

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

6

ROČNÍK 35 (LXIII)

PRAHA

ČERVEN 1990

CENA 15 Kčs

CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Rídí redakční rada: akademik Jaroslav Otto Vrtiak (předseda), akademik Koloman Bođa, prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., ing. MVDr. Radomír Hromádko, prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, DrSc., MVDr. Jaroslav Palásek, CSc., prof. MVDr. Mikuláš Pješčák, CSc., doc. MVDr. Jozef Sokol, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Kudláč E., Pichová D.: Responze adenohipofýzy a účinnost aplikace syntetického GnRH (Dirigestran inj. Spofa) u krav <i>post partum</i>	321
Kozumplik J.: Morfologické změny a dekapitace spermií jako příčina poruch plodnosti plemenů	331
Kudweis M., Juliš I., Lojda Z., Vitovec J., Koudela B.: Denzita vybraných enzymů v pohárkových buňkách sliznice tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií <i>Isospora suis</i>	337
Tokoš M., Tokošová M., Arendarčík J.: Kvantitativne mikromorfologické štúdium vaječníkov u oviec po synchronizácii ruje a superovulácii v jesennom pripúšťacom období	349
Jurajda V., Schmidtová B., Rybová L.: Použití filtračního papíru k odběru krve u drůbeže a k následnému vyšetření přítomnosti protilátek proti viru Newcastleké nemoci	357
Krajčovičová-Kudláčková M.: Veková závislost utilizácie bielkovín na príjme tukov rôznej kvality	365
Vrzal V., Čupera Z., Chumela J., Zatloukal L.: Hodnocení účinnosti vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované NIH testem	373
Pohl P., Matouch O., Jaroš J.: Patologicko-morfologické změny v trávicím ústrojí račbických lišek	381

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Rosival I., Baran M.: Dvadsať rokov činnosti ÚEVM	356
---	-----

RECENZE

Vrtiak O. J.: Rosický B., Daniel M. a kol.: Lékařská entomologie a životní prostředí. 1989, Praha	364
---	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Кудлач Е., Пихова Д.: Ответ аденогипофиза и эффективность применения синтетического GnRH (Диригастрин инъекции Споса) у коров после родов	328
Козумплик Я.: Морфологические изменения и обезглавливание спермиев, как причина нарушений плодовитости племенных животных	335
Кудвейс М., Юлиш И., Лойда З., Витовец Й., Коудела Б.: Густота избранных энзимов в луковичных клетках слизистой оболочки тонкой кишки поросят экспериментально зараженных кокцидией <i>Isospora suis</i>	347
Токош М., Токошова М., Арендарчик Й.: Количественное микроморфологическое изучение яичников у овец после синхронизирования течки и суперовуляции в осеннем случном периоде	354
Юрайда В., Шмидтова Б., Рыбова Л.: Использование фильтрационной бумаги для отбора крови у птицы с последующим исследованием наличия антител против вируса Ньюкастленской болезни	362
Крайчовичова-Кудлачкова М.: Возрастная зависимость утилизации белковых веществ от потребления жиров разного качества	372

RESPONZE ADENOHYPOFÝZY A ÚČINNOST APLIKACE SYNTETICKÉHO GnRH (DIRIGESTRAN INJ. SPOFA) U KRAV *post partum*

E. Kudláč, D. Píchová

KUDLÁČ, E. — PÍCHOVÁ, D. (Vysoká škola veterinární, Brno; Výzkumný ústav pro biopreparáty a veterinární léčiva, Pohoří—Chotouň): *Responze adenohypofýzy a účinnost aplikace syntetického GnRH (Dirigestran inj. Spofa) u krav post partum*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6): 321—330.

Radioimunologická sledování (RIA) hladiny hypofyzárního FSH v periferní krvi u krav po porodu prokázala postupné zvyšování. Hodnota $32,93 \pm 3,71$ ng ml⁻¹ FSH čtvrtý až šestý den *post partum* se zvýšila až na $57,78 \pm 40,98$ ng ml⁻¹ kolem 40. dne po porodu. Hladina LH se ve stejné době měnila jen nepatrně (z $1,12 \pm 0,21$ ng ml⁻¹ na $1,72 \pm 1,15$ ng ml⁻¹). Hladina progesteronu v krvi krav prvních 15 dní po porodu se pohybovala kolem 0,40 ng ml⁻¹, od 25. dne *post partum* se zvýšila v průměru třikrát ($1,53 \pm 1,19$ až $1,59 \pm 1,25$ ng ml⁻¹). Responze adenohypofýzy krav na podaných 200 µg syntetického gonadorelinu (spec. Dirigestran inj. Spofa) se s prodlužujícím obdobím po porodu zvyšovala. Hladina FSH se v prvních 28 dnech *p.p.* zvyšovala méně výrazně a časově nestandardně (zvýšení bylo v průměru 1,5 až 3krát), v pozdějším období bylo zaznamenáno největší zvýšení zpravidla za 120 minut po aplikaci GnRH a bylo 300 až 500 %. Obdobné poměry nastaly i ve zvýšení hladiny LH v periferní krvi, od 26. dne *p.p.* však zvýšení činilo v průměru 500 až 600 %. Hladina progesteronu v periferní krvi od 25. dne *p.p.* se v průměru zvyšovala o více než 300 %. To svědčí o první poporodní ovulaci a formování se nového žlutého tělíska u většiny sledovaných krav. Aplikace 100 a 200 µg GnRH kravám kolem 15. a 30. dne po porodu u krav zabřezlých po vyléčení syndromu ovariálních cyst negarantuje v následujícím reprodukčním cyklu zábranu dalšího jejich výskytu. Nicméně opakované podání GnRH kolem 15. a 30. dne *p.p.* přispělo ke snížení výskytu ovariálních cyst a došlo ke stabilizaci prvního poporodního cyklu a zlepšení následné koncepce. Rozdíly však nebyly signifikantní.

skot; postpartální období; responze adenohypofýzy; gonadorelin (GnRH)

Kompletní involuce dělohy a normalizace funkce hypotalamohypofyzárně ovariálních osy, charakterizované nástupem plnohodnotné první postpartální říje, jsou limitující předpoklady pro znovuzařazení plemence po porodu do reprodukce a dosažení koncepce. Jsou proto vysoce aktuální snahy dokonale poznat mechanismy a faktory řídící a ovlivňující puerperium a na tomto základě vypracovat metody urychlující a stabilizující jeho průběh, tj. metody stimulace a aktivního řízení puerperia.

Na našem pracovišti se řešením uvedené problematiky již dlouhodobě a intenzivně zabýváme a získané poznatky tvořily teoretický základ k zformulování zásad zootechnickochovatecké péče a veterinárně hygienické kontroly plemenic v poporodním období a pro vypracování komplexního systému řízení reprodukce (Kudláč a Holý, 1984; Kudláč aj., 1985).

Významnou součástí prováděných šetření byly studie o endokrinním profilu u krav *post partum*. Již téměř před 20 lety jsme na základě méně dokonalých biologických metod konstatovali, že hormonální stav u krav po porodu je určován relativně vysokým obsahem FSH v adenohypofýze a jeho stupňujícím se uvolňováním do periferní krve a velmi nízkou

produkcí LH, která se však s prodlužujícím se obdobím po porodu významně zvyšuje (Kudláč, 1975).

Dnes je známo, že gonadotropní produkce, především LH, u krav mléčných plemen je v prvních 10 dnech *post partum* a u krav masných plemen ještě déle (15 a více dní) zcela blokována v důsledku buď nízkého uvolňování LH/RH z hypothalamických jader, nebo neschopnosti adenohipofýzy LH syntetizovat (Schams aj., 1978; Peters a Lamming, 1981, 1984; Malven, 1984; Madej aj., 1986 a další). Tato situace je pravděpodobně způsobována účinkem vysokých hladin progesteronu a estrogenů za březosti a vysokou hladinou placentárního laktogenu a prostaglandinů před porodem (Malven, 1984 a jím cit. autoři). Po porodu udržení stavu napomáhá vysoká hladina prolaktinu a kortisolu a snad i přímé stimuly přicházející do hypothalamu aferentními vlákny z mléčné žlázy (Schallenberger aj., 1984; Peters, 1984; Abey aj., 1984; Fisher aj., 1986; Madej aj., 1986). Zatím nejsou prokázány žádné specifické neurotransmitry nebo neuromodulátory ovlivňující uvolňování hypothalamických hormonů. Připouští se však možnost uplatnění serotoninu, který je nepostradatelný při uvolňování prolaktinu a inhibuje LH/RH, případně i opioidních peptidů met-enkefalinu a beta-endorfinu, jejichž obsah v CNS vlivem vysokých hladin gonadálních steroidů ke konci březosti narůstá (Malven, 1984, 1986; Whisnant aj., 1987; Peclaris, 1988). Sharpe aj. (1986) prokázali negativní účinek melatoninu na nástup říje u masných plemen krav po porodu, resp. prodloužení intervalu od porodu k první poporodní říji. Je prokázáno, že melatonin podmiňuje ovariální acyklii a sexuální sezónnost u klisen a že jeho obsah je v úzkém vztahu k délkou světelného dne, tj. fotoperiodismu (Stabenfeldt aj., 1987), a stejné tak u ovcí (Karsch aj., 1988).

Narušení kvantitativních poměrů v uvolňování hypofyzárních gonadotropinů v neprospěch LH způsobuje u krav nedozrání Graafova folikulu, vynechání ovulace a vznik syndromu ovariálních cyst. Někteří autoři se pokusili nedostatečnou sekreci LH u krav po porodu stimulovat, případně normalizovat aplikací gonadotropiny uvolňujících hormonů, nejčastěji jednorázově nebo opakovali ošetření po 10. dni *p.p.*, případně kolem 30. dne *p.p.* (Bostedt aj., 1980; Küpfer aj., 1981; Rob, 1984; Spicer aj., 1986; Smith aj., 1987; Coleman aj., 1988; Thibier aj., 1988). Nicméně výsledky dosažené v těchto experimentech nepřinesly jednoznačný efekt a mnohdy jsou i protichůdné.

V našem sdělení chceme krátce uvést výsledky našich experimentů cílených na zjištění responze adenohipofýzy krav po porodu na aplikaci syntetického gonadorelinu a určit praktickou hodnotu takového ošetření na stabilizaci pohlavní činnosti u krav po porodu, jejich koncepční schopnost a význam k prevenci ovariálních cyst u krav, které v předcházejícím reprodukčním cyklu trpěly a k zabřeznutí u nich došlo po vyléčení syndromu ovariálních cyst.

MATERIÁL A METODA

Do šetření jsme zařadili 33 krav kříženců červenostrakatého plemene s černostrakatým nížiným a plemenem holštýnsko-frýským, většinou po druhém až pátém porodu, klinicky zdravých, s normálně probíhajícím puerperiem a chovaných za jednotných podmínek. U plemenic, rozdělených v pěti- a později desetidenních intervalech do osmi podskupin, jsme v době 4 až 51 dní po porodu odebírali vzorky krve ke stanovení obsahu hypofyzárních hormonů FSH a LH a hladiny progesteronu. V uvedené době jsme stejným plemenicím jednorázově aplikovali *im.* 200 μ g syntetického gonadorelinu (5 ml Dirigestrin inj. Spofa). Před podáním přípravku a za 15, 30, 60, 120 a 240 minut po podání jsme odebírali krev z *vena jugularis* krátkodobě zavedenou kanylou, připravili z ní obvyklým způsobem krevní sérum a zmrazili je. Vlastní stanovení obsahu hypofyzárních gonadotropinů v krevním séru jsme prováděli radioimunologicky na přístroji Prias fy Packard. Ke stanovení LH byly použity protilátky připravené na NIAMCH-bLH₄, značení J 125 a kalibrační křivku jsme pořídili na standard USDA-b LH-I-/AFP — 600. Ke stanovení FSH byly použity protilátky

připravené se standardním preparátem HSH-NIHLS₉ ovine a stejný preparát byl použit k jodaci a pořízení kalibrační křivky.

Stanovení progesteronu jsme provedli RIA za použití standardy značené jódem podle metody, kterou stanovili Stupnicki aj. (1975) a opracovali Pícha a Píchová (1979).

V další části práce jsme se pokusili stanovit účinnost aplikace syntetického gonadorelinu (spec. Dirigestan inj. Spofa) kravám *post partum* ve smyslu stabilizace první poporodní říje a jako metody prevence výskytu syndromu ovariálních cyst.

Celkem jsme do klinického experimentu zařadili 187 krav červenostrakatého a černostrakatého plemene a jejich kříženců ve věku pěti až osmi roků s průměrnou mléčnou produkcí 4500 kg a chovaných za srovnatelných podmínek. U všech plemenic v předcházejícím reprodukčním cyklu (případně i opakovaně) byl diagnostikován syndrom ovariálních cyst. Plemenice zabřezly až po jeho vyléčení, většinou po podání syntetického GnRH. Zkoušeli jsme účinnost 100 a 200 μ g GnRH (2,5 a 5 ml spec. Dirigestan inj. Spofa im.), který jsme aplikovali buď jednozárovň 14. až 16. den p. p. nebo 28. až 32. den p. p., případně dávku 200 μ g opakovaně v obou uvedených termínech. U ošetřených krav ve srovnání s kontrolními jsme sledovali kvalitu první poporodní říje, výskyt syndromu ovariálních cyst a výsledky koncepce (podle obvyklých kritérií a parametrů plodnosti).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky šetření o hladinách hypofyzárních gonadotropinů FSH a LH a gonadálního progesteronu během poporodního období jsou uvedeny v tab. I. Nejnižší hladinu a nejstabilnější poměry v uvolňování FSH do periferní krve u všech krav jsme zjišťovali čtvrtý až šestý den po porodu, kdy i malá směrodatná odchylka svědčí o jednotné endokrinní situaci ($32,93 \pm 3,71$ ng. ml^{-1}). V dalších dnech se průměrná hladina FSH v krvi sledovaných krav zvyšovala a nejvyšší hodnoty jsme zaznamenali v době 19 až 21 dní ($59,90 \pm 26,12$ ng. ml^{-1}) a v době 39 až 41 dní ($57,78 \pm 40,99$ ng. ml^{-1}) po porodu, tj. v době, kdy jsme klinicky zjišťovali u řady krav na ovariích přítomnost rostoucího folikulu a na pohlavním ústrojí obraz odpovídající proestru. Na rozdílnost endokrinního profilu v pozdějším poporodním období u jednotlivých krav ukazuje i relativně velká směrodatná odchylka.

