřata jatečná — výzkum — NDR)

LANG, R. L. — CRESSMAN, S. G. — NEELY, H. J.

C 23.512/68

Isolation and sanitation management for cattle.

Toronto (Ontario), Min. of agric. and food 1978. 4 s. Factsheet 780-68. (Zdraví hospodářských zvířat — ochrana / Veterinární prevence — Kanada — skot — chov)

WISE, W. E. — SWERCZEK, T. W.

D 61.393/21

Aflatoxin.

Lexington (Kentucky), College of agric. 1977. Nestr. VET-21. (Zdraví hospodářských zvířat — aflatoxin — krmivo — obsah — vliv)

D 59.882/114

Aldrin, heptachlor and beta-hexachlorocyclohexane to dairy cows at three oral dosages. 2. Residues post partum in milk and body fat of cows fed on pesticides in the dry period.

Lelystad. Res. inst. for animal feeding and nutrition "Hoorn" 1977. S. 303-312., obr., tab. Overdruk no 114 iut: Neth. J. Agric. Sci. 25. (1977). (Dojnice — insekticidy — krmení — obsah — mléčný a tělesný tuk — zbytky — stanovení — výzkum — Holandsko)

VLIV ZPŮSOBU ROZMRAZOVÁNÍ SEMENA NA VITALITU A OPLOZOVACÍ SCHOPNOST SPERMIÍ KANCE

J. Kozumplík

KOZUMPLÍK, J. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Vliv způsobu rozmrazování semena na vitalitu a oplozovací schopnost spermií kance*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 73-80.

Semeno kance, ředěné dvěma různými ředidly a zmrazené ve formě pelet o objemu 2 ml, bylo rozmrazeno buď prostým zahřátím na teflonové pánvi, nebo vhozením pelet do rozmrazovacího roztoku zahřátého na teplotu 44 °C, 50 °C nebo 65 °C. K rozmrazování byla použita původní ředidla bez glycerinu nebo medium BTS. Při vzájemném srovnání rozmrazovacích roztoků byly téměř vždy získány statisticky významně lepší výsledky ($P = 0,01$) s mediem BTS. Rozdíly mezi suchým a mokřím způsobem rozmrazování nebyly statisticky významné. Lepší přežitelnost spermií po šesti hodinách byla zaznamenána při rozmrazování semene při teplotách 44 °C a 50 °C než 65 °C. Po inseminaci 17 prasnic semenem rozmrazeným suchým způsobem zabřezlo 12, tj. 70,58 %, a na jeden vrh připadlo v průměru 8,58 selete. Při mokřím způsobu rozmrazování semena ředěného ředidlem č. 1 zabřezlo z 30 inseminovaných prasnic 15, tj. 50 %, a na jeden vrh připadlo v průměru 5,53 selete. Po inseminaci 36 prasnic semenem ředěným ředidlem č. 2 a při mokřím způsobu rozmrazení zabřezly 22 prasnice, tj. 61,11 %, a na jeden vrh bylo získáno 7,41 selete. Bez ohledu na metodu rozmrazování zabřezlo z 83 inseminovaných prasnic 49, tj. 59,03 %, a na jeden vrh připadlo v průměru 7,07 selete (2 – 13).

kanci; rozmrazování semene; přežitelnost spermií; procenta březosti

V poslední době byla na úseku dlouhodobé konzervace semene kance propracována jak metodika zmrazování, tak i rozmrazování, což se projevilo zlepšením fertilizační schopnosti spermií natolik, že se metoda stane v dohledné době použitelná v praxi.

Zatímco semeno kance se zmrazuje ve tvaru pelet i pejet (Schradler, 1976), používá se k rozmrazování pelet dvou způsobů, tj. mokrého nebo suchého. Při suchém způsobu rozmrazování se pelety rozpouštějí prostým zahřátím, při mokřím způsobu se pelety rozmrazují v zahřátém mediu. Suché rozmrazování doporučují Graham aj. (1971), Pursel a Johnson (1972), Salamon a Visser (1972), Milovanov aj. (1974), Kononov (1975) a další. Suchý způsob rozmrazování nevyžaduje vyšší koncentrace spermií v zmrazovaném semeni v případě, že se po rozmrazení již nedořezuje. Mokré rozmrazování se může dělat v původním ředidle bez obsahu glycerinu, lepší výsledky však byly zaznamenány při rozmrazování v různě upraveném mléku, semenné plazmě; nejlepší výsledky byly zaznamenány ve speciálně připravovaných mediích. Řešením způsobu rozmrazování se zabírali Crabo aj. (1972), Richter aj. (1975), Pursel a Johnson (1976), Paquignon aj. (1977) a jiní. K rozmrazování se podle uvedených autorů doporučuje

nejčastěji teplota, která kolísá mezi 37 °C a 65 °C, výjimečně se doporučují i teploty vyšší.

Vzhledem k aktuálnosti řešení procesu dlouhodobé konzervace semene kance pro naše velkochovy jsme přikročili i na našem pracovišti k zmrazování semene kance, stejně jako ke zkoumání vhodné metody jeho rozmrazení.

MATERIÁL A METODA

K pokusu jsme použili pětí kanců plemene landrase ve věku od 1,5 do 3 let. Semeno bylo získáváno tzv. manuální metodou. K mrazení bylo používáno jen frakce bohaté na spermie. Získané semeno jsme nechali hodinu při laboratorní teplotě inkubovat. Potom jsme je rozdělili na dvě části a naředili v poměru 1 : 1 ředidlem č. 1 a č. 2 (složení ředidel je uvedeno v tab. I) a nechali čtyři hodiny při teplotě

I. Složení použitých ředidel – Composition of the used diluents

	Ředidlo 1.	Ředidlo 2.
Sacharóza	50,0	21,0
Glukóza	8,0	—
Fruktóza	8,0	—
Kyselina citrónová	—	12,0
EDTA	4,0	3,2
Síran amonný	2,0	—
TRIS	0,6	23,0
Citrát sodný	3,0	3,0
Citrát amonný	—	2,4
Glycerin	40,0	40,0
Žloutek	50,0	50,0
Destilovaná voda do	1000,0	1000,0

II. Složení rozmrazovacího media BTS – Composition of the BTS de-freezing medium

Glukóza	37,00
Citrát sodný dehydrovaný	6,00
Bikarbonát sodný	1,25
EDTA	1,25
Chlorid draselný	0,75
Destilovaná voda do	1000,00

+5 °C. Pak jsme semeno dali do lázně 0 °C teplé na 20 minut a zmrazovali je na suchém ledu CO₂ do pelet o objemu 2,0 ml. Pelety pak byly uchovávány v tekutém dusíku (po dobu jeden až šest měsíců).

Pelety jsme rozmrazovali suchým a mokřým způsobem. Suchý způsob spočíval v roztavení pelet na teflonové pánvi a dodatečným doředění ředidlem bez glycerinu nebo speciálním ředidlem BTS (Pursel a Johnson, 1975). Při mokré metodě byly pelety rozmrazovány opět ve stejných ředidlech (bez glycerinu) nebo v ředidle BTS (tab. II). Rozmrazovali jsme v poměru 1 díl pelet k 2,5 ob-

jemovým dílům rozmrazovací tekutiny. K rozmrazení byly použity teploty 44 °C, 50 °C a 65 °C. Teplota 50 °C však byla použita jen v kombinaci s „předteplením“ v polystyrenové krabici, kam byly pelety vloženy na tři minuty těsně před rozmrazováním (Pursel a Johnson, 1975).

Účinnost způsobu rozmrazování byla hodnocena tepelným testem přežitelnosti spermií (38 °C) po dobu šesti hodin. Vlastní fertilizační schopnost spermií byla ověřena inseminací 83 prasnic.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Manuální metodou, při kontrole průběhu ejakulace zrakem, se podařilo získat ejakuláty s koncentrací spermií blízkou 1 000 000 v 1 mm³ (tab. III). Nebylo tedy nutné použít k zahuštění spermií odstředování, při němž se určitý počet spermií poškozuje (Schradler, 1976; Sa-

III. Hodnoty semene použitého pro mražení – Values of the semen used for freezing

Ředidlo	n	Koncentrace spermií v 1 mm ³	pH				Pohyb spermií v semeni		
			ředidla	semene	po naředění	po ekvilibraci	po naředění	před mražením	po rozmrazení
1	31	1 068 258 ± 239 990	6,16 ± 0,04	7,36 ± 0,35	6,38 ± 0,19	6,60 ± 0,25	88,70 ± 3,41	25,64 ± 13,82	38,22 ± 6,52
2	31	970 322 ± 250 984	6,33 ± 0,03	7,42 ± 0,33	6,45 ± 0,06	6,60 ± 0,13	88,06 ± 4,77	28,54 ± 19,16	37,41 ± 7,84

IV. Přežitelnost spermií po suchém způsobu rozmrazení pelet (ředidlo č. 2) – The survival rate of spermatozoa after the dry de-freezing of pellets (diluent no. 2)

K rozmrazeným peletám přidáno	n	Rozmrazovací teplota °C	Pohyb spermií (v %) po rozmrazení při teplotě 38 °C za					
			1 hod.	2 hod.	3 hod.	4 hod.	5 hod.	6 hod.
Medium BTS	24	44	31,25 ± 3,87	30,31 ± 3,40	28,75 ± 2,89	28,43 ± 3,01	22,81 ± 6,05	17,25 ± 6,67
		50	30,31 ± 6,18	29,06 ± 5,54	27,50 ± 6,83	22,75 ± 9,41	19,37 ± 9,28	16,87 ± 8,73
		65	27,18 ± 7,06	24,37 ± 7,04	22,00 ± 7,79	18,12 ± 8,34	14,37 ± 8,41	10,00 ± 7,68
Ředidlo 2	24	44*	33,12 ± 2,58	29,37 ± 3,20	23,73 ± 4,43	22,50 ± 3,77	17,50 ± 3,77	14,37* ± 4,17
		50	31,23 ± 4,12	29,02 ± 5,04	24,15 ± 4,52	18,02 ± 6,21	12,21 ± 5,65	5,01 ± 3,03
		65	16,00 ± 5,55	13,75 ± 7,44	9,25 ± 4,74	4,87 ± 3,98	3,75 ± 4,43	1,25 ± 2,18

* – statisticky nevýznamný rozdíl v pohyblivosti spermií mezi BTS a ředidlem č. 2

l a m o n, 1973 a jiní). Po naředění ředidly v poměru 1:1 odpovídala koncentrace spermií hustotě, která se k mrazení semene kance nejčastěji doporučuje (Pursel a Johnson, 1975; Paquignon aj., 1977; Polge, 1976 a jiní). Jak z tab. III vyplývá, byla koncentrace spermií u obou pokusných řad velmi blízká a také pH ředidel i naředěného semene až do ukončení doby ekvibrace bylo téměř stejné. Pohyblivost spermií naředěných ředidlem č. 1 a 2 nevykazovala změny, které by svědčily o rozdílném působení použitých ředidel. Po rozmrazení byl progresivní pohyb spermií u obou sledovaných pokusů téměř 40 %, což odpovídá údajům Moore a Hibbitta [1977], je lepší než uvádějí Einarsson aj. (1973), ale je poněkud horší než zjišťoval v posledních pracích Pursel a Johnson (1976) a Westendorf aj. (1977).

Jak způsob rozmrazování, tak i použitá rozmrazovací média neměla ihned po rozmrazení rozdílný vliv na pohyblivost spermií. Rozdílné působení však bylo zaznamenáno při prověřování vzorků zkouškami přežitelnosti. Statisticky významně se začala projevovat vhodnější skladba BTS nad ředidly, která byla použita k ředění semene pro mrazení i rozmrazování, i když v případě rozmrazování zde nebyl obsažen glycerin. Jak vyplývá z údajů obsažených v tab. IV a V, pouze v jedné sérii pokusů

V. Přežitelnost spermií po mokrému způsobu rozmrazení pelet (ředidlo č. 2) — The survival rate of spermatozoa after the wet de-freezing of pellets (diluent no. 2)

Pelety rozmrazeny	n	Rozmrazovací teplota °C	Pohyb spermií (v %) po rozmrazení při teplotě 38 °C za					
			1 hod.	2 hod.	3 hod.	4 hod.	5 hod.	6 hod.
V mediu BTS	24	44	29,06 ±4,12	26,25 ±7,42	23,18 ±7,96	19,43 ±8,40	14,62 ±6,43	10,00 ±7,15
		50	34,06 ±5,23	30,00 ±4,47	26,25 ±6,71	21,43 ±8,89	15,56 ±9,16	13,56 ±9,08
		65	29,37 ±6,29	26,87 ±5,74	25,61 ±5,44	21,25 ±3,87	17,81 ±6,57	9,12 ±3,61
V ředidle č. 2	24	44	22,75 ±4,83	16,87 ±5,93	14,50 ±5,29	8,12 ±5,54	5,25 ±4,13	3,37 ±3,24
		50	25,03 ±3,68	17,45 ±4,28	14,68 ±4,86	7,65 ±3,74	4,16 ±3,08	2,46 ±2,36
		65	2,00 ±2,07	0	0	0	0	0

(u ředidla č. 2) nebyl statisticky významný rozdíl mezi působením rozmrazovacího média BTS a suchým rozmrazováním, zatímco u mokrého způsobu byl rozdíl pro BTS statisticky vždy významný (tab. VI a VII).

Dobré působení média BTS při rozmrazování odpovídá zkušenostem autorů, kteří použili jiné techniky zmrazování, než je naše (Pursel

VI. Přežitelnost spermií po mokrém způsobu rozmrazení pelet – The survival rate of spermatozoa after the wet method of pellet de-freezing

Pelety rozmrazeny	n	Rozmrazovací teplota °C	Pohyb spermií (v %) po rozmrazení při teplotě 38 °C za					
			1 hod.	2 hod.	3 hod.	4 hod.	5 hod.	6 hod.
V mediu BTS	24	44	32,81 ±5,12	31,25 ±5,76	28,12 ±5,63	25,31 ±5,12	21,87 ±4,99	19,06 ±8,00
		50	31,87 ±6,29	30,62 ±4,79	29,37 ±4,03	25,62 ±3,59	23,43 ±4,03	18,31 ±6,70
		65	36,25 ±6,19	34,37 ±6,02	32,81 ±5,47	29,67 ±6,18	18,12 ±3,59	17,81 ±3,14
V ředidle č. 1	24	44	17,25 ±10,19	9,62 ±9,30	4,62 ±8,66	1,87 ±5,30	1,00 ±2,88	0,25 ±0,70
		50	18,36 ±9,25	12,57 ±8,42	6,24 ±7,34	2,63 ±4,46	1,17 ±2,09	0,32 ±0,92
		65	9,00 ±7,31	6,87 ±8,42	5,25 ±7,40	3,87 ±5,77	1,50 ±3,50	1,25 ±3,52

VII. Přežitelnost spermií po suchém způsobu rozmrazení pelet (ředidlo č. 1) – The survival rate of spermatozoa after the dry method of pellet de-freezing (diluent no. 1)

K rozmraženým peletám přidáno	Rozmrazovací teplota °C	n	Pohyb spermií (v %) po rozmrazení při teplotě 38 °C za					
			1 hod.	2 hod.	3 hod.	4 hod.	5 hod.	6 hod.
Medium BTS	44	24	30,00 ±2,16	29,37 ±3,09	28,43 ±3,52	28,12 ±3,59	25,62 ±3,59	23,43 ±3,59
	50		31,56 ±3,52	30,62 ±3,09	26,87 ±3,59	24,06 ±5,23	21,25 ±5,00	19,37 ±5,12
	65		28,12 ±6,02	28,12 ±4,50	26,33 ±5,16	23,00 ±6,21	20,86 ±5,42	17,53 ±6,14
Ředidlo č. 1	44	24	21,25 ±9,54	13,37 ±10,11	11,00 ±9,97	6,50 ±10,46	3,37 ±8,76	3,12 ±5,46
	50		22,01 ±4,36	16,35 ±5,01	12,67 ±5,23	8,43 ±4,36	5,01 ±4,12	4,21 ±4,18
	65		10,87 ±7,39	9,75 ±8,05	4,37 ±6,78	1,50 ±3,50	1,25 ±3,53	1,23 ±3,53

a Johnson, 1976; Paquignon aj., 1977). Z našich pokusů také vyplývá, že dobrých výsledků lze dosáhnout i při suchém způsobu rozmrazování na teflonové pánvi. Z praktického hlediska je však tento způsob pro terén, vzhledem k značné pracnosti, málo vhodný.

Laboratorní šetření byla nakonec ověřena hodnocením fertilizační schopnosti zmrazeného semene prostřednictvím inseminace. Po rozmrazení semene suchou cestou bylo inseminováno 17 prasnic a po rozmrazení pelet v BTS médiu bylo inseminováno celkem 66 prasnic. Při suchém rozmrazování byla použita teplota 44 °C, při mokré metodě teplota 50 °C s předteplením pelet v polystyrenové krabici (Pursel a Johnson, 1976). Poměr pelet k mediu BTS byl 1 : 2,5 objemových dílů. V obou pokusech se objem inseminační dávky pohyboval od 80 do 100 ml a v jedné dávce bylo v průměru 5 miliard spermií (s progresivním pohybem 2,5—8 miliard).

Při použití semene ze suchého způsobu rozmrazování zabřezlo ze 17 inseminovaných prasnic 12, tj. 70,58 %, a na jeden vrh bylo získáno 8,58 selete (3—11). Mokřý způsob rozmrazování byl použit v jiném zemědělském závodě a z 66 inseminovaných prasnic zabřezlo 37, tj. 56,06 %, a na jeden vrh připadlo 7,1 selete (2—13). V rámci mokrého způsobu rozmrazování pelet v BTS bylo použito semene, které bylo před mražením ředěno ředidlem č. 1 i 2. Semenem s ředidlem č. 1 bylo inseminováno 30 prasnic, z nichž zabřezlo 15, tj. 50 %, a na jeden vrh bylo získáno 5,53 selete (2—10). Semenem s ředidlem č. 2 bylo inseminováno celkem 36 prasnic a zabřezlo 22, tj. 61,11 %, a na jeden vrh připadlo v průměru 7,41 selete. Další podrobnosti jsou uvedeny v tab. VIII.

VIII. Vliv způsobu rozmrazování semene na procento březosti prasnic — The effect of the method of semen de-freezing on the conception rate of sows

Způsob rozmrazování	Použitě ředidlo	Počet inseminovaných	Počet březích	% březosti	Průměrný počet selat na vrh
Suchý	č. 1	17	12	70,58	8,40
Mokřý	č. 1	30	15	50,00	5,53
	č. 2	36	22	61,11	7,41
Celkem		83	49	59,03	7,07

Z dosažených výsledků vyplývá, že fertilizační schopnost spermií po rozmrazení je ovlivňována jak způsobem rozmrazování, tak i skladbou použitého ředidla. Naše výsledky jsou srovnatelné s údaji autorů z poslední doby (Einarsson aj., 1973; Milovanov aj., 1974; Lyczynski, 1977; Kononov aj., 1978 a jiní), i když jsou dosahovány i výsledky poněkud lepší (Pursel a Johnson, 1975; Lorrman aj., 1978; Paquignon aj., 1977).

Při hodnocení výsledků březosti prasnic dosahovaných po inseminaci zmrazeným semenem je možné říci, že zatímco kolem r. 1970 byly pozitivní výsledky ojedinělé a březost kolísala mezi 20 až 50 %, jsou

v současné době výsledky vyrovnanější a březost kolísá od 50 do 80 % po první inseminaci. Na základě zjištěné skutečnosti je možné považovat naše výsledky, získané v provozních podmínkách velkochovů, za srovnatelné s údaji předních zahraničních autorů. Poněkud nižší počty selat z jedné série pokusů mohou být sice dány do souvislosti s použitou metodikou a zkoušeným ředidlem k mražení semene, v kontrolní skupině prasnic inseminovaných krátkodobě konzervovaným semenem se však v té době také nápadně snížil počet selat na vrh. Přesto však, jak vyplynulo z našich dřívějších pozorování (Kozumplík aj., 1978), je nutné vzhledem k menší přežitelnosti spermií konzervovaných při nízkých teplotách přesněji určovat vhodnou dobu inseminace prasnic.

Z výsledků inseminace semenem uchovaným jeden až šest měsíců v tekutém dusíku vyplývá, že nízké teploty nesnižují oplozovací schopnost spermií kance ani po delší době, čímž se otevírají další možnosti využití dlouhodobé konzervace semene v chovu prasat.

Literatura

- CRABO, B. G. — BROWN, K. I. — GRAHAM, E. F.: Effect of some buffers on storage freezing of boar spermatozoa. *J. Anim. Sci.*, 35, 1972, s. 377-382.
- EINARSSON, S. — SWENSSON, T. — VIRING, S.: A field trial on the fertility of deep frozen boar spermatozoa. *Nord. VetMed.*, 1973, č. 7-8, s. 372-376.
- GRAHAM, E. F. — RAJAMANNAN, A. H. J. — SCHMEHL, M. K. L. — MAKI-LAURILA, M. — BOWER, R. E.: Fertility studies with frozen boar spermatozoa. *A. I. Digest.*, 1971, č. 1, s. 6-7.
- KONONOV, V. P.: *Technologie glubokovo zamoraživanja semeni chrvakov*. Moskva, 1975, neuveřejněný referát.
- KONONOV, V. P. — ČERNÝCH, V. JA. — NARIŽNIJ, A. T.: Ustoičivost živčikov k glubokomu ochlazení v závislosti ot soderžaniya vitamina E v racione chrvakov. *Životnovodstvo*, Moskva, 1978, č. 1, s. 49-51.
- KOZUMPLÍK, J.: Velikost pelet a individuální vlastnosti semene kanců ve vztahu k počtu pohyblivých spermií. *Vet. Med.*, Praha, 1978, č. 8, s. 457-463.
- KOZUMPLÍK, J.: Vliv folikulární tekutiny na motilitu spermií kance po rozmrazení. *Acta vet.* (v tisku).
- KOZUMPLÍK, J. — DAVIDOVÁ, Z. — VINKLER, A.: Zkušenosti s inseminací prasnic zmrazeným semenem. *Veterinářství*, 1978, č. 6, s. 264-266.
- LORRMANN, W. — HAHN, R. — ZODER, H. F. — TREU, H. — COSTER, G. — KRAUSE, D.: Neuere Ergebnisse aus der Tiefgefrierkonservierung des Ebersamens. *Hyology 5th. World. I. P. V. S. Congr. Hyoiatr.*, Zagreb, 1978. *Proceed. K. B.* 10.
- LYCZYŃSKI, A.: Zdolność zapładnijaca mrożonego nasienia knurów. *Medycyna wet.*, 1977, č. 5, s. 296-298.
- MILOVANOV, V. K. — BARANOV, F. A. — ŽILCOVA, L. S.: Vlijanije skorosti ochlazenija pri zamoraživanii na vosstanovlenie podvižnosti živčikov chrvaka. In: *Sb. nauč. trudov VNII životnovodstva*, 1974, č. 1, s. 45-48.
- MOORE, H. D. M. — HIBBITT, K. G.: Fertility of boar spermatozoa after freezing in the absence of seminal vesicular proteins. *J. Reprod. Fert.*, 50, 1977, s. 349-352.
- PAQUIGNON, M. — DACHEUX, J. L. — COUROT, M.: Effet de différentes solutions de décongélation sur le pouvoir fécondant des spermatozoïdes de verrat. *Journées de la Recherche en France*, Paris, I. T. P. Ed. 1977, s. 15-18.
- POLGE, C.: The fertilizing capacity of boar spermatozoa following freezing and thawing. In: *VIIIth Int. Congr. Anim. Reprod. Art. Insem.*, Krakow, IV, 1976, s. 1061-1064.
- PURSEL, V. G. — JOHNSON, L. A.: Fertility comparison of boar semen frozen in two extenders. *J. Anim. Sci.*, 35, 1972, s. 1123.
- PURSEL, V. G. — JOHNSON, L. A.: Freezing of boar spermatozoa: fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. *J. Anim. Sci.*, 1975, č. 1, s. 99-102.
- PURSEL, V. G. — JOHNSON, L. A.: Frozen boar spermatozoa: Methods of thawing pellets. *J. Anim. Sci.*, 1976, č. 4, s. 927-931.

RICHTER, L. — ROMENY, E. — WEITZE, K. F. — ZIMMERMANN, F.: Zur Tiefgefrierung von Ebersperma. VII. Mitteilung: Weitere Labor- und Besamungsversuche mit dem Verdünner Hülsenberg VIII. D. T. W., 82, 1975, s. 155-157.
SALAMON, S.: Deep freezing of boar semen. Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 26, 1973, s. 239-247.
SALAMON, S. — VISSER, D.: Insemination with frozen boar semen. In: Proc. VIIIth Int. Congr. Anim. Reprod., Munich, 1972, II, s. 1645-1646.
SCHRADER, R.: Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung von Ebersamen in Kunststoffrohren. [Diss.] Hannover 1976, s. 113.
WESTENDORF, P. — RICHTER, R. — TREU, H. — HEIDECKE, F. H. — ZIMMERMANN, F.: Zur Tiefgefrierung von Ebersperma. Besamungsergebnisse mit dem Hülsenberger Pailletten-Verfahren. D. T. W., 2, 1977, s. 41-42.

Došlo dne 23. 7. 1979

КОЗУМПИК, Й. (Ветеринарный институт, Брно): Влияние способа размораживания семени на жизнеспособность и оплодотворительную способность спермиев хряков. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 73-80.