Hladina LH je ve všech sledovaných údobích na srovnatelné úrovni a v podstatě ani nebyly u ní zjištěny větší individuální rozdíly. Zjišťované hodnoty LH kolem 1,5 ng. ml^{-1} krevního séra jsou blízké údajům, které uveřejnili Schams (1978), Foster aj. (1980), Peters aj. (1981), Peters a Lamming (1984), Fisher aj. (1986), Madej aj. (1986) a jimi citovaní autoři. Relativně nejvyšší průměrné hodnoty námi zjištěné

I. Hladiny FSH, LH a progesteronu v krvi krav během puerperia — Concentrations of FSH, LH and progesterone in the blood of cows during puerperium

Doba po porodu	n	FSH [ng. ml^{-1}] $\bar{x} \pm s$	LH [ng. ml^{-1}] $\bar{x} \pm s$	Progesteron [ng. ml^{-1}] $\bar{x} \pm s$
4–6	5	$32,93 \pm 3,71$	$1,12 \pm 0,31$	$0,49 \pm 0,36$
9–11	3	$44,40 \pm 26,56$	$1,57 \pm 1,13$	$0,38 \pm 0,34$
14–16	5	$46,32 \pm 8,85$	$1,85 \pm 0,66$	$0,47 \pm 0,40$
19–21	3	$59,90 \pm 36,12$	$1,16 \pm 0,64$	$0,86 \pm 1,24$
24–26	4	$50,68 \pm 19,99$	$1,34 \pm 0,54$	$1,59 \pm 1,25$
29–31	6	$45,79 \pm 40,72$	$1,15 \pm 0,63$	$0,37 \pm 0,84$
39–41	3	$57,78 \pm 40,99$	$1,72 \pm 1,15$	$1,56 \pm 2,65$
49–51	4	$34,56 \pm 5,85$	$1,11 \pm 0,37$	$1,53 \pm 1,19$

II. Změny hladiny FSH v krvi krav po aplikaci 200 μg GnRH (5 ml Dirigestrin inj. Spofa) v různém období po porodu (průměrné hodnoty v $\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) — Changes in FSH concentration in the blood of cows after administration of 200 μg GnRH (5 ml Dirigestrin inj. Spofa) in different intervals after parturition (average values in ng per 1 ml)

Dny po porodu	n	Před aplikací	Po aplikaci				
			15'	30'	60'	120'	240'
4–6	5	32,94	78,78	68,18	74,09	81,34	64,47
9–11	3	44,40	66,33	65,90	69,72	60,58	60,40
14–16	5	46,33	75,80	86,60	99,94	85,62	66,08
19–21	3	59,90	67,53	151,49	154,32	175,64	130,97
24–26	4	50,67	64,04	89,87	124,63	146,75	101,48
29–31	6	45,79	49,46	71,52	85,02	179,68	78,93
39–41	3	57,78	73,26	81,49	107,68	187,50	85,47
49–51	4	34,57	55,66	87,83	135,40	171,17	75,60

v době 9 až 11 dní ($1,57 \pm 1,13 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) a 14 až 16 dní *p.p.* ($1,85 \pm 0,66 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) jsou v souladu s údaji, které publikovali Webb aj. (1980) a Peters a Lamming (1984); poukazují na určité zvyšování základní hladiny LH v krvi krav po desátém dni *post partum*.

V podstatě jsme provedeným radioimunologickým stanovením sledovaných hormonů v plné míře potvrdili naše dřívější zjištění (Kudláč, 1975), že u krav po porodu je hladina FSH v periferní krvi podstatně vyšší než hladina LH. Přitom jsme znovu zaznamenali výraznou tendenci k zvyšujícímu se uvolňování obou gonadotropinů z adenohypofýzy a zvýšení jejich obsahu v periferní krvi *p. p.* v závislosti na délce poporodního období.

Velmi nízké hladiny progesteronu v krvi krav prvních 15 dní *p.p.* (pod $0,5 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) svědčí o nepřítomnosti aktivního žlutého tělíska na ovariích. V průměru vyšší hladiny progesteronu zjišťované v době kolem 40. dne *p. p.* nesporně souvisejí se skutečností, že u některých sledovaných krav již proběhla ovulace a vykazovaly nové žluté tělísko. Relativně velká směrodatná odchylka poukazuje na rozdílnou intenzitu sekrece progesteronu u jednotlivých krav v závislosti na stupni rozvoje a funkční aktivitě žlutého tělíska.

Responze adenohypofýzy na aplikovaný gonadorelin (tab. II), zejména se zřetelem na uvolnění FSH byla zřejmá a v podstatě se s prodlužující dobou po porodu vždy zvyšovala. V prvních 26 dnech po porodu se po aplikaci GnRH hladina FSH zvyšovala méně výrazně a méně standardně, v průměru bylo zvýšení 1,5 až 3krát, v individuálních případech 6krát, jednou dokonce 9krát. Po 30. dni bylo zaznamenáno u všech krav maximální zvýšení za 120 minut po aplikaci GnRH a bylo zřetelně vyšší v průměru 3 až 5krát, v jednom případě až 16krát.

Zcela obdobný a ještě zřetelnější trend jsme zaznamenali v odpovědi adenohypofýzy na uvolňování LH po aplikaci GnRH (tab. III). Nejnížší odpověď byla zaznamenána u krav v prvních 15 dnech po porodu (v průměru 2krát), dosažení vrcholu bylo pozorováno nepravidelně až do 26. dne *p.p.* a zvýšení bylo v průměru 5 až 6krát. Od 30. dne po porodu byla odpověď všech krav daleko standardnější. Maximální zvýšení bylo zaznamenáno ve všech případech za 120 minut po podání GnRH a celkově bylo daleko nejvyšší (v průměru 9 až 10krát, v jednotlivých případech až 20krát). Statistické vyhodnocení výsledků (tab. IV) pak také ukázalo, že zvýšení hladiny FSH i LH po aplikaci GnRH 30. den a později *p.p.* bylo nejčastěji statisticky významné nebo vysoce významné ($P < 0,05 - 0,1$).

III. Změny v hladině LH v krvi krav po aplikaci 200 µg GnRH (5 ml Dirigestran inj. Spofa) v různém období po porodu (průměrné hodnoty v ng . ml⁻¹) — Changes in LH concentration in the blood of cows after administration of 200 µg GnRH (5 ml Dirigestran inj. Spofa) in different intervals after parturition (average values in ng per 1 ml)

Dny po porodu	n	Před aplikací	Po aplikaci				
			15'	30'	60'	120'	240'
4–6	5	1,12	2,21	2,01	1,75	2,30	1,53
9–11	3	1,57	2,54	3,51	1,78	2,23	2,37
14–16	5	1,85	3,77	4,17	5,02	3,40	2,09
19–21	3	1,16	2,25	6,66	5,58	7,19	4,51
24–26	4	1,35	2,74	3,59	5,10	7,12	3,61
29–31	6	1,15	3,15	3,15	3,94	9,98	4,72
39–41	3	1,72	4,75	5,81	7,45	17,14	6,88
49–51	4	1,12	2,55	3,89	7,24	10,17	3,73

IV. Statistická významnost změn v hladinách FSH a LH v krvi krav po aplikaci GnRH v různé době po porodu — Statistical significance of changes in FSH and LH levels in the blood of cows after administration of GnRH in different intervals after parturition

Doba po aplikaci GnRH	Srovnání délky doby po porodu [dny]						
	5–6 : : 9–11	5–6 : : 14–16	5–6 : : 19–21	5–6 : : 24–26	5–6 : : 29–31	5–6 : : 39–41	5–6 : : 49–51
FSH							
30'	—	—	+	—	—	—	—
60'	—	—	++	—	—	—	+
120'	—	—	++	—	+++	+	++
LH							
30'	—	++	+	++	+	++	++
60'	—	+	++	++	++	++	++
120'	—	—	+++	++	+++	+++	+++

Naše šetření tedy jednoznačně potvrdila údaje autorů citovaných v úvodu, že responze adenohipofýzy krav po porodu na aplikovaný GnRH je velmi nízká. Výrazně se však zvyšuje s prodlužujícím se obdobím. Také Fernandes aj. (1978) ukázali, že uvolnění LH po jednorázovém podání GnRH bylo signifikantně nižší u krav 3. den *p.p.* ve srovnání s kravami 10., 20., 30. a 40. den *post partum*. Foster aj. (1980) zjistili po aplikaci 200 µg GnRH větší responzi u krav 7 až 10 dní *p.p.* ve srovnání s kravami pět a méně dní *post partum*. Dhoble a Gupta (1986) prokázali rozdílnou reaktivitu adenohipofýzy na aplikovaný GnRH u anestrických krav. Obdobně Braun aj. (1988) prokázali, že míra stimulace sekrece FSH a LH u cyklujících krav je závislá na stadiu pohlavního cyklu a rozdílnou reakci pozorovali u krav s ovariálními cystami. Schoenmann aj. (1985)

V. Prevence výskytu ovariálních cyst u krav jednorázovým podáním 100 nebo 200 μg GnRH (2,5 nebo 5 ml Dirigestran inj. Spofa) v různé době *post partum* (I. pokus) — Prevention of the occurrence of ovarian cysts in cows treated with a single dose of 100 or 200 μg GnRH (2.5 or 5 ml Dirigestran inj. Spofa) in different intervals *post partum* (Trial I)

Aplikace p. p. [den]	Dávka Dirigestranu [ml]	Počet případů	Zabřezlo po I. inseminaci [%]	Březí celkem [%]	SP [dny]	Inseminační index	Opakovaný výskyt cyst, znovu léčeno [%]
14–16	2,5	20	33,3	75,0	99,8	2,2	25,0
14–16	5	20	36,8	95,0	93,7	2,0	35,0
28–32	2,5	25	31,8	88,0	93,4	2,0	44,0
28–32	5	18	37,5	88,8	98,03	1,9	38,8
Kontrola	—	40	34,2	95,0	102,2	2,1	37,5

VI. Prevence výskytu ovariálních cyst u krav aplikací 200 μg GnRH (5 ml Dirigestran inj. Spofa) *post partum* (II. pokus) — Prevention of the occurrence of ovarian cysts in cows with a single dose of 200 μg GnRH (5 ml Dirigestran inj. Spofa) in different intervals *post partum* (Trial II)

Den aplikace	n	Zabřezlo		SP [dny]	Inseminační index	V době 43–48 dní p. p. SOC diagnostikováno	
		po I. inseminaci [%]	celkem [%]			ks	%
Jednorázově 14–16 dní po porodu	22	54,54	90,90	84,6	1,42	3	13,63
Opakovaně 14–16 a 29–31 dní po porodu	19	63,15	94,73	86,5	1,32	2	10,52
Kontrola	23	47,82	82,60	96,2	1,66	10	43,48

studovali poměry v obsahu FSH/LH — RH receptorů v adenohipofýze jalovic a zjistili, že koncentrace těchto receptorů se u skotu dynamicky mění podle fyziologického stavu. Zastávají pak názor, že počet GnRH receptorů v adenohipofýze minimálně částečně podmiňuje rozdílnost v její citlivosti na gonadorelin. Je velmi pravděpodobné, že nízká rezpozibilita adenohipofýzy krav po porodu je kromě tlumivého účinku opioidních peptidů metenkefalinu a beta-endorfinu a dalších mechanismů inhibujících uvolňování hypotalamických a hypofyzárních hormonů. Může být také způsobována přítomností nízkého počtu GnRH receptorů a jejich počet se pravděpodobně zvyšuje s prodlužujícím se poporodním obdobím. Námi zaznamenané signifikantní zvýšení hladin FSH a LH po podání GnRH kolem 30. dne p.p. a později bylo zřejmě proto, že v této době nastupovala první poporodní říje. Schoenmann aj. (1985) zaznamenali, že množství GnRH receptorů v adenohipofýze je největší v době říje a tudíž, že v tomto období je její citlivost vůči LH/RH nejvyšší.

Výsledky prvního experimentu o prevenci ovariálních cyst aplikací Dirigestranu (tab. V) neukázaly v podstatě žádný efekt podávaného GnRH. Frekvence cyst byla prakticky stejná jak u neošetřených, tak u ošetřených krav bez ohledu na aplikované množství Dirigestranu a nijak se nelišila koncepční schopnost. Sledované reprodukční ukazatele byly prakticky stejné. K podobným závěrům došli i Berger (1986) a Eulenberger a Bittner (1984).

Druhý experiment dal příznivější výsledky, zejména když krávy byly ošetřeny opakovaně (tab. VI). Frekvence výskytu ovariálních cyst byla u ošetřených krav podstatně nižší, a to jak po jednorázové, tak i po dvojí aplikaci Dirigestranu (13,63 % a 10,52 % : 43,48 %). Všechny další sledované ukazatele byly rovněž lepší u ošetřených krav ve srovnání s neošetřenými kontrolními plemenici. Jednorázová ani opakovaná aplikace 100 nebo 200 µg GnRH14. až 16. nebo 28. až 32. den *p.p.* není spolehlivá metoda prevence syndromu ovariálních cyst. Opakované podání však napomáhá normalizaci a stabilizaci prvního poporodního cyklu a nepatrně pozitivně ovlivňuje další koncepční schopnosti krav *post partum*.

Literatura

- ABEY, A. — WARDENE, S. A. — MATHORN, D. J. — GLENCROSS, R. G.: Concentrations of 17-beta estradiol and defatted milk progesterone during the post partum anovulatory period, during oestrous cycles and following ovariectomy. *Brit. veter. J.*, 140, 1984, s. 458—467.
- BERGER, G.: Zur metapylaktischen Applikation von Gn—RH an 10. Tag post partum bei Kühen mit potentiell gestörtem Puerperium. *Mh. Veter.—Med. (Jena)*, 41, 1986, s. 701—703.
- BOSTEDT, H. — PECHE, E. — STROBEL, K.: Zur Auswirkung frühzeitig postpartum verabreichter GnRH Gaben auf Puerperalverlauf und Konzeptionsergebnis bei Kühen. *Erl. Münch. tierärztl. Wschr.*, 93, 1980, s. 104—108.
- BRAUN, U. — STOCK, A. — SCHAMS, D. — LEIDFL, W.: Endokrine Veränderungen beim Rind nach GnRH—Applikation I. GnRH — stimulierte LH und FSH — Sekretion in Abhängigkeit vom Zyklusstadium und bei Kühen mit Ovarzysten. *J. veter. Med. A*, 35, 1988, s. 129—137.
- COLEMAN, D. A. — BARTOL, F. F. — RAHE, C. H. — CHENAULT, J. R.: Endocrine and reproductive responses of beef cattle to a synthetic gonadotropin-releasing hormone against fertilin acetate. *Theriogenology*, 30, 1988, s. 149—157.
- DHOBLE, R. L. — GUPTA, S. K.: Response to synthetic gonadoliberein GnRH in anestrus cows. *Theriogenology*, 25, 1986, s. 759—765.
- EULENBERGER, K. — BITTNER, F.: Stimulation der Ovaritätätigkeit im Puerperium durch GnRH vet., Berlin-Chemie und verschiedene Gonadotropine als metapylaktische Messnahmen in Milchküherden. *Mh. Veter. — Med. (Jena)*, 39, 1984, s. 163—166.
- FERNANDES, L. C. — THATCHER, W. W. — WILCOX, C. J. — CALL, E. P.: LH release in response to GnRH during the postpartum period of dairy cow. *J. anim. Sci.*, 46, 1978, s. 443 až 448.
- FISHER, M. W. — HALE, D. H. — GLENCROSS, R. G. — HATHORN, D. J. — LAMMING, G. E. — PETERS, A. R.: Secretion of luteinizing hormone and oestradiol — 17beta in post partum milked and suckled cows. *Brit. veter. J.*, 142, 1986, s. 569—577.
- FOSTER, J. P. — LAMMING, G. E. — PETERS, A. R.: Short-term relationship between plasma LH, FSH and progesterone concentrations in post partum dairy cows and the effect of GnRH injection. *J. Reprod. Fertil.*, 59, 1980, s. 321—327.
- KARSCH, F. J. — MALPAUX, B. — WAYNE, N. L. — ROBINSON, J. E.: Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for timing seasonal reproduction in the ewe. *Reprod. Nutr. Develop.*, 28, 1988, s. 459—472.
- KUDLÁČ, E.: Hormonální stav a obnovení pohlavního cyklu u krav *post partum*. *Živoč. Vyr. (Praha)*, 20, 1975, s. 271—277.
- KUDLÁČ, E. — HOLÝ, L.: Řízení a kontrola reprodukce ve velkochovech skotu. Praha, SZN 1984.
- KUDLÁČ, E. — VINKLER, A. — VRTĚL, M. — VLČEK, Z. — VÁCLAVÍK, F.: Efektivnost systému komplexního řízení reprodukčního procesu. *Veterinářství*, 33, 1985, s. 109—111.
- KÜPFER, V. — STÄMPFLI, H.: Einfluss eines im Puerperium verabreichten GnRH—analogs auf die Fruchtbarkeit von Milchkühen. *Schweiz. Arch. Tierheilkde*, 123, 1981, s. 355—362.
- MADEJ, A. — KINDAHL, H. — LARSSON, K. — EDQVIST, L. E.: Sequential hormonal changes in the postpartum dairy cow. *Acta veter. scand.*, 27, 1986, s. 280—295.