Семя хряка, разбавленное двумя разными разбавителями и замороженное в форме пеллет объемом 2 мл, размораживали либо простым нагревом в тефлонной сковороде, либо помещением пеллет в размораживающий раствор, нагретый до 44 °C, 50 °C или 65 °C. Размораживали с помощью разбавителей без глицерина или среды BTS, которая при всех сопоставлениях оказалась лучшим размораживателем ($P = 0,01$). Различия между сухим и мокрым способом разбавления представляются статистически незначимыми. Спермии лучше выживали при размораживании при 44 °C и 50 °C. После осеменения 17 маток семенем, размороженным сухим способом, установлено 12 зачатий, или 70,58 %, в одном помете было в среднем 8,58 поросят, а при мокром способе (разбавитель № 1) из 30 маток забеременели 15, или 50 %, в среднем по 5,53 поросят на помет. После осеменения 36 маток семенем, разбавленным разбавителем № 2, и при мокром способе забеременели 22 матки, или 61,11 %, на помет пришлось в среднем по 7,41 поросят. Независимо же от метода размораживания забеременели 49 из 83 маток, или 59,03 %, а на один помет пришлось в среднем по 7,07 поросят (2—13).

хряки; размораживание семени; выживаемость спермиев; процент зачатий

KOZUMPLÍK, J. (University of Veterinary Medicine, Brno): *The Effect of the Method of Semen De-freezing on the Vitality and Fertilizing Capacity of Boar Semen*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 73-80.

Boar semen, diluted with two different diluents and frozen in the form of 2 ml pellets, was de-frozen either by simple heating on a pan with a burn-proof coat or by dipping the pellets in a de-freezing solution heated to a temperature of 44, 50, or 65 °C. Original diluents without glycerine or a BTS medium were used for de-freezing. Comparison of the de-freezing solutions almost always showed better results ($P = 0,01$) with the use of the BTS medium. The differences between the dry and wet method of de-freezing were not statistically significant. The temperatures of 44 and 50 °C were more favourable for the survival of spermatozoa after six hours, in comparison with the temperature of 65 °C. Seventeen sows were inseminated with the sperm which had been de-frozen by the dry method and 12 of these inseminations were successful (70.58 %). The average litter size was 8.58 piglets. Inseminations with semen diluted by solution no. 1 and de-frozen by the wet method were successful in 15 of 30 sows, i. e. 50 %, and the average litter size was 5.53 piglets. The semen diluted with diluent no. 2 and de-frozen by the wet method was used for the insemination of 36 sows, out of which 22 (61.11 %) turned out to be pregnant; in this case the average litter size was 7.41 piglets. The over-all conception rate (irrespective of the method of de-freezing) was 59.03 % (49 out of the 83 inseminated sows) and the average number of piglets per litter was 7.07, the range being 2 to 13.

boars; semen de-freezing; survival of spermatozoa; conception rate

Adresa autora:

Prof. MVDr. Jaroslav Kozumplík, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

KONCENTRACE CHLORAMFENIKOLU V KRVÍ, ORGÁNECH A VEJCÍCH DRŮBEŽE PO APLIKACI PŘÍPRAVKU CHRONICIN SOLUTIO AD USUM VET. (SPOFA)

M. Dvořák, B. Ševčík, L. Liebichová

DVOŘÁK, M. — ŠEVČÍK, B. — LIEBICHOVÁ, L. (Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva, Jílové u Prahy): *Koncentrace chloramfenikolu v krvi, orgánech a vejcích drůbeže po aplikaci přípravku Chronicin solutio ad usum vet. (SPOFA)*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 81-89.

Přípravek Chronicin solutio ad usum vet. (SPOFA) (15% roztok CHF-báze v propylenglykolu) je určen pro perorální aplikaci drůbeži, a to v pitné vodě. Doporučené dávky (5 ml l⁻¹ vody u kuřat a krůtat a 3 ml l⁻¹ u kachňat) vytvářejí v krevním séru koncentrace CHF účinné bakteriostaticky na dobře citlivé kmeny mikrobů [kuřata — $\bar{x}$ 2,60 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (0,71–6,25), kachny — $\bar{x}$ 2,11 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (0,87–4,72)]. Přípravek po naředění je stabilní v napáječkách minimálně 24 hodiny a při krátkodobé aplikaci nesnižuje příjem pitné vody. Rezidua CHF v orgánech slepic se vyskytovala ještě šest dní po skončení pětidenní terapie, ve vejcích slepic ještě devět dní po skončení aplikace. Doporučujeme proto u tkání devět dní, u vajec 12 dní ochrannou lhůtu mezi ukončením léčby a zpracováním pro konzum.

chloramfenikol; kuřata; krevní sérum; rezidua; orgány; vejce

Po několikaletém úspěšném používání přípravků s obsahem chloramfenikolu (CHF), jako jsou např. Chronicin inj. ad us. vet. (SPOFA), Chronicin ušní kapky ad us. vet. (SPOFA), Rupin (SPOFA), Chronicin foam ad us. vet. (SPOFA), Chronicin endofoam ad us. vet. (SPOFA), jsme přistoupili v našem ústavu ve spolupráci s n. p. Galena (Opava) k vývoji nového přípravku s obsahem CHF, vhodného k perorální aplikaci v pitné vodě. Přípravek s názvem Chronicin solutio ad us. vet. je určen především k léčbě infekčních onemocnění drůbeže, vyvolaných zárodky citlivými k tomuto antibiotiku.

Účinná látka, chloramfenikol, patří mezi nejdříve objevená a stále ještě ve veterinární medicíně nejvíce aplikovaná antibiotika, i když v posledních letech je jeho použití i ve veterinární praxi omezovalo jen na nezbytně nutné případy. Jeho chemické vlastnosti a široké antimikrobiální spektrum (Modr aj., 1969; Trollde-nier, 1977), stejně jako výskyt a přenos rezistence (Smith, 1966; Gill a Hook, 1966; Winshell aj., 1970; Morahan a Hawksworth, 1970) jsou obecně známé a není potřebné je podrobně uvádět. Metabolismus CHF u zvířat (savců) popisují Corte-Baeten a Debackere (1976).

Mechanismus antibakteriálního účinku CHF spočívá v inhibici proteosyntézy na bakteriálních ribosomech — částicích o velikosti 50 S. Převládá názor, že CHF inhibuje enzymový systém (komplex aminoacyl-t-RNA), který umožňuje připojovat

aktivované aminokyseliny k polypeptidovým řetězům (Cundlife a Mc Quillen, 1967; Hahn, 1968).

Orálně aplikovaný chloramfenikol se vstřebává již v horních částech tenkého střeva, jeho vstřebávání je rychlé a téměř úplné, prakticky stejné jako po *i. m.* podání. Nejvyšších krevních koncentrací se dosahuje za dvě až tři hodiny po aplikaci (Modr aj., 1969; Trolldenier, 1977).

Orální podání nemá význam u dospělých přežvýkavců s vyvinutými předžaludky, protože v bachorovém prostředí se CHF ničí a sérové hladiny jsou nulové (Theodorides aj., 1968; Sisodia aj., 1973).

Chloramfenikol dobře difunduje do intracelulárního prostoru a extracelulárních tekutin, prochází placentární bariérou, mozkomíšni bariérou, objevuje se v mléce a vejcích. Je poměrně rychle vylučován, 75% v krevní plazmě se pohybuje u různých druhů zvířat od 0,9 hodiny (kůň-pony) do 5,1 hodiny (kočka), vazba na plazmové bílkoviny kolísá od 30,1% (koza) do 60% (skot) (Trolldenier, 1977).

V rámci předklinického ověřování Chronicinu sol. jsme v pěti dílčích pokusech porovnávali příjem roztoku Chronicinu sol. s příjmem čisté vody u kuřat (pokus č. 1), sledovali jsme sérové hladiny CHF u kuřat a kachňat (pokusy č. 2 a č. 3) a reziduální CHF v tkáních a vejcích slepic (pokusy č. 4 a č. 5).

MATERIÁL A METODA

Přípravek Chronicin solutio *ad usum vet.* používaný v našich pokusech měl toto složení:

chloramfenikol báze	15 g
propylenglykol <i>ad</i>	100 ml

Je velmi rozpustný ve vodě, v doporučených dávkách (3–5 ml na litr vody) je roztok čirý a obsah chloramfenikolu zůstává v napáječkách stabilní minimálně po dobu 24 hodin. Na stanovení chloramfenikolu v krevním séru a orgánech a ve vejcích jsme použili kolorimetrickou metodiku podle Levina a Fischbacha (1951) v modifikaci ing. Grafnetterové z IKEM v Praze-Krči.

V tabulkách nebo grafech uvádíme aritmetické průměry ($\bar{x}$) zjištěných hodnot (x) a směrodatnou odchylkou (s_x) vypočtenou podle vzorce

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum a^2}{n-1}}$$

kde: a^2 — čtverce odchylek jednotlivých hodnot od aritmetického průměru
 n — počet vzorků

PŘEHLED JEDNOTLIVÝCH POKUSŮ

Pokus č. 1

Kohoutci LB, věk šest týdnů, průměrná hmotnost 423 g (390–460 g). Klinicky zdravá kuřata byla rozdělena do dvou skupin po 50 kusech. První skupina (kontrola) dostávala čistou vodu, druhé byl podáván Chronicin sol. v dávce 5 ml na litr po dobu tří dnů. Po stejnou dobu jsme sledovali příjem léčivého roztoku i čisté vody.

Pokus č. 2

Kohoutci LB, věk šest týdnů, průměrná hmotnost 423 g (390–460 g). Klinicky zdravá kuřata byla rozdělena do dvou skupin a byl jim aplikován testovaný přípravek takto:

- kontrola — 35 kusů — čistá voda,
- pokusná — 70 kusů — Chronicin sol. v dávce 5 ml na litr.

Přípravek jsme aplikovali v pitné vodě po dobu 72 hodin. Vzorky krve jsme odebírali (vykrvením) před podáním a dále ve 3., 6., 12., 24., 27., 48., 51., 72., 96 a 120. hodině po zahájení aplikace. Z kontroly jsme odebírali na každý odběr tři vzorky,

u pokusné skupiny po šesti vzorcích. Kuřata byla umístěna na biostanici v normálních zoohygienických podmínkách ($t = 18-25^{\circ}\text{C}$, $H_v < 75\%$) a krmena směsí BR I (bez antibiotik).

Pokus č. 3

Kachňata plemene PB, věk 29 dnů, obojího pohlaví, průměrná hmotnost 1084 g (920–1150 g).

Kachňata byla rozdělena do tří skupin a byl jim aplikován testovaný přípravek takto:

1. kontrola — 40 kusů — čistá voda
2. pokusná — 80 kusů — Chronicin sol. v dávce 3 ml l^{-1} vody
3. pokusná — 80 kusů — Chronicin sol. v dávce 5 ml l^{-1} vody

Přípravky jsme aplikovali v pitné vodě po dobu 72 hodin. Vzorky krve jsme odebírali před podáním a dále ve 3., 6., 12., 24., 27., 30., 48., 51., 72. a 96. hodině po zahájení aplikace. Z kontroly byly odebírány na každý odběr tři vzorky, z pokusných skupin po šesti vzorcích. Kachňata byla umístěna v boxech v biostanici v obvyklých zoohygienických podmínkách.

Pokus č. 4

Slepice plemene LB, věk jeden rok, průměrná hmotnost 1,31 kg (1,05–1,62 kg).

Klinicky zdravé slepice jsme rozdělili do dvou skupin: pokusné — 18 kusů, kontrolní — 6 kusů. Slepícím v pokusné skupině byl aplikován Chronicin sol. v dávce 5 ml l^{-1} vody po dobu pěti dnů. Kontrola dostávala čistou vodu. Slepice byly usmrčeny (po 3 kusech z pokusné a 1 kus z kontrolní) v intervalech: 1., 3., 6., 9., 13. a 16. den po ukončení aplikace.

Rezidua CHF byla stanovena v těchto orgánech: játra, ledviny, svalovina. Měřili jsme spotřebu léčebného roztoku a čisté vody. Slepice byly umístěny v boxech na biostanici při teplotě 16 až 20 °C a při relativní vlhkosti do 75 %.

Pokus č. 5

Slepice plemene LB ve věku 12 měsíců, o průměrné 50% snášce. Klinicky zdravé slepice (18) jsme rozdělili do dvou skupin po 12 kusech a 6 kusech. 12 slepicím jsme pět dnů aplikovali Chronicin sol. v dávce 5 ml l^{-1} vody, šest kontrolních slepic dostávalo čistou vodu. Vejce byla odebírána před aplikací, během aplikace a ještě 15 dní po aplikaci (1., 3., 6., 9., 12., 15. den), a to jak od pokusné (6 vajec denně), tak i od kontrolní skupiny (3 vejce denně). Obsah CHF jsme stanovili odděleně v bílku a žloutku. Vejce označená příslušným datem byla uchovávána v chladničce do doby zpracování (do 24 hodin). Slepice byly umístěny individuálně v klecích na biostanici při teplotě 10 až 16 °C a při relativní vlhkosti do 75 %. Měřili jsme spotřebu vody u pokusné a kontrolní skupiny.

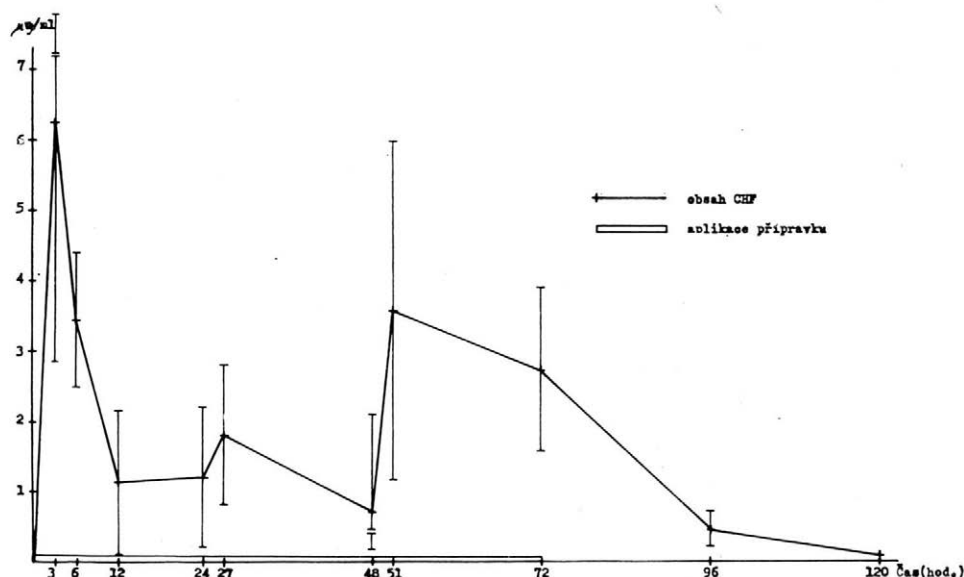
VÝSLEDKY

Z výsledků pokusu č. 1 vyplynulo, že přidavek Chronicinu sol. do pitné vody po dobu tří dnů se neprojevil negativně na její spotřebě, která se spíše mírně zvýšila. Kontrolní skupina měla spotřebu 69,4 ml na kus a den, pokusná s Chronicinem sol. spotřebovala 77,8 ml na kus a den.

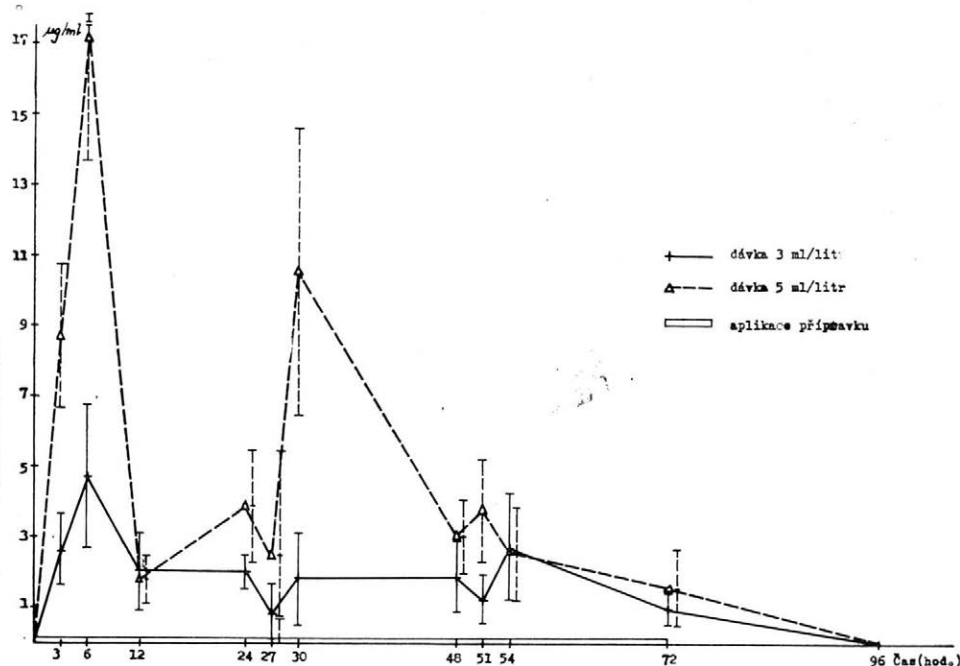
Výsledky pokusu č. 2 jsou uvedeny na obr. 1, výsledky pokusu č. 3 na obr. 2. V odběrech před pokusem a z kontrolní skupiny byl nález negativní.

Výsledky pokusu č. 4 uvádíme v tab. I. U kontrolních vzorků byl nález negativní.

Výsledky pokusu č. 5 uvádíme v tab. II. U kontrolních vajec byl nález negativní, stejně jako při odběru před aplikací.



1. Výsledky pokusu č. 2 – obsah CHF v krevním séru u kuřat během třídní aplikace Chronicinu sol. v dávce 5 ml na litr vody (údaje v $\mu\text{g ml}^{-1}$) – (průměrné hodnoty $\pm$ směrodatná odchylka) – The results of test no. 2 – CHF content in the blood serum in chickens during three-day administration of Chronicin sol. at a dose of 5 ml per l of water; data in $\mu\text{g per ml}$ (mean values $\pm$ standard deviation)



2. Výsledky pokusu č. 3 – obsah CHF v krevním séru u kachňat během třídní aplikace Chronicin sol. v pitné vodě ve dvou dávkách (údaje v $\mu\text{g ml}^{-1}$) – (průměrné hodnoty $\pm$ směrodatná odchylka) – The results of test no. 3 – CHF content in the blood serum of ducklings during three-day administration of Chronicin sol. in drinking water at two doses; data in $\mu\text{g per ml}$ (mean values $\pm$ standard deviation)

I. Výsledky pokusu č. 4 — rezidua CHF v orgánech slepic po pětidenní aplikaci Chronicin sol. v dávce 5 ml l⁻¹ vody; údaje v $\mu\text{g g}^{-1}$ — The results of test no. 4 — CHF residues in hen organs after five-day administration of Chronicin sol. at a dose of 5 ml per l of water; data in $\mu\text{g per g}$

Orgány	Dny po ukončení aplikace					
	1	3	6	9	13	16
Svalovina $\bar{x} \pm s_x$	0,640 $\pm 0,784$	0	0	0	0	0
Játra $\bar{x} \pm s_x$	2,540 $\pm 3,500$	stopy	stopy	0	0	0
Ledviny $\bar{x} \pm s_x$	1,220 $\pm 0,089$	0,125 ± 0	stopy	0	0	0

Stopy — hodnoty $< 0,1$ ppm zjištěné u jednoho až dvou vzorků

II. Výsledky pokusu č. 5 — rezidua CHF ve vejcích slepic po pětidenní aplikaci Chronicin sol. v dávce 5 ml l⁻¹ vody; údaje v $\mu\text{g g}^{-1}$ — The results of test no. 5 — CHF residues in hen eggs after five-day administration of Chronicin sol. at a dose of 5 ml per l of water; data in $\mu\text{g per g}$

		Odběr před aplikací	Dny aplikace				
			1	2	3	4	5
Bílek $\bar{x}$		0,000	0,000	0,706	0,676	0,405	0,815
$\pm s_x$		0,000	0,000	0,185	0,060	0,037	0,239
Žloutek $\bar{x}$		0,000	0,000	0,000	0,312	0,410	0,761
$\pm s_x$		0,000	0,000	0,000	0,084	0,228	0,237
		Dny po ukončení aplikace					
		1	3	6	9	12	15
Bílek $\bar{x}$		0,874	0,232	0,258	0,089	0,000	0,000
$\pm s_x$		0,171	0,076	0,035	0,089	0,000	0,000
Žloutek $\bar{x}$		0,959	1,284	0,716	0,184	0,000	0,000
$\pm s_x$		0,325	0,424	0,226	0,039	0,000	0,000

DISKUSE A ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

Ve vodě rozpustné veterinární preparáty pro hromadnou perorální aplikaci jsou velmi výhodné pro jejich snadné podávání, při kterém od-

padá manipulace s ošetřovanými zvířaty. Je však velmi důležité stanovit jejich optimální dávkování, které zajistí terapeuticky účinné koncentrace antibiotika — v našem případě CHF — v organismu léčených zvířat.

Inhibiční koncentrace stanovené *in vitro*, uváděné různými autory, mají vcelku podobné rozmezí, i když dílčí hodnoty se poněkud liší.

Modr aj. [1969] uvádějí, že na dobře citlivé kmeny působí CHF v koncentracích 0,5 až 2,0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ — na většinu ostatních, náležejících do jeho spektra, v koncentracích 1 až 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Mercer aj. [1971] udávají jako terapeuticky účinné krevní koncentrace CHF hodnoty 5 až 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ plazmy, zatímco podle dalších autorů inhibiční koncentrace většiny patogenních zárodků leží mezi 1 až 3 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Jäger, 1971), resp. mezi 0,5 až 5,0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (English a Withy, 1959).

Na závěr můžeme shrnout získané poznatky v tom smyslu, že pro zachování terapeutického efektu na dobře citlivé kmeny mikrobů (většinou patogenů) by se měly sérové koncentrace CHF pohybovat v rozmezí 1 až 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ a minimální inhibiční koncentrace (MIK) CHF by neměla klesnout pod 0,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$. U ostatních citlivých kmenů by MIK neměla sestoupit pod 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Literární údaje o výši hladin CHF v krvi nebo orgánech drůbeže po orálním podání nejsou příliš četné a navíc se týkají pouze hrabavé drůbeže. Na jejich základě si můžeme vytvořit jen orientační představu o hladinách po kontinuální aplikaci Chronicinu sol. v pitné vodě.

Můžeme konstatovat, že u drůbeže na vytvoření terapeuticky účinných hladin CHF v krvi je třeba vyšších dávek než u savců. Teprve po jednorázové dávce 90 mg kg^{-1} ž. hm. u slepic byly zjištěny účinné koncentrace (7–14 $\mu\text{g ml}^{-1}$) po dobu pěti hodin. Při aplikaci v pitné vodě (*ad libitum*) v dávce 1 g CHF na jeden litr byly zjištěny po pěti hodinách hodnoty 5 až 20 $\mu\text{g ml}^{-1}$, po 24 hodinách 3 až 6 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Nálezy ve vejcích následující den byly pozitivní. Po podání CHF v pitné vodě v dávkách 150 až 250 mg kg^{-1} ž. hm. u kuřat a mladých slepic byly stanoveny hodnoty v séru od 2 do 12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ po dobu aplikace (Jäger, 1971).

Feiersinger [1955] dospěl u slepic k těmto průměrným výsledkům: po jednorázové dávce 50 mg kg^{-1} ž. hm. terapeuticky účinné hladiny přetrvávají v séru 6,5 hodiny, po dávce 100 mg na kg ž. hm. — 12 hodin, po dávce 250 mg na kg ž. hm. — 15,5 hod. Chloramfenikol byl aplikován v měkkých želatinových kapslích. V pokuse, který trval 74 hodiny a ve kterém byl *p. o.* podáván CHF ve 12hodinových intervalech v dávce 100 mg kg^{-1} ž. hm., bylo dosaženo kontinuálních sérových hladin, které neklesaly pod 4 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Chloramfenikol byl dobře snášen, bez vedlejších účinků.

Výsledky našich pokusů vcelku odpovídají citovaným zahraničním pramenům. Před jejich zahájením jsme si ovšem museli ověřit, zda hořká chuť CHF-báze nesníží příliš příjem tekutiny. Proto jsme v pokuse č. 1 sledovali spotřebu vody u kuřat při tří denním podání ověřované dávky (5 ml přípravku na litr vody) a porovnávali jsme je s kontrolou. Během pokusu nedošlo k omezení příjmu vody.

V pokuse č. 2 jsme zjistili, že dávka 5 ml přípravku na litr (tj. 750 mg CHF-báze na litr), aplikovaná po dobu tří dnů, vytvořila v krevním séru kuřat terapeuticky účinné hladiny na dobře citlivé kmeny. Průměrná hodnota během celé aplikace byla 2,60 $\mu\text{g CHF ml}^{-1}$, rozmezí hodnot činilo 0,71 až 6,25 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Při předpokládané spotřebě 77 ml 0,5 % Chroni-

cinu sol. na kus a den (viz pokus č. 1) byla dávka CHF-báze 136,5 mg kg^{-1} ž. hm.

U kachen (pokus č. 3) byl příjem vody podstatně vyšší (skutečnou spotřebu roztoku jsme nemohli přesně stanovit, protože docházelo ke značnému rozstříkávání kolem napáječek), neboť k vytvoření účinných hladin na citlivé kmeny bakterií stačí dávka 3 ml na litr vody. Zjištěné koncentrace CHF v krevním séru se pohybovaly v rozmezí 0,87 až 4,72 $\mu\text{g ml}^{-1}$, celkový průměr po dobu aplikace byl 2,11 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Rezidua chloramfenikolu u drůbeže zjišťovali Sisodia a Dunlop (1972a) po pětidenní aplikaci dávky 40 mg l^{-1} vody kuřatům ve věku sedmi týdnů. Na konci aplikace zjistili rezidua přibližně 0,2 ppm ve svalovině, játrech, kůži a tuku; v ledvinách byla rezidua vyšší — 0,55 ppm. V 72. hodině po ukončení léčby obsahovaly ledviny ještě 0,28 ppm, v ostatních orgánech byl nález negativní již ve 48. hodině.

Stejní autoři (Sisodia a Dunlop, 1972b) uvádějí, že CHF přechází do bílku a žloutku. Během pětidenní kontinuální aplikace dávky 40 mg CHF na litr vody nosnicím se první rezidua objevila v bílku po 32 hodinách. Maximum bylo zjištěno po čtyřech dnech (0,17 ppm) a rezidua vymizela čtvrtý den po ukončení léčby. Ve žloutku se objevil CHF v 56. hodině po zahájení aplikace; maximální koncentrace (0,32 ppm) byla zjištěna první den po ukončení terapie, rezidua ve žloutku (0,14 ppm) byla prokázána ještě pátý den (108 hodin) po ukončení medikace. Výsledky našich pokusů potvrzují údaje zahraničních autorů.

Rezidua CHF (pokus č. 4) se vyskytovala v játrech a ledvinách slepic ještě šestý den po skončení aplikace. Devátý den byl nález negativní. Vzhledem k tomu, že WHO požaduje u CHF nulová rezidua, doporučujeme devítidenní ochrannou lhůtu mezi ukončením terapie a jatečným zpracováním.

Ve vaječném bílku (pokus č. 5) se rezidua CHF objevila druhý den aplikace, ve žloutku až třetí den podávání. Rezidua v bílku i žloutku jsme zjistili ještě devátý den po skončení aplikace, 12. den byl nález negativní. Doporučujeme proto vyřadit z konzumní spotřeby vejce od ošetřovaných slepic během podávání a potom ještě 12 dní po ukončení aplikace.

Porovnáme-li naše výsledky s literárními údaji (Sisodia a Dunlop, 1972a, b.), zjistíme, že doba přetrvávání reziduí námi zjištěná je podstatně delší. Vysvětlujeme to tím, že námi doporučená a podávaná dávka (750 mg na litr) je řádově vyšší než dávka, kterou použili zahraniční autoři (40 mg na litr).

Literatura

- CORTE-BAETEN, K. — DEBACKERE, M.: Beschouwingen over de metabolisatie van chloramphenicol tijdens lichaamopassage bij zoogdieren. Vlaams diegeneesk. Tijdschr., 46, 1977, č. 1, s. 47-54.
- CUNDLIFE, E. — MCQUILLEN, K.: Bacterial protein synthesis: The effects of antibiotics. J. molec. Biol., 30, 1967, s. 137.
- ENGLISH, P. B. — WITHY, D.: Serum, urine and tissue level of chloramphenicol in the horse. Austr. vet. J., 35, 1959, s. 187-193.
- FEIERSINGER, J. G.: [Vet. Diss.], Wien 1955. In: BRUNNER, R. — MACHEK, G.: Die Antibiotica. Nürnberg 1962, s. 281.

- GILL, F. A. — HOOK, E. W.: Salmonella strains with transferable antimicrobial resistance. J. Am. med. Ass., 198, 1966, s. 1267.
- HAHN, F. E.: Relationship between the structure of chloramphenicol and its action upon peptide synthetase. Experimentia, 24, 1968, s. 856.
- JÄGER, P.: Quantitativer Nachweis von Chloramphenicol im Blutserum, Ei und Galle beim Huhn. [Vet. med. Diss.], München 1971. In: TROLLDENIER, H.: Antibiotika in der Veterinärmedizin. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1977, s. 1-284.
- LEVINE, J. — FISCHBACH, H.: The chemical determination of chloramphenicol in biological materials. Antibiot. Chemother., 1, 1951, s. 59-62.
- MERCER, H. D. — GELETA, J. N. — KRAMER, J. — CARTER, G.: Chloramphenicol blood concentration studies in dog. J. Am. vet. med. Ass., 158, 1971, s. 47-52.
- MODR, Z. — HERMANŠKÝ, M. — VLČEK, V.: Antibiotika a jejich lékové formy. 2. vyd. Státní zdravotnické nakladatelství, Praha 1969, s. 1-445.
- MORAHAN, R. J. — HAWKSWORTH, D. N.: Antibiotic and sulphadiazine sensitivities of New Guinea Salmonellas and Shigellas. Med. J. Aust., 2, 1970, s. 222.
- SISODIA, C. S. — DUNLOP, R. H.: Chloramphenicol residues in broiler chickens. Can. vet. J., 13, 1972a, s. 263-265.
- SISODIA, C. S. — DUNLOP, R. H.: Chloramphenicol residues in eggs. Can. vet. J., 13, 1972b, s. 279-282.
- SISODIA, C. S. — GUPTA, V. S. — DUNLOP, R. H. — RADOSTIS, O. M.: Chloramphenicol concentrations in blood and milk of cows following parenteral administration. Can. vet. J., 14, 1973a, s. 217-220.
- SISODIA, C. S. — DUNLOP, R. H. — GUPTA, V. S. — TAKSAS, L.: A pharmacologic study of chloramphenicol in cattle. Am. J. vet. Res., 34, 1973b, s. 1147-1151.
- SMITH, D.: Salmonella with transferable drug resistance. New Engl. J. Med., 275, 1966, s. 625.
- THEODORIDES, V. J. — DICUOLLO, C. J. — GUARINI, B. S. — PAGANO, J. F.: Serum concentrations of chloramphenicol after intraruminal and intra-abomasal administration in sheep. Am. J. vet. Res., 29, 1968, s. 643-645.
- TROLLDENIER, H.: Antibiotika in der Veterinärmedizin. 1. vyd. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1977, s. 1-284.
- WINSHELL, E. B. — CHERUBIN, C. — WINTER, J. — NEU, H. C.: Antibiotics resistance of *Salmonella* in the Eastern United States. Antimicrob. Agents Chemother., 1969-1970, s. 86.

Došlo dne 5. 10. 1979

ДВОРЖАК, М. — ШЕВЧИК, Б. — ЛИБИХОВА, Л. (Научно-исследовательский институт биофакторов и ветеринарных лекарств, Йиллове у Праги): Концентрация хлорамфеникола в крови, органах и яйцах птицы после дачи Chronicin solutio ad usum vet. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 81-89.

Упомянутый препарат (СПОФА, 15% раствор СНФ — база в пропиленгликоле) предназначен для перорального введения птице, в питьевой воде. Рекомендованные дозы (15 мл л⁻¹ воды для цыплят и индюшат; 3 мл л⁻¹ для утят) образуют в кровяной сыворотке концентрации СНФ, бактериостатически воздействующие на восприимчивые штаммы микробов (у цыплят — $\bar{x}$ 2,60 μg мл⁻¹ (0,71—6,25), у утят — $\bar{x}$ 2,11 μg мл⁻¹ (0,87—4,72)). Разбавленный препарат сохраняется в поильных установках минимум 24 часа, при краткосрочной даче не сокращая приема питьевой воды. Остатки СНФ в органах кур имели место еще спустя 6 дней после окончания 5-дневной терапии, а в куриных яйцах — еще 9 дней после окончания дачи. Поэтому рекомендуется 9 дней защитного срока для тканей и 12 дней для яиц между окончанием лечения и переработкой для рыночного потребления.

хлорамфеникол; цыплята; кровяная сыворотка; остатки; органы; яйца

DVOŘÁK, M. — ŠEVČÍK, B. — LIEBICHOVÁ, L. (Research Institute for Biofactors and Veterinary Drugs, Jílové u Prahy): Chloramphenicol Concentration in the Blood, Organs and Eggs of Poultry after the Administration of Chronicin solutio ad usum vet. (SPOFA). Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 81-89.

The preparation Chronicin solutio ad usum vet. (SPOFA) (a 15% solution of CHF-base in propylene glycol) is to be orally administered to poultry in drinking water.

The recommended doses (5 ml per l of water in chickens and turkey-poults and 3 ml per l of water in ducklings) produce, in the blood serum, CHF concentrations which act bacteriostatically on sensitive microbial strains [chickens — $\bar{x}$ 2.60 μg per ml (0.71–6.25), ducks — $\bar{x}$ 2.11 μg per ml (0.87–4.72)]. After dilution, the preparation is stable in the drinkers at least 24 hours and does not reduce the intake of drinking water in short-term administration. CHF residues remained in the organs of hens six days after the five-day therapy and in the eggs of hens nine days after the therapy. It is recommended, therefore, to respect a nine-day protective period in tissues and a 12-day protective period in eggs (between the end of therapy and processing for consumption).

chloramphenicol; chickens; blood serum; residues; organs; eggs

DVOŘÁK, M. — ŠEVČÍK, B. — LIEBICHOVÁ, K. (Forschungsinstitut für Biofaktoren und Veterinärmedikamente, Jílové u Prahy): *Chloramphenikolkonzentration im Blut, in den Organen und in Eiern beim Geflügel nach Applikation von Chronicin solutio ad usum vet. (SPOFA)*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 81–89.

Das Präparat Chronicin solutio ad usum vet. (SPOFA) (15prozentige Lösung einer CHF-Base in Propylenglykol) ist zur peroralen Verabreichung an Geflügel, und zwar im Trinkwasser, bestimmt. Die empfohlenen Dosen (5 ml l⁻¹ Wasser bei Hühner- und Truthühnerküken sowie 3 ml l⁻¹ bei Entenküken) bilden im Blutserum CHF-Konzentrationen mit bakteriostatischer Wirkung auf gut sensible Mikrobenstämme [Küken = $\bar{x}$ 2,60 μg ml⁻¹ (0,71–6,25), Enten = $\bar{x}$ 2,11 μg ml⁻¹ (0,87–4,72)]. Nach Verdünnung ist das Präparat in Tränken mindestens 24 Stunden stabil und bei kurzfristiger Applikation verringert es die Trinkwasseraufnahme nicht. CHF-Residuen wurden in den Organen von Hennen noch sechs Tage nach Beendigung der fünftägigen Therapie, in den Hühnereiern noch neun Tage nach der Applikation festgestellt. Wir empfehlen daher bei Geweben eine neuntägige und bei Eiern eine zwölftägige Schutzfrist zwischen der Therapiebeendigung und der Bearbeitung zur Konsumation.

Chloramphenicol; Küken; Blutserum; Residuen; Organe; Eier

Adresa autorů:

RNDr. Miroslav Dvořák, doc. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc., ing. L. Liebicová, Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva, 254 49 Jílové u Prahy

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.

E 39.482

Biologicals for veterinary use. Vaccines, sera, diagnostics, other biological products, miscellaneous.

Budapest, Phylaxia 1976. 185 s. (Veterinární přípravky a léčiva — katalogy — Maďarsko)

E 39.483

Immunbiologische Präparate für die Tierheilkunde. Vakzinen, Sera, Diagnostika, andere biologische Präparate, anderes.

Budapest, Phylaxia 1976. 189 s. (Veterinární přípravky a léčiva — katalogy — Maďarsko)

DANSE, L. H. J. C.

D 68.883

A pathogenetic study of yellow fat disease. Proefschrift Rijksuniversiteit te Utrecht.

Utrecht, n. vl. 1978. 108 s., obr., tab. (Hospodářská zvířata — nemoci z nedostatku výživy — vitamín E — výzkum — Holandsko / Látková přeměna — vitamín E — výživa hospodářských zvířat — výzkum — Holandsko)

POULOS, P. W.

D 68.980

Osteochondrosis and skeletal deformities in turkeys, broilers and leg-horns. A morphologic and experimental investigation.

Stockholm, Depart. of clinical rad. 1978. 22 s., příl. (Osteochondrosis — drůbež — výzkum — Švédsko / Kostra — vývoj — poruchy — drůbež — výzkum — Švédsko)

ESKELAND, B.

D 27.550/19

Effect of vitamin K in oxydative processes of chick liver mitochondria.

As, n. vl., 1978. 6 s., 2 tab. Meldinger fra Norges landbrukshøgskole Vol. 57, Nr 19. (Vitamín K — kuřata — játra — mitochondrie — oxidace — vliv — výzkum — Norsko)

SLAPPENDEL, R. J.

D 68.310

Hemolytic anemia in the dog.

Utrecht, Drukkerij elinkwijk BV 1978. 163 s., tab. (Anemie hemolytická — psi — krevní rozbor — výzkum — Holandsko)

ZMENY VAJEČNÍKOV OVIEC PO OŽIARENÍ X-LÚČMI

M. Tokoš, J. Arendarčík, M. Praslička, I. Maraček, A. Staníková, J. Balún

TOKOŠ, M. — ARENDARČIK, J. — PRASLIČKA, M. — MARAČEK, I. — STANÍKOVÁ, A. — BALÚN, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice; Prírodovedecká fakulta UPJŠ, Košice): *Zmeny vaječníkov oviec po ožiarení X-lúčmi*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 91-100.

Študovali sme kvalitatívne histologické zmeny vaječníkov a karyometrické zmeny žltých teliesok (CL) bahníc plemena slovenské merino po ožiarení X-lúčmi. Experimenty sme vykonali na 12 bahniciach, rozdelených po štyroch do troch skupín. Prvá skupina bola kontrolná, druhá — pokusná skupina bola ožiarená priamo na ováriá po laparatómii dávkou $64,4 \text{ mC kg}^{-1}$ (250 R), tretia skupina bola ožiarená dávkou $516,5 \text{ mC kg}^{-1}$ (2000 R) lokálne na oblasť hypotalamo-hypofyzárnu. V 10. dni po ožiarení boli zvieratá zabitú, boli im odobraté excízie ovárií a spracované. Kvalitatívnou mikroskopickou analýzou sme zistili zmeny na krvných cievach ovárií druhej pokusnej skupiny. V artériách a vénach drene a bránky vaječníkov sme sledovali výrazné subintimálne zmeny podobné penovitým bunkám, opísané v dostupnej literatúre ako následok lúčového poškodenia krvných ciev. Pozorovali sme výraznú alteráciu folikulárnych štruktúr po lokálnom jednorázovom ožiarení vaječníkov, ktoré zároveň stimulovalo tvorbu CL. Po ožiarení oblasti hypotalamo-hypofyzárnej popisujeme zmnoženie počtu normálnych terciárnych folikulov ako aj celkového počtu folikulov. Iné histologické zmeny sme po ožiarení oblasti hypotalamo-hypofyzárnej v tkanive vaječníkov nepozorovali.

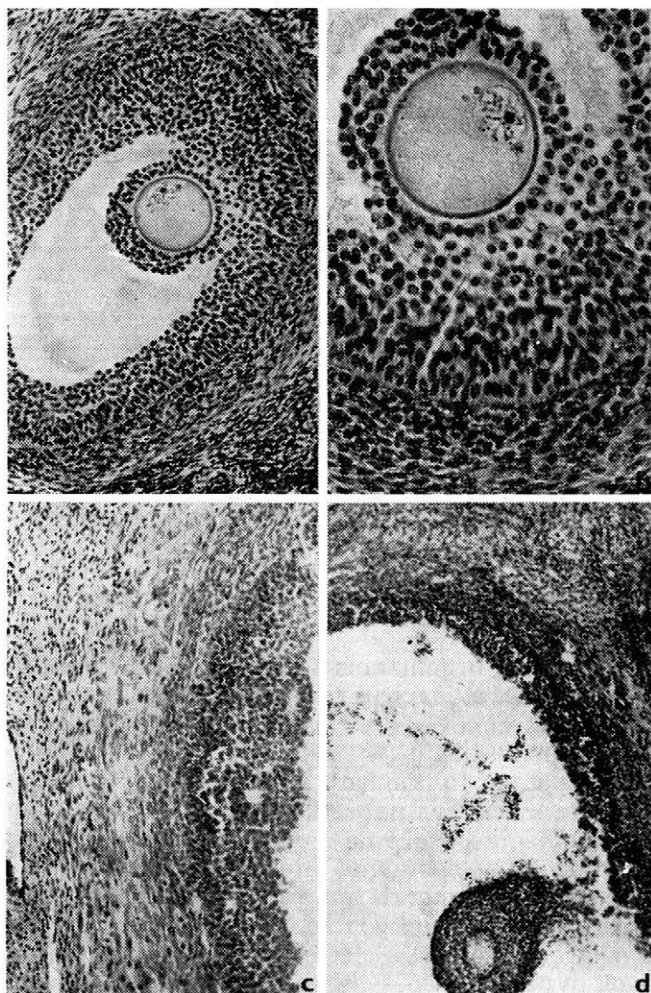
žlté teliesko — *corpus luteum*; ováriá; karyometria; X-lúče; bahnice

Vplyv ionizujúceho žiarenia na organizmus sa v dostupnej literatúre opisuje u krýs (Ingram, 1958; Matsumoto, 1972; 1973; Matsumoto a i., 1975), u zlatých škrečkov (Norman a Greenwald, 1971; Greenwald, 1972) a kuracích embryí (Mraz a Woody, 1970). Menovaní autori uvádzajú, že folikulárny systém ovárií je na pôsobenie X-lúčov citlivý, rádiosenzitívny, naproti tomu žlté telieska sú pomerne rádiorezistentné. S opisom pôsobenia X-lúčov u väčších hospodárskych zvierat sme sa doposiaľ v dostupnej literatúre nestretli.

V predkladanej práci sme sa zamerali na štúdium kvalitatívnych histologických zmien ovárií a karyometrických zmien luteálnych buniek žltých teliesok bahníc po ožiarení X-lúčmi, s cieľom získať údaje o účinku ionizujúceho žiarenia na os hypotalamus — hypofýza — ováriá u oviec.

MATERIÁL A METÓDY

Pre pokus sme použili 12 oviec plemena slovenské merino na konci jesenného pripúšťacieho obdobia; ovce sme rozdelili do troch pokusných skupín po štyroch kusoch. Prvá skupina oviec bola kontrolná. Druhé – pokusnej skupine boli ožiarené vaječníky priamo, po laparotómii, dávkou $64,4 \text{ mC kg}^{-1}$ (250 R) s príkonom 15 mA a 180 kV použitím filtrov 0,5 mm Cu a 0,5 mm Al, s ohniskovou vzdialenosťou 40 cm a minútovým prílivom 803,88 mGy. Tretej – pokusnej skupine sme ožiarili dávkou 516 mC kg^{-1} (2000 R) lokálne oblasť hypotalamo-hypofyzárnu za tých istých technických parametrov ako u predošlej skupiny. Vaječníky sme excidovali pri odporazení zvierat v 10. dni po ožiarení. Excízie vaječníkov sme fixovali v médiu formalín-sublimát-kyselina octová a po vypratí a odvodnení sme ich zaliali do parafínu. Parafínové rezy sme krájali sánkovým mikrotómom v hrúbke 7 až $10 \mu\text{m}$. Rezy sme odfarbili hematoxylin-eozínom a reakciou PAS s jadrovým farbením Schiffovým reagensom. Stanovili sme celkový počet terciárnych folikulov v páre ovárií a diferencovali sme ich na normálne a atretické podľa Mariona a i. (1968). Veľkosť jadier luteínových buniek sme merali karyometrom podľa Palkovitsa (1962) pri 3000-násobnom zväčšení, pričom z každého preparátu sme merali 200 buniek.



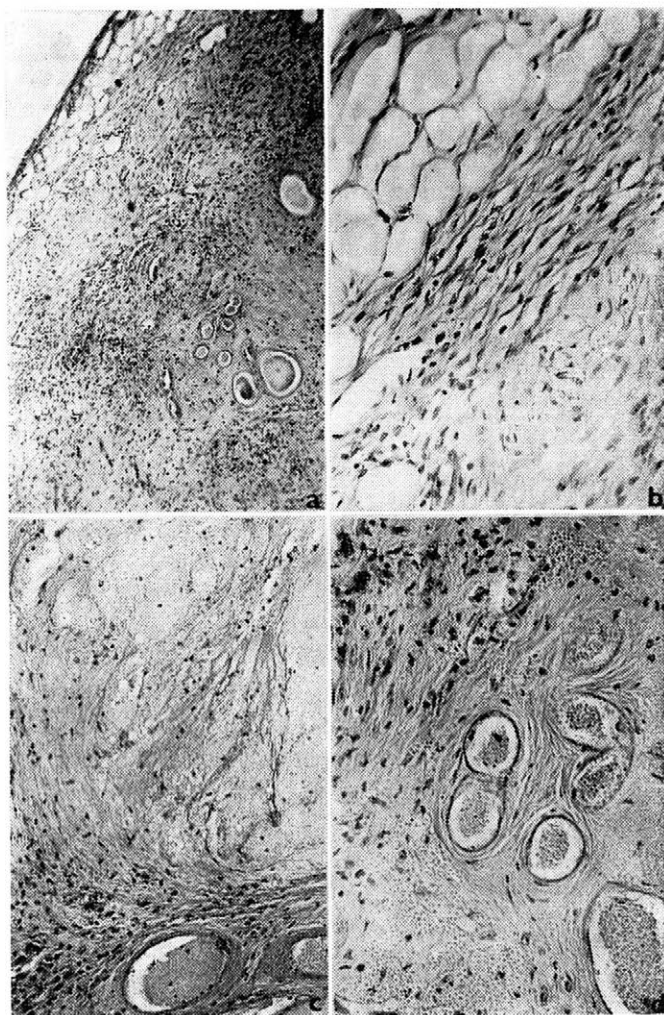
1. Rôzne štádiá vývoja a atrézie Graafových folikulov a) normálny Graafov folikul ($20 \times 2,5$); b) *Cumulus oophorus* a ocyt v normálnom Graafovom folikule ($40 \times 2,5$); c), d) rané štádium atrézie ($8 \times 6,3$); (8×4) – Different stages of the development and atresia of the Graafian follicles a) normal Graafian follicle ($20 \times 2,5$); b) *Cumulus oophorus* and oocyte in a normal Graafian follicle ($40 \times 2,5$); c), d) an early stage of atresia ($8 \times 6,3$); (8×4)

Objem jadier sme stanovili pomocou nomogramov Fischera a Inkeho (1956). Výsledky karyometrie sme hodnotili bodovými diagramami podľa Palkovitsa a Hajtmana (1965) a štatisticky Studentovým *t*-testom.

VÝSLEDKY

KVALITATÍVNE HISTOLOGICKÉ ZMENY VAJEČNÍKOV

Rôzne štádiá vývoja a atrózie Graafových folikulov uvádzame na mikrosnímokoch (obr. 1). Tkanivo vaječníka ovce druhej pokusnej skupiny je zobrazené na obr. 2. Na prvých dvoch snímkoch je dobre viditeľná sieťová štruktúra tkaniva vaječníka po vymiznutí primárnych folikulov. Na ďalších dvoch snímkoch je zreteľná alterácia krvných ciev s krvácaním v tkanive vaječníkov. Pri zväčšení sme v stene ciev pozorovali výrazné subintimálne zmeny podobné penovitým bunkám.



2. Tkanivo vaječníka po priamom ožiarení X-lúčmi a), b) sieťovitá štruktúra na mieste normálne sa vyskytujúcich primárnych folikulov ($8 \times 2,5$); (20×4); c), d) alterované krvné cievy s výskytom krvácania v tkanive vaječníka ($20 \times 2,5$); (20×4) — Ovarian tissue after direct irradiation with X-rays. a), b) net-like structure in the place of normally occurring primary follicles ($8 \times 2,5$); (20×4); c), d) altered blood vessels with haemorrhages in ovarian tissue ($20 \times 2,5$); (20×4)

PERCENTUÁLNY ROZPOČET TERCIÁRNYCH FOLIKULOV

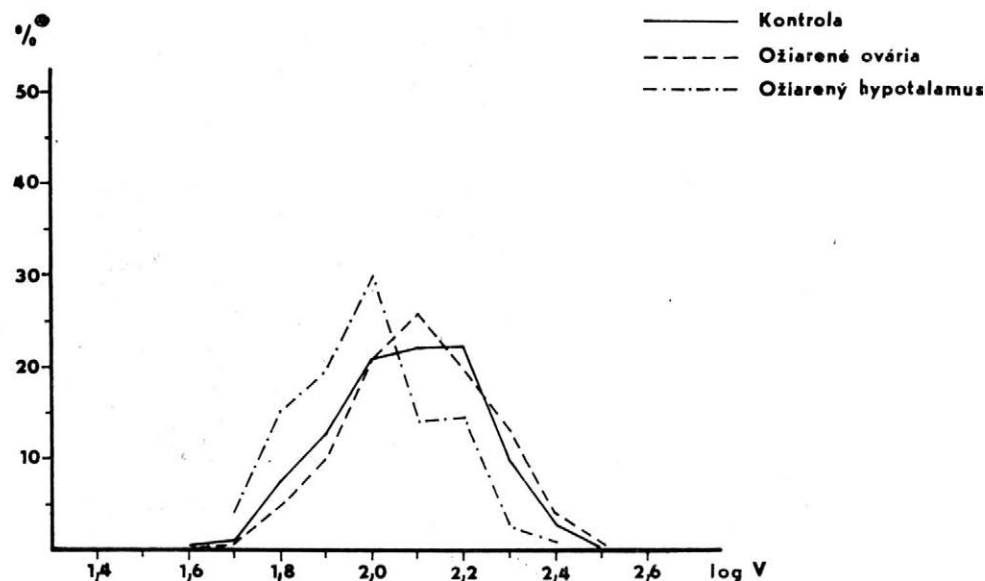
Výsledky histologickej diferenciácie normálnych a atretických folikulov uvádzame v tab. I. U oviec s ožiarenou oblasťou hypotalamo-hypofyzárnou sme zistili zvýšené percento výskytu normálnych folikulov, ako aj výrazné zmnoženie celkového počtu folikulov.