- MALVEN, P. V.: Pathophysiology of the peripartum. In: Rep. on Xth Intern. Congr. on Animal Reprod., Urbana, 1984.
- MALVEN, P. V.: Inhibition of pituitary LH release resulting from endogenous opioid peptides. *Dom. An. Endocr.*, 3, 1986, s. 135–144.
- PECLARIS, G. M.: Effect of suppression of prolactin on reproductive performance during the postpartum period and seasonal anestrus in a dairy ewe breed. *Theriogenology*, 29, 1988, s. 1317 až 1326.
- PETERS, A. R. – LAMMING, G. E. – FISHER, M. W.: A comparison of plasma LH concentrations in milked and suckling post partum cows. *J. Reprod. Fert.*, 62, 1981, s. 567–573.
- PETERS, A. R.: Reproductive activity of the cow in the post partum period. I. Factors affecting the post partum acyclic period. *Brit. Veter. J.*, 140, 1984, s. 76–84.
- PETERS, A. R. – LAMMING, G. E.: Reproductive activity of the cow in the post partum period. II. Endocrine patterns and induction of ovulation. *Brit. veter. J.*, 140, 1984, s. 269–280.
- PETERS, A. R. – LAMMING, G. E.: Endocrine changes in the post partum period. In: Xth Intern. Congr. on Animal Reprod., Urbana, 1984.
- PÍCHA, J. – PÍCHOVÁ, D.: Kontrola estru a fertilní inseminace pomocí RIA stanovení progesteronu v mléce. [Závěrečná práce.] UHřetěves, Výzkumný ústav živočišné výroby 1977.
- ROB, O.: Studium některých faktorů ovlivňujících reprodukci skotu. [Doktorská disertace]. Praha 1984. – Vysoká škola zemědělská.
- ROB, O. – HERČÍK, J. – HLAVA, J.: Geburtsnachsorge bei Kühen – Biotechnik und Ökonomie. *Tierhyg. Inf. Sonderh.*, 1987, s. 89–96.
- SHARPE, P. H. – GIFFORD, D. R. – FLAVEL, P. F. – NOTTLE, M. B. – ARMSTRONG, D. T.: Influence of melatonin on anoestrus of beef cows during the post partum period. *Theriogenology*, 26, 1986, s. 621–629.
- SCHALLENBERGER, E. – WALTERS, D. L. – OSCHMANN, S. J. – MAYER, M. D.: Endocrine changes during the early post partum period in dairy cattle. In: Xth Intern. Congr. on Animal Reprod., Urbana, 1984.
- SCHAMS, D. – SCHALLENBERGER, E. – MENZER, CH. – STANGL, J. – ZOTT – MEIER, B. – HOFFMANN, B. – KARG, H.: Profiles of LH, PSH and progesterone in post partum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. *Theriogenology*, 1a, 1978, s. 453–468.
- SCHOENEMANN, H. M. – BROWN, J. L. – REEVES, J. J.: LHRH receptor LH and FSH concentrations in anterior pituitaries of cycling, noncycling and early pregnant heifers. *J. Anim. Sci.*, 60, 1985, s. 532–536.
- SMITH, G. – CHENAULT, J. R. – McALLISTER, J. F. – LAUOERDALE, J. W.: Response of post partum beef cows to exogenous progestogens and gonadotropin releasing hormone. *J. anim. Sci.*, 64, 1987, s. 540–551.
- SPICER, J. – CONVEY, E. M. – TUCKER, H. A. – ECHTERNKAMP: Effects of intermittent injections of LHRH on secretory patterns of LH and FSH and ovarian follicular growth during postpartum anovulation in suckled beef cows. *J. anim. Sci.*, 62, 1986, s. 1317–1323.
- STABENFELDT, G. H. – HUGHES, J. P. – KINDAHL, H.: Estrous cycle of the mare. In: Symposium equine reproduction, Copenhagen, 1987, s. 13–20.
- STUPNICKI, R.: Direct radioimmunoassay of LH in blood plasma of farm animals. *Endocrinology*, 66, 1975, s. 141–151.
- THIBIER, M.: Le recours à la gonadolibérine (GnRH) on analogues en médecine vétérinaire, analyse pharmacologique et thérapeutiques chez les bovins. *Ann. Rech. vétér.*, 19, 1988, s. 153 až 167.
- WEBB, R. – LAMMING, G. E. – HAYNES, N. B. – FOXCROFT, G. R.: Plasma progesterone and gonadotropin concentrations and ovarian activity in post partum dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 59, 1980, s. 133–143.
- WHISNANT, C. S. – KISER, T. E. – THOMPSON, F. N. – BARB, C. R.: Opioid inhibition of luteinizing hormone secretion during the post partum period in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.*, 63, 1987, s. 1445–1448.

Došlo dne 23. 5. 1989

КУДЛАЧ, Е. — ПИХОВА, Д. (Ветеринарный институт, Брно; Научно-исследовательский институт для биопрепаратов и ветеринарных медикаментов, Погоржи-Хатоунь): Ответ аденогипофиза и эффективность применения синтетического GnRH (Диригестран инъекции Спифа) у коров после родов. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (6): : 321-330.

Радиоиммунологические наблюдения (РИА) уровня гипофизного FSH в крови у коров после родов показали постепенное повышение. Значение $32,93 \pm 3,71$ нг. мл⁻¹

FSH на четвертый—шестой дни после родов повысилось на $57,78 \pm 40,98$ нг. мл⁻¹ около 40 дня после родов. Уровень LH в то же время изменялся лишь незначительно (с $1,12 \pm 0,21$ нг. мл⁻¹ на $1,72 \pm 1,15$ нг. мл⁻¹). Уровень прогестерона в крови коров первых 15 дней после отела колебался около 0,40 нг. мл⁻¹, от 25 дня после родов повысился в среднем трижды ($1,53 \pm 1,19$ — $1,59 \pm 1,25$ нг. мл⁻¹). Ответ аденогипофиза коров на полученные 200 мкг синтетического гонадотропина (спец. Диригестран инъекции Споба) с продолжающимся периодом после отела повышался. Уровень FSH в первые 28 дней после отела повышался менее выразительно и не стандартно по времени (повышение было в среднем 1,5 — трижды), в более позднем периоде было отмечено наибольшее повышение как правило за 120 минут после введения GnRH было 300—500 %. Подобные отношения наступили и в повышении уровня в крови, от 26 дня после отела но повышение составляло в среднем 500—600 %. Уровень прогестерона в крови от 25 дня после отела в среднем повышался более чем на 300 %. Это доказывает первую послеродовую овуляцию и формирование нового желтого тела у большинства наблюдаемых коров. Применение 100 и 200 мкг GnRH коровами около 15 и 30 дней после отела у коров забеременевших после синдрома овариальных кист не гарантирует в последующем цикле воспроизводства ограничение их наличия. Но повторяющееся применение GnRH около 15—30 дня после отела вызвало снижение наличия овариальных кист и наступила стабилизация первого послеродового цикла и улучшение последующей концепции. Разницы не были значимыми.

крупный рогатый скот; послеродовой период; ответ аденогипофиза; гонадотропин (GnRH)

KUDLÁČ, E. — PÍCHOVÁ, D. (University of Veterinary Medicine, Brno; Research Institute for Feed Supplements and Veterinary Drugs, Pohoří — Chotouň): *Response of adenohipophysis and effectiveness of administration of synthetic GnRH (Dirigestran inj. Spofa) in cows after parturition.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6): 321—330.

Radioimmunological investigation (RIA) of the level of pituitary FSH in the peripheral blood of cows after parturition demonstrated that this level increased successively. The FSH value of $32,93 \pm 3,71$ ng per 1 ml, recorded the fourth to sixth day *post partum*, increased to as much as $57,78 \pm 40,98$ ng per 1 ml 40 days after parturition. The LH level changed only slightly over the same period (from $1,12 \pm 0,21$ ng per ml to $1,72 \pm 1,15$ ng per ml). The concentration of progesterone in the blood of the cows was about 0,40 ng per ml during the first 15 days after parturition, but from the 25th day *post partum* it trebled, on an average ($1,53 \pm 1,19$ — $1,59 \pm 1,25$ ng per ml). The response of the adenohipophysis of the cows to the administration of 200 µg of synthetic gonadoreline (spec. Dirigestran inj. Spofa) increased with increasing length of time from parturition. FSH concentration increased less markedly during the first 28 days *p.p.* and this increase was not uniform in time (the average increase was 1.5 to three times); in the later period the highest increase 300—500 % was recorded, as a rule, 120 minutes after GnRH administration. The situation was similar in the increase in LH concentration in peripheral blood, but after the 26th day *post partum* the average increase in LH accounted for 500 to 600 %. The concentration of progesterone in peripheral blood increased by more than 300 %, on an average, from the 25th day after parturition. This testifies to the first post partum ovulation and to the formation of a new yellow body in the majority of cows under study. Administration of 100 and 200 µg GnRH about the 15th to 30th day after parturition to cows that got in calf after successful treatment for the ovarian cyst syndrome does not guarantee elimination of further occurrence of the cysts in the subsequent reproduction cycle. Nevertheless, repeated administration of GnRH about the 15th and 30th day after parturition contributed to the occurrence of ovarian cysts, to the stabilization of the first post-partum cycle, and to improvement of subsequent conception. However, the results were not significant.

cattle; post-partum period; response of adenohipophysis; gonadoreline (GnRH)

KUDLÁČ, E. — PÍCHOVÁ, D. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno; Forschungsinstitut für Biopreparate und Veterinärheilmittel, Pohoří—Chotouň): *Die Responson der Adenohipophyse und die Applikationswirksamkeit des synthetischen GnRH (Dirigestran Inj. Spofa) bei Kühen post partum.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6): 321—330.

Die radioimmunologische Verfdgung (RIA) des Hypophysen-FSH-Spiegels im peripheren Blut der Kühe nach der Geburt hat eine stufenweise Erhöhung nachgewiesen. Der Wert von $32,93 \pm 3,71$ ng. ml⁻¹ FSH vierten bis sechsten Tag *post partum* erhöhte sich bis auf $57,78 \pm 40,98$ ng. ml⁻¹ ungefähr zum 40. Tag nach der Geburt. Der LH-Spiegel hat sich in der gleichen Zeit nur

gering geändert (von $1,12 \pm 0,21$ ng.ml⁻¹ auf $1,72 \pm 1,15$ ng.ml⁻¹). Der Progesteronspiegel im Blut der Kühe bewegte sich die ersten 15 Tage nach der Geburt ungefähr um $0,40$ ng.ml⁻¹, vom 25. Tage *post partum* erhöhte er sich im Durchschnitt dreimal ($1,53 \pm 1,19 - 1,59 \pm 1,25$ ng.ml⁻¹). Die Responson der Adenohypophyse der Kühe hat sich bei Verabreichung von $200 \mu\text{g}$ synthetischem Gonadorelin (Spez. Dirigestran Inj. Spofa) mit dem sich verlängerndem Zeitraum nach der Geburt erhöht. Der FSH-Spiegel erhöhte sich in den ersten 28 Tagen nach der Geburt weniger ausdrucksvoll und zeitmäßig nicht dem Standard entsprechend (die Erhöhung wir im Durchschnitt das 1,5 bis Dreifache). Im späteren Zeitraum verzeichnete man die größte Erhöhung gewöhnlich 120 Minuten nach der Applikation von GnRH, und zwar 300–500 %. Analoge Verhältnisse entstanden auch in der Erhöhung des LH-Spiegels im peripherischen Blut, vom 26. Tage nach der Geburt, die Erhöhung betrug jedoch im Durchschnitt 500 bis 600 %. Der Progesteronspiegel im peripheren Blut erhöhte sich vom 25. Tage nach der Geburt im Durchschnitt um mehr als 300 %. Dies deutet auf die erste Nachgeburtsovulation und auf die Bildung neuer Gelbkörperchen bei der Mehrheit der beobachteten Kühe. Die Applikation von 100 und $200 \mu\text{g}$ GnRH um den 15. und 30. Tag nach der Geburt bei den trächtigen Kühen nach Ausheilung des Syndroms der ovarialen Zysten garantiert im folgenden Reproduktionszyklus keine Verhütung ihres weiteren Vorkommens. Immerhin trug die wiederholte Verabreichung des GnRH um den 15. und 30. Tag nach der Geburt zur Herabsetzung des Vorkommens ovarialer Zysten bei, und es kam zur Stabilisierung des ersten Nachgeburtsszyklus und zur Verbesserung der Folgekonzeption. Die Unterschiede waren jedoch unsignifikant.

Rindvieh; postpartalischer Zeitabschnitt; Responson der Adenohypophyse; Gonadoneril (GnRH)

Adresy autorů:

Prof. MVDr. Eduard Kudláč, DrSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1–3, 612 42 Brno
MVDr. Drahomíra Píchová, CSc., Výzkumný ústav pro biopreparáty a veterinární léčiva,
254 49 Pohorlí-Chotouň

MORFOLOGICKÉ ZMĚNY A DEKAPITACE SPERMIÍ JAKO PŘÍČINA PORUCH PLODNOSTI PLEMENÍKŮ

J. Kozumplík

KOZUMPLÍK, J. (Vysoká škola veterinární, Erno): *Morfologické změny a dekapitace spermií jako příčina poruch plodnosti plemeníků*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6): 331–336.

Dekapitace spermií byla zjištěna u plemenného kance jako následek zánětu nadvarlat a u mladého psa (německá doga) a mladého býčka (Brown-Swiss) jako kongenitální příčina subfertility a sterility postiženého jedince. Dekapitace spermií jako následek zánětlivého onemocnění vedla k neplodnosti plemeníka a postihovala 52 až 68 % spermií. Motilita spermií byla značně snížena (10 až 20 %) a nebyl pozorován pohyb bičků bez hlaviček. Při dekapitaci spermií kongenitálního původu byla motilita spermií u psa i býčka snížena, byl však pozorován pohyb bičků bez hlaviček. Dekapitace postihovala 15 až 42 % spermií a byla doprovázena nejčastěji zúžením báze hlavičky a přítomností protoplazmatické kapky uložené proximálně. U psa byly pozorovány ještě další vývojové změny postihující bičík spermií. Uvedené morfologické změny vedly u psa k neplodnosti, u býka k výrazně snížené plodnosti. Po přirozeném připuštění býka na plemenci se superovulací byly z deseti získaných vajíček zjištěny čtyři blastocysty, dvě vajíčka byla degenerována a čtyři neoplozená.

býk; pes; kanec; spermie; desintegrace; infertilita

Jednou z vážných poruch, které mají za následek snížení oplozovacích schopností spermií, vedoucích k subfertilite až sterilite postiženého plemeníka, jsou anomálie postihující spojení hlavičky s bičkem spermií. Stav, kdy dochází k oddělení hlaviček od bičků spermií označujeme jako dekapitaci. Může se vyskytovat při zánětlivých procesech postihujících nadvarle nebo při nevhodně provedeném roztěru spermií. Podstatně závažnější je zjištění dekapitace spermií v nativním ejakulátu u mladých plemeníků, kde příčinou této vady je podnět zafixovaný hereditárně. Tuto anomálii popsali již v roce 1949 Hancock a Rollinson u 12 býků quernseyského plemene. Postižení plemeníci byli zcela neplodní. V spermiogramu bylo zjišťováno větší procento uvolněných hlaviček od bičků za současně snížené motility spermií. Koncentrace spermií byla v průměru nižší (100 000 až 900 000 v 1 mm³) a počet změněných spermií přesahoval 90 %. Autoři uvádějí, že býci pocházeli z chovů, kde byla používána příbuzenská plemenitba. Také Gregory aj. (1951) zjistili u pěti býků holštýnského plemene dekapitaci spermií a sníženou motilitu spermií. Klinické změny na pohlavních orgánech nebyly zjištěny a *libido sexualis* bylo výrazné. Genetickou analýzou byla zjištěna blízká příbuznost. Na základě podrobného studia příčin vzniku dospěli k závěru, že dědičnost uvedené anomálie je způsobena jednoduchým recesivním genem vázaným na pohlaví. O změnách vedoucích k dekapitaci spermií se vyjadřují obdobně i další autoři (Haq, 1949; Calisti, 1959). V posledních 10 letech nebyly publikovány o desintegraci či dekapitaci spermií u savců žádné další nové práce kromě japonských autorů (Koyanagi a Nishiyama, 1981), kteří popisovali výskyt desintegrace spermií u drůbeže. V naší klinické činnosti jsme se setkali v poslední době jak s desintegrací spermií vzniklou při chronické epididymitidě,

tak také jako s primární vadou, která byla zjištěna u mladých plemeníků a nebyla doprovázena změnami na pohlavních orgánech.

MATERIÁL A METODA

Vyšetřovali jsme ejakulát kance plemene landrase ve věku tři roků, který byl více jak jeden rok používán v přirozené plemenitbě a u něhož byly klinicky zjištěny symptomy zánětu nadvarlat. Dále byl vyšetřován ejakulát psa plemene německá doga, který byl jako import použit v plemenitbě a ejakulát býčka plemene švýcarské hnědé, který se narodil po přenosu zmrazeného embrya (převezeného z Kuby) na školním statku Vysoké školy veterinární v Novém Jičíně. Anamnestické údaje o plodnosti rodičů nebo sourozenců sledovaného býka a psa nám nebyly známy. Vyšetření ejakulátu psa bylo vyžádáno na základě neúspěšného krytí sedmi fen. Ejakulát býka se vyšetřoval v rámci preventivního šetření spermatu před zařazením býka do pokusného křížení a u kance se jednalo o stupňující se poruchy plodnosti.

K hodnocení spermiogramu u kance bylo odebráno v týdenním intervalu pět vzorků ejakulátu, u psa tři a u býka 11 vzorků ejakulátu.

Kromě hodnocení spermiogramu byl k ověření fertilizačních schopností býk připuštěn na plemenici se superovulací a opakovaně byla provedena cytogenetická analýza lymfocytů z periferní krve konvenční metodou i G pruhováním.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Z výsledků šetření spermiogramu plemeníků, u nichž se vyskytla dekapitace spermií vyplývá, že při některých zánětlivých procesech nadvarlat může dojít k uvolnění hlaviček od bičíků, a to ve větší míře než při vrozené příčině vzniku této vady. V nativním ejakulátu se však nevyskytují pohyblivé bičíky bez hlaviček. Většina spermií vykazuje morfologické změny a procento pohyblivých spermií je velmi nízké (10 až 20 %), jak je patrné z tab. I. Obr. 1 dokumentuje, že u většiny spermií dochází k dekapitaci s příznaky aglutinace spermií. Tento jev nebyl pozorován v případech, kdy se jednalo o vrozenou příčinu dekapitace spermií, pozorovanou u psa a býka.

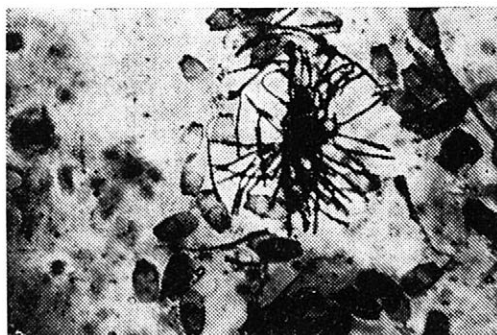
V tab. II jsou uvedeny výsledky vyšetření spermiogramu psa. Z jednotlivých hodnot spermiogramu je patrné, že byl získán jen malý objem ejakulátu, i když koncentrace spermií odpovídala středně hustému ejakulátu. Pohyblivost byla zjišťována asi u 50 % spermií, ale progresivní pohyb byl stanoven v průměru jen u 17 % spermií. V nativním preparátu však byl patrný pohyb bičíků bez hlaviček. Tento jev je uváděn v souvislosti s dekapitací podmíněnou hereditárně (Jones, 1962). Morfologické změny postihovaly jak hlavičky spermií, kde se jeví jako mapovité zbarvení nebo svlečení akrozómu spermií či zúžení báze hlavičky spermií, tak bičík, na němž byly nejčastěji zjišťovány torze kolem protoplazmatické kapky nebo byl zcela spirálovitě svinutý. Morfologické změny, včetně volných hlaviček a bičíků, postihovaly v průměru více jak 75 % spermií, což se projevilo jednoznačně negativně na fertilizačních schopnostech postiženého plemeníka (obr. 2).

Ejakulát psa byl získáván vždy v přítomnosti hárající feny, ale *libido sexualis* bylo vždy málo výrazné. V důsledku toho byl získán i malý objem ejakulátu. Pohlavní orgány

I. Spermiogram kance — Spermiogramme of a boar

Objem spermatu [ml]	Motilita spermií [%]	Koncentrace spermií [1000 .mm ⁻³]	Morfologické změny spermií [%]	Volných hlaviček spermií [%]	n
192 ±42,1	14 ±5,5	152 ±54,5	88,6 ±4,9	60 ±6	5

1. Aglutinace a dekapitace spermii při zánětu nadvarlat u kance — Agglutination and decapitation of spermatozoa in cases of epididymitis in a boar



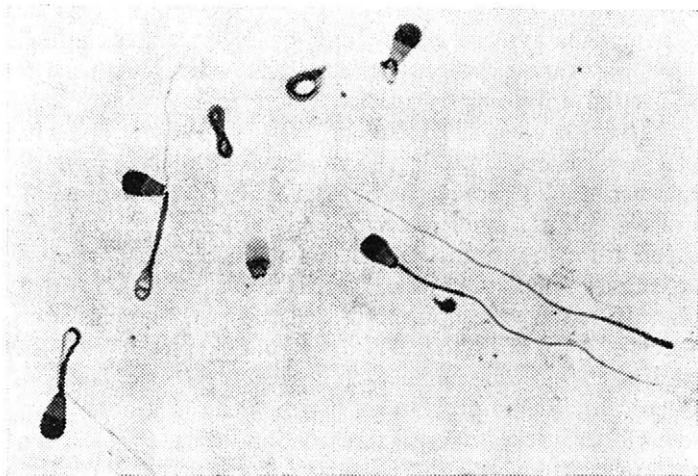
psa nevykazovaly klinicky zjistitelné změny. Výrazné změny v spermioqramu vedly k neplodnosti psa.

Jak vyplývá z výsledků vyšetření ejakulátu býka (tab. III), sperma býka postiženého dekapitací se v řadě kritérií neshoduje s požadavky ČSN 46 7111. Objem ejakulátu, který je odrazem androgenní aktivity jedince se sice pohyboval v hranicích normy, ale nutno vzít v úvahu, že odběry spermatu byly prováděny na říjící se plemeni. Bylo-li použito atrapy, pohlavní reflexy vyšetřovaného pleménika se neprojevovaly v dostatečné míře. Také pH ejakulátu ve většině případů odpovídalo požadavkům kladeným na ejakulát plodných býků ($6,75 \pm 0,13$). Molalita, stanovená v osmi ejakulátech, odpovídala hodnotám zjišťovaným ve spermatu plodných býků ($284,1 \pm 17,4 \text{ mmol.l}^{-1}$). Motilita spermii, vyjádřena progresivním pohybem spermii, byla ve většině případů nižší než 70 %, ale v některých případech dosahovala až 90 %. Koncentrace spermii kolísala od

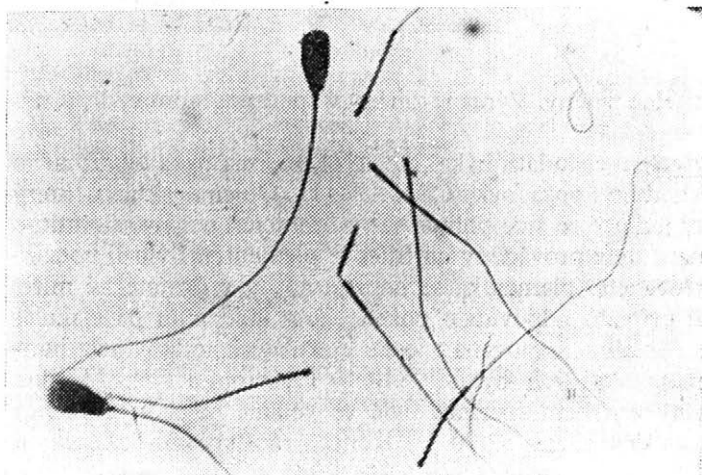
II. Spermioqram psa — Spermioqramme of a dog

Objem spermatu [ml]	Motilita spermii [%]	Koncentrace spermii [$1000 \cdot \text{mm}^{-3}$]	Morfologické změny spermii [%]	Volných hlaviček spermii [%]	n
2,0 $\pm 0,5$	16,7 $\pm 5,8$	73,4 $\pm 8,1$	76,0 $\pm 7,4$	18,8 $\pm 5,9$	3

2. Dekapitace a morfologické změny spermii jako kongenitální příčina neplodnosti psa — Decapitation and morphological changes in spermatozoa as a congenital cause of infertility in a dog



Objem spermatu [ml]	Motilita spermii [%]	Koncentrace spermii [1000.mm ⁻³]	Morfologické změny spermii [%]	Volných hlaviček spermii [%]	n
6,2 ± 1,6	66,4 ± 19,6	704,4 ± 351,5	75,3 ± 7,4	19,2 ± 8,4	11



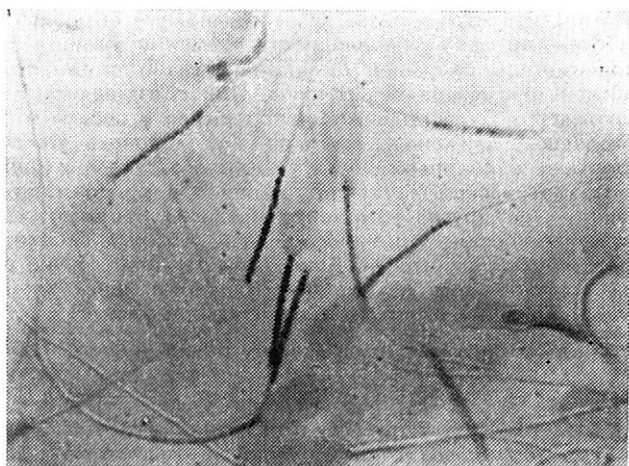
3. Volné a pohyblivé bičíky jsou typickým nálezem při kongenitální dekapitaci spermii (býk) — Free and motile flagella are a typical finding in cases of congenital decapitation of spermatozoa (bull)

hodnot velmi hustého ejakulátu (1 254 400 v 1 mm³) k řídkému ejakulátu (225 300 v 1 mm³). Nejvýraznější změny byly zjišťovány při morfologickém vyšetření spermii. V průměru bylo zjišťováno 75,3 % změněných spermii. Změny postihující hlavičku tvořily 39,9 % ze všech zjišťovaných změn. Nejčastěji se jednalo o zúžení báze hlavičky a poruchy akrozómu (bobtnání, ztráta a nepravidelná barvitelnost akrozómu). Na bičíku byly zjišťovány torze a spirálovité stočení. Kromě těchto změn byla pozorována u velkého počtu spermii protoplazmatická kapka umístěná proximálně. Téměř každá pátá spermie měla uvolněnou hlavičku od bičíku (obr. 3). V nativním preparátu se bičíky bez hlaviček pohybovaly podstatně rychleji než spermie s hlavičkami. Důkazem toho, že volné bičíky projevují metabolickou aktivitu a mohou se tedy i pohybovat je fotografie, na které je zaznamenána výrazná aktivita endogenních reduktáz mitochondrií (obr. 4).

Opakovanou cytogenetickou analýzou lymfocytů periferní krve konvenční metodou i G pruhováním nebyly zjištěny žádné změny na chromozómech. To odpovídá tvrzení Gregoryho aj. (1951), kteří uvádějí, že vada je způsobena jednoduchým recesivním genem vázaným na pohlaví. Cytogenetická analýza prováděná v našich pokusech je metoda nepřesná a nemůže postihnout změny na úrovni genů.

Na základě námi pozorovaných případů a porovnáním našich výsledků se závěry jiných autorů je možno říci, že hlavní rozdíl mezi dekapitací spermii vzniklou jako důsledek zánětlivých změn v nadvarleti a dekapitací zjišťovanou u spermii mladých plemenů, tedy vadou vrozenou, popř. dědičně podmíněnou, je v přítomnosti rychleji se pohybujících bičíků bez hlaviček. Pohyb volných bičíků je typický pro vrozenou vadu. V tomto případě nejsou na pohlavních orgánech zjišťovány změny, které by poukazovaly na působení zánětlivého procesu na spermiogenezi. V obou případech se nacházejí v ejakulátech morfologické změny, které postihují 85 až 95 % spermii. U vrozené vady je možno pozorovat, kromě oddělených hlaviček, zúženou bázi na hlavičkách a protoplazmatickou

4. Silná aktivita endogenních dehydrogenáz mitochondrií je dokladem možného pohybu bičků bez hlaviček — High activity of the endogenous dehydrogenases of mitochondria provides evidence of possible movement of flagella without heads



kapku umístěnou proximálně. Na bičku jsou zjišťovány různé formy zkroucení, ale i vývojové vady.

Nález shodný s naším zjištěním byl již popsán u skupiny příbuzných býků a příčinou vzniku anomálií podmiňoval působením hereditárních faktorů. Blom (1981) poznamenává, že volné bičky se pohybují velmi energicky a zpočátku byla tato skutečnost chybně interpretována jako velmi dobrá pohyblivost spermií. K procesu oddělování hlaviček, který může postihnout až 100 % spermií, dochází při přechodu spermií přes hlavu nadvarlete. Příčinou oddělování je mělká implantační jamka, z které se bičík snadno vyloží.

Jak jsme v naší práci zjistili, vyskytuje se dekapitace jako vrozená vada jak u býků, tak u psů a je spojena s poruchou fertilizačních schopností až neplodností postiženého pleménika.

Literatura

- BLOM, E.: Ocena morfologiczna was plemników buhaja. I. Zmiany patologiczne plemników w świetle nowych badań. *Med. veter.*, 3, 1981, s. 129–134.
- CALISTI, V.: Forme ereditarie di sterilità nei bovini. *Atti. Soc. ital. Sci. Veter.*, 38, s. 51–136.
- ČSN 46 7111 Sperma býka. 1977.
- GREGORY, P. W. — ROLLINS, W. C. — PATTENGAL, P. S. et al.: A phenotypic expression of homozygous dwarfism in beef cattle. *J. anim. Sci.*, 10, 1951, s. 922–933.
- HANCOCK, J. L. — ROLLINSON, D. H. L.: A seminal defect associated with sterility of Guernsey bulls. *Weter. Rec.*, 61, 1949, s. 742–743.
- HAQ, I.: Causes of sterility in bulls in Southern England. *Brit. veter. J.*, 105, 1949, s. 71–88; 114–126; 143–150; 200–206.
- JONES, W. A.: Abnormal morphology of the spermatozoa in Guernsey bulls. *Brit. veter. J.*, 6, 1962, s. 257–261.
- KOYANAGI, F. — NISHIYAMA, H.: Disintegration of spermatozoa in the infundibular sperm-host glands of the fowl. *Cell. Tiss. Res.*, 214, 1981, s. 81–87.

Došlo dne 25. 5. 1989

КОЗУМПЛИК, Я. (Ветеринарный институт, Брно): Морфологические изменения и обезглавливание спермиев как причина нарушений плодовитости племенных животных. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (6) : 331-336.