I. Percentuálny pomer normálnych a atretických folikulov — Percentual ratios of normal and atretic follicles

Skupina	Normálne folikuly %	Atretické folikuly %	Celkový počet folikulov
Kontroly	25,7	74,3	70
Ožiarené vaječníky	22,7	77,3	44
Ožiarený hypotalamus	47,7	52,3	111

KARYOMETRICKÁ ANALÝZA

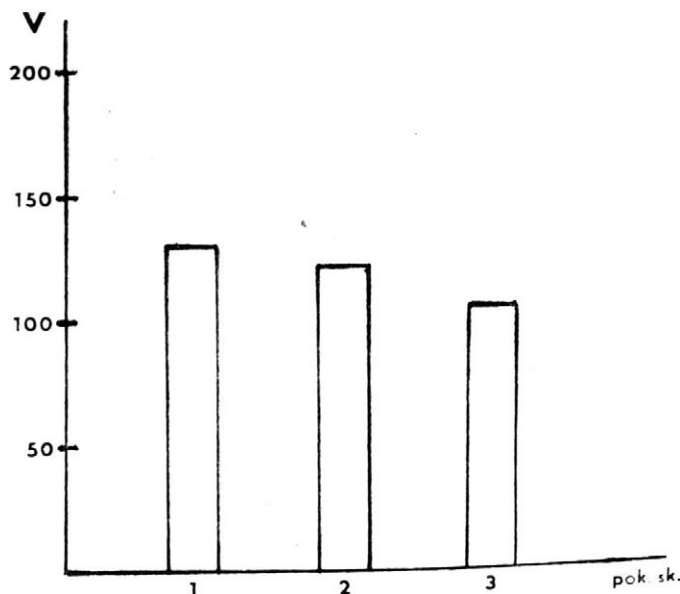
Výsledky karyometrickej analýzy luteínových buniek študovaných žltých teliesok bahníc uvádzame vo variačných krivkách ich nukleárneho objemu. U oviec kontrolnej skupiny je vrchol variačnej krivky nukleárneho objemu luteínových buniek pretiahnutý pri log objemu 2,0 až 2,2. U pokusnej skupiny s ožiareným hypotalamom sú luteínové bunky mladšej populácie s vrcholom variačnej krivky pri log objemu 2,0. U oviec s priamo ožiarenými vaječníkmi sme zistili po dvoch až troch plne rozvinutých žltých telieskach v jednom vaječníku, pričom nukleárny objem



3. Variačné krivky objemu bunkového jadra luteínových buniek žltých teliesok — Variation curves of the nucleus volume of the lutein cells of corpora lutea

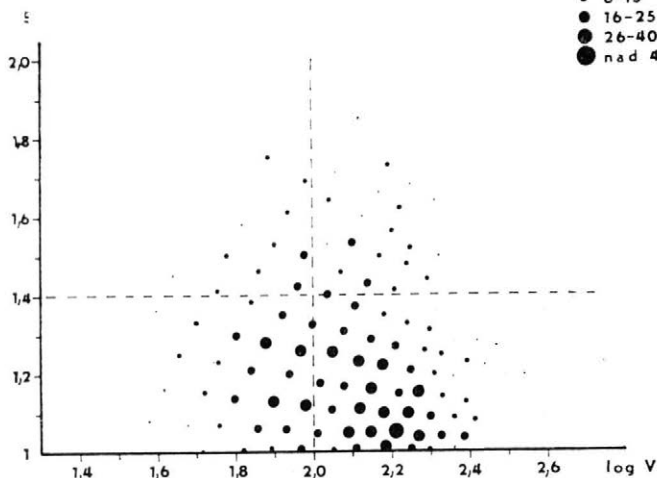
luteinových buniek vykazoval vrchol variačnej krivky pri log objemu 2,1 (obr. 3). Stĺpcové vyjadrenie veľkosti objemu jadier luteinových buniek v μm^3 znázorňuje obr. 4. Priemerná veľkosť objemu je najväčšia u kontrolných oviec (130,5 μm^3), u druhej pokusnej skupiny je 122,81 μm^3 a u tretej skupiny dosahuje 106,03 μm^3 . Na ďalších grafoch (obr. 5, 6, 7) sú zobrazené bodové diagramy pomeru X a Y súradníc rozmerov jadier luteinových buniek a ich logaritmu objemu podľa Pal-kovitsa a Hajtmana (1965). Veľkosť bodov znázorňuje početnosť prípadov. U kontrolnej skupiny (obr. 5) sú luteinové bunky prevažne

4. Stĺpcové vyjadrenie veľkosti objemu bunkového jadra luteinových buniek v μm^3 — Nucleus volume of the lutein cells, presented as columns — in μm^3



KONTROLY

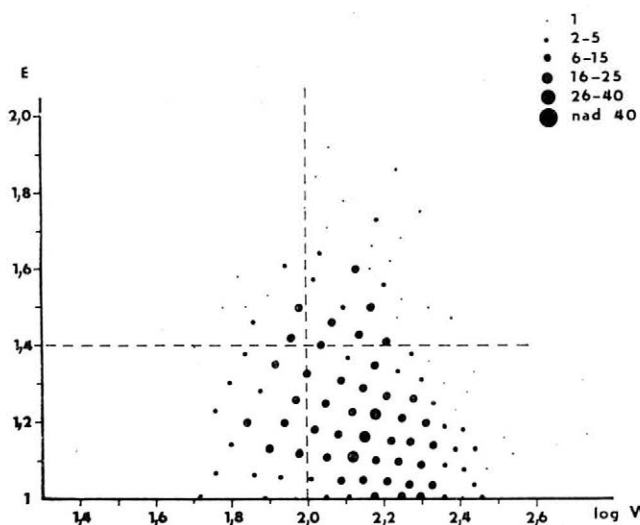
- 1
- 2-5
- 6-15
- 16-25
- 26-40
- nad 40



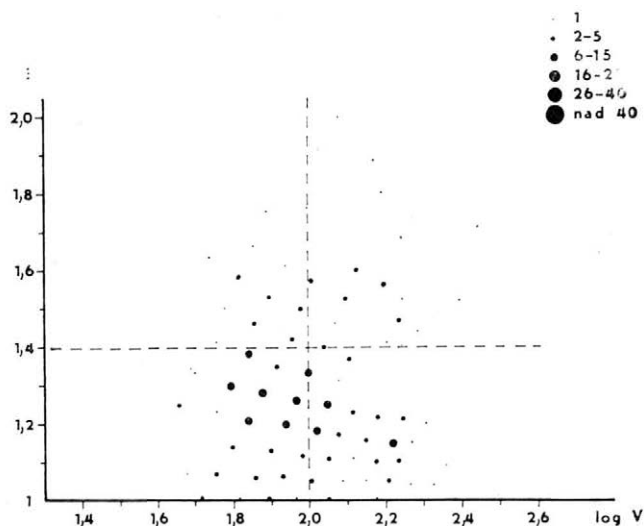
5, 6., 7. Bodové diagramy početnosti výskytu pomerov X a Y súradníc rozmerov jadier luteinových buniek a ich logaritmu objemu — Dot diagrams of the occurrence rates of co-ordinate X and Y ratios for the sizes of lutein cell nuclei and their volume logarithm

okrúhleho tvaru a veľké, ale je zistený aj pomerne značný výskyt populácií okrúhlych a malých luteínových buniek, ako aj podlhovastých veľkých a malých buniek. Podobná situácia je aj u druhej pokusnej skupiny (obr. 6). Bodový diagram tretej pokusnej skupiny (obr. 7) ukazuje prevažujúci výskyt luteínových buniek malých a okrúhleho tvaru, ale aj tu je zrejmý značný rozsev výskytu jednotlivých populácií luteínových buniek. Z tab. II, kde je zobrazený výsledok štatistickej analýzy, je zrejmé, že zmeny veľkosti objemu jadier luteínových buniek medzi jednotlivými pokusnými skupinami sú štatisticky významné.

OŽIARENÉ VAJEČNÍKY



OŽIARENÝ HYPOTALAMUS



1 : 2	2 : 3	1 : 3
$t = 2,6739$	$t = 4,6626$	$t = 6,6625$
S. V. = 998	S. V. = 598	S. V. = 798
$0,001 < P < 0,01$	$P < 0,001$	$P < 0,001$

DISKUSIA

Errera a Forssberg (1960) opísali zmeny na vaječníkov myši a králikov po priamom ožiarení nižšími dávkami. Zistili vymiznutie primárných folikulov v zárodočnej zóne vaječníkov, alteráciu krvných ciev s početnými krvácaninami v tkanive vaječníkov a subintimálne zmeny v krvných cievach podobné penovitým bunkám. Matsumoto [1972] ožaroval krysie samičky v ranom postnatálnom období a sledoval vývoj ich ovárií. Podľa jeho zistení nespôsobuje ožiarenie hlavy X-lúčmi prílišnú štrukturálnu odlišnosť od neožiarených kontrol. Ožiarovanie hlavy má znateľný účinok na ováriá jedine vtedy, keď aj telo samičiek bolo vystavené pôsobeniu X-lúčov. Vo veku 90 dní zistil po takomto celotelovom ožiarení na ováriách značný pokles hmotnosti, prítomnosť malých anovulačných folikulov, ale žiadne terciárne folikuly alebo žlté telieska. Tomuto stavu na ováriách zodpovedajú aj zistené hladiny LH a FSH v krvnom sére krýs (Matsumoto a i., 1975), ktoré boli vyššie až do štvrtého mesiaca veku krýs po ožiarení. Do veku 12 mesiacov po ožiarení sa však hladiny LH a FSH oproti normálnym hodnotám postupne zmenšili, aj keď hmotnosť ovárií vzrastala v dôsledku zníženia hyperplastických intersticiálnych buniek.

Vplyv stupňovaných dávok X-lúčov na ováriá študoval Ingram (1958). Zistil, že stupňovanými dávkami sa znižuje počet oocytov v ováriách, klesá schopnosť fertility krýs, čo dáva do súladu s vyčerpaním celkového množstva upotrebitelných zárodočných buniek. Vzťahy medzi hypotalamom, hypofýzou a pohlavným systémom u krýs študoval Mikolajczyk (1973). Uverejnené predbežné výsledky ukázali, že časovo príbuzné kvantitatívne zmeny hypofýzárnych gonadotropínov poukazujú na nadradenú závislosť blokujúcich alebo inhibičných účinkov X-lúčov na sekreciu releasing hormónov v centrách hypotalamu. Táto domnienka je zhodná s jeho vlastnými pozorovaniami kvantitatívnych zmien v neurosekrečných granulách buniek centier hypotalamu, ako aj s našimi pozorovaniami (Marček a i., 1977). Podľa týchto zistení je predpokladaný škodlivý účinok žiarenia periférneho, ale i centrálného (hypotalamického) pôvodu. Hlavným prínosom našej práce je, že sme zmeny sledovali u oviec, s čím sme sa zatiaľ v dostupnej literatúre nestretli. Zistili sme, že tkanivo žltého telieska bahníc je voči pôsobeniu X-lúčov značne rezistentné, ako uvádzajú Norman a Greenwald (1971). Štatisticky významné zmeny, zistené karyometriou luteálnych buniek, medzi jednotlivými pokusnými skupinami sú pravdepodobne funkčného charakteru.

Lokálne ožiarenie hypotalamo-hypofyzárnej oblasti má za následok zmenu počtu normálnych terciárnych folikulov ako aj celkového počtu folikulov, pričom nevyvoláva iné nami pozorované histologické zmeny v tkanive vaječníkov. Pri lokálnom jednorázovom ožiarení vaječníkov v uvedených dávkach je stimulovaná tvorba žltých teliesok, luteínové bunky však pritom nie sú poškodené. Zároveň dochádza k vymiznutiu rozvíjajúcich sa folikulárnych štruktúr. V zhode so zisteniami Errera a Forssberga (1960) opisujeme výraznú alternáciu krvných ciev s výskytom krvných výronov v tkanive vaječníka ako aj v dutinách folikulov.

Literatúra

- ERRERA, M. — FORSSBERG, A.: Mechanisms in radiobiology. Acad. Press., II, 1960.
- FISCHER, J. — INKE, G.: Nomogramme zur Berechnung des Kernvolumens. Acta morph. hung., 7, 1956, s. 141-165.
- GREENWALD, S.: Effect of X-irradiation on ovarian function in the pregnant hamster. Endocrinology, 91, 1972, s. 75-82.
- INGRAM, D. L.: Fertility and oocyte numbers after X-irradiation of the ovary. J. Endocr., 17, 1958, s. 81-90.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. — BALŮN, J.: Neurosekrét a mukopolysacharidy v neurónoch hypotalamu a ependýme tretej mozgovej komory oviec po ožiarení ionizujúcim žiarením. Prednesené na Celoštát. rádiobiol. konf. Tatranská Lomnica, 13.-16. 12. 1977.
- MARION, G. B. — GIER, H. T. — CHOUDARY, J. B.: Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. J. Anim. Sci., 27, 1968, s. 451-465.
- MATSUMOTO, A.: Unilateral ovariectomy in rats exposed to postnatal X-ray irradiation. J. Fac. Sci., 12, 1972, s. 417-427.
- MATSUMOTO, A.: Effects of X-ray irradiation in early postnatal rats on subsequent development of ovaries. Annat. zool. Japan., 45, 1973, s. 80-87.
- MATSUMOTO, A. — ASAI, T. — WAKABAYASHI, K.: Effects of X-ray irradiation on the subsequent gonadotropin secretion in normal and neonatally estrogenized female rats. Endocrinol. Jap., 22, 1975, s. 233-241.
- MIKOLAJCZYK, H. J.: Microwave irradiation and endocrine functions. In: Proc. of an International Symposium, Warsaw, 15-18 October, 1973, Polish Medical Publishers, Warsaw 1974, s. 46-51.
- MRAZ, F. R. — WOODY, M. C.: Effect of continuous gamma irradiation of chick embryos upon their gonadal development. Rad. Res., 50, 1970, s. 418-425.
- NORMAN, R. L. — GREENWALD, G. S.: Effect of phenobarbital, hypophysectomy and X-irradiation on preovulatory progesterone levels in the cyclic hamster. Endocrinology, 89, 1971, s. 598-605.
- PALKOVITS, M.: A sejtmagvariációs statisztikai eljárás módszerének egyszerűsítése és a mérési hibaforrások kiküszöbölésének feltételei. Kisér. Orvostud., Budapest, 14, 1962, s. 249-262.
- PALKOVITS, M. — HAJTMAN, B.: Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen und Muskelzellen und inhomogenen Zellpopulationen. Z. Mikr. Anat. Forsch., 73, 1965, s. 324-342.

Došlo dňa 29. 5. 1979

ТОКОШ, М. — АРЕНДАРЧИК, Й. — ПРАСЛИЧКА, М. — МАРАЧЕК, И. — СТАНИКОВА, А. — БАЛУН, Й. (Институт ветеринарии, Кошице; Природоведческий факультет при Университете им. Шафаржика, Кошице): Изменения яичников овец после облучения X-лучами. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2): 91-100.

Определяли качественные гистологические изменения яичников и кариометрические изменения желтых телцов (CL) у словацких мериносовых овцематок после X-облучения. В опыты включили 12 овец, укомплектованных в 3 группы по четырем овцам. Первая группа служила контролем, вторую — подопытную — облучали прямо в яичники после

лапаротомии дозой 64,4 мС кг⁻¹ (250 R), третью облучали дозой 516,5 мС кг⁻¹ 2000 R) локально, в область гипоталамо-гипофиза. На 10-й день после облучения животных забивали, брали экцизии яичников и обрабатывали. С помощью качественномикроскопического анализа установлены изменения на кровяных капиллярах яичников у второй группы. В артериях и венах мякоти и отверстий яичников обнаружены заметные субинтимальные изменения, похожие на пенистые клетки, которые описываются в доступной литературе как результат облучающего повреждения кровяных капилляров. Отмечена также явная альтерация фолликулярных структур после местного разового облучения яичников, что стимулировало в то же время образование CL. После облучения гипоталамо-гипофизной области описывается увеличение количества нормальных терциарных фолликулов и общего их количества. Других гистологических изменений после облучения упомянутой области в ткани яичников не отмечено.

желтые тельца — *corpus luteum*; яичники; кариометрия; X-лучи; овцематки

TOKOŠ, M. — ARENDARČIK, J. — PRASLIČKA, M. — MARAČEK, I. — STANI-KOVÁ, A. — BALŮN, J. (University of Veterinary Medicine, Košice; Faculty of Science of the P. J. Šafárik University, Košice): *Alterations on the Ovaries of Ewes after Exposure to X-rays*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 91-100.

The qualitative histological alterations on ovaries and caryometric changes in the corpora lutea (CL) were studied in the ewes of the Slovak Merino breed after irradiation with X-rays. The experiments were conducted with 12 ewes divided into three groups with four animals in each. The first group included the control ewes, the second — experimental — group was exposed to X-rays applied directly to the ovaries after laparotomy at a rate of 64.4 mC per kg (250 R), and the ewes in the third group were locally irradiated in the hypothalamo-hypophysial region at a rate of 516.5 mC per kg (2000 R). On the 10th day following the irradiation, the animals were killed, ovarian excisions were taken from the carcasses and subjected to processing. Changes on the blood vessels of the ovaries of the ewes in the second group were revealed by qualitative microscopic analysis. Pronounced subintimal changes, reminding of foamy cells described in available literature as a consequence of radiation damage to the blood vessels, were observed in the arteries and veins of the marrow and porta of ovaries. A pronounced alteration of follicular structures was induced by single local irradiation of the ovaries which, at the same time, stimulated CL production. The irradiation of the hypothalamo-hypophysial region resulted in a multiplication of normal tertiary follicles and in an increase of the total number of follicles. No other histological changes were observed in the tissues of ovaries after the irradiation of the hypothalamo-hypophysial region.

corpus luteum; ovaries; caryometry; X-rays; ewes

TOKOŠ, M. — ARENDARČIK, J. — PRASLIČKA, M. — MARAČEK, I. — STANI-KOVÁ, A. — BALŮN, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice; Naturwissenschaftliche UPJS-Fakultät, Košice): *Veränderungen der Eierstöcke bei Schafen nach Bestrahlung mit X-Strahlen*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 91-100.

Wir untersuchten die qualitativen histologischen Veränderungen der Eierstöcke und die karyometrischen Veränderungen der Gelbkörper (CL) bei Mutterschafen der slowakischen Merinorasse nach Bestrahlung mit Röntgenstrahlen. Die Experimente wurden mit 12 in drei Gruppen zu je vier Tieren eingeteilten Mutterschafen durchgeführt. Die erste Gruppe diente als Kontrollgruppe, die zweite Gruppe umfaßte Versuchstiere, die direkt auf die Ovarien nach Laparotomie mit einer Dosis von 64,4 mC kg⁻¹ (250 R) bestrahlt wurden, während die dritte Gruppe der Versuchstiere mit einer Dosis von 516,5 mC kg⁻¹ (2000 R) lokal auf die Region des Hypothalamus und der Hypophyse bestrahlt wurden. Am 10. Tag nach der Bestrahlung wurden die Tiere geschlachtet und wurden denselben Ovarienexzisionen entnommen und bearbeitet. Mit Hilfe einer qualitativen mikroskopischen Analyse stellten wir Veränderungen an den Blutgefäßen der Ovarien der zweiten Versuchsgruppe fest. In den Arterien und Venen des Marks und der Pforte der Eierstöcke konnten wir ausgeprägte subintimale Veränderungen feststellen, die den in der zugängigen Literatur als Folge der Schädigung durch die Bestrahlung beschriebenen Schaumzellen ähnlich waren. Wir beobachteten eine ausgeprägte Alteration der follikularen Strukturen

nach einmaliger lokaler Bestrahlung der Eierstöcke, die gleichzeitig auch die CL-Bildung stimulierte. Nach Bestrahlung der Hypothalamus-Hypophysen-Region wurde die Anzahl der normalen tertiären, als auch die Gesamtzahl der Follikel bestimmt. Andere histologische Veränderungen nach der Bestrahlung der genannten Region konnten wir im Gewebe der Eierstöcke nicht feststellen.

Gelbkörper — *corpus luteum*; Ovarien; Karyometrie; X-Strahlen; Mutterschafe

Adresy autorov:

MVDr. Marian Tokoš, prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc., MVDr. Imrich Maraček, CSc., RNDr. Angela Staníková, MVDr. Jozef Balún, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

Prof. MUDr. Milan Praslička, DrSc., Prírodovedecká fakulta UPJŠ, 040 00 Košice

HISTOLOGICKÉ A KARYOMETRICKÉ ZMENY NEURÓNŮV NIEKTORÝCH JADIER HYPOTALAMU OVIEC PO PODANÍ SYNTETICKÉHO GnRH A CHLÓRMADINON ACETÁTU

I. Maraček, J. Arendarčík

MARAČEK, I. — ARENDARČÍK, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Histologické a karyometrické zmeny neurónov niektorých jadier hypotalamu oviec po podaní syntetického GnRH a chlórmdinon acetátu*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2): 101-114.

V práci sme simultánne sledovali zmeny neurosekréty a objemu bunkového jadra neurónov jadier predného (*nucleus hypothalamicus anterior* — NHA, *nucleus paraventricularis* — NPV, *nucleus supraopticus* — NSO), stredného (*nucleus arcuatus s. infundibularis* — ARC) a zadného (*pars dorsalis nuclei mammillaris medialis* — PD NMM) hypotalamu oviec po podaní syntetického GnRH (chemicky: /pyro/ Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) a chlórmdinon acetátu (chemicky: 6-chlór-6-dehydro-17-alfa-acetoxypregesterón /CAP/). Dve anestrické ovce slúžili ako kontrola a dve, ktoré sme po prerušení podávania CAP neošetřili GnRH, boli druhou kontrolou. Tretej skupine sme podali GnRH v dávke 400 µg i. m. na kus. Chlórmdinon acetát (CAP) sme instilovali vo forme vaginálnych hubiek (30 mg na hubku) u tretej skupiny. V 17. dni sme intravaginálne hubky vybrali a v 19. dni sme podali GnRH podobne ako u druhej skupiny. Jadrový objem neurónov hypotalamu sme stanovili metódou, ktorú uvádzajú Fischer a Inke (1956). CAP vyvolá zníženie jadrového objemu neurónov NPV. Po vybratí hubiek CAP zvýši podaný GnRH vrchol variačnej krivky posunutej doľava. Po podaní CAP bola variačná krivka objemu jadier neurónov posunutá doprava. Podanie GnRH po vybratí hubiek CAP vyvolá výraznejšie zväčšenie objemu jadra ako u zvierat ošetřených len GnRH. Uvedené kvalitatívne histocytologické a karyometrické zmeny podporujú názor, že CAP a GnRH pôsobia na hypotalamus a hypofýzu cestou spätnoväzobných mechanizmov, pričom CAP senzibilizuje neuróny NPV, ARC a PD NMM pre pôsobenie syntetického i. m. podaného GnRH.

neurosekrét; karyometria; hypotalamus; ovce; chlórmdinon acetát (CAP); LH/FSH-RH

V prehľadných prácach (Arendarčík a Maraček, 1976; Arendarčík a i., 1977) sme opísali mozgové štruktúry, ktoré svojimi neurohumorálnymi regulačnými mechanizmami zabezpečujú fyziologickú sekréciu gonadotropných hormónov FSH a LH predným lalokom hypofýzy. Charakterizovali sme tónický a cyklický mechanizmus regulácie uvoľnenia FSH a LH do krvného obehu. Uviedli sme pritom klasifikáciu a charakteristiku spätnoväzobných mechanizmov, zapojených do regulácie estrálneho cyklu zvierat. V súlade s inými prehľadnými prácami (Flerkó, 1970, 1974; Halász, 1976; Domaňskí, 1976; Horský a Presl, 1978) ako aj s našimi prv publikovanými pozorovaniami

(Arendarčík a i., 1970, 1975; Maraček a Arendarčík, 1978) sme uviedli kľúčové postavenie hypotalamu v regulácii gonadotropnej funkcie hypofýzy a zdôraznili sme význam medzidruhových rozdielov, ktoré nedovoľujú nekriticky bez experimentálneho overenia prenášať poznatky z laboratórnych pokusných zvierat a poznatky humánnej medicíny na hospodárske zvieratá.