Обезглавливание спермиев было установлено у племенного хряка как следствие воспаления яичков и у молодого кабеля (немецкая дога) и молодого бычка (швейцарский коричневый кр. рогатый скот) как конгенитальная причина субфертильности и сте-

рильности пострадавшего. Обезглавливание спермиев как последствие воспалительного заболевания вело к бесплодности племенного животного и поражаало 52—68 % спермиев. Подвижность спермиев была значительно сниженной (10—20 %) и не наблюдалось движение жгутиков без головок. При обезглавливании спермиев конгенитального происхождения была подвижность спермиев у собаки и бычка сниженной, но все-таки наблюдалось движение жгутиков без головок. Обезглавливание поражаало 15—42 % спермиев и сопровождалось чаще всего сужением основания головки и наличием протоплазматической капли находящейся в проксимальном положении. У собаки наблюдались еще другие изменения развития поражающие жгутик спермиев. Приведенные морфологические изменения вели у собаки к бесплодности, у быка к выразительному снижению плодотворности. После естественной случки быка с коровой из суперовуляции были установлены из десяти полученных ячеек четыре бластоцисты, два яйца были дегенерированы и четыре неоплодотворенные.

бык; собака; хряк; сперма; дезинтеграция; инфертильность

KOZUMPLÍK, J. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Morphological changes and decapitation of spermatozoa as causes of fertility disorders in breeding males*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6): 331—336.

Decapitation of spermatozoa was recorded in a young boar as a consequence of epididymitis and in a young dog (mastiff) and a young bull (Brown Swiss breed) as a congenital cause of the subfertility and sterility of the affected animal. Decapitation of spermatozoa as a consequence of an inflammation led to the sterility of the breeding male and affected 52 to 68 % of the spermatozoa. The motility of the spermatozoa was reduced considerably (10 to 20 %) and the flagella were not observed to move without the heads. In cases of congenital decapitation of spermatozoa, sperm motility in the dog and bull was reduced, but the flagella were observed to move without the heads. Decapitation affected 15 to 42 % of the spermatozoa and most frequently it was accompanied by a narrowing of head base and by the presence of a protoplasmic drop, located proximally. Further developmental changes, affecting the flagella of the sperms, were observed in the dog. The mentioned morphological changes led to infertility in the dog and to a substantial reduction of fertility in the bull. After natural mating of the bull with a superovulated cow, the ten eggs obtained included four blastocysts, two were degenerated, and four were unfertilized.

bull; dog; boar; spermatozoa; disintegration; infertility

KOZUMPLÍK, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Morphologische Veränderungen und Spermiendekapiation als Ursache von Fertilitätsstörungen bei den Zuchtstieren*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6): 331—336.

Die Spermiendekapiation ermittelte man beim Zuchteber als Folge der Nebenhodenentzündung und beim jungen Hund (Deutsche Dogge) und beim Jungbullen (schweizerisches Braunvieh) als kongenitale Ursache der Subfertilität und Sterilität des heimgesuchten Individuums. Die Spermiendekapiation als Folge von Entzündungserkrankungen führte zur Sterilität des Zuchttiers und betraf 52 bis 68 % der Spermien. Die Motilität der Spermien war bedeutend herabgesetzt (10 bis 20 %) und man beobachtete keine Bewegung der Samenfasern ohne Köpfchen. Bei der Spermiendekapiation kongenitalen Ursprungs war die Spermienmotilität beim Hund und beim Jungbullen herabgesetzt. Man beobachtete jedoch die Bewegung der Samenfasern ohne Köpfchen. Die Dekapiation betraf 15 bis 42 % Spermien und war meistens durch die Struktur der Köpfchenbasis und Vorhandensein des proximal eingelagerten protoplasmatischen Tropfens begleitet. Beim Hund beobachtete man noch weitere den Spermienfasern befallende Entwicklungsveränderungen. Die eingeführten morphologischen Veränderungen führten beim Hund zur Sterilität, beim Bullen zur stark herabgesetzten Fruchtbarkeit. Nach natürlicher Deckung einer Zuchtkuh mit Superovulation durch den Bullen ermittelte man von zehn gewonnenen Eiern vier Blastozysten, zwei Eier waren degeneriert und vier unbefruchtet.

Bullen; Hund; Eber; Spermien; Desintegration; Infertilität

Adresa autora:

Prof. MVDr. Jaroslav Kozumplík, DrSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

DENZITA VYBRANÝCH ENZYMŮ V POHÁRKOVÝCH BUŇKÁCH SLIZNICE TENKÉHO STŘEVA SELAT EXPERIMENTÁLNĚ INFIKOVANÝCH KOKCIDIÍ *Isospora suis*

M. Kudweis, I. Juliš, Z. Lojda, J. Vítovec, B. Koudela

KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDFLA, B. (Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice; Laboratoř pro histochemii při lékařské fakultě Univerzity Karlovy, Praha): *Denzita vybraných enzymů v pohárkových buňkách sliznice tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií Isospora suis*. *Vet. Med. (Praha)*, 35, 1990 (6): 337–348.

Na skupině 12 gnotobiotických selat experimentálně infikovaných kokcií *Isospora suis* jeden den po porodu (dále DPP) jsme za použití skanujícího a integrujícího mikrodenzitometru Vickers M-86 studovali denzitu vybraných enzymů v pohárkových buňkách sliznice tenkého střeva. Při infekční dávce 100 000 oocyst kokcií *I. suis* se v období 4. až 10. den po infekci (dále DPI) výrazně mění histochemie pohárkových buněk sliznice gnotobiotických selat. Zvyšuje se denzita nespecifické esterázy (EC. 3.1.1.1.), kyselých fosfatázy (EC. 3.1.3.2.), klesá denzita kyselých i neutrálních mukosubstancí a je prokazatelná vysoká denzita alkalické fosfatázy (EC.3.1.3.1.) a aminopeptidázy M (EC.3.4.11.2.). Histochemie pohárkových buněk středního a zadního jejunu je u experimentálně infikovaných gnotobiotických selat velice podobná. V duodenu a ileu se histochemický obraz pohárkových buněk podstatně neliší od údajů, které jsme prokázali v pohárkových buňkách sliznice tenkého střeva čtyř kontrolních selat ve věku dvou až sedmi dnů.

histochemie; experimentální infekce; pohárkové buňky; *Isospora suis*; diferenční proces buněk sliznice střevní

Histochemií tenkého střeva zdravých gnotobiotických a konvenčních selat v období raného postnatálního vývoje se zabývali Lojda aj. (1984) a Kudweis a Lojda (1989a). Histochemií buněk sliznice tenkého střeva (enterocytů a pohárkových buněk) studoval u lidských novorozenců Lojda (1967, 1969, 1974) a u některých druhů laboratorních zvířat Lojda aj. (1984). Lokalizaci a aktivitu alkalické fosfatázy ve sliznici tenkého střeva v období raného postnatálního vývoje popsal u selat Holman (1963) a Holman a Padalíková (1964). Větší soubor enzymů u selat studovali Hornich aj. (1974), u telat Asari (1987), Landsverk (1980, 1981) a Stiglmair-Herbová aj. (1986). Aktivitou a syntézou mukosubstancí v tenkém střevě selat se při virové infekci zabýval Hornich (1976) a při experimentální infekci kokcií *I. suis* Kudweis aj. (1989d).

Patologii a patogenézi experimentálních infekcí selat kokcií *I. suis* se zabývali Stuart aj. (1982), Robinson aj. (1983), Harleman a Meyer (1984–1985) a Vítovec a Koudela (1990). Patologické změny při experimentální infekci kokcií *I. suis* se mohou vyskytovat v celém tenkém střevě, těžší jsou však ve středním a zadním jejunu a ileu (Harleman a Meyer, 1985). V experimentech má choroba bifázický průběh a histopatologické změny charakterizují atrofie klků a nekróza epitelu (Harleman a Meyer, 1985). Shodná lokalizace patologických změn byla prokázána také u spontánní isosporózy (Sanford, 1983; Jones aj., 1985).

Numerické hodnoty a histochemii pohárkových buněk při experimentální infekci gnotobiotických a konvenčních selat kokcií *I. suis* studovali Kudweis aj. (1989a, b, c, d) a Kudweis a Lojda (1989b).

Na zásah do diferenciálního procesu v kryptách tenkého střeva gnotobiotických a konvenčních selat experimentálně infikovaných kokcií *I. suis* bylo již upozorněno Kudweis aj., (1990). Byla prokázána produkce buňky intermediálního stadia s vysokou aktivitou alkalické fosfatázy (Kudweis aj., 1990).

V předložené práci jsme použili skanující a integrující mikrodenzitometr ke studiu histochemické charakteristiky pohárkových buněk změněných patologickým diferenciálním procesem v kryptách tenkého střeva při experimentální infekci gnotobiotických selat kokcií *I. suis*. Cílem práce bylo přesně histochemicky determinovat populaci pohárkových buněk na sliznici tenkého střeva selat v průběhu experimentální infekce.

MATERIÁL A METODA

Přehled zpracovaného materiálu je uveden v tab. I. Příprava gnotobiotických selat a způsob získání materiálu byl popsán dříve (Kudweis aj., 1989c). Po utracení a odběru tkáně byly vzorky zpracovány dvojnásobným způsobem. Pro studium aktivity alkalické fosfatázy a přehledné barvení jsme tkáň zalili zkráceným způsobem (Lojda a Papoušek, 1978). Ostatní enzymy byly prokazovány na zmrazených kryostatových řezech. Pro tento způsob zpracování byly po utracení selat odebrané vzorky rychle zmrazeny na suchém ledu a do zpracování uloženy v mrazicím pultu s teplotou -60 až -70 °C (Lojda a Papoušek, 1978). Řezy z parafinového materiálu (pro vyšetření na alkalickou fosfatázu, přehledné barvení a pro průkaz mukosubstancí) byly získány na mikrotomu, ze zmrazených bločků na zmrazovacím mikrotomu (Mod. 2700 Frigocut) a jejich tloušťka nepřesáhla $8\text{ }\mu\text{m}$. Takto získané řezy byly barveny hematoxylinem-eosinem, reakcí na alkalickou fosfatázu a reakcí na průkaz mukosubstancí. Dále byly řezy vyšetřeny (ze zmrazovacího mikrotomu) na soubor vybraných enzymů podle Lojdy aj. (1979). Přehled studovaných enzymů a použitých specifických substrátů je uveden v tab. II. Průkaz kyselých a neutrálních mukosubstancí jsme provedli metodou, kterou stanovili Mowry (1963) a Yamada (1964, 1970).

Řezy jsme po provedených reakcích hodnotili na počítačem řízeném (SAPI-ZPS 2) skanujícím a integrujícím mikrodenzitometru Vickers M-86 při standardním použití objektivu $20\times$. Na

I. Přehled zpracovaného materiálu — A survey of the material treated

Skupina	Sele	Infekce v DPP	Utracení v DPI	Věk
I*	ISG19	1	3	4
	ISG20	1	3	4
	ISG23	1	4	5
	ISG11	1	5	6
	ISG24	1	5	6
	ISG25	1	6	7
	ISG26	1	6	7
	ISG12	1	7	8
	ISG13	1	8	9
	ISG15	1	9	10
	ISG17	1	10	11
	ISG21	1	11	12
II**	K1–K4	0	0	2–7

* infekční dávka 100 000 oocyst kokcie *I. suis*; ** kontrolní gnotobiotická selta

Enzym	Specifický substrát
Alkalická fosfatáza*	Naphtol-AS-MX-phosphat ¹
EC.3.1.3.1.	
Aminopeptidáza M**	L-alanin-4-methoxy-2-(β)
EC.3.4.11.2.	naphthylamid ¹
Kyselá fosfatáza**	indoxylbutyrát ²
EC.3.1.3.2.	
Nespecifická esteráza**	5-bromo-4-chloro-3-indoxyl ¹
EC.3.1.1.1.	acetát

* vyšetřováno na parafinových řezech; ** vyšetřováno na zmrazených řezech; ¹ = substráty fy Sigma; ² = substrát fy Lachema (ČSFR)

15 řezech středního a 15 řezech zadního jejuny jsme prohlédli a vyhodnotili 10 až 15 středních klků při všech reakcích a změřili denzitu 10 pohárkových buněk na každém klku. Získané údaje jsme statisticky zpracovali a stanovili průměrnou hodnotu denzity ($D\bar{x}$) příslušného enzymu v pohárkových buňkách pro střední a zadní jejunum. $D\bar{x}$ byla získána výpočtem z údajů naměřených ve třech lokalitách každé buňky (supranukleární, nukleární a infranukleární). Shodně byla vyšetřena a vyhodnocena sliznice duodena a ilea. Stejným způsobem jsme určili i fyziologické denzitometrické hodnoty u kontrolních gnotobiotických selat ve věku dvou až sedmi dnů.

VÝSLEDKY

Denzitometrické hodnoty získané měřením aktivity enzymů v pohárkových buňkách kontrolních selat ve středním a zadním jejunu jsou uvedeny v tab. III. Přehled výsledků, kterých jsme dosáhli u selat experimentálně infikovaných kokcií *I. suis* dokumentuje

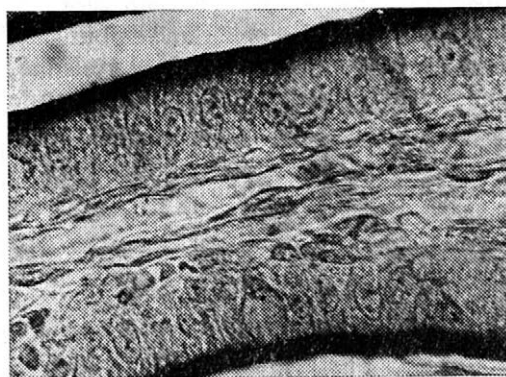
III. Denzita pohárkových buněk sliznice tenkého střeva kontrolních gnotobiotických selat — Density of goblet cells in the mucous membrane of the small intestine in the control gnotobiotic piglets

Enzym	Střední jejunum ($D\bar{x}$)	Zadní jejunum ($D\bar{x}$)
Alkalická fosfatáza	0,00	0,00
Aminopeptidáza M	0,00	0,00
Kyselá fosfatáza	28,18	24,71
Nespecifická esteráza	65,29	61,12
Mukosubstance		
Celkově	278,62	272,54
Kyselé	147,19	142,39
Neutrální	131,43	130,15
Hematoxylin - eosin	14,67	13,98

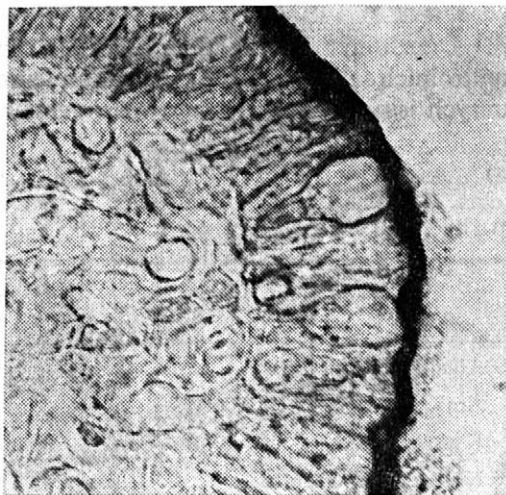
IV. Denzita pohárkových buněk sliznice tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií *I. suis* — Density of goblet cells in the mucous membrane of the small intestine of piglets experimentally infected with the coccidium *I. suis*

Enzym	Střední jejunum ($\bar{Dx}$)	Zadní jejunum ($\bar{Dx}$)
Alkalická fosfatáza	až 95,00	až 134,17
Aminopeptidáza M	až 100,00	až 128,16
Kyselá fosfatáza	až 162,00	až 162,00
Nespecifická esteráza	62,00—68,00	62,00—68,00
Mukosubstance		
Celkově	85,00	100,00—120,00
Kyselé	34,00	41,00—48,00
Neutrální	51,00	59,00—72,00
Hematoxylin - eosin	12,19	11,93

tab. IV. Ve středním ani v zadním jejunu kontrolních selat se nám nepodařilo prokázat žádnou aktivitu alkalické fosfatázy a aminopeptidázy M (obr. 1 a 2). V obou úsecích jsme zjistili vysokou $\bar{Dx}$ mukosubstancí (278,62 ve středním a 272,54 v zadním jejunu — obr. 3). Při porovnání $\bar{Dx}$ obou sacharidových složek převažují mukosubstance kyselé. Nespecifická esteráza a kyselá fosfatáza dosahuje vyšší $\bar{Dx}$ ve středním jejunu (obr. 4 a 5). Denzita buněk obarvených hematoxylinem-eosinem je téměř shodná v celém jejunu.