V predkladanej práci sme sústredili pozornosť na simultánne štúdium neurosekréту a karyometrických zmien neurónov niektorých jadier predného a zadného hypotalamu oviec po podaní syntetického GnRH a chlormadion acetátu. Cieľom práce je prispieť k poznaniu účinku použitých syntetických hormonálnych prípravkov, ktoré sa používajú na cieľavedomé riadenie reprodukčných procesov domácich prežúvavcov.

MATERIÁL A METÓDY

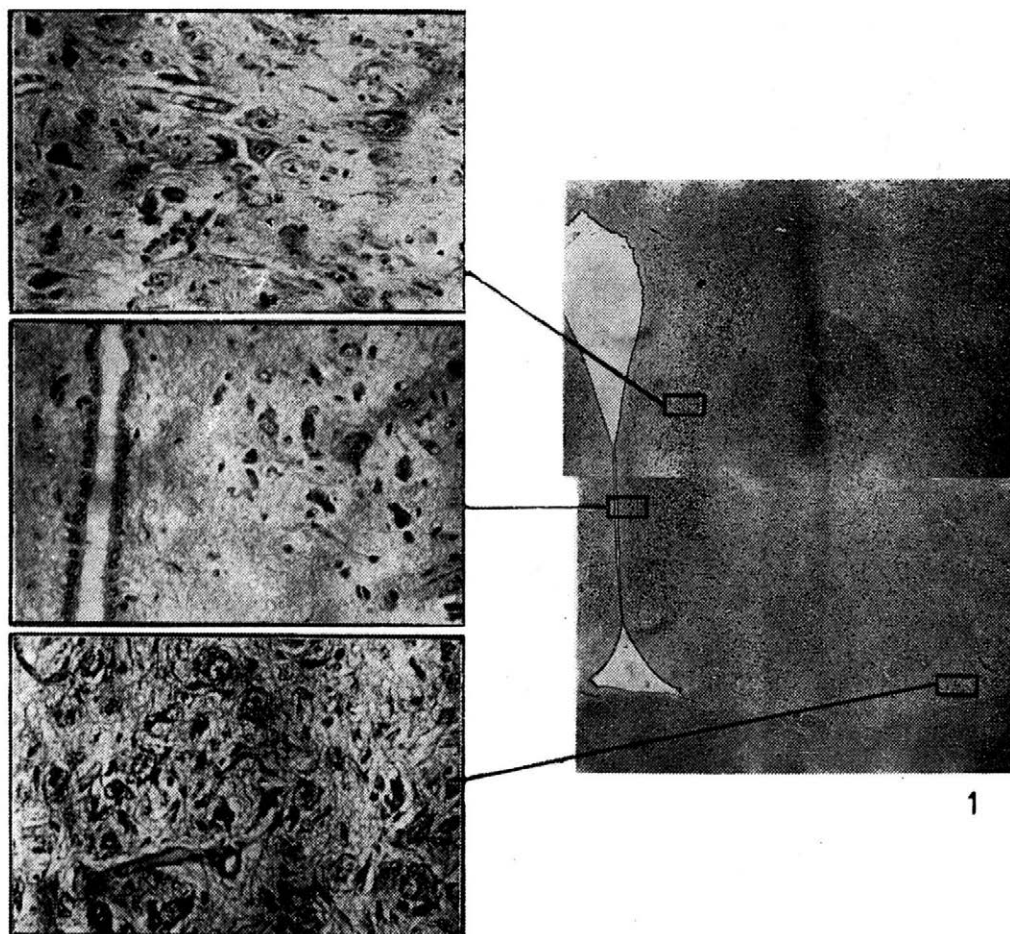
Pre prácu sme použili vzorky od 16 dvoj- až štvorročných oviec plemena slovenské merino. Ovce boli chované v štandardných podmienkach. Pokusy sme vykonali v mesiacoch máj, jún a august. Do pokusu sme zaradili zvieratá v anestezii. Anestruz sme stanovili pri laparotómii. Dve anestrické ovce slúžili ako kontrola (C1) a dve ovce po vybratí hubiek impregnovaných chlormadion acetátom (30 mg na hubku) (chlormadinon-acetát CAP, chemicky: 6-chlór-6-dehydro-17 alfa-acetoxypregesteron) sme neošetřili GnRH a boli druhou kontrolou (C2). Skupine šiestich anestrických oviec sme *i. m.* aplikovali 400 μ g syntetického GnRH (chemicky: /pyro/ Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) firmy Hoechst. Druhej skupine šiestich anestrických oviec sme na dobu 17 dní podali vo forme vaginálnych polyuretánových hubiek CAP v dávke 30 mg a 48 hodín po ich vybratí sme *i. m.* podali šiestim ovciam 400 μ g GnRH.

Mozgy sme excidovali pri zabití, 24 až 36 hodín od podania GnRH. Skúmaný materiál sme fixovali kombinovanou technikou, nastreknutím 10% formalínu a po excízii mozgov sme ich dofixovali v médiu SUSA. Mozgy sme krájali transverzálne vo frontálnej rovine na segmenty v intervale 5 mm. Segmenty 8, 9 a 10 sme prirezali a zaliali do parafínu. 7 až 10 mikrometrov hrubé rezy sme oľadili hematoxylin-eozínom, Gömöriho chrómovým hematoxylinom (Kovács a Dávidová, 1962), reakciou PAS s jadrovým farbením celestínovou modrou a Mayerovým hematoxylinom ako uvádzame inde (Maraček a Arendarčík, 1971) a Gömöriho aldehydfuchsínom (Kodousek, 1961). Hodnotené jadrá predného (*nucleus hypothalamicus anterior* – NHA; *nucleus paraventricularis* – NPV, *nucleus supraopticus* – NSO) stredného (*nucleus arcuatus s. infundibularis* – ARC) a zadného (*pars dorsalis nucleus mammillaris medialis* – PD NMM) hypotalamu sme identifikovali pomocou stereotaxického atlasu ovčieho hypotalamu, vypracovaného Welentom a i. (1969) a podľa vlastných skúseností pri segmentovej analýze mozgu pri topografickom štúdiu oblasti tretej mozgovej komory.

Karyometrickú analýzu sme urobili karyometrom podľa Palkovitsa (1962) pri 3000-násobnom zväčšení a meraní 200 buniek z jednej vzorky. Z každého hypotalamického jadra sme merali 3200 bunkových jadier neurosekrečných neurónov a celkovo sme analýze podrobili 16 000 buniek. Získané hodnoty sme matematicky spracovali podľa Fischera a Inkeho (1956). Metódou podľa Palkovitsa (1974) sme zhotovili tzv. bodový diagram. Na os úsečiek (X) sme naniesli dekadický logaritmus jadrového objemu a na os súradníc (Y) sme vyniesli pomer najdlhšej osi (L) k osi na ňu v strede kolmej (B) tak, že $E = L/B$.

VÝSLEDKY

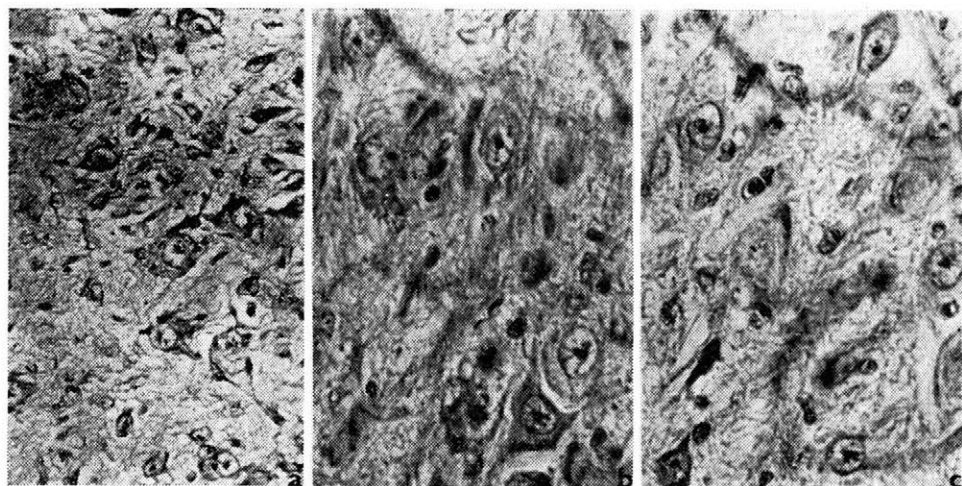
Výsledok identifikovania *nucleus paraventricularis*, *nucleus paraventricularis* a *nucleus supraopticus* sme prehľadne znázornili na rekonštrukčných mikroskopických obrázkoch z úrovne ôsmeho transverzálneho mozgového segmentu vo frontálnej rovine v intervale 5 mm (obr. 1).



1. Rekonštrukcia tretej mozgovej komory a hypothalamickej oblasti z úrovne 8. tranzverzálneho mozgového segmentu vo frontálnej rovine v intervale 5 mm. Zhora prvý obrázok je z *ncl. paraventricularis*, stredný obrázok je z *ncl. periventricularis* a spodný obrázok je z *ncl. supraopticus* — Reconstruction of the third cerebral chamber and hypothalamic region from the level of the 8th transversal cerebral segment in frontal plane at a 5mm interval. The first picture from above is from *ncl. paraventricularis*, the picture in the middle is from *ncl. periventricularis*, and the lower picture from *ncl. supraopticus*

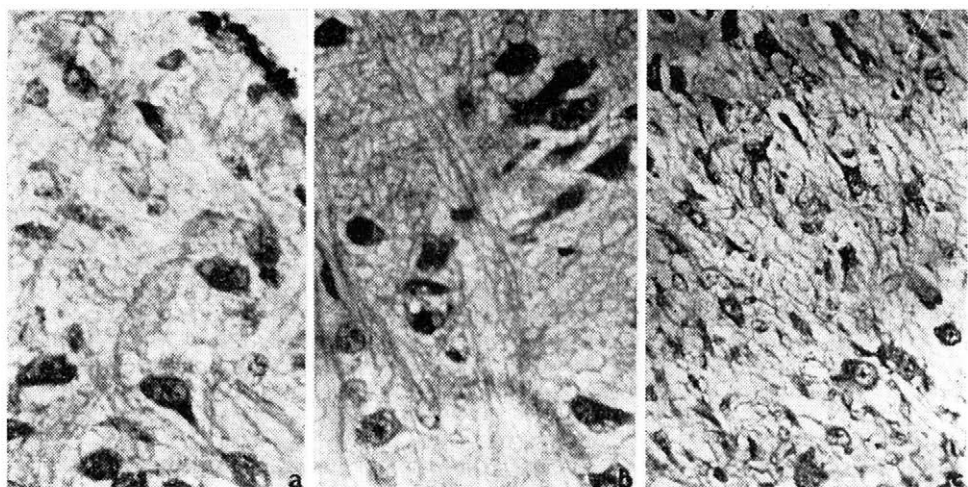
Kvalitatívne histologické zmeny neurosekrečných buniek *nuc. paraventricularis* i *periventricularis* sa prejavili v degranulácii neuroplazmy u pokusnej skupiny ošetrenej CAP a GnRH (obr. 2). Na ďalších obrázkoch (obr. 3a, 3b) sú neurosekrečné bunky z *nuc. arcuatus*, kde sme nepozorovali degranuláciu, podobne ako aj u neurónov *nuc. supraopticus* (obr. 3c).

Výsledok karyometrickej analýzy skúmaných jadier hypothalamu sme zhrnuli a znázornili graficky. Na obr. 4 sú variačné krivky jadro-



2

2. Neurosekrečné bunky z *ncl. paraventricularis* a *periventricularis*: 2a — *ncl. periventricularis* po vysadení CAP ($20 \times 6,3$); 2b — *ncl. paraventricularis* po vysadení CAP ($40 \times 6,3$); 2c — *ncl. paraventricularis* po vysadení CAP a podaní LH/FSH-RH ($40 \times 6,3$) — Neurosecretory cells from *ncl. paraventricularis* and *periventricularis*. 2a — *ncl. periventricularis* after interruption of CAP treatment ($20 \times 6,3$); 2b — *ncl. paraventricularis* after interruption of CAP treatment ($40 \times 6,3$); 2c — *ncl. paraventricularis* after interruption of CAP treatment and after giving the animals LH/FSH-RH ($40 \times 6,3$)



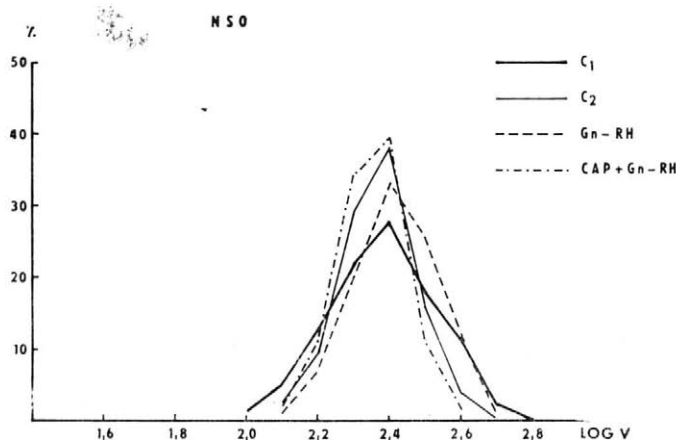
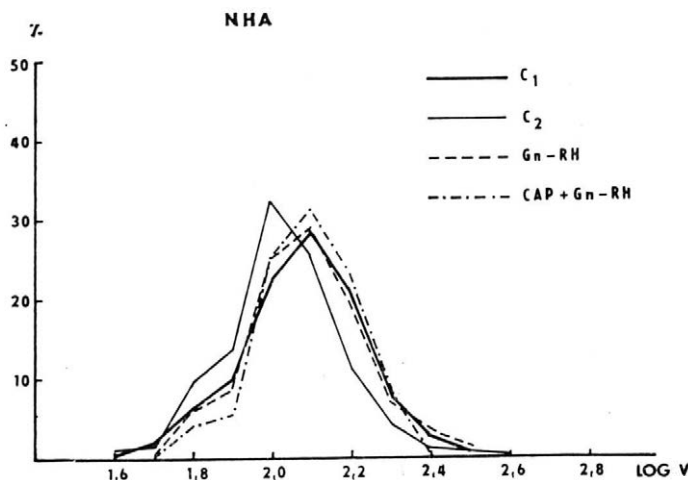
3

3. Neurosekrečné bunky z *ncl. arcuatus* s. *infundibularis* a *ncl. supraopticus*: 3a — *ncl. arcuatus* po podaní LH/FSH-RH (40×4); 3b — *ncl. arcuatus* po vysadení CAP a podaní LH/FSH-RH (40×4); 3c — *ncl. supraopticus* po podaní LH/FSH-RH ($20 \times 6,3$) — Neurosecretory cells from *ncl. arcuatus* s. *infundibularis* and *ncl. supraopticus*. 3a — *ncl. arcuatus* after the administration of LH/FSH-RH (40×4); 3b — *ncl. arcuatus* after interruption of CAP treatment and after giving the animals LH/FSH-RH (40×4); 3c — *ncl. supraopticus* after the administration of LH/FSH-RH ($20 \times 6,3$)

vého objemu buniek *nuc. hypothalamicus anterior*. Podanie CAP a jeho vysadenie inhibuje aktivitu neurónov NHA, ktorých jadrový objem sa zmenší s posunom variačnej krivky doľava. Podanie samotného GnRH neovplyvní objem bunkových jadier podobne, ako keď GnRH použijeme po vybratí hubiek CAP.

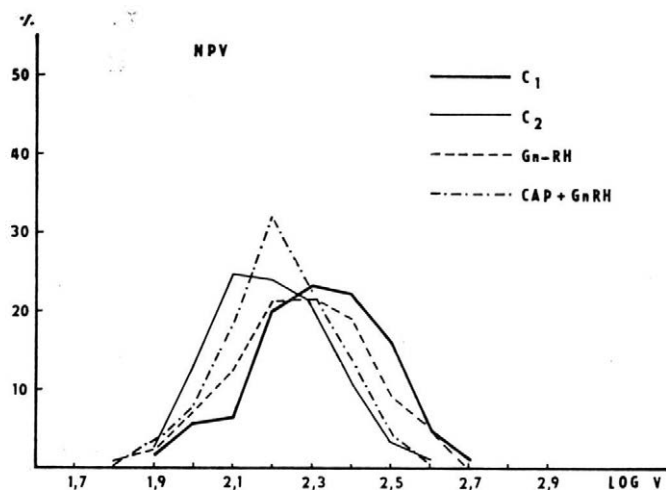
Z výsledkov karyometrickej analýzy neurónov *nuc. supraopticus* (obr. 5) vyplýva, že použité syntetické hormonálne prípravky zvýraznia vrcholy variačných kriviek jadrového objemu, ktoré však nevykazujú posun doprava ani doľava.

4. Variačné krivky objemu bunkového jadra neurónov *ncl. hypothalamicus anterior* (NHA) — Variation curves of the volume of the cell nucleus of neurons of *ncl. hypothalamicus anterior* (NHA)



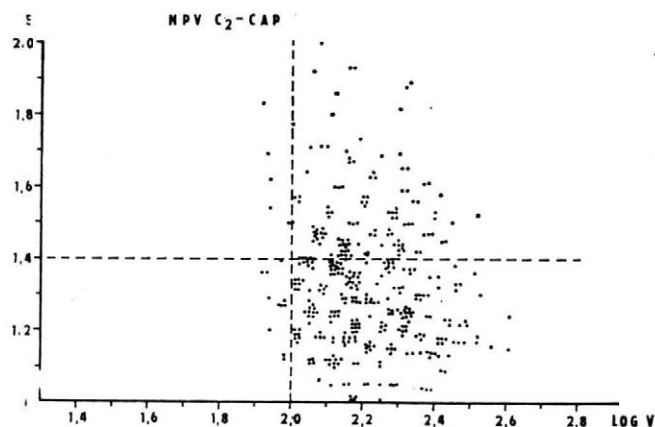
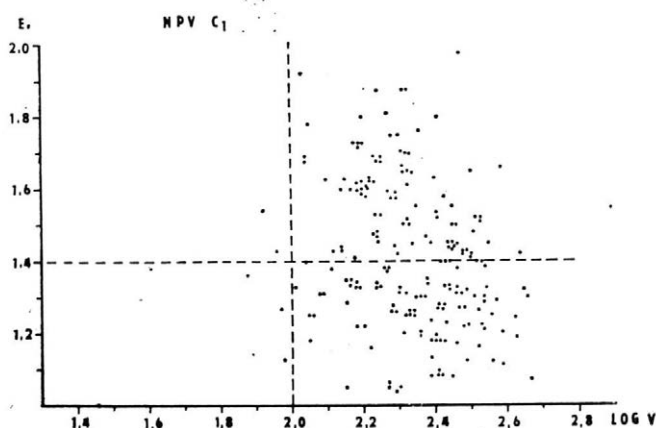
5. Variačné krivky objemu bunkového jadra neurónov *ncl. supraopticus* (NSO) — Variation curves of the volume of the cell nucleus of neurons *ncl. supraopticus* (NSO)

Zo sledovaných oblastí predného hypotalamu najvýraznejšie zmeny vykazuje jadrový objem neurónov *nuc. paraventricularis* (obr. 6). Z obr. 6 je zrejmé, že podanie CAP u anestrických bahníc pôsobí tlmivo na aktivitu neurónov a vyvolá zníženie objemu neurosekrečných buniek s prejavom posunu doľava. Po vysadení CAP podaný GnRH zvýrazní vrchol variačnej krivky posunutej doľava. Jednorázove použitá samotná dávka GnRH v podstate neovplyvní jadrový objem sledovaných



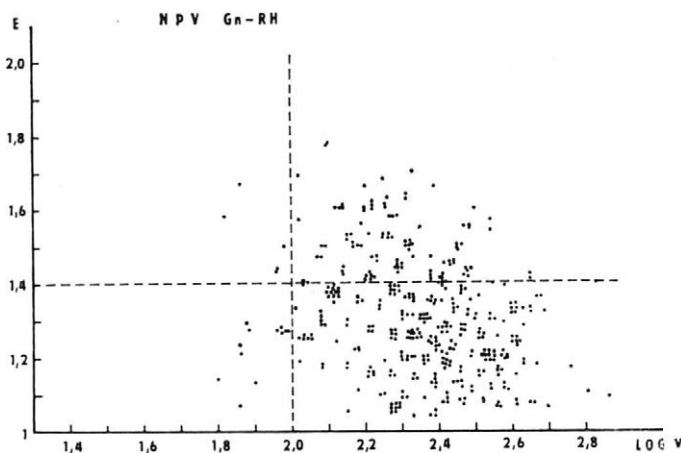
6. Variačné krivky objemu bunkového jadra neurónov *ncl. paraventricularis* (NPV) — Variation curves of the volume of the cell nucleus of neurons of *ncl. paraventricularis* (NPV)

7. Bodový diagram podľa Palkovitsa z NPV od kontroly — Dot diagram after Palkovits from the NPV of the controls

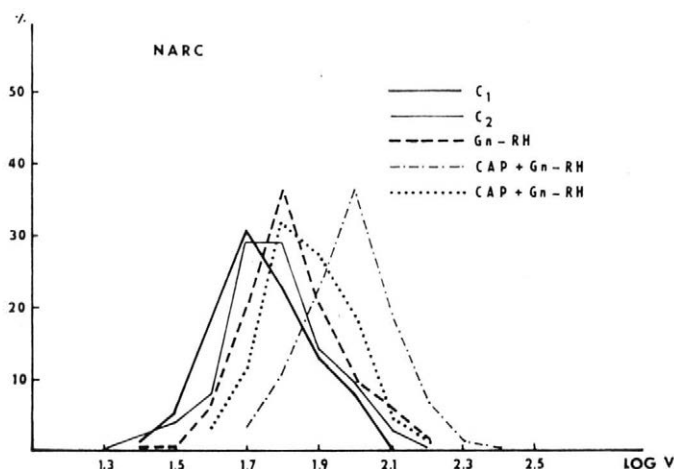


8. Bodový diagram podľa Palkovitsa z NPV po vysadení CAP — Dot diagram after Palkovits from the NPV after interruption of CAP treatment

9. Bodový diagram podľa Palkovitsa z NPV po podaní LH/FSH-RH — Dot diagram after Palkovits from the NPV after the administration of LH/FSH-RH

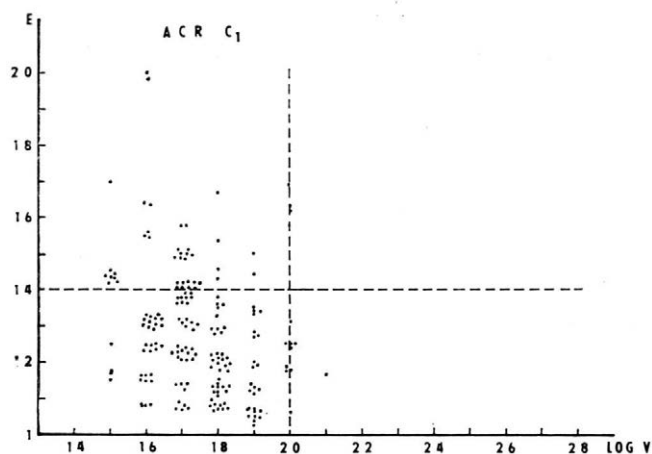


buniek. Z bodového diagramu (obr. 7—9) podľa Palkovitsa (1974) vyplýva, že bunkové jadrá neurónov NPV u kontrolnej skupiny C_1 (obr. 7) sú približne v rovnakom pomere veľké okrúhle a veľké podlhovasté. Po podaní CAP (obr. 8) a GnRH (obr. 9) sú v prevahe neuróny s veľkými okrúhlymi jadrami a je znížený počet buniek s veľkými podlhovastými jadrami.



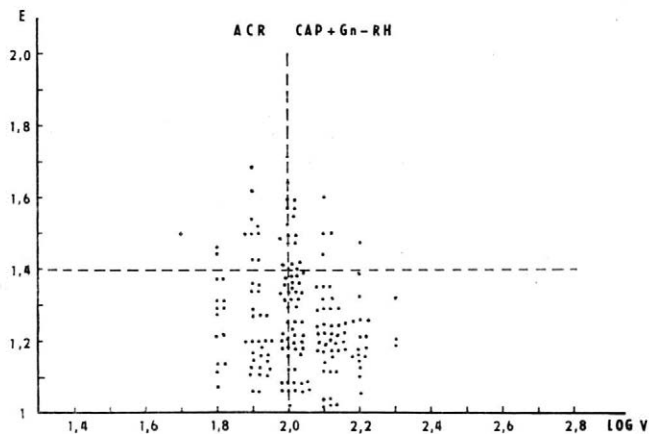
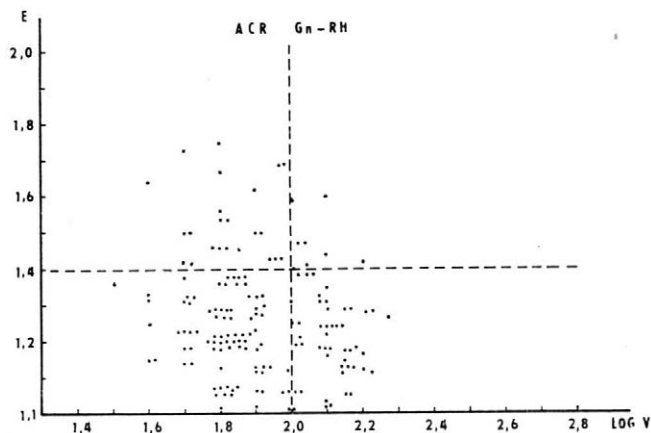
10. Variačné krivky objemu bunkového jadra neurónov *ncl. arcuatus* (NARC) — Variation curves of the volume of the cell nucleus of neurons of *ncl. arcuatus* (NARC)

Zmeny jadrového objemu neurónov *nuc. arcuatus* sme zhrnuli na obr. 10, z ktorého je dobre vidieť, že sledované účinné látky výrazne ovplyvňujú jadrový objem buniek, ktorým sa pripisuje proveniencia LH/FSH-RH. Variačná krivka jadrového objemu u oviec po instilácii hubiek CAP vykazuje posun doprava s nevýrazným vrcholom. U štyroch oviec, ktorým boli instilované hubky CAP, vyvolalo GnRH výraznejší posun variačnej krivky doprava, ako u oviec, ktorým pred podaním GnRH neboli instilované hubky CAP. U dvoch oviec sme výraznejší posun variačnej krivky nepozorovali a vrchol krivky bol u týchto dvoch zvierat nižší ako u pokusnej skupiny, kde sme pred podaním GnRH neinstilovali hubky CAP.



11. Bodový diagram
podľa Palkovitsa
z NARC od kontroly —
Dot diagram after Pal-
kovits from the NARC
of the controls

12. Bodový diagram
podľa Palkovitsa
z NARC po podaní LH/
FSH-RH — Dot dia-
gram after Palkovits
from the NARC after
administration of LH/
FSH-RH

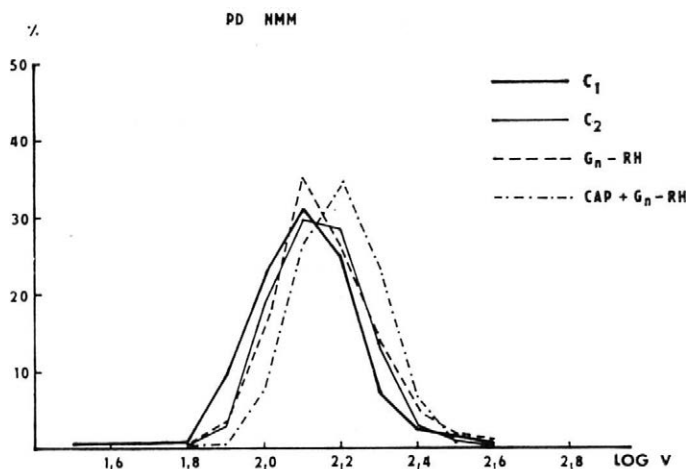


13. Bodový diagram
podľa Palkovitsa
z NARC po vysadení
CAP a podaní LH/FSH-
RH — Dot diagram
after Palkovits from
the NARC after inter-
ruption of CAP treat-
ment and after admi-
nistration of LH/FSH-
RH

Výsledky karyometrickej analýzy *nuc. arcuatus* sme hodnotili podľa Palkovitsa (1974) a zhotovili sme tzv. bodový diagram. Z obr. 11 vidieť, že bunky kontrolnej skupiny majú prevažne malé jadrá s okrúhlym tvarom a len nepatrné množstvo jadier je podlhovastých. Na obr. 12 sme znázornili zmenu tvaru jadra *nuc. arcuatus* po podaní GnRH a je vidieť, že značný počet neurónov disponuje okrúhlym, alebo veľkým podlhovastým jadrom, zatiaľ čo u kontrolnej skupiny sme prakticky neurón s veľkým jadrom nepozorovali. Najvýraznejšiu zmenu tvaru a veľkosti jadrového objemu sme zaznamenali u štyroch oviec, ktoré sme ošetrili obidvoma použitými účinnými látkami (obr. 13).

Z oblasti zadného hypotalamu sme hodnotili *pars dorsalis nuclei mammillaris medialis* a výsledky sme zhrnuli do variačných kriviek (obr. 14). Z obr. 14 vidieť, že samotné GnRH nepatrne zvýši vrchol variačnej krivky. Keď sme pred podaním GnRH podali CAP, jadrový objem neurónov v tejto oblasti sa mierne zväčšil.

14. Variačné krivky objemu bunkového jadra *pars distalis ncl. mammillaris medialis* (PD NMM) — Variation curves of the volume of the cell nucleus of *pars distalis ncl. mammillaris medialis* (PD NMM)



DISKUSIA

Významné sú druhové rozdiely v organizácii hypotalamu. Podľa Domaňského (1976) je u oviec LH/FSH-RH pravdepodobne produkováný v neurónoch *nuc. arcuatus* ako u potkanov. Avšak regulačné centrum pre uvoľnenie GnRH sa zdá byť lokalizované v *area hypothalamica anterior* a nie v *area praeoptica* ako u potkanov.

Degranulácie neuroplazmy, ktoré sme pozorovali a opísali v perikaryone neurosekrečných buniek paraventrikulárneho i periventrikulárneho jadra hypotalamu, sú podobné s nálezmi, ktoré sme opísali prv u jaľovíc po podávaní a po vynechaní melengestrol acetátu (17-acetoxy-6-methyl-methylenpregnan-4,6-dien-3,20-dion) (Maraček a Arendarčík, 1978), a sú v podstate zhodné s prvým pozorovaním Nakaharu (1962, 1963) u králikov po gonadektómii a 5 až 15 minút po koite.

Experimenty vykonané v laboratóriu Szentágothaiho a i. (1968) s karyometrickou metódou ukázali, že nervové bunky hypotalamických jadier potkanov výrazne reagujú na zmenu veľkosti bunkového

jadra, keď sa zníži alebo zvýši koncentrácia pohlavných steroidov v krvnom obehu pri kastrácii alebo po podaní androgénov a estrogénov.

V dostupnej literatúre sú známe práce aj z posledného obdobia (Akmayev a Rabkina, 1976a; Staudt a Dörner, 1976; Akmayev a i., 1978; Döcke a Smollich, 1978,) ktoré pri experimentálnom štúdiu mozgových štruktúr regulujúcich endokrinné orgány významne využívajú metódu funkčnej karyometrie.

Keď porovnáваме dosiahnuté výsledky karyometrickej analýzy s literárnymi údajmi, zistíme, že pozorované zmeny jadier predného hypotalamu (NHA, NSO a NPV) sú porovnateľné s pozorovaním Szentágothaiho a i. (1968), pričom opísané zmeny NHA a NSO sú zhodné s pozorovaním u potkanov po aplikácii androgénov a estrogénov. Pozorované zmeny u NPV našich oviec sú po použití CAP a po vybratí hubiek CAP, podaním GnRH, podobné zmenám zisteným u potkanov po ovariectómii. Z porovnania zmien objemu bunkových jadier neurosekrečných neurónov našich pokusných oviec so zmenami veľkosti bunkového jadra potkanov v *nuc. arcuatus* vyplýva, že podaný syntetický GnRH u oviec má podobný účinok ako estrogén podaný potkanom. Opísané pozorovanie zmien objemu *nuc. arcuatus* oviec po podaní CAP a GnRH môže svedčiť o tom, že pohlavné steroidy, a teda aj syntetické gestagény, senzibilizujú receptory neurónov hypotalamu pre účinok neurotransmiterov a tak môžu ovplyvniť syntézu a sekréciu regulačných hormónov (Arimura a Schally, 1971; Reeves a i., 1971; Bíró, 1978; Blake, 1979). Uvedený názor podporuje pozorovanie, že podaný GnRH u oviec, ktoré boli prv ošetrené CAP, vyvolá výraznejší posun variačnej krivky doprava, t. j., že sa jadrový objem sledovaných buniek zväčší výraznejšie u oviec, ktoré neboli ošetrené syntetickým gestagénom.

Porovnaním výsledkov pozorovania *pars distalis nuc. mammillaris medialis* oviec so zmenami *nuc. mammillaris medialis* u potkanov (Szentágothai a i., 1968) zistíme, že po podaní samotné CAP a GnRH je výsledok v podstate zhodný s nálezom u potkanov, ktorým sa podali pohlavné steroidy. Z kombinovaného použitia CAP a GnRH vyplýva, že aj keď nie tak výrazne ako v prípade *nuc. arcuatus*, sú neuróny sledovaného jadra senzibilizované CAP pre účinok zvýšenej koncentrácie GnRH v krvnom obeh.

Z uvedeného porovnania dosiahnutých výsledkov s dostupnými literárnymi údajmi a s našimi prv publikovanými zisteniami (Arendarčík a Maraček, 1976; Arendarčík, 1978) môžeme uviesť, že skúmaný syntetický gestagén a GnRH výrazne ovplyvňujú gonadotropnú funkciu adenohypofýzy nielen priamym účinkom na hypofyzárne bunky, ale aj nepriamym pôsobením cez neuróny hypofyziotropnej oblasti hypotalamu, ktorej súčasťou je aj skúmaný *nuc. arcuatus*, kde sú regulačné hormóny syntetizované (Barry a i., 1973; Palkovits a i., 1974; Barry a Carette, 1975; Naik, 1976; Barry a Croix, 1978; Horský a Presl, 1978).

Podľa dosiahnutých výsledkov sa zdá, že pri regulácii nielen sekrécie, ale aj syntézy GnRH môže hrať významnú úlohu ultrakrátká spätná väzba, uplatnenie ktorej však bude potrebné dokázať metódami, ktoré kvantitatívne umožňujú priamu detekciu GnRH v neurónoch *in situ*. Z našich výsledkov ďalej vyplýva, že podávaný CAP senzibilizuje sledované

hypotalamické štruktúry k pôsobeniu syntetického GnRH tým, že sa po jeho vysadení zvýši koncentrácia 17-beta estradiolu v systémovej obehu endogénneho pôvodu, ako to potvrdili Halagan a Arendarčík (1979).

Literatúra

- AKMAYEV, I. G. — RABKINA, A. E.: CNS-Endocrine pancreas system. I. The hypothalamus response to insulin deficiency. *Endokrinologie*, 68, 1976, č. 2, s. 211-220.
- AKMAYEV, I. G. — RABKINA, A. E.: CNS-Endocrine pancreas system. II. Response of dorsal nucleus of the vagus nerves to insulin deficiency. *Endokrinologie*, 68, 1976a, č. 2, s. 221-225.
- AKMAYEV, I. G. — KABOLOVA, Z. A. — RABKINA, A. E.: CNS-Endocrine pancreas system. IV. Evidence for the existence of a direct hypothalamic-vagal descending pathway. *Endocrinologie*, 71, 1978, č. 2, s. 175-182.
- ARENDAŘČIK, 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.
- ARENDAŘČIK, J. — ITZE, L. — MARAČEK, I. — LEHOCKÝ, J.: Výskum hypofyzárnych a extrahypofyzárnych gonadotropných hormónov u niektorých druhov hospodárskych zvierat. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1970, s. 1-344.
- ARENDAŘČIK, J. — MARAČEK, I. — HALAGAN, J. — ITZE, L. — STANÍKOVÁ, A.: Gonadotropná aktivita vo vzťahu k cytoarchitektonike adenohipofýzy a samičím pohlavným orgánom. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1975, s. 1-230.
- ARENDAŘČIK, J. — MARAČEK, I. — HALAGAN, J. — ITZE, L.: Regulácia estrálneho cyklu so zameraním na ovuláciu a periférny účinok liečiv používaných na synchronizáciu estru. In: Zborník Štátnej veterinárnej správy MPVŽ SSR, 2, 1977, s. 17-35.
- ARIMURA, A. — SCHALLY, A. V.: Augmentation of pituitary responsiveness to LH-releasing hormone (LH-RH) by estrogen. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 36, 1971, s. 290.
- BARRY, J. — CARETTE, B.: Immunofluorescence study of LRF neurons in primates. *Cell. Tiss. Res.*, 164, 1975, s. 163-178.
- BARRY, J. — CROIX, D.: Immunofluorescence study of the hypothalamo-infundibular LRH tract and serum gonadotropin levels in the female squirrel monkey during the estrous cycle. *Cell. Tiss. Res.*, 192, 1978, s. 215-226.
- BARRY, J. — DUBOIS, M. P. — POULAIN, P.: LRF producing cells of the mammalian hypothalamus. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.*, 146, 1973, s. 351-366.
- BÍRO, J.: A szteroid hormonok hatásmechanizmusa a receptorelmélet tükrében. In: A biológia aktuális problémái (13), Szerkesztette: Csaba György, Medicina könyvkiadó, Budapest 1978, s. 143-172.
- BLAKE, C. C. F.: Hormone receptors. *Endeavour*, 2, 1978, č. 3, s. 137-141.
- DÖCKE, F. — SMOLLICH, A.: Morphological differentiation of limbic nuclei during sexual maturation of female rats. *Endokrinologie*, 72, 1978, č. 1, s. 1-8.
- DOMÁŇSKI, E.: The role of the limbic formations of the central nervous system in the control of gonadotrophic hormones secretion and ovulation. In: Plenary papers VIIIth International congress on animal reproduction and artificial insemination, Krakow, July 12-16, 1976, s. 1-7.
- FLERKÓ, B.: Control of follicle-stimulating hormone and luteinizing-hormone secretion. In: *The Hypothalamus*, Eds.: L. Martini, M. Motta and F. Fraschini, Academic Press 1970, s. 351-363.
- FLERKÓ, B.: Szaporodásbiológiai szabályozási mechanizmusok néhány kérdése. *MTA Biol. Oszt. Közl.*, 17, 1974, s. 307-317.
- FISCHER, J. — INKE, G.: Nomogramme zur Berechnung des Kernvolumens. *Acta morph. hung.*, 7, 1956, s. 141-165.
- HALAGAN, J. — ARENDARČIK, J.: Vplyv LH/FSH-RH na estrogénnu aktivitu vaječníkov oviec. *Folia vet.*, Košice, 26, 1979, č. 1-2, (v tlači).
- HALÁSZ, B.: Recent observations on the structural organization of neural elements involved in control of anterior pituitary. In: Symposium on regulation of pituitary functions, abstracts of papers, Štrbské pleso, October 13-15, 1976, (53), s. 36-37.

- HORSKÝ, J. — PRESL, J.: Gynekologická endokrinologie. Avicenum, Praha 1978.
- KOĐOUSEK, R.: Histologie a histochemie lidské hypofýzy. Praha, Státní zdrav. na-
kladatelství 1961, s. 1-85.
- KOVÁCS, K. — DÁVID, M.: A neurohypophysis és a hypothalamus nucleus supra-
opticus és paraventricularis, vizsgáló módszerei. In: A kísérleti orvostudomány vizs-
gáló módszerei. VI. kötet, szerkesztette Kovács A., Akadémiai Kiadó, Budapest 1962,
s. 445-448.
- MARÁČEK, I. — ARENDARČIK, J.: Histochemical study of basophil cells in pars
distalis of bovine anterior pituitary. Endocr. exp., 5, 1971, s. 167-178.
- MARÁČEK, I. — ARENDARČIK, J.: Neurosekrét a PAS pozitívne mukopolysacha-
ridy v neurónoch hypothalamu jalovic po aplikácii melengestrol acetátu. Vet. Med.,
Praha, 23, 1978, č. 4, s. 239-250.
- 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 be-
tween neurosecretion and cytological changes in the hypophysis following the rate of
coitus in rabbits. Jap. J. zootech., 34, 1963, č. 6, s. 409-418.
- 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
ependymal cells. Cell. Tiss. Res., 173, 1976, s. 143-166.
- PALKOVITS, M.: A sejtmagvariációs statisztikai eljárás módszerének egyszerűsítése
és a mérési hibaforrások kiküszöbölésének feltételei. Kísér. Orvostud., Budapest,
14, 1962, s. 249-262.
- REEVES, J. J. — ARIMURA, A. — SCHALLY, A. V. — KRAGHT, C. L. — BECK,
T. W. — CASEY, J. M.: Effect of synthetic luteinizing hormone-releasing hormone
(follicle stimulating hormone-releasing hormone LH/FSH-RH) on serum LH, serum
FSH and ovulation in anestrus ewes. J. Anim. Sci., 35, 1972, č. 1, s. 84-89.
- STAUDT, J. — DÖRNER, G.: Structural changes in the medial and central amygdale
of the male rat, following neonatal castration and androgen treatment. Endokrino-
logie, 67, 1976, č. 3, s. 296-300.
- SZENTÁGOTHAJ, J. — FLERKÓ, B. — MESS, B. — HALÁSZ, B.: Hypothalamic
control of the anterior pituitary — an experimental-morphological study. Budapest,
Akadémiai Kiadó 1968.
- WELENTO, J. — SZTEYN, S. — MILART, Z.: Observations on the stereotaxic con-
figuration of the hypothalamus nuclei in the sheep. Ant. Anz., 124, 1969, s. 1-27.

Došlo dňa 29. 5. 1979

MARÁČEK, I. — ARENDARČIK, J. (Veternárny inštitút, Košice): Гистологические
и карнометрические изменения нейтронов некоторых ядер гипоталамуса овец после по-
дачи синтетического GnRH и хлормадинон ацетата. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2):
: 101-114.

В данной статье симультанно нами изучались изменения нейросекрета и объема клеточного
ядра нейтронов ядра переднего (nucleus hypothalamicus anterior — NHA, nucleus
paraventricularis — NPV, nucleus supraopticus — NSO), среднего (nucleus arcuatus
s. infundibularis — ARC) и заднего (pars dorsalis nuclei mammillaris medialis —
PD NMM) гипоталамуса овец, после подачи GnRH (химически: /piro/ Glu-His-Trp-
-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) и хлормадинон ацетата (химически: 6-хлор-6-де-
гидро-17-альфа ацетоксипрогестерон/CAP). Две анестрические овцы брались в качестве кон-
троля, две овцы после прекращения подачи CAP не обрабатывались GnRH — служили
также в качестве контроля. Третья группа получала GnRH в количестве 400 мкг на голову
внутримышечно. Хлормадинон ацетат (CAP) накапывался на влажные губки (30 мг
на губку) и вводился третьей группе. На 17 день вынимались внутривлагалищные губки
и на 19 день животным подавался GnRH, как и во второй группе. Объем ядра нейтро-
нов гипоталамуса определялся согласно методу Фишера и Инке (1956). CAP вы-
зывал понижение объема ядра нейтронов NPV. После удаления губок CAP введенный
GnRH поднимает вершину вариационной кривой, сдвинутой влево. После подачи CAP
вариационная кривая объема ядра нейтронов APC была сдвинута вправо. Подача GnRH

после удаления губок САР явно увеличивает объем ядра, как и у животных, обработанных только GnRH. Вышеприведенные качественно гистоцитологические и кариометрические изменения свидетельствуют о том, что САР и GnRH действуют на гипоталамус и гипофиз путем обратных связующих механизмов, причем САР сенсибилизирует нейтроны NPV, ARC и PD NMM под действием синтетического внутримышечно введенного GnRH.

нейтросекрет; кариометрия; гипоталамус; овцы; хлормадинон ацетат (САР); LH/FSH-RH

MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Histological and Karyometric Changes in the Neurons of Some Hypothalamus Nuclei in Ewes after the Administration of Synthetic GnRH and Chlormadinon Acetate*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 101-114.

Research was carried out to study simultaneously the changes in neurosecretion and in the volume of the cell nucleus of the neurons of the nuclei of the anterior, central, and posterior hypothalamus of ewes (anterior hypothalamus: *nucleus hypothalamus anterior* — NHA, *nucleus paraventricularis* — NPV, *nucleus supraopticus* — NSO; central hypothalamus: *nucleus arcuatus s. infundibularis* — ARC; posterior hypothalamus: *pars dorsalis nuclei mammillaris medialis* — PD NMM). These changes were induced by the administration of synthetic GnRH (chemically: /pyro/ Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) and chlormadinon acetate (chemically: 6-chlor-6-dehydro-17-alpha-acetoxypregesterone /CAP/). Two anoestrous ewes served for the control and two, which had not been treated with GnRH after the interruption of CAP administration, were the other controls. The third group was given GnRH at a rate of 400 µg per ewe (i. m.). Chlormadinon acetate (CAP) was introduced in the vaginae of the ewes in the third group in the form of vaginal tampons (30 mg per tampon). On the 17th day the intravaginal tampons were removed and on the 19th the animals were given GnRH like in the second group. The nuclear volume of the neurons of the hypothalamus was determined by the method described by Fischer and Inke (1956). CAP induces a reduction of the nuclear volume of NPV neurons. After the removal of CAP-soaked tampons, the administration of GnRH increases the peak of the variation curve shifted to the left. After CAP administration the variation curve of the volume of the nuclei of ARC neurons was shifted to the right. The administration of GnRH after the removal of CAP tampons induces a more pronounced enlargement of nucleus volume, as compared with the animals treated only with GnRH. The mentioned qualitative histocytological and karyometric changes support the view that CAP and GnRH act upon the hypothalamus and hypophysis by feedback mechanisms in which CAP sensitizes NPV, ARC, and PD NMM neurons for the action of synthetic GnRH, administered intramuscularly.

neurosecretion; karyometry; hypothalamus; ewe; chlormadinon acetate (CAP); LH/FSH-RH

MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Histologische und karyometrische Veränderungen der Neurone einiger Kerne des Schafhypothalamus nach der Verabreichung vom synthetischen GnRH und Chlormadinon-Azetat*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 101-114.

In der Arbeit untersuchten wir simultan die Veränderungen des Neurosekrets und des Volumens des Zellkerns der Neurone der Kerne von *nucleus hypothalamicus anterior* — NHA, *nucleus paraventricularis* — NPV, *nucleus supraopticus* — NSO (des vorderen Hypothalamus), von *nucleus arcuatus s. infundibularis* — ARC (mittleren Hypothalamus) und von *pars dorsalis nuclei mammillaris medialis* — PD NMM (hinteren Hypothalamus) bei Schafen nach der Verabreichung vom synthetischen GnRH (chemische Formel: /pyro/ Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) und vom Chlormadinon-Azetat (chemische Formel: 6-chlor-6-dehydro-17-alpha-azetoxypregesteron /CAP/). Zwei anestrische Schafe dienten als Kontrolle und zwei, die wir nach der Unterbrechung der Verabreichung von CAP mit GnRH nicht behandelten, als zweite Kontrolle. Der dritten Gruppe verabreichten wir GnRH in einer Gabe von 400 µg i. m. je Tier. Chlormadinon-Azetat (CAP) instillierten wir in Form von Vaginalschwämmchen (30 mg je Schwämmchen) bei der dritten Gruppe. Am 17. Tag nahmen wir die Schwämmchen heraus und am 19. Tag verabreichten

wir GnRH ähnlich wie bei der zweiten Gruppe. Das Kernvolumen der Neurone des Hypothalamus bestimmten wir anhand der Methode, wie Fischer und Inke (1956) anführen. CAP ruft eine Senkung des Kernvolumens der Neurone NPV hervor. Nach dem Herausnehmen der Schwämmchen erhöht das verabreichte GnRH-Präparat den Gipfel der Variationskurve, die nach links verschoben ist. Nach der CAP-Verabreichung war die Variationskurve des Volumens der Kerne der ARC-Neurone nach rechts verschoben. Die GnRH-Verabreichung nach dem Herausnehmen der CAP-Schwämmchen ruft eine deutlichere Vergrößerung des Kernvolumens als es bei den nur mit GnRH behandelten Tieren der Fall ist, hervor. Die angeführten qualitativen histozytologischen und karyometrischen Veränderungen unterstützen die Ansicht, daß CAP und GnRH einen Einfluß auf Hypothalamus und Hypophyse auf dem Wege der Mechanismen der Rückbindung ausüben, wobei CAP die Neurone NPV, ARC und PD NMM für die Wirkung des synthetischen i. m. verabreichten GnRH sensibilisiert.

Neurosekret; Karyometrie; Hypothalamus; Schafe; Chlormadinon-Azetat (CAP); LH/
FSH-RH

Adresa autorov:

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

PRŮZKUM PŘÍTOMNOSTI AFLATOXINŮ B₁ A M₁ V MASNÝCH VÝROBCÍCH

J. Bartoš, Z. Matyáš

BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Průzkum přítomnosti aflatoxinů B₁ a M₁ v masných výrobcích*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 115-118.

Chromatografickou metodou při použití tenké vrstvy silikagelu byly vyšetřeny 64 vzorky 31 různého druhu masných výrobků. Aflatoxin B₁ nebyl zjištěn ani v jednom vzorku. Pozitivní nálezy aflatoxinu M₁ se vyskytly ve třech výrobcích: v jádrové paště, uzené rolované plec a ve spíské klobáse. Semikvantitativním hodnocením byla zjištěna množství o 2,0 až 2,5 řádu nižší než je navrhovaná povolená koncentrace aflatoxinů v potravinách v ČSR pro dospělé jedince (5 µg kg⁻¹).

cizorodé látky; mykotoxiny; potraviny; masný průmysl; screeningové metody; TLC

Aflatoxiny jsou produkovány toxinogenními kmeny plísní *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Z řady známých aflatoxinů: B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂, B_{2a}, G_{2a}, B₃ (Parasiticol), P₁, GM₁, R₀ (Aflatoxicol) a Q₁ jsou z hlediska hygieny potravin nejdůležitější aflatoxin B₁ a M₁. Do organismu člověka se mohou aflatoxiny dostávat potravinami rostlinného i živočišného původu. Nejčastějšími zdroji jsou různé cereálie, především s vysokým obsahem tuku, mléko a mléčné výrobky. O přirozeném výskytu aflatoxinu M₁ v mléce a ve výrobcích mlékárenského průmyslu jsme referovali v předchozích pracích (Bartoš a Matyáš, 1978a, 1979). Účelem této práce bylo přezkoušet vhodnými metodami možnou přítomnost aflatoxinů ve výrobcích masného průmyslu, neboť v krmivech používaných v ČSSR jsou aflatoxiny nalézány (Fleischer, 1971; Bartoš a Matyáš, 1977; Piskač a Drábek, 1978 aj.).