1. Pohárková buňka prostá aktivity alkalické fosfatázy u kontrolního gnotobiotického selate (*) ve věku 3 dnů. Reakce na alkalickou fosfatázu (zv. 60 $\times$) — A goblet cell free of alkaline phosphatase activity in a control gnotobiotic piglet (*) at an age of 3 days. Reaction to alkaline phosphatase (magnif. 60 times)

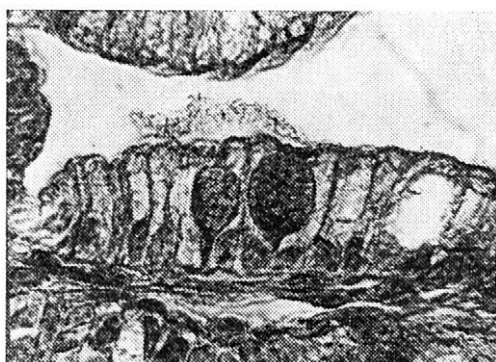


2. Pohárková buňka při reakci na amino peptidázu M. Neobsahuje žádné stopy po reakčním produktu. Kontrolní gnotobiotické sele ve věku 5 dnů. Reakce na amino peptidázu M (zv. 80 $\times$) — A goblet cell in reaction to amino peptidase M. No traces of reaction product. Control gnotobiotic piglet at an age of 5 days. Reaction to amino peptidase M (magnif. 80 times)

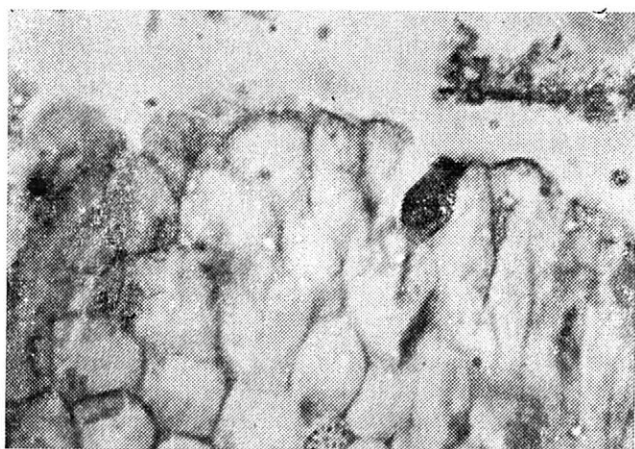
3. Reakce na mukosubstance (kombinovaná reakce na kyselé i neutrální složky — Mowry, 1963) u kontrolního selete ve věku 2 dnů. Sliznice i pohárková buňka silně pozitivní (zv. 80 $\times$) — Reaction to mucosubstances (combined reaction to acid and neutral components — Mowry, 1963) in a control piglet at an age of 2 days. Mucous membrane and goblet cell highly positive (magnif. 80 times)



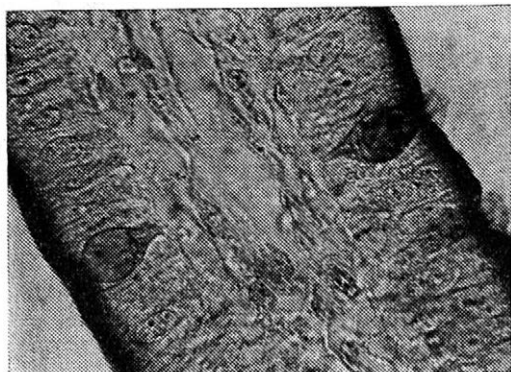
4. Pohárková buňka s jemným precipitátem kyselé fosfatázy u kontrolního selete ve věku 3 dnů. Reakce na kyselou fosfatázu (zv. 90 $\times$) — A goblet cell with fine precipitate of acid phosphatase in a control piglet at an age of 3 days. Reaction to acid phosphatase (magnif. 90 times)



5. Pohárková buňka s fyziologickým obsahem nesespecifické esterázy u kontrolního selete ve věku 7 dnů. Reakce na nesespecifickou esterázu (zv. 80 $\times$) — A goblet cell with a physiological content of non-specific esterase in a control piglet at an age of 7 days. Reaction to non-specific esterase (magnif. 80 times)



U selat experimentálně infikovaných kokcií *I. suis* došlo v pohárkových buňkách sliznice tenkého střeva v období 4. až 10. DPI k výrazné změně histochemického obrazu. Ve středním jejunu $D\bar{x}$ alkalické fosfatázy dosahovala hodnoty až 95,00 a aminopeptidázy



6. Pohárkové buňky s pozitivitou alkalické fosfatázy u infikovaného selete ve věku 6 dnů (ISG 11) v úseku středního jejunu. Reakce na alkalickou fosfatázu (zv. 70×) — Goblet cells showing alkaline phosphatase positivity in an infected cell at an age of 6 days (ISG 11) in the mid jejunum area. Reaction to alkaline phosphatase (magnif. 70 times)

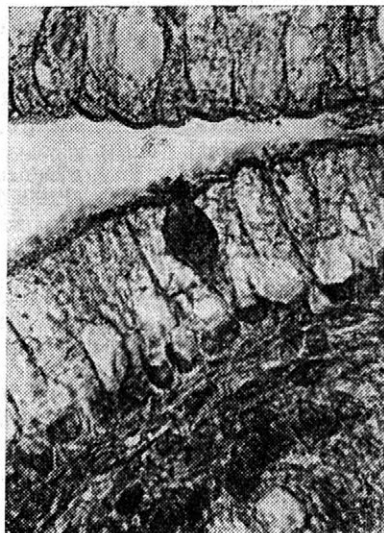


7. Pozitivní reakce na aminopeptidázu *M* v pohárkových buňkách infikovaného selete ve věku 8 dnů (ISG 12) v úseku středního jejunu. Reakce na aminopeptidázu *M* (zv. 80×) — Positive reaction to amino peptidase *M* in the goblet cells of an infected piglet at an age of 8 days (ISG 12) in the mid jejunum area. Reaction to amino peptidase *M* (magnif. 80 times)

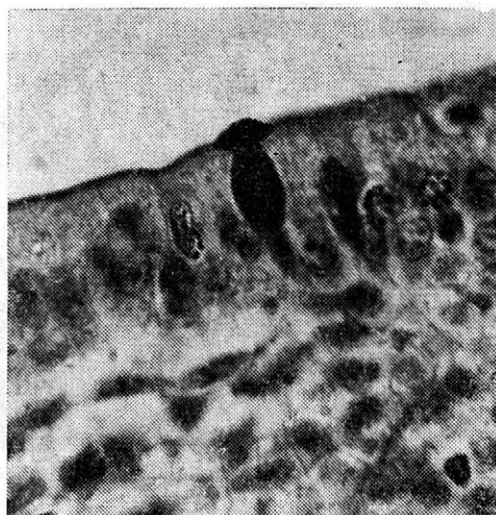
M hodnoty 100,00 (obr. 6 a 7). Značně se zvýšila i denzita kyselé fosfatázy ($D\bar{x}$ 62,00 až 68,00) a nespecifické esterázy ($D\bar{x}$ až 162,0 — obr. 8 a 9). Denzita mukosubstancí klesla na 85,00 s aktuální převahou neutrálních složek (obr. 10 a 11). Denzita pohárkových buněk barvených hematoxylinem-eosinem se snížila ze 14,67 na 12,19.

Obdobné změny jsme zaregistrovali také v zadním jejunu. Denzita alkalické fosfatázy dosahovala vyšších hodnot než 95,00 (naměřeno až 134,17 — obr. 12) a aminopeptidáza *M* vykazovala $D\bar{x}$ vyšší než 100,00 (až 128,16). Denzita nespecifické esterázy a kyselé fosfatázy se od hodnot $D\bar{x}$ naměřených ve středním jejunu příliš nelišila. Pokles denzity mukosubstancí nebyl tak významný a $D\bar{x}$ dosahovala 100,00 až 120,00 s aktuální převahou rovněž neutrálních mukosubstancí. Denzita pohárkových buněk barvených hematoxylinem — eosinem klesla z 13,98 na 11,93. Statisticky významný rozdíl v denzitě pohárkových buněk ve středním a zadním jejunu při jednotlivých reakcích ve sledovaném období (tj. 4. až 10. DPI) jsme nezjistili.

Denzita alkalické fosfatázy a aminopeptidázy *M* byla ve středním i zadním jejunu nejvyšší v supranukleární a nukleární oblasti pohárkových buněk. Topochemie dalších enzymů byla v buňkách rozložena pravidelně. $D\bar{x}$ kyselých i neutrálních mukosubstancí dosahovala maximálních hodnot v oblasti infranukleární.

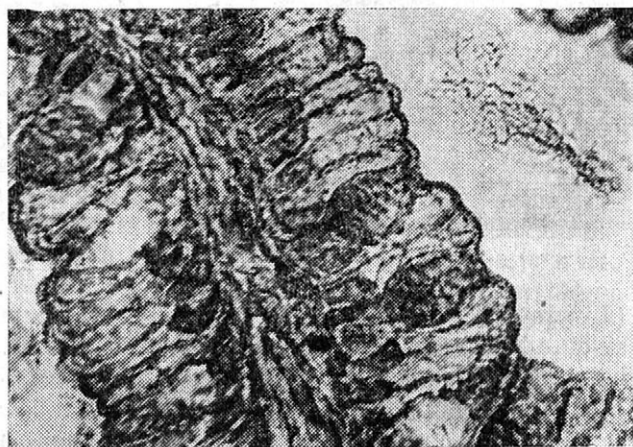


8. Značné zvýšení density kyselé fosfatázy v pohárkové buňce infikovaného selete ve věku 7 dnů (ISG 26) v úseku středního jejunu. Reakce na kyselou fosfatázu (zv. 70 $\times$) — High increase in the density of acid phosphatase in a goblet cell of an infected piglet at an age of 7 days (ISG 26) in the mid jejunum area. Reaction to acid phosphatase (magnif. 70 times)



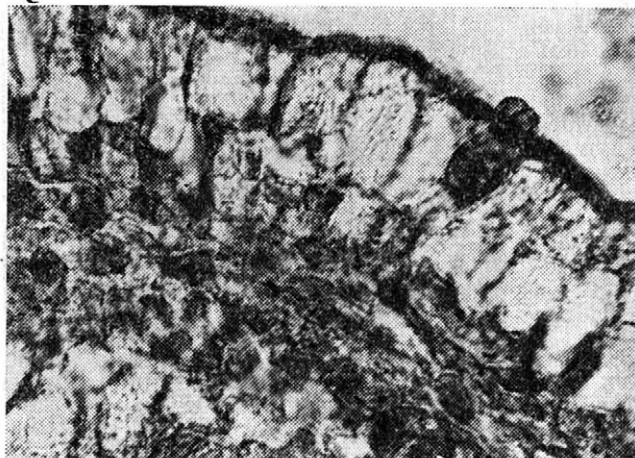
9. Vzestup density nesespecifické esterázy v pohárkové buňce infikovaného selete ve věku 9 dnů (ISG 13) v úseku středního jejunu. Reakce na nesespecifickou esterázu (zv. 80 $\times$) — Increase in the density of non-specific esterase in the goblet cell of an infected piglet at an age of 9 days (ISG 13) in the mid jejunum area. Reaction to non-specific esterase (magnif. 80 times)

10. Podstatně snížená denzita kyselých mukosubstancí v pohárkových buňkách infikovaného selete ve věku 10 dnů (ISG 15) v úseku středního jejunu. Reakce na kyselé mukosubstance (Yamada, 1964) (zv. 80 $\times$) — Significantly reduced density of acid mucosubstances in the goblet cells of an infected piglet at an age of 10 days (ISG 15) in the mid jejunum area. Reaction to acid mucosubstances (Yamada, 1964) (magnif. 80 times)

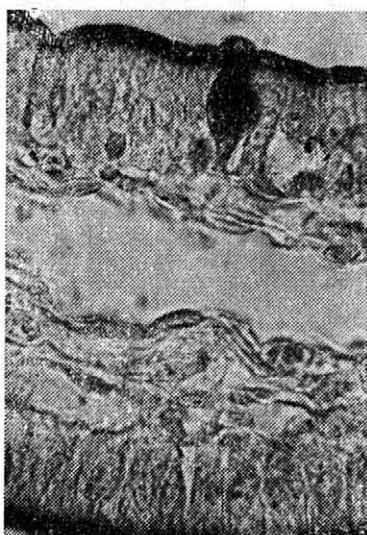


DISKUSE

Studiu histochemie a topochemie pohárkových buněk sliznice tenkého střeva se u lidských novorozenců věnoval Lojda (1967, 1974). V pohárkové buňce se podařilo prokázat aktivitu dehydrogenáz, kyselé fosfatázy, nesespecifické esterázy, nukleosidifosfatázy, thiaminpyrofosfatázy, acetyl- β -D-glukosaminidázy a β -D-galaktosidázy (Lojda, 1974). Kyselá fosfatáza se v pohárkových buňkách nalézá pouze v podobě jemného precipitátu, a to nejen v pohárkových buňkách střevní sliznice lidských novorozenců



11. Aktivita neutrálních mukosubstancí v pohárkové buňce. Ve srovnání s obr. 10 je zjevná převaha neutrálních složek a výraznější pokles složek kyselých. Úsek středního jejunu u infikovaného selate ve věku 9 dnů (ISG 13). Reakce na neutrální mukosubstancie (Yamada, 1970) (zv. 70×) — Activity of neutral muco-substances in a goblet cell. Compared with Fig. 10, there is an obvious prevalence of neutral components and a marked decline in the acid components. Mid jejunum area in an infected piglet at an age of 9 days (ISG 13). Reaction to neutral muco-substances (Yamada, 1970) (magnif. 70 times)



12. Densita alkalické fosfatázy v úseku zadního jejunu je vyšší než v úseku jejunu středního (viz obr. 6). Infikované selo ve věku 6 dnů (ISG 11). Reakce na alkalickou fosfatázu (zv. 70×) — Alkaline phosphatase density in the posterior jejunum area is higher than in the mid jejunum area (See Fig. 6). Infected piglet at an age of 6 days (ISG 11). Reaction to alkaline phosphatase (magnif. 70 times)

(Lojda, 1974), ale i v pohárkových buňkách střevní sliznice některých druhů mláďat savců, včetně selat (Holman, 1963). Pohárkové buňky jsou také silně pozitivní na kyselé i neutrální mukosubstancie (Lojda, 1969; Hornich, 1976; Kudweis aj., 1990; Kudweis a Lojda, 1989a).

Podobnost histochemického obrazu pohárkových buněk střevní sliznice lidských novorozenců a selat potvrzují práce Holmana (1963), Holmana a Padalíkové (1964) a Lojdy aj. (1984). Ve fyziologických pohárkových buňkách u lidských novorozenců ani u selat nebyla zjištěna aktivita alkalické fosfatázy a aminopeptidázy *M* (Holman, 1963; Holman a Padalíková, 1964; Lojda, 1967, 1974; Lojda aj., 1984; Kudweis aj., 1989a; Kudweis a Lojda, 1989a).

Aktivitou vybraného souboru enzymů ve sliznici tenkého střeva zdravých selat a selat onemocnělých diarrhoickou koliinfekcí vyvolanou kmeny *Escherichia coli* séro skupin 08, 0116, 0147 a 0149 se zabýval Hornich aj. (1974). Histochemii pohárkových buněk sliznice střevní však nestudoval. Na zvýšenou aktivitu enzymů pohárkových buněk sliznice střevní a na přítomnost alkalické fosfatázy a aminopeptidázy *M* u zdravých

telat neupozorňuje ani Asari (1987). Histochemicky změněné pohárkové buňky sliznice tenkého střeva nepopisuje u průjemujících telat Landsverk (1980, 1981) a shodné výsledky uvádějí i Stiglmaier-Herbová aj. (1986) při studiu sliznice tenkého střeva telat experimentálně infikovaných enterotoxigenním *E. coli* a rotavirem.