MATERIÁL A METODA

Při vyhledávání vhodných metod na zjišťování přítomnosti aflatoxinů B₁ a M₁ ve výrobcích masného průmyslu jsme se zaměřili na tyto práce pojednávající o zjišťování aflatoxinů ve tkáních: Rossi aj. (1971), Brown aj. (1973), Krogh aj. (1973), Strzelecki (1973a), El Nawawy (1974), Murthy aj. (1975a, b), Jemmali a Murthy (1976), Jacobson aj. (1978), Strzelecki (1978).

Ve své práci jsme použili tyto postupy: Ke 100g vzorkům (nakrájeným nožem na kostky) jsme přidali 300 ml metanolu p. a. a mixovali v přístroji Eta-mira 5 minut, přidali 25 g křemelinu Hyflo Super Cel a mixovali opět 5 minut. Obsah jsme přefiltrovali 1cm vrstvou Hyflo Super Cel na filtračním papíře v Büchnerově nálevce. Nádobu jsme vypláchli 75 ml metanolu a přelili přes obsah v nálevce. Do

litrové dělicí nálevky jsme přenesli filtrát a přidali stejné množství 4% roztoku chloridu sodného. Nečistoty jsme odstraňovali třepáním s 200 ml směsí petroléter : hexan : benzen (2 : 1 : 2), celkem čtyřikrát. Z vodné metanolové fáze jsme extrahovali aflatoxin protřepáváním chloroformem (4 X 100 ml). Chloroformové extrakty jsme nalili do dělicí nálevky a přidali 300 ml 4% roztoku chloridu sodného. Po protřepání a oddělení fází jsme chloroform vypustili do kádinky a po přidání asi 14 g křemeliný Hyflo Super Cel a po promíchání jsme obsah přefiltrovali přes filtrační papír a odpařili na vakuovém rotačním odpařováku téměř do sucha. Čištění na sloupcích jsme dělali podle metody, kterou popsali Jemmali a Murthy (1976). Reziduum jsme rozpustili v 15 ml chloroformu a nanесли na sloupec s kyslíčnickem hlinitým, bezvodým síranem sodným a silikagelem. Baňku s reziduem jsme vypláchl ještě 5 ml chloroformu a přidali na sloupec. Nečistoty jsme odstraňovali 150 ml hexanu (nanášeného po 50 ml), pak 100 ml dietyléteru (nanášeného po 50 ml). Aflatoxin jsme eluovali 250 ml směsí chloroform : metanol (97 : 3). Eluát jsme odpařili na rotačním vakuovém odpařováku a reziduum jsme kvantitativně přenesli do lékovky (průměr 2 cm, výška 5 cm). Chloroform jsme odpařili pod dusíkem. V části pokusů jsme pracovali metodou popsanou Strzeleckim (1973a, 1978), u některých vzorků jsme použili z postupu pouze čištění na chromatografickém sloupci s kyslíčnickem hlinitým a bezvodým síranem sodným.

V převážné většině pokusů jsme použili způsob nanášení na fólie a vyvíjení podle Tuinstry a Brongsgeesta (1975). V jiných pokusech jsme oddělili levou a spodní stranu Silufolu UV 254 čarami 2 cm a vedli uhlopříčku z levého spodního rohu fólie do pravého horního rohu. Na uhlopříčku jsme ve vzdálenosti 0,7 cm a 3 cm nanášeli na první bod vzorek se standardy aflatoxinů B₁ a M₁ a na druhý (vzdálenější bod) jsme nanášeli vzorek. Veškeré reziduum jsme nanесли rovnoměrně na oba body. Vyvíjeli jsme ve dvou směrech, první směr v dietyléteru, druhý směr ve směsi chloroform : aceton : izopropanol (85 : 10 : 5). V části pokusů jsme použili způsob nanášení vzorků na fólie a vyvíjení podle Strzeleckiho (1978).

Z potvrzovacích testů jsme použili postřík skvrn 20% roztokem kyseliny sírové.

Z masných výrobků bylo vyšetřeno na přítomnost aflatoxinů B₁ a M₁ 31 různých druhů výrobků: párek s telecím masem, trampská cigára, slovácká domácí klobása, špekáčky, salám polský, šunkový, gothajský, kabanos, salám tyrolský, bratislavský, český, holešovský, hodonínský, pivní, družstevní, hlavičkový, jemný, turistický II, turistický trvanlivý, spišská klobása, moravské uzené, bučkový závin, brněnská roláda, kladenská roláda, játrový sýr, játrový lahůdkový salám, lahůdkové játrovky, domácí sekaná pečeně, uzená rolovaná plec, šunka, játrová paštika v konzervě. Celkem jsme vyšetřili 64 vzorky, které jsme odebrali přímo z prodejen. Pokusy probíhaly od června do listopadu 1978.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Použitými metodami jsme ani v jednom ze 64 výrobků masného průmyslu nezjistili přítomnost aflatoxinu B₁. Pozitivní nálezy aflatoxinu M₁ se vyskytly ve třech výrobcích: v játrové paštice, uzené rolované pleci a spišské klobáse, tedy v 4,7 testovaných vzorků. Zjištěná množství při semikvantitativním hodnocení byla o 2 až 2,5 řádu nižší, než je navrhovaná povolená koncentrace aflatoxinů v potravinách v ČSR pro dospělé jedince (5 µg kg⁻¹).

I když existuje v literatuře poměrně dost prací, zabývajících se izolací toxinogenních kmenů plísní z různých masných výrobků (např. domácí šunka, párky aj.) [Strzelecki aj., 1969; Strzelecki a Badura, 1972] a umělou kontaminací těchto výrobků toxinogenními kmeny *Aspergillus flavus* s následným nálezem aflatoxinů v masných výrobcích, jsou práce zabývající se zjišťováním aflatoxinů v masných výrobcích zcela ojedinělé. El Nawawy (1974) vyšetřil 45 masných výrobků s plísnovým povlakem. Aflatoxin B₁ nebyl nalezen. Hanssen a Jung (1973) při vyšetřování spontánně zaplísňených potravin zjistili ve dvou z deseti vzorků slaniny aflatoxin B₁ v množství 1 mg kg⁻¹ a 5 mg kg⁻¹. Strzelecki a Badura (1972) izolovali ze „suchých krakovských párků“ čtyři toxinogenní kmeny *Aspergillus flavus*, ale

aflatoxin v párcích nezjistili. Řada prací se zabývala analýzou uměle přidávaného aflatoxinu do tkání (např. Bullerman aj., 1969; Burmeister a Leistner, 1970; Brown aj., 1973; Strzelecki, 1973a, b; Murthy aj., 1975b) a analýzou tkání po podávání krmiv s aflatoxinem zvířatům (např. Krogh aj., 1973; Murthy aj., 1975a; Jemmali a Murthy, 1976; Jacobson aj., 1978).

Ve své předchozí práci (Bartoš a Matyáš, 1978b) jsme vypracovali screeningovou metodu na zjišťování přítomnosti aflatoxinu B₁ v játrech a svalovině jatečných zvířat. Tato metoda je poměrně rychlá a jednoduchá. Není však vhodná na vyšetřování přítomnosti aflatoxinu M₁, neboť při popsáném metodickém postupu je aflatoxin M₁ překryt nečistotami. Proto jsme v této práci použili různé metody a další modifikace, jak jsme uvedli ve statí materiálu a metoda. Poněvadž jsme se snažili vypracovat takovou metodu, která by dovolovala nanést veškeré reziduum na jeden bod, setkávali jsme se často s poměrně velkým množstvím nečistot. V některých případech se vyskytovaly žlutě svítící nečistoty v blízkosti možného výskytu aflatoxinu M₁, které však po postříku 20% kyselinou sírovou zmizely a v případě pozitivních vzorků daly vyniknout skvrnám aflatoxinu, které se postříkem kyselinou sírovou změnilly v žlutě svítící skvrny. Bylo by vhodné ještě zdokonalit pracovní postupy, aby množství nečistot poblíž místa výskytu aflatoxinu M₁ na chromatogramu bylo co nejmenší i při dvojnásobném množství vzorků. Porovnáme-li na fóliích extrakt mléka s extraktem z masných výrobků, zjistíme, že extrakt mléka je při námi voleném postupu nesrovnatelně čistší (Bartoš a Matyáš, 1978a).

Poděkování: Za poskytnutí standardů aflatoxinů B₁ a M₁ děkujeme ing. D. Veselému z Ústavu experimentální medicíny ČSAV. Za technickou spolupráci děkujeme s. B. Seidlové a s. L. Helánovi.

Literatura

- BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z.: Screening na přítomnost aflatoxinu B₁ v krmivech. Vet. Med., Praha, 22, 1977, s. 729-735.
- BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z.: Výběr metod pro zjišťování přítomnosti aflatoxinů v tekutém mléce. Vet. Med., Praha, 23, 1978a, s. 559-567.
- BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z.: Průzkum možné přítomnosti aflatoxinu B₁ v játrech a svalovině jatečných zvířat. Vet. Med., Praha, 23, 1978b, s. 541-548.
- BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z.: Zjišťování aflatoxinů v sýrech. Vet. Med., Praha, 24, 1979, s. 183-189.
- BROWN, N. L. — NESHEIM, S. — STACK, M. E. — WARE, G. M.: Method for the determination of aflatoxin in animal tissue. J. Ass. off. analyt. Chem., 56, 1973, s. 1437-1439.
- BULLERMAN, L. B. — HARTMAN, P. A. — AYRES, J. C.: Extraction and analysis of aflatoxins from cured and aged meats. J. Ass. off. analyt. Chem., 52, 1969, s. 638-641.
- BURMEISTER, H. R. — LEISTNER, L.: Aflatoxinbildung in Fleischwaren. Fleischwirtschaft, 50, 1970, s. 685.
- EL NAWAWY, F. A.: Zum Nachweis von Aflatoxin in Fleischwaren. Wien. tierärztl. Mschr., 61, 1974, s. 66-68.
- FLEISCHER, I.: Studie o rozsahu kontaminace podzemnicových sójových extrahovaných šrotů aflatoxinem. Krmivářství, 7, 1971, s. 101-104.
- HANSSEN, E. — JUNG, M.: Control of aflatoxins in the food industry. In: KROGH, P.: Control of Mycotoxins. London, Butterworths 1973, s. 239-250.
- JACOBSON, W. C. — HARMEYER, W. C. — JACKSON, J. E. — ARMBRECHT, B. — WISEMAN, H. G.: Transmission of aflatoxin B₁ into the tissues of growing pigs. Bull. envir. Contam. Toxicol., 1978, s. 156-161.
- JEMMALI, M. — MURTHY, T. R. K.: A chemical assay method for the determination of aflatoxin residues in animal tissues. Z. Lebensmittelunters. Forsch., 161, 1976, s. 13-17.

KROGH, P. — HALD, B. — HASSELAGER, E. — MADSEN, A. — MORTENSEN, H. P. — LARSEN, A. E. — CAMPBELL, A. D.: Aflatoxin residues in bacon pigs. *Pure Appl. Chem.*, 35, 1973, s. 275-281.

MURTHY, T. R. K. — JEMMALI, M. — HENRY, Y. — FRAYSSINET, C.: Aflatoxin residues in tissues of growing swine: effect of separate and mixed feeding of protein and protein-free portions of the diet. *J. Anim. Sci.*, 41, 1975a, s. 1339-1347.

MURTHY, T. R. K. — JEMMALI, M. — ROSSET, R.: Studies on the recovery of aflatoxin B₁ injected into frozen beef at different intervals of storage. *Z. Lebensmittelunters. Forsch.*, 158, 1975b, s. 5-7.

PISKAC, A. — DRÁBEK, J.: Výskyt aflatoxinů v krmivech pro prasata. *Vet. Med., Praha*, 23, 1978, s. 437-446.

ROSSI, C. M. — BORGATTI, A. R. — CORTESI, P. — CRISSETIG, G.: Determinazione di aflatoxine in materiali biologici. *Atti Soc. ital. Sci. vet.*, 25, 1971, s. 437-441.

STRZELECKI, E. L.: Extraction and determination of *Aspergillus flavus* metabolites — aflatoxins from meat products. *Pure Appl. Chem.*, 35, 1973a, s. 297-307.

STRZELECKI, E. L.: Behaviour of aflatoxins in some meat products. *Acta microbiol. pol.*, Ser. B, 5, 1973b, s. 171-177.

STRZELECKI, E. L.: Aflatoxin determination in animal tissues. *Zentbl. VetMed.*, B, 25, 1978, s. 194-201.

STRZELECKI, E. L. — BADURA, L.: Occurrence of aflatoxinogenic molds on "Dry cracker sausage". *Acta microbiol. pol.*, Ser. B, 4, 1972, s. 233-239.

STRZELECKI, E. L. — LILLARD, H. S. — AYRES, J. C.: Country cured ham as a possible source of aflatoxin. *Appl. Microbiol.*, 18, 1969, s. 938-939.

TUINSTR, L. G. M. Th. — BRONGSEEST, J. M.: Determination of aflatoxin M₁ in milk at the parts per trillion level. *J. Chromat.*, 111, 1975, s. 448-451.

Došlo dne 9. 11. 1979

БАРТОШ, И. — МАТИАШ, З. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Определение наличия афлатоксинов В₁ и М₁ в мясных изделиях. *Vet. Med., Praha*, 25, 1980 (2): 115-118.

По хроматографическому методу, при использовании тонкого слоя силикагеля, исследовали 64 образца 31 вида разных мясных изделий. Ни в одном из них не был обнаружен афлатоксин В₁, а М₁ — в 3 изделиях: в паштете из печени, в копченном лопаточном рулоне и в спичских сардельках. С помощью семиквантитативной оценки установлено количество, на 2,0—2,5 раза меньшее, чем рекомендуемый допуск концентрации афлатоксинов в продовольствии для ЧСР для взрослых (5 $\mu\text{g kg}^{-1}$).

чужеродные тела; микотоксины; продовольствие; мясная промышленность; скрининговые методы; TLC

BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z. (Veterinary Research Institute, Brno): *Research on the Presence of Aflatoxins B₁ and M₁ in Meat Products*. *Vet. Med., Praha*, 25, 1980 (2): 115-118.

Sixty-four samples of thirty-one kinds of meat products were examined by the chromatographic method with the use of a thin layer of silica gel. No aflatoxin B₁ was revealed in any of the samples. Positive findings of aflatoxin M₁ were obtained in three products: liver paste, smoked rolled shoulder, and in the Spíš sausage. The values found in semiquantitative evaluation were lower by 2.0 to 2.5 orders than the proposed admissible aflatoxin concentration in foods for adults in the Czech Socialist Republic (5 $\mu\text{g kg}^{-1}$).

foreign substances; mycotoxins; foods; meat industry; screening methods; TLC

Adresa autorů:

MVDr. Jaroslav Bartoš, CSc., prof. MVDr. Zdeněk Matyáš, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

HEMATOLOGICKÉ HODNOTY PSŮ-KŘÍŽENCŮ DODÁVANÝCH n. p. VELAZ

R. Petz, L. Viktora, O. Matoušek

PETZ, R. — VIKTORA, L. — MATOUŠEK, O. (Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha): *Hematologické hodnoty psů-kříženců dodávaných n. p. VELAZ*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 119-128.

Uvádíme výsledky stanovení kompletního hemogramu, osmotické rezistence a sedimentace červených krvinek 21 intaktních pokusných psů-kříženců, vykupovaných a dodávaných národním podnikem Velkochovo laboratorních zvířat, a porovnáváme je s odpovídajícími průměrnými hodnotami těchto parametrů, které byly vypočteny z literárních údajů. Zjišťované výchozí hodnoty pokusných skupin nebo hodnoty kontrolních skupin uvedeného druhu zvířat jsou považovány za normální, jestliže se při porovnání s vypočteným standardem — včetně své směrodatné odchylky — pohybují v mezích, vytyčených jeho dvěma standardními odchylkami.

intaktní kontrolní pokusní psi; normální hematologické hodnoty; hemogram; krevní obraz; osmotická rezistence erytrocytů; sedimentace červených krvinek

Na četných pracovištích v ČSSR se k výzkumným účelům používají pro biologické nebo lékařské experimenty pokusní psi. Především ekonomické důvody vedou k nutnosti využívat pro krátkodobé experimenty zvířata nikoliv čistokrevná, která v terénu vykupuje a ústavům dodává n. p. Velkochovo laboratorních zvířat. Použití psů z inbredních chovů je omezeno jen na ty oblasti výzkumu, ve kterých je to naprosto nezbytné, t. j. pro dlouhodobé — např. fyziologické — pokusy. Vzhledem k rozdílům hematologických hodnot, které jsou uváděny v literatuře (Schermer, 1958; Barański aj., 1962; Pospíšil a Komárek, 1963 a jiní), zásadně pro každý pokus plánujeme skupinu kontrolních zvířat; výchozí, předpokládané hodnoty zvířat určených do pokusné skupiny porovnáváme s hodnotami této kontrolní skupiny, kterou odebíráme v paralelních intervalech a zatěžujeme ji stejnými stresy, kromě zásadního sledovaného účinku studovaného prostředku, zásahu ap. Ve snaze posoudit, zda hodnoty zjišťované u zvířat těchto kontrolních skupin jsou v normálních mezích, porovnávali jsme je dříve s výsledky, kterých dosáhli různí renomovaní autoři. S ohledem na zmíněné rozdíly jsme však posléze z průměrných hodnot publikovaných těmito autory a přehledně uváděných v nejznámějších dostupných publikacích vypočítali průměry a směrodatné odchylky a údaje, zjišťované u našich zvířat, jsme situovali do takto získaného rozmezí normálních hodnot. K posouzení, zda

hematologické ukazatele zvířat v našich kontrolních skupinách anebo výchozí hodnoty pokusných sestav před započítím experimentu jsou identické pro tentýž používaný druh dodávaných psů, stanovili jsme kompletní hemogram, osmotickou rezistenci a sedimentaci erytrocytů u skupiny intaktních zdravých zvířat obou pohlaví. Protože většinu dodávek tvoří stejný druh psů, který je zastoupen v naší sestavě, blíží se tato sestava náhodnému výběru, schopnému reprezentovat ony charakteristiky uvedených ukazatelů, které mají tato zvířata k pokusné práci převážně používaná. Průměrné hodnoty z této skupiny jsme statisticky porovnali s vypočteným průměrem (o němž byla zmínka) a s jeho směrodatnou odchylkou. V této práci předkládáme vypočtené standardní průměry a vlastní zjištěné hematologické hodnoty intaktních pokusných psů.

MATERIÁL

POKUSNÁ ZVÍŘATA

Pro pokusy jsme použili celkem 21 psů obojího pohlaví, vesměs ovčákovitých kříženců středního věku (v průměru 3 roky), o průměrné hmotnosti $19,0 \pm 3,4$ kg, kteří byli zdraví a dobře živení, tzn., že odpovídali přijímacím podmínkám. Během 14denní aklimatizace v ústavním zvěřinci byli krmeni jednou denně smíšenou stravou podle normy ČSAV.

ODBĚRY VZORKŮ KRVE

Krevní vzorky jsme odebírali experimentálním psům vždy v ranních hodinách, na lačno, z v. *cephalica antebrachii*, silikonovanou jehlou do Wintrobovy směsi. Zpracovávali jsme je nejpozději do dvou hodin po odběru.

METODY

Počty krevních elementů jsme stanovovali klasickými metodami vždy dvojmo. Dále jsme v erytrocytech vypočítávali

barvivo červené krvinky (BČK) podle vzorce

$$\frac{\text{g\% Hb} \cdot 100}{\text{Ery v l ml} : 10^5}$$

barevnou koncentraci (BK) ze vzorce

$$\frac{\text{g\% Hb} \cdot 100}{\text{Ht}}$$

barevný index (BI) podle vzorce

$$\frac{\text{\% Hb}}{2 \cdot \text{počet Ery}}$$

střední objem červené krvinky (SOČK) ze vztahu

$$\frac{\text{Ht} \cdot 100}{\text{Ery v l ml} : 10^5}$$

Retikulocyty jsme počítali pomocí brilantkresolové modři (Viktora a Livora, 1964), krevní destičky jsme stanovovali přímou metodou podle Brechera a Cronkita (1953) s použitím 1% šfavelanu amonného, ředěného

v poměru 1 : 200. Diferenciální rozpočet bílých krvinek byl hodnocen v každém nátěru vždy na 250 buněk. Osmotická rezistence červených krvinek byla určována v řadě hypotonických roztoků chloridu sodného. Sedimentaci erytrocytů jsme dělali obvyklým způsobem podle Westergreena a odečty za jednu a dvě hodiny. Hemoglobin byl vyšetřován cyanhemiglobinovou metodou s použitím modifikovaného Drabkinova roztoku (ON 84 3202). Hematokrit byl stanovován ve Wintrobově hematokritové rource centrifugací po dobu 30 minut při 3000 otáčkách s korekcí hodnoty faktorem 0,95 (ON 84 3203). Všechny hodnoty jsou uváděny v soustavě SI.

STATISTICKÉ VÝPOČTY

Při statistickém zpracování jsme vypočítávali průměry, směrodatné odchylky (SD) a směrodatné odchylky průměrů ($SD_{\bar{x}}$). Věnovali jsme pozornost rozdílu vlivem tělesné hmotnosti, věku, pohlaví. Pro testování jsme používali t -testu a F -testu.

Pro výpočet normálních hodnot z literárních údajů dostupného, popř. staršího písemnictví, obsahujícího v přehledech výsledky známých autorů, jsme vyhledali ty hodnoty, které jsou uváděny jako průměrné a bez ohledu na to, z jakého počtu zvířat byly stanoveny, jsme z nich vypočetli průměry a směrodatné odchylky, k nimž jsme porovnávali vlastní výsledky. Pokud se autoři vyskytovali v přehledech několikrát, pro výpočet jsme jejich výsledky započítali pouze jednou: n je tudíž v tomto případě počet použitých průměrů.

VÝSLEDKY

Výsledky jsou seřazeny do tabulek, a to tak, že v tab. I jsou uvedeny průměry, SD a $SD_{\bar{x}}$ vypočtené z průměrných hodnot získaných z literární rešerše.

I. Průměry a směrodatné odchylky průměrných hematologických hodnot pokusných psů, vypočtené z údajů v literatuře (n = počet údajů) — The averages and standard deviations of the haematological mean values of laboratory dogs, as calculated from literary data (n = number of data)

Ukazatel	n	Průměr	SD	$SD_{\bar{x}}$
Ery . $10^{12} l^{-1}$	68	6,50	0,52	0,06
Hbg dl^{-1}	53	14,90	1,95	0,27
Ht%	33	0,45	0,05	0,01
Bi%	6	0,89	0,17	0,08
SOČKfl	11	68,00	4,35	1,37
BČKpg	15	22,00	1,82	0,49
BK%	12	32,00	1,62	0,49
Ret. %	7	1,25	0,80	0,30
FWmm h^{-1}	8	3,47	1,64	0,62
OR% NaCl	5	0,49	0,06	0,03
Trombo . $10^9 l^{-1}$	22	360,00	109,00	23,00
Leuko . $10^9 l^{-1}$	48	11,30	1,90	0,28
Seg. neutro%	58	65,20	6,20	0,83
co%	54	5,00	1,90	0,26
bazo%	41	0,50	0,50	0,08
Mono%	49	5,60	1,60	0,23
Lymfo%	57	23,20	5,70	0,80

II. Průměrné hodnoty, směrodatné odchylky a směrodatné odchylky průměrů některých hematologických ukazatelů intaktních psů a fen kříženců. (* = statisticky významné rozdíly proti tab. I) — The mean values, standard deviations, and mean standard deviations of some haematological indices of intact male and female crossbred dogs

Ukazatel	Psi ($n = 14$)			Feny ($n = 7$)			Bez rozdílu pohlaví ($n = 21$)			Signifikance
	průměr	SD	$SD_{\bar{x}}$	průměr	SD	$SD_{\bar{x}}$	průměr	SD	$SD_{\bar{x}}$	
Ery . $10^{12} l^{-1}$	6,40	0,50	0,14	6,30	0,60	0,24	6,40	0,50	0,12	*
Hb g l^{-1}	16,40	1,70	0,48	17,00	1,40	0,59	16,70	1,68	0,37	
Ht%	0,47	0,04	0,01	0,46	0,04	0,02	0,47	0,04	0,01	
Bi%	0,81	0,07	0,01	0,85	0,09	0,03	0,83	0,08	0,02	
SOČK fl	73,00	5,10	1,44	73,00	5,60	2,30	73,00	5,30	1,19	
BČK pg	25,50	2,25	0,62	27,80	2,50	1,05	26,30	2,62	0,58	*
BK%	35,30	2,89	0,80	36,40	1,90	0,81	35,70	2,68	0,60	
Ret. %	2,10	0,60	0,20	2,10	0,60	0,20	2,10	0,60	0,10	
FW mm $h^{-1/2}$ h	3,7/10,8	4,6/13,4	1,2/3,7	8,1/17,8	6,3/16,1	2,6/6,6	5,5/13,2	5,7/14,7	1,3/3,3	
OR % NaCl	0,51	0,02	0,00	0,53	0,05	0,02	0,51	0,04	0,00	
Trombo . $10^9 l^{-1}$	208,00	61,00	17,00	236,00	47,00	19,00	217,00	58,00	13,00	*
Leuko . $10^9 l^{-1}$	11,00	2,90	0,82	12,00	1,90	0,78	11,30	2,70	0,60	
Tělesná hmotnost kg	19,40	2,69	0,89	18,30	4,10	1,69	19,00	3,42	0,85	

V tab. II jsou uvedeny dosažené hodnoty hematologických ukazatelů naší pokusné sestavy normálních zdravých intaktních psů-kříženců, dodávaných v ČSSR n. p. VELAZ. Přestože jsme při předběžném testování nezjistili významné rozdíly ani vlivem tělesné hmotnosti nebo věku, jež uvádíme průměrnou hodnotou, ale ani vlivem pohlaví, rozdělili jsme v tabulkách — hlavně pro názornost — zvlášť údaje pro psy a feny a hodnoty obou skupin dohromady — bez rozdílu pohlaví. Statistické významnosti rozdílů mezi našimi výsledky a vypočtenými průměry, uvedenými v tab. I, jsou označeny hvězdičkami. Pro diferenciální rozpočet se v menších pokusných sestavách nesnadno vypočítávají směrodatné odchylky zejména pro segmenty, tyčinky nebo eozinofily. Námi zjišťované průměrné hodnoty jsou velmi blízké těm, které uvádějí Altman a Dittmer (1974) v posledním vydání Biology Data Book; vyjadřujeme je v tab. III aritmetickým průměrem a rozmezím zjišťovaných hodnot.