Při experimentální infekci gnotobiotických a konvenčních selat kokcií *I. suis* na vysokou aktivitu alkalické fosfatázy a na zásah do diferenciačního procesu v kryptách tenkého střeva upozorňují Kudweis aj. (1989a, b, d) a Kudweis a Lojda (1989b).

Patogenezi experimentální infekce gnotobiotických selat kokcií *I. suis* studovali Vítovec a Koudela (1990). Zjistili minimálně devítidenní trvání patogeneze kokcií *I. suis* s dvojí alterací sliznice tenkého střeva. První alterace byla nalezena 3. až 4. DPI a druhá fáze alterativních změn 8. až 9. DPI. Na obě fáze alterace sliznice tenkého střeva plynule navazují reparativní a regenerační procesy. Těžiště protozoární infekce a patologických změn v celém tenkém střevě se v průběhu patogeneze posouvá směrem kraniálním ze zadního do středního jejunu (Vítovec a Koudela, 1990).

V naší práci jsme zjistili, že při experimentální infekci gnotobiotických selat kokcií *I. suis* mají pohárkové buňky střevní sliznice vysokou $D\bar{x}$ alkalické fosfatázy a aminopeptidázy *M*. Prokázali jsme také zvýšení $D\bar{x}$ kyselých fosfatázy a nespecifické esterázy a značný pokles $D\bar{x}$ mukosubstancí, zejména kyselých. Pokládáme současné výsledky za potvrzení závěrů o zásahu do diferenciačního procesu v kryptách tenkého střeva při experimentální isosporóze u gnotobiotických selat, ale i selat konvenčních (Kudweis aj., 1989a, b, d, 1990; Kudweis a Lojda, 1989b). Histochemicky změněné pohárkové buňky středního a zadního jejunu ve srovnání s fyziologickým histochemickým obrazem pohárkových buněk sliznice střevní (Lojda, 1967, 1974; Lojda aj., 1984; Kudweis a Lojda, 1989a) jsme prokázali v období od 4. do 10. DPI, tedy mezi první a závěrem druhé alterativní fáze patogeneze kokcií *I. suis* (Vítovec a Koudela, 1990).

Při infekci gnotobiotických selat kokcií *I. suis* dochází také k poklesu $D\bar{x}$ u pohárkových buněk barvených hematoxylinem-eosinem. Předpokládáme, že je to způsobeno patologickou organizací buněčných struktur. Nárůst $D\bar{x}$ kyselých fosfatázy a nespecifické esterázy považujeme za následek zvýšené permeability membránových jednotek lysosomů a endoplasmatického retikula (zejména hladkého).

V naší práci jsme prokázali v pohárkových buňkách vysokou $D\bar{x}$ alkalické fosfatázy a aminopeptidázy *M*, typických enterocytárních enzymů (Lojda, 1974). Pohárková buňka, která se takto histochemicky odlišuje od fyziologické normy je buňka intermediálního stadia mezi enterocytem a pohárkovou buňkou (Kudweis aj., 1990) a je v této formě produkována zřejmě vlivem represe specifického genového fondu při urychlené diferenciaci, probíhající v kryptách tenkého střeva experimentálně infikovaných gnotobiotických selat kokcií *I. suis*. Naše zjištění i dřívější výsledky jiných autorů (Hornich, 1976; Kudweis aj., 1989d) dokumentují také patologickou syntézu mukosubstancí v době infekčního procesu, s výraznějším poklesem $D\bar{x}$ jejich kyselých složek.

Jsmo toho názoru, že produkce buňky intermediálního stadia není jediným patologickým projevem urychlené diferenciacie buněk v kryptách. Lze vyslovit hypotézu, že v nezralé, plně histochemicky diferencované formě, nejsou produkovány pouze pohárkové buňky, ale i enterocyty. Potvrzení této představy by výrazně přispělo k pochopení procesu vzájemné interakce mezi kokcií *I. suis* a absorpční buňkou (enterocytem).

Domníváme se, že použití skanujícího a integrujícího mikrodenzitometru Vickers M-86 umožnilo provedení detailní histochemické charakteristiky pohárkových buněk sliznice tenkého střeva a jednoznačně potvrdilo patologický průběh diferenciačního procesu v kryptách tenkého střeva u experimentálně infikovaných gnotobiotických selat kokcií *I. suis*.

Autoři děkují vedení Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně za to, že jim umožnili uskutečnit experimentální část práce na gnotobiotických selatech v prostorách ústavu. Současně děkují za velmi pečlivé zpracování materiálu Markétě Mederové, pracovníci Parazitologického ústavu ČSAV v Českých Budějovicích a Josefu Poncarovi za kvalitní technické vypracování fotodokumentace, pracovníkovi Agronomické fakulty Vysoké školy zemědělské v Českých Budějovicích.

Literatura

- ASARI, M.: Development of the bovine ileal mucosa. *Acta anat.*, 129, 1987, s. 315–324.
- HARLEMAN, J. H. — MEYER, R. C.: Life cycle of *Isoospora suis* in gnotobiotic and conventionalized piglets. *Veter. Parasit.*, 17, 1984–1985, s. 27–39.
- HARLEMAN, J. H. — MEYER, R. C.: Pathogenicity of *Isoospora suis* in gnotobiotic and conventionalized piglets. *Veter. Rec.*, 116, 1985, s. 561–565.
- HOLMAN, J.: Lokalizace alkalické a kyselé fosfatázy ve střevním epitelu bílého ušlechtilého prasete v průběhu raného postnatálního vývoje. [Kandidátská disertace.] Brno 1963, 111 s. — Vysoká škola veterinární.
- HOLMAN, J. — PADALÍKOVÁ, D.: Histotopochemie alkalické fosfatázy ve střevním epitelu selat chovaných na semisyntetické vysokokalorické dietě v prvním měsíci života. *Veter. Med. (Praha)*, 9, 1964, s. 399–408.
- HORNICH, M.: The effect of enteropathogenic *Escherichia coli* and transmissible gastroenteritis virus on the mucosubstances of the intestine of pigs. *Acta veter. (Brno)*, 45, 1976, s. 97–107.
- HORNICH, M. — SALAJKA, E. — ULMAN, L. — ŠARMANOVÁ, Z.: Enteric *Escherichia coli* infection in piglets enzyme histochemical activity in the small intestine of healthy and diarrhoeic piglets. *Acta veter. (Brno)*, 43, 1974, s. 335–346.
- JONES, G. W. — PARKER, R. J. — PARKE, C. R.: Coccidia associated with enteritis in grower pigs. *Austral. veterinary J.*, 62, 1985, s. 319.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: The small intestine's histochemistry of sucking piglets. *Physiol. bohemoslov.*, 38, 1989a s. 546.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: Diferenční proces pohárkových buněk sliznice střeva selat a syntéza hleny při experimentální enteritidě. In: JANOUŠEK, V. — ŠPÁLA, M.: Současné směry v patologické fyziologii. Praha, Univerzita Karlova 1989b, s. 231–233.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. — ŠTĚRBA, J.: Poměr enterocytů a pohárkových buněk ve sliznici tenkého střeva při experimentální infekci selat kokcií *Isoospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989a, s. 33–38.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. — ŠTĚRBA, J.: Úroveň aktivity alkalické fosfatázy během infekce kokcií *Isoospora suis* selat. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989b, s. 157–162.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Aktivita vybraných dehydrogenáz a monoaminoxidázy v tenkém střevě gnotobiotických selat infikovaných kokcií *Isoospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989c, s. 287–296.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — KOUDELA, B. — VÍTOVEC, J.: Syntéza hleny pohárkových buněk tenkého střeva při experimentální infekci selat kokcií *Isoospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989d, s. 727–734.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — JULIŠ, I. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Aktivita alkalické fosfatázy v pohárkových buňkách tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií *Isoospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990, s. 275–284.
- LANDSVERK, T.: Histochemical distribution of enzymes in the small intestine of young milk — fed calves. *Acta veter. scand.*, 21, 1980, s. 402–414.
- LANDSVERK, T.: An enzyme histochemical investigation of the intestinal mucosa in diarrheic calves. *Acta veter. scand.*, 22, 1981, s. 1–10.
- LOJDA, Z.: Cytochemie lidské jejunální sliznice. [Habilitační práce.] Praha 1967. 138 s. — Univerzita Karlova. Fakulta všeobecného lékařství.
- LOJDA, Z.: Anatomie, histologie, histochemie a elektronová mikroskopie tenkého střeva. In: FRÍČ, P. et al.: Malabsorpční syndrom. Praha, SZdN 1969, s. 19–41.
- LOJDA, Z.: Cytochemistry of enterocytes and of other cells in the mucous membrane of the small intestine. In: SMYTH, D. H.: Intestinal Absorption. London — New York, Plenum Press 1974, 1974, s. 43–122.
- LOJDA, Z. — GOSSRAU, R. — SCHIEBLER, T. H.: Enzyme histochemistry. A laboratory manual. Berlin — Heidelberg — New York, Springer Verlag 1979, s. 59–71.

- LOJDA, Z. — PAPOUŠEK, F.: Základy histochemického průkazu enzymů. Brno, Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků 1978, 120 s.
- LOJDA, Z. — PETRAŠKO, M. — HAVRÁNKOVÁ, E. — LOJDA, L.: Early postnatal development of the brush border enzymes of enterocytes in the rat and mini-pig. *Histochem. J.*, 16, 1984, s. 364—369.
- MOWRY, R. W.: Introduction to the histochemistry of complex carbohydrates. In: MOWRY, R. W.: *Histochemistry*. [Postgraduate medical study.] University of Kansas Medical Center, 1963, s. 34—67.
- ROBINSON, Y. — MORIN, M. — GIRARD, C. — HIGGINS, R.: Experimental transmission of intestinal coccidiosis to piglets: Clinical, parasitological and pathological findings. *Can. J. comp. Med.*, 47, 1983, s. 401—407.
- SANFORD, S. E.: Porcine neonatal coccidiosis: Clinical, pathological, epidemiological and diagnostic features. *Calif. Veter.*, 37, 1983, s. 26—30.
- STIGLMAYER—HERB, M. T. — POSPISCHIL, A. — HESS, R. G. — BACHMANN, P. A. — BALJER, G.: Enzyme histochemistry of the small intestinal mucosa in experimental infections of calves with rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Veter. Path.*, 23, 1986, s. 125—131.
- STUART, B. P. — BEDELL, D. M. — LINDSAY, D. S.: A search for extraintestinal stages of *Isospora suis*. *Veter. Rec.*, 110, 1982, s. 82—83.
- VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Double alteration of small intestine in *Isospora suis* infection in conventional and gnotobiotic piglets. *Folia parazit. (Praha)*, 37, 1990, s. 21—33.
- YAMADA, K.: Effects of oxidation upon alcian blue staining of acid mucopolysaccharides. *Nagoya med. J.*, 26, 1964, s. 217—220.
- YAMADA, K.: A histochemical study on the acriflavine staining of mucopolysaccharide-containing tissues. *Acta histochem.*, 35, 1970, s. 90—101.

Došlo dne 30. 5. 1989

КУДВЕЙС, М. — ЮЛИШ, И. — ЛОЙДА, З. — ВИТОВЕЦ, Й. — КОУДЕЛА, Б. (Паразитологический институт ЧСАН, Ческе Будейовице; Лаборатория гистохимии при медицинском факультете Карлового университета, Прага): Густота избранных энзимов в луковичных клетках слизистой оболочки тонкой кишки поросят экспериментально зараженных кокцидией *Isospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (6): 337—348.

В группе 12 гнотобиотических поросят экспериментально зараженных кокцидией *Isospora suis* через один день после родов (далее ДПР) мы с помощью сканирующего и интегрирующего микроденситометра Вицкерн М-86 наблюдали густоту избранных энзимов в луковичных клетках слизистой оболочки тонкой кишки. При инфекционной дозе 100 000 ооцитов кокцидии *I. suis* в период 4—10 дня после инфекции (далее ДПИ) выразительно изменяется гистохимия луковичных клеток слизистой оболочки гнотобиотических поросят. Повышается густота неспецифической эстеразы (ЕЦ 3.1.1.1), кислой фосфатазы (ЕЦ 3.1.3.2), понижается густота кислых и нейтральных муко-субстанций и доказательно высокая густота алкалической фосфатазы (ЕЦ 3.1.3.1) и аминопептидазы М (ЕЦ 3.4.11.2). Гистохимия луковичных клеток средней и задней тощей кишки у экспериментально зараженных гнотобиотических поросят очень похожа. В дуодене и подвздошной кишке гистохимическая картина луковичных клеток очень не отличается от данных, которые мы доказали в луковичных клетках слизистой оболочки тонкой кишки четырех контрольных поросят в возрасте двух—семи дней.

гистохимия; экспериментальная инфекция; луковичные клетки; *Isospora suis*; дифференциальной процесс клеток кишечной слизистой

KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Institute of Parasitology of the Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice; Histochemistry Laboratory of the Faculty of Medicine of the Charles University, Praha): *Density of selected enzymes in the goblet cells of the jejunum in piglets experimentally invaded by the coccidium Isospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (6): 337—348.

The density of selected enzymes in the goblet cells of the mucous membrane of the small intestine was studied in a group of 12 gnotobiotic piglets experimentally infected with the coccidium *Isospora suis* one day after parturition (DPP), using the Vickers M-786 scanning and integrating microdensity meter. At an infecting dose of 100 000 oocysts of *I. suis*, the histochemistry of the goblet cells of the mucous membrane of the piglets changed significantly in the period of 4 to 10 days after infection (DPI). Increases occur in the density of non-specific esterase (EC. 3.1.1.1.) and acid phosphatase (EC. 3.1.3.2.). The density of acid and neutral muco-substances declines and the densities

of alkaline phosphatase (EC. 3.1.3.1.) and aminopeptidase M (EC. 3. 4. 11. 2) are significantly high. The goblet cells of the mid and posterior parts of jejunum are very similar in their histochemistry in the experimentally infected gnotobiotic piglets. In the duodenum and ileum the histochemical picture of the goblet cells shows no substantial difference from the data recorded in the goblet cells of the mucous membrane of the small intestine of the four control piglets at an age of two to seven days.

histochemistry; experimental infection; goblet cells; *Isospora suis*; differentiation process in the cells of intestinal mucous membrane

KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Parazitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, České Budějovice; Laboratorium für Histochemie an der Medizinischen Fakultät der Karlsuniversität, Praha): *Die Densität ausgewählter Enzyme in den becherförmigen Zellen der Dünndarmschleimhaut bei durch Kokzidien Isospora suis experimentell infizierten Ferkeln*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6): 337—348.

Bei einer Gruppe von 12 mittels Kokzidien *Isospora suis* einen Tag nach der Geburt experimentell infizierten gnotobiotischen Ferkeln untersuchte man bei Verwendung des abtropfenden und integrierenden Mikrodensitometers Vickers M-86 die Densität ausgewählter Enzyme in den becherförmigen Zellen der Dünndarmschleimhaut. Bei einer Infektionsgabe von 100 000 Kokzidienoozyten *I. suis* verändert sich im Zeitraum vom 4. bis 10. Tag nach der Infektion ausdrucksvoll die Histochemie der becherförmigen Zellen der Schleimhaut bei den gnotobiotischen Ferkeln. Es erhöht sich die Densität der unspezifischen Esterase (EC. 3.1.1.1.), sauren Phosphatase (EC. 3.1.3.2.), es senkt sich die Densität der sauren und neutralen Mukosubstanzen und es ist eine hohe Densität der alkalischen Phosphatase (EC. 3.1.3.1.) und Aminopeptidase M (EC. 3.4.11.2.) nachweisbar. Die Histochemie der becherförmigen Zellen des mittleren und hinteren Leerdarms ist bei den experimentell infizierten gnotobiotischen Ferkeln sehr ähnlich. Im Duodenum und Ileus unterscheidet sich das histochemische Bild der becherförmigen Zellen nicht wesentlich von den Angaben, welche in den becherförmigen Zellen der Dünndarmschleimhaut bei vier Kontrollferkeln im Alter von 2 bis 7 Tagen nachgewiesen wurden.

Histochemie; experimentelle Infektion; becherförmige Zellen; *Isospora suis*; differentieller Prozeß der Darmschleimhaut-Zellen

Adresy autorů:

MVDr. Miloš Kudweis, CSc., MVDr. Jiří Vítovec, CSc., MVDr. Břetislav Koudela, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Prof. MUDr. Zdeněk Lojda, DrSc., člen koresp. ČSAV, MUDr. Ivan Juliš, Laboratoř pro histochemii, lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Studničkova 2, 128 00 Praha 2

KVANTITATÍVNE MIKROMORFOLOGICKÉ ŠTÚDIUM VAJEČNÍKOV U OVIEC PO SYNCHRONIZÁCII RUJE A SUPEROVULÁCII V JESENOM PRIPÚŠŤACOM OBDOBÍ

M. Tokoš, M. Tokošová, J. Arendarčík

TOKOŠ, M. — TOKOŠOVÁ, M. — ARENDARČIK, J. (Košice; Vysoká škola veterinárska, Košice): *Kvantitatívne mikromorfologické štúdium vaječníkov u oviec po synchronizácii ruje a superovulácii v jesennom pripúšťacom období*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6): 349–355.

Sledovali sme kvantitatívne mikromorfologické zmeny terciárnych folikulov a žltých teliesok (CL) u oviec v jesennom pripúšťacom období po synchronizácii ruje pomocou PGF² alfa (Oestrophon Spofa) v dávke 125 µg a superovulácii vyvolanej podaním PMSG (Antex Leo, Dánsko) v dávke 1000 m.j., alebo PMSG v dávke 750 a 1000 m.j. spolu s 50 000 m.j. vitamínu A (Aserophol Spofa). Najväčší počet ovulácií sme zistili u oviec po podaní PMSG v dávke 1000 m.j. spolu s vitamínom A ($3,4 \pm 3,0$), resp. po podaní 1000 m.j. PMSG ($2,6 \pm 1,74$). Najväčší počet terciárnych folikulov sme zistili u oviec po podaní PGF₂alfa. Zastúpenie terciárnych atretických folikulov bolo najvyššie u oviec po podaní PMSG (64,6 %). Výskyt luteizácie formy atrezie sme zistili iba u oviec po podaní PMSG (4 % z celkového počtu atretických folikulov). Karyometrickou analýzou luteálnych buniek CL sme zistili u oviec pokusných skupín dvojvrcholový priebeh variačných kriviek, čo zodpovedá teórii o prítomnosti dvoch luteálnych bunkových typov v tkanive CL u oviec. Morfometriou sme zistili najnižšie zastúpenie väzivového tkaniva na celkovom objeme vaječníkov u oviec po podaní 1000 m.j. PMSG spolu s vitamínom A. Podanie PMSG spolu s vitamínom A priaznivo ovplyvnilo celkovú folikulárnu odpoveď, priemerný počet ovulácií a zastúpenie neatretických folikulov.

terciárne folikuly; žlté telieska; PGF₂alfa; PMSG; vitamín A; ovce

Jednou z biotechnických metód intenzifikácie chovu oviec je ovplyvňovanie a cieľavedomé riadenie ich reprodukčných procesov. K metódam, používaným k riadeniu reprodukčných procesov, patrí i synchronizácia ruje a superovulácia (Choma a i., 1981; Maraček a i., 1987; Mc Natty a Henderson, 1987). Greyling a van der Westhuisen (1980) uvádzajú, že ruja môže byť v estrálnom období u oviec s úspechom synchronizovaná progestagénmi, progestagénmi v kombinácii s prostaglandínmi, alebo dvojitém podaním prostaglandínov v rozpätí 8 až 11 dní. K vyvolaniu superovulácie sa používajú extrahypofyzárne gonadotropíny, najčastejšie PMSG (Thimonier, 1981; Mc Natty a i., 1982), ktorý zvyšuje počet ovulácií v závislosti od použitej dávky. Viacerí autori uvádzajú negatívny vplyv PMSG na populáciu terciárnych folikulov (Mc Kenzie a i., 1973; Pivko, 1979), iní naopak uvádzajú priaznivý účinok PMSG tým, že zabraňuje atrezii folikulov (Dott a i., 1979). Účinok podania vitamínu A, alebo jeho prekursoru beta-karoténu, na reprodukčné vlastnosti u kráv sledovali Jackson a i. (1981), Bindas a i. (1984), Maraček a i. (1985) a iní. V práci sme sa zamerali na kvantitatívne mikromorfologické štúdium terciárnych folikulov a žltých teliesok (CL) vo vaječníkoch oviec po synchronizácii ruje a superovulácii. Cieľom práce je prispieť

k bližšiemu objasneniu pôsobenia PMSG na vaječníky oviec pri jeho spoločnom podaní s vitamínom A.

MATERIÁL A METÓDA

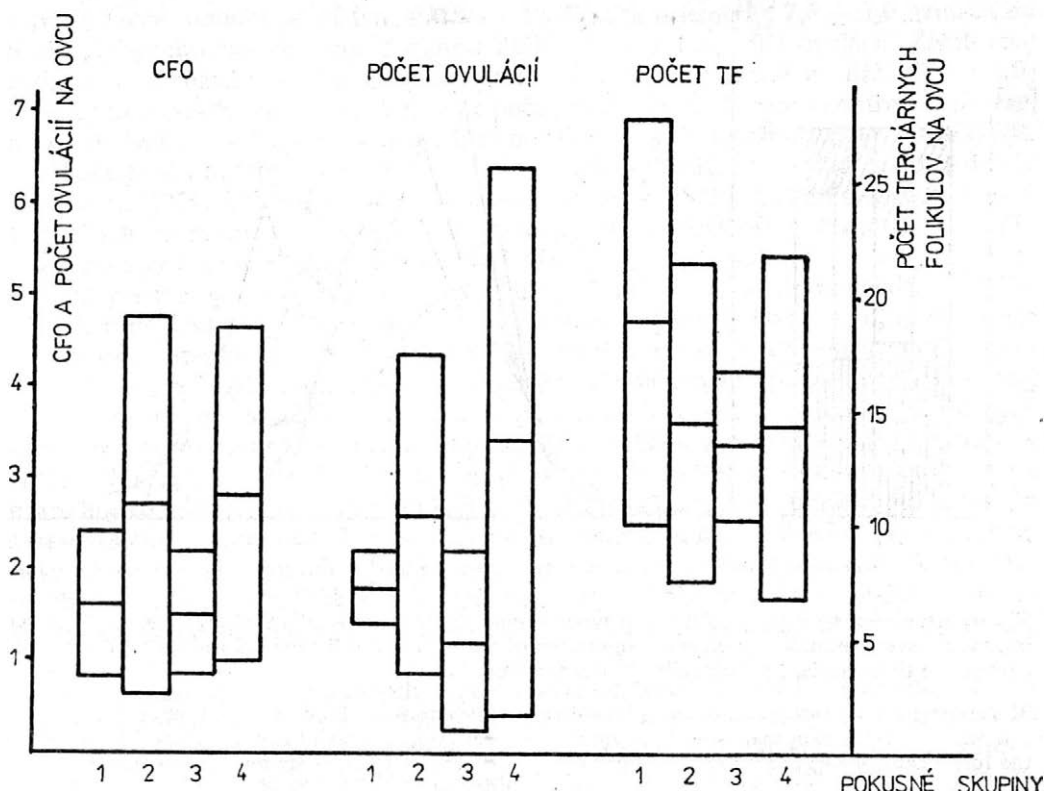
Do pokusu sme zaradili 20 oviec plemena slovenské merino vo veku dvoch až troch rokov, ktoré po veterinárnej prehliadke boli chované v experimentálnych podmienkach s celodenným ustajnením. Pred zaradením do pokusu boli zvieratá pasené a dojené. Výživa pokusných zvierat bola zabezpečená kŕmnou dávkou zimného typu a ovce neboli dojené. Ovce sme rozdelili po piatich kusoch do kontrolnej a troch pokusných skupín. U všetkých oviec sme estrálny cyklus synchronizovali dvojítmým podaním PGF₂alfa (Oestrophan inj. Spofa) v dávke 125 µg v rozpätí 11 dní. Ovciam 2. a 4. skupiny sme na 9. deň pokusu podali po 1000 m.j. PMSG (Antex Leo, Dánsko), ovciam 3. skupiny po 750 m.j. PMSG. Ovciam 3. a 4. skupiny sme súčasne s PMSG podali po 50 000 m.j. vitamínu A (Aserophol Spofa). Ovce sme zabíjali na 5. deň po podaní PMSG, resp. na 3. deň po druhom podaní PGF₂alfa. Na vaječníkoch sme zisťovali celkový počet ovulácií a celkovú folikulárnu odpoveď (počet ovulácií, novovytvorených CL a folikulov s priemerom nad 2 mm). Vaječníky sme fixovali v médiu formalín-sublimát-kyselina octová. Po vypraní a odvodnení sme excízy zaliali do parafínu a na sánkovom mikrotóme krájali rezy o hrúbke 6 µm, ktoré sme prehľadne sfarbili hematoxylin-eozinom. Zisťovali sme celkový počet terciárnych folikulov, ktoré sme diferencovali na neatrektické a atretické a pri atretických sme zároveň určili štádium atrézie podľa Mariana a i., (1968). U CL sme sledovali percentuálne zastúpenie jednotlivých bunkových typov. Karyometriu luteálnych buniek CL sme vykonali pri 2000násobnom zväčšení u 200 buniek z každého preparátu. Objem jadier sme stanovili pomocou nomogramov Fischera a Inkeho (1956) a vyjadrili sme ho ako logaritmus jadrového objemu. Morfometrické zastúpenie jednotlivých zložiek vaječníkov sme zisťovali bodovou volumetriou podľa Weibela (1979) vo vlastnej modifikácii pomocou projekčného mikroskopu MP 3 a bodového vyhodnocovania odkreslených vaječníkových štruktúr. Dosiahnuté výsledky sme štatisticky hodnotili Studentovým *t*-testom.

VÝSLEDKY

Priemerné hodnoty celkovej folikulárnej odpovede, počtu ovulácií na ovcu a počtu terciárnych folikulov na vaječníkoch oviec uvádzame na obr. 1. Najvyššie hodnoty celkovej folikulárnej odpovede a počtu ovulácií sme zistili u oviec 4. skupiny ($2,80 \pm 1,83$; $3,4 \pm 3,0$), najnižšie u oviec 3. skupiny ($1,50 \pm 0,67$; $1,20 \pm 0,97$). U kontrolných oviec boli priemerné hodnoty celkovej folikulárnej odpovede $1,60 \pm 0,80$ a priemerný počet ovulácií $1,80 \pm 0,40$. Zistené rozdiely medzi jednotlivými skupinami nie sú významné. Najvyšší počet terciárnych folikulov sme zistili u kontrolných oviec ($18,87 \pm 8,49$), najnižší u oviec 3. skupiny, ktorým sme podali PMSG v dávke 750 m.j. spolu s vitamínom A ($13,50 \pm 3,25$). Rozdiely nie sú štatisticky významné.

Diferenciáciou terciárnych folikulov na neatrektické a atretické (tab. I.) sme zistili najvyššie zastúpenie atretických folikulov u oviec 2. skupiny po podaní 1000 m.j. PMSG. U oviec pokusných skupín, ktorým sme súčasne s PMSG podali vitamín A, sme zistili nižšie percentuálne zastúpenie počtu atretických folikulov ako u oviec kontrolnej a 2. skupiny. Najvyššie zastúpenie atretických folikulov v štádiu ranej atrézie sme zistili u oviec 4. skupiny (50 %), najnižšie u oviec 3. skupiny (40 %). Neskorá forma atrézie bola najviac zastúpená u oviec 3. skupiny (15,56 %) a najmenej u kontrolných oviec (5,88 %), u ktorých sme zistili najviac folikulov v definitívnom štádiu atrézie (52,94 %). Luteinizačnú formu definitívneho štádia atrézie sme zistili iba u oviec, ktorým sme podali PMSG v dávke 1000 m.j. (4 % z celkového počtu atretických folikulov).

Zastúpenie jednotlivých bunkových typov CL uvádzame na obr. 2. U oviec kontrolnej, 2. a 3. skupiny sme zistili vyššie percentuálne zastúpenie svetlých luteálnych buniek, u oviec 4. skupiny naopak vyššie zastúpenie tmavých luteálnych buniek. Karyometrickou analýzou jadrového objemu luteálnych buniek CL (obr. 3) sme zistili u oviec kontrolnej skupiny jednovrcholový priebeh variačnej krivky s vrcholom pri logaritme objemu 1,2.



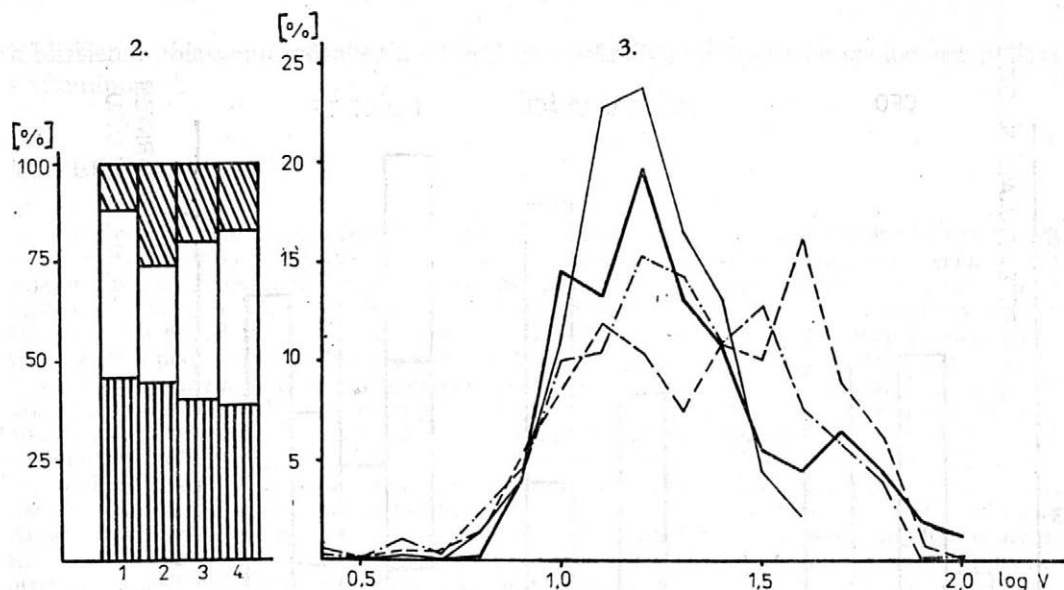
1. Celková folikulárna odpoveď, počet ovulácií a počet terciárnych folikulov (priemerné hodnoty $\pm$ s.e.m.) — Overall follicular response, number of ovulations, and number of tertiary follicles (average values $\pm$ s.e.m.)

Priebeh variačných kriviek u oviec pokusných skupín bol dvojvrcholový. Nižší logaritmus objemu luteálnych buniek sme zaznamenali u oviec 4. skupiny (vrcholy pri logaritme objemu 1,0 a 1,2), najvyšší u oviec 2. skupiny (vrcholy variačnej krivky pri logaritme objemu 1,1 a výraznejší pri 1,6).

Výsledky morfometrického zastúpenia jednotlivých štruktúr vaječníkov oviec uvádzame v tab. II. Najvyšší podiel väzivového tkaniva na celkovom objeme vaječníkov sme

I. Výsledok diferenciácie terciárnych folikulov