III. Orientační průměry a rozmezí nejnižších a nejvyšších hodnot diferenciálního obrazu pokusných intaktních kříženců psů a fen a bez rozdílu pohlaví (zaokrouhleno na jedno desetinné místo) — Tentative means and ranges of the lowest and highest values of the differential picture of intact crossbred laboratory dogs and bitches and in dogs irrespective of sex (rounded to one decimal place)

%	Psi (n = 14)		Feny (n = 7)		Bez rozdílu pohlaví (n = 21)	
	průměr	rozmezí	průměr	rozmezí	průměr	rozmezí
Seg. neutro	64,8	(54,5–72,5)	62,2	(44,5–74,5)	64,0	(44,5–74,5)
Tyč. neutro	0,5	(0,0– 2,0)	0,5	(0,0– 1,5)	0,5	(0,0– 2,0)
Seg. eo	5,8	(3,0– 8,0)	3,1	(1,5– 5,0)	4,9	(1,5– 8,0)
Seg. baso	0,4	(0,0– 3,0)	0,7	(0,0– 3,5)	0,5	(0,0– 3,5)
Mono	5,5	(3,0–10,5)	5,4	(3,5– 7,0)	5,4	(3,0–10,5)
Lymfo	20,0	(15,0–32,0)	23,5	(16,0–34,5)	21,7	(15,0–34,5)
Pl. b.	1,5	(0,0– 4,0)	1,3	(0,0– 3,0)	1,4	(0,0– 4,0)

DISKUSE

Jak jsme se zmínili již v úvodu, hematologické hodnoty pokusných zvířat, uváděné různými autory, se často značně liší. Příčiny těchto rozdílů bývají připisovány různým vlivům: změny normálních fyziologických hodnot jsou uváděny do souvislosti s rasou, věkem, pohlavím (Scherrer, 1958), životními podmínkami (Pospíšil a Komárek, 1958), ale i s parazity, kteří mohou způsobovat výrazný pokles počtu červených krvinek (Pujman, 1960). Z dalších faktorů působících na normální krevní obraz pokusných psů bývají uváděny klimatické a geografické podmínky, doba a způsob odběru krve a použité metody (Pospíšil, 1956; Pospíšil a Komárek, 1958). Posledně citovaní autoři nepotvrdili vliv rasy, věk nebo pohlaví na počty červených krvinek a množství

hemoglobinu. V našich vlastních pokusech jsme nezjistili statisticky významné rozdíly stanovovaných hodnot vlivem tělesné hmotnosti, věku nebo pohlaví, ačkoliv se uvádějí rozdíly v diferenciaci mladších a starších psů nebo rozdíly krevního obrazu mezi psy a fenami (Michaelson aj., 1966). Naproti tomu Hohlmann (1934 — cit. Baraňski aj., 1962) uvádí, že se neliší průměrné počty červených krvinek mezi čistokrevnými a kříženými rasami, ale projevuje se rozdíl v rozsahu zjišťovaných hodnot u psů i fen, a to větší u čistokrevných, přičemž počty erytrocytů u fen jsou nižší a jejich pohlavní cyklus není provázen typickými změnami krevního obrazu. Ani údaje uváděné pro beagly se neliší od běžného průměru (Dellenback aj., 1969). Cirkadiánní kolísání krevních hodnot nebývá významné (Lorbach, 1974) a pokud jde o červené krvinky, není podstatný rozdíl v kolísání jejich počtu ani v průběhu roku, ani vlivem ročního období (Potkay a Zinn, 1969). Při srovnání hodnot červené složky krevního obrazu zvířat naší sestavy se šlechtěnými liniemi Horákova psa se neprojevily téměř žádné rozdíly u zkrížené linie; u inbrední linie bylo proti našim hodnotám nižší procento hemoglobinu (Hanušová, 1967). Protože se tatáž shoda projevuje také ve srovnání s hodnotami uváděnými Hoffmannem (1961) nebo s těmi, které reprodukuje Baraňski aj. (1962), anebo s výsledky pěti autorů z deseti, které uvádí Povetkinová (1963), bylo by možné tuto skutečnost považovat nejpravděpodobněji za metodickou záležitost. Námi zjištěné hodnoty obsahu hemoglobinu se neliší od těch, které uvádějí Altman a Dittmer (1964, 1974) i Pospíšil (1956) pro německého ovčáka nebo Michaelson aj. (1966) pro beagly. U této rasy se neliší tyto údaje pro jednorocní zvířata (Deavers aj., 1971) nebo pro dospělé psy (Dellenback aj., 1969; Michaelson aj. 1966). Podobně jsou námi zjišťované hodnoty hematokritu téměř totožné s údaji posledně citovaného autora nebo Hugginse aj. (1971) pro psy beagle. Z porovnání vzniká dojem, že stanovení mikrohematokritu poskytuje nižší hodnoty (Dellenback aj., 1969 — beagle). Schalm (1961) však kromě dalších výhod potvrzuje přesnější reprodukovatelnost mikrohematokritu. Sami jsme s ním měli velmi dobré zkušenosti, byť u jiného druhu zvířat (Petz, aj., 1964).

Snad nejvíce proměnné bývají počty leukocytů — možná také díky tomu, že zvířata někdy reagují leukocytární odpovědí i na krevní odběry. Z přehledů je zřejmé, že rozptyl hodnot patrně nesouvisí s věkem, protože hodnoty různých autorů, uváděné pro dospělé nebo mladší psy, jsou právě opačné. Rovněž modus $11,0 \cdot 10^9$, vyskytující se v sestavě Pospíšila a Komárka (1963), se neopakuje ani v jimi uváděných přehledech. Altman a Dittmer (1964) uvádějí širší rozmezí: $M = 12,0 \cdot 10^9$, $V_{min} = 8,0 \cdot 10^9$, $V_{max} = 18,0 \cdot 10^9$ Le.

Takto by bylo možné pokračovat pro jednotlivé ukazatele a konfrontovat výsledky dosažené různými autory mezi sebou nebo s námi zjištěnými hodnotami. V převzatých přehledech však nelze často zjistit ani výchozí počty zvířat, pohlaví nebo podmínky odběru či stanovení, ale ani statistické údaje. Geografické nebo klimatické podmínky je možné někdy pouze tušit. Z toho důvodu a na základě skutečností nebo zkušeností uvedených výše jsme se pokusili usnadnit možnost porovnání s jinými autory objektivizací jejich údajů výpočtem prů-

měrů z jimi uváděných průměrných hodnot. V některých případech byly průměry získány ze značně rozsáhlých pokusných souborů (např. Potkay a Zinn, 1969 — 160 zvířat, Pospíšil a Komárek, 1963 — 300 psů, Wintrobe, 1974 — 54 psi, Baez 120 psů, Scarborough, 1931 — 700 psů, Mayerson, 1930 — 60 psů atd. — cit. Baraňskij aj., 1962). Málo údajů jsme našli pro počty destiček nebo vypočítávané hodnoty červené krvinky, velmi málo pro retikulocyty. Možná, že to samo o sobě je důvodem statisticky významných rozdílů našich nálezů s vypočtenými průměry (pro průměr počtu trombocytů jsme použili 22 výsledků, pro retikulocyty jsme našli dokonce jen 7 údajů). Pro výpočet průměrného množství červenýchrvinek jsme ve smyslu zásad uvedených v metodice započítali 21 hodnotu z celkového počtu 32 údajů, které uvádějí Baraňskij aj. (1962), 26 hodnot 62 autorů zahrnutých do přehledu Pospíšilova (1956), 10 údajů — včetně jejích vlastních — Povetkinové (1963), dále hodnoty dosažené Hoffmanem (1961), Niepagem a Schaewenem (1969), Potkayem a Zinnem (1969), Dellenbackem aj. (1969), Schalmem (1961) a jinými.

Potom jsme porovnali vlastní výsledky s průměry vypočtenými z literatury plus/minus obvykle počítané dvě směrodatné odchylky a rovněž srovnali s výsledky uváděnými Sovou aj. (1965) a Sovou (1971). Námi dosažené hodnoty, s výjimkou zmíněných odchylek, se liší od vypočtených nepatrně vyššími průměry, ale s 1 *SD* se do vytyčeného rozmezí vejdou. Sova aj. (1971) se nepatrně liší horní hranicí danou jejich jednou směrodatnou odchylkou, s výjimkou hemoglobinu a z něj vypočítávaných hodnot. Srovnání našich a Sovových (1971) výsledků ukázalo menší rozdíly procenta hematokritu a hemoglobinu, jinak jsou výsledky téměř shodné, což v podstatě potvrzuje dřívější závěry těchto autorů, týkající se patrně zejména vlivů geografických a klimatologických.

Z práce Niepageho a Schaewena (1969) vysvítá, že podobným způsobem, který jsme my i oni použili pro odhad normálních hodnot, se vypočítávají i údaje pro Biology Data Book (Altman a Dittmer, 1961, 1974). Naše výsledky jsou vesměs bližší hodnotám uváděným v pozdějším vydání této publikace — zejména pro bílý krevní obraz. Experimentálním zjištěním Niepageho a Schaewena (1969) se naopak přibližují námi stanovené hodnoty procenta hemoglobinu a výpočet středního objemu červené krvinky. Vlastní výsledky uvedených autorů se od jejich nebo námi vypočtených literárních průměrů nebo údajů Biology Data Book (Altman a Dittmer, 1961, 1974) liší asi z 80 % — u červené složky krevního obrazu vyššími, u bílé složky nižšími hodnotami, což může souviset se způsobem použité eliminace zvířat.

Jestliže tedy rozdíly vlivem rasy, věku, pohlaví nebo hmotnosti nejsou signifikantní, jsou průměry z průměrů dobrou orientací při experimentální práci za předpokladu, že budou nejen definována pokusná zvířata, jejich počet a pokusné podmínky, ale že bude také dodržována objektivní nutnost dělat pokusy proti kontrolní skupině intaktních zvířat. Zdánlivé zvýšení nákladů na pokusy je vyváжено skutečností, že snižujeme riziko práce s artefakty. Ekonomickým přínosem může být srovnání výchozích, předpokusných vyšetření s hodnotami kontrolních

zvířat, jejichž počet je možné snížit na minimum, jsou-li zjišťované parametry v mezích uvedených vypočtených průměrů; kromě toho lze kontrolní zvířata zhruba po dvoutýdenní regeneraci po krevních odběrech znovu použít do pokusu.

Poděkování: Považujeme za milou povinnost poděkovat MVDr. J. Janečkovi, CSC., MVDr. I. Sýkorovi, CSC., doc. MVDr. J. Pospíšilovi, DrSc., za poskytnutí literárních pramenů.

Literatura

- ALTMAN, P. L. — DITTMER, D. S.: *Biology Data Book*. Fed. Am. Soc. exp. Biol., Washington 1964; *ibid.* Bethesda 1974.
- BARAŇSKI, S. — CZERSKI, P. — KRZEMIŃSKA-LAWKOWICZ, J. — KRZYMOVSKI, T. — LAWKOWICZ, W.: Układ krwiotwórczy zwierząt laboratoryjnych. Warszawa 1962.
- BRECHER, G. — CRONKITE, E. P.: Morphology and enumeration blood platelets. *J. appl. Phys.*, 3, 1950, s. 365-377.
- DEAVERS, S. — SMITH, E. L. — HUGGINS, R. A.: Changes in the red cell volume, venous haematocrit and haemoglobin concentration in growing beagles. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 137, 1971, s. 299-303.
- DELLENBACK, R. J. — USAMI, S. — CHIEN, S. — GREGERSEN, M. I.: Effect of splenectomy on blood picture, blood volume and plasma proteins in beagles. *Am. J. Physiol.*, 217, 1969, s. 891-897.
- HANUŠOVÁ, D.: Krevní obraz Horákova laboratorního psa. In: Sborník referátů z konference o laboratorních zvířatech ve Smokovci 1967. Praha 1968, s. 302-304.
- HOFFMANN, G.: *Abriss der Laboratoriumstierkunde*. VEB G. Fischer Verlag, Jena 1961.
- HUGGINS, R. A. — DEAVERS, S. — SMITH, E. L.: Growth in beagles: changes in body weight, plasma volume and venous haematocrit. *Pediat. Res.*, 5, 1971, s. 193-198.
- LORBACH, W. D.: Die Wirkung zweier Glucokortikoidpräparate auf Leukozytenzahl, Differentialblutbild, eosinophile Granulozyten und Blutzucker sowie auf den Natrium- und Kaliumgehalt in Blutplasma gesunder Hunde. [Inaug. Diss.] Giessen 1974. Justus Liebig Univ.
- MICHAELSON, S. M. — SCHEER, K. — GILT, S.: The blood of normal beagle. *J. Am. vet. med. Ass.*, 148, 1966, s. 532-534.
- NIEPAGÉ, H. — SCHAEWEN, V. H.: Über normale Erythrozyten- und Leukozytenwerte beim Hund. *Kleintierpraxis*, 14, 1969, s. 181-188.
- ON 84 3202: Stanovení koncentrace hemoglobinu v krvi. MZd., Praha 1965.
- ON 84 3203: Stanovení hematokritové hodnoty. MZd., Praha 1965.
- PETZ, R. — DUDEK, J. — ŠTĚRBA, O. — ROTH, Z.: Stanovení hemoglobinu v krvi normovolemických myši H-kmene. *Vnitř. lék.*, 10, 1964, s. 584-591.
- POSPÍŠIL, J.: Příspěvek k normálním hodnotám krevního obrazu psa (německého ovčáka). *Vet. Med.*, Praha, 2, 1956, s. 279-292.
- POSPÍŠIL, J. — KOMÁREK, J.: Vliv rasy na počet červených krvinek a množství krevního barviva u psa. *Vet. Čas.*, 7, 1958, s. 111-113.
- POSPÍŠIL, J. — KOMÁREK, J.: Peripheres Blutbild bei klinisch gesunden Hunden. *Arch. exp. VetMed.*, 17, 1963, s. 633-644.
- POTKAY, S. — ZINN, R. D.: Effect of collection interval, body weight and season on the haemograms of canine blood donors. *Lab. Anim. Care*, 19, 1969, s. 192-198.
- POVETKINA, Z. G.: O normativach osnovnykh gematologičeskikh pokazatel'ej u sobak. *Fyz. ž. SSSR*, 49, 1963, s. 366-369.
- PUJMAN, V.: Über das rote Blutbild einiger Tiere und über Umstände, die eine Änderung desselben hervorrufen. *Folia haemat.*, Lpz., 77, 1960, s. 196-203.
- SCHALM, O. W.: *Veterinary Hematology*. Bailliere, Tindall, Cox, London 1961.

- SCHERMER, S.: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. J. A. Barth Verlag, Leipzig 1958.
- SCHULZ, R.: Über die Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten beim Hund. [Inaugurale Dissertation.] Berlin 1965.
- SOVA, Z.: Základní hematologické a biochemické hodnoty u hospodářských zvířat. [Etap. závěr. zpráva.] Vysoká škola zemědělská, Praha 1971.
- SOVA, Z. — JÍCHA, J. — POSPÍŠIL, J. — KOMÁREK, J.: Hematologické a biochemické standardy domácích zvířat. III. Standardy u psů. In: Sborník VŠZ Praha, 1965, s. 571-574.
- VIKTORA, L. — LIVORA, J.: Příspěvek k metodikám používaným k počítání retikulocytů. Prakt. lék., Praha, 44, 1964, s. 430-434.
- WINTROBE, N. N.: Clinical Haematology. VII. Ed. Lea & Febiger, Philadelphia 1974.

Došlo dne 14. 6. 1979

ПЕТЦ, Р. — ВИКТОРА, Л. — МАТОУШЕК, О. (Институт гематологии и кровяной трансфузии, Прага): Гематологические показатели собак-помесей, поставляемых нац. предприятию ВЕЛАЗ. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 119-128.

Приводятся данные определения комплексной гемограммы, осмотической резистентности и седиментации красных телец 21 интактной подопытной собаки-помеси; их закупает и поставляет нац. предприятие Промышленное разведение лабораторных животных. Параметры животных равняются с соответствующими средними параметрами, приводимыми в литературе. Исходные значения подопытных или контрольных групп данного вида животных считаются нормальными, если при сопоставлении с вычисленным стандартом (включая стандартное отклонение) они находятся в пределах между двумя стандартными отклонениями.

интактные подопытные контрольные собаки; нормальные гематологические значения; гемограмма; картина крови; осмотическая устойчивость эритроцитов; седиментация красных тельцов

PETZ, R. — VIKTORA, L. — MATOUŠEK, O. (Institute of Haematology and Blood Transfusion, Praha): *The Haematological Values of Crossbred Dogs Supplied by the VELAZ National Corporation*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 119-128.

The results of the determination of the complete haemogram, osmotic resistance, and sedimentation of erythrocytes of 21 intact crossbred experimental dogs purchased and supplied by the Laboratory Animal Breeding Enterprise are presented, and these results are compared with the corresponding average values of the same parameters calculated from literary data. The obtained starting values of the experimental groups or the values of the control groups of these animals are regarded as normal when the comparison with the calculated standard — including standard deviation — shows that these values range within the limits set just by two standard deviations.

intact control laboratory dogs; normal haematological values; haemogram; blood picture; osmotic resistance of erythrocytes; sedimentation of erythrocytes

PETZ, R. — VIKTORA, L. — MATOUŠEK, O. (Institut für Hämatologie und Bluttransfusion, Praha): *Hämatologische Werte von den aus dem VEB VELAZ gelieferten Hundenkreuzungen*. Vet. Med., Praha, 25, 1980 (2) : 119-128.

Wir führen die Resultate der Bestimmung des kompletten Hämogramms, der osmotischen Resistenz und der Sedimentation der roten Blutkörperchen von 21 intakten Versuchshunden-Kreuzungen aus dem Ankauf und den Lieferungen vom volkseigenen Betrieb „Großzucht von Laboratoriumstieren (VELAZ)“ an und vergleichen die Angaben mit den Durchschnittswerten derselben Parameter, die aus Literaturangaben berechnet wurden. Die festgestellten Anfangswerte der Versuchsgruppen oder die Werte der Kontrollgruppen der angeführten Tierart werden als normal angesehen,

wenn sie sich im Vergleich zu den errechneten Standardwerten, einschließlich ihrer Standardabweichung, in den durch ihre zwei Standardabweichungen festgesetzten Grenzen bewegen.

intakte Kontrollversuchshunde; normale hämatologische Werte; Hämogramm; Blutbild; osmotische Resistenz der Erythrozyten; Sedimentation der roten Blutkörperchen

Adresa autorů:

RNDr. PhMr. Roman Petz, CSc., RNDr. Ladislav Viktora, ing. Ota Matoušek, Ústav hematologie a krevní transfúze, U nemocnice 1, 128 20 Praha 2

Blažek K., Uhlíková M., Hübner J., Schramlová J., Kur- sa J.: Orgánová reakce a protilátková odpověď při experimentální cysticer- kóze skotu	65
Kozumplik J.: Vliv způsobu rozmrazování semena na vitalitu a oplozovací schopnost spermií kance	73
Dvořák M., Ševčík B., Liebichová L.: Koncentrace chloramfenikolu v krvi, orgánech a vejcích drůbeže po aplikaci přípravku Chronicin solutio <i>ad usum vet.</i> (SPOFA)	81
Tokoš M., Arendarčík J., Praslička M., Maraček I., Staní- ková A., Balún J.: Zmeny vaječníkov oviec po ožiarení X-lúčmi	91
Maraček I., Arendarčík J.: Histologické a karyometrické zmeny neu- rónov niektorých jadier hypotalamu oviec po podaní syntetického GnRH a chlormadinon acetátu	101
Bartoš J., Matyáš Z.: Průzkum přítomnosti aflatoxinů B ₁ a M ₁ v mas- ných výrobcích	115
Petz R., Viktora L., Matoušek O.: Hematologické hodnoty psů-kří- ženců dodávaných n. p. VELAZ	119

СОДЕРЖАНИЕ

Блажек К., Угликова М., Губнер Я., Схрамлова Я., Курса Я.: Реакция органов и антител на экспериментальный цистицеркоз крупного рогатого скота	65
Козумплик Я.: Влияние способа размораживания семени на жизнеспособность и оплодотворительную способность спермиев хряков	73
Дворжак М., Шевчик Б., Либихова Л.: Концентрация хлорамфеникола в крови, органах и яйцах птицы после дачи Chronicin solutio <i>ad usum vet.</i>	81
Токош М., Арендарчик Я., Прасличка М., Марачек И., Стани- кова А., Балун Я.: Изменения яичников овец после облучения X-лучами	91
Марачек И., Арендарчик Я.: Гистологические и кариометрические изме- нения нейронов некоторых ядер гипоталамуса овец после подачи синтетического GnRH и хлормадинон ацетата	101
Бартош Я., Матиаш З.: Определение наличия афлатоксинов B ₁ и M ₁ в мяс- ных изделиях	115
Петц Р., Виктор Л., Матоушек О.: Гематологические показатели собак- помесей, поставляемых нац. предприятию ВЕЛАЗ	119

CONTENTS

Blažek K., Uhlíková M., Hübner J., Schramlová J., Kur- sa J.: The Organ Reaction and Antibody Response in the Course of Exper- imental Bovine Cysticercosis	65
Kozumplik J.: The Effect of the Method of Semen De-freezing on the Vitality and Fertilizing Capacity of Boar Semen	73
Dvořák M., Ševčík B., Liebichová L.: Chloramphenicol Concen- tration in the Blood, Organs and Eggs of Poultry after the Administration of Chronicin solutio <i>ad usum vet.</i> (SPOFA)	81
Tokoš M., Arendarčík J., Praslička M., Maraček I., Staní- ková A., Balún J.: Alterations on the Ovaries of Ewes after Exposure to X-rays	91
Maraček I., Arendarčík J.: Histological and Caryometric Changes in the Neurons of Some Hypothalamus Nuclei in Ewes after the Administration of Synthetic GnRH and Chlormadinon Acetate	101
Bartoš J., Matyáš Z.: Research on the Presence of Aflatoxins B ₁ and M ₁ in Meat Products	115
Petz R., Viktora L., Matoušek O.: The Haematological Values of Crossbred Dogs Supplied by the VELAZ National Corporation	119

INHALT

Blažek K., Uhlíková M., Hübner J., Schramlová J., Kur- sa J.: Organ- und Antikörperreaktion bei experimenteller Zystizerkose des Rindes	65
Kozumplík J.: Einfluß des Auftauverfahrens bei den Samen auf die Vi- talität und Befruchtungsfähigkeit der Eberspermien	73
Dvořák M., Ševčík B., Liebichová L.: Chloramphenikolkonzentra- tion im Blut, in den Organen und in Eiern beim Geflügel nach Applikation von Chlornicotin solutio <i>ad usum vet.</i> (SPOFA)	81
Tokoš M., Arendarčík J., Praslička M., Maraček I., Staní- ková A., Balún J.: Veränderungen der Eierstöcke bei Schafen nach Be- strahlung mit X-Strahlen	91
Maraček I., Arendarčík J.: Histologische und karyometrische Ver- änderungen der Neurone einiger Kerne des Schafhypothalamus nach der Ver- abreichung vom synthetischen GnRH und Chlormadinon-Azetat	101
Bartoš J., Matyáš Z.: Untersuchungen über das Vorkommen der Afla- toxine B ₁ und M ₁ in Fleischprodukten	115
Petz R., Viktora L., Matoušek O.: Hämatologische Werte von den aus dem VEB VELAZ gelieferten Hundenkreuzungen	119

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS -
ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14,
110 00 Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele.
Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice tisku, oddělení
vývozu tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské
závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2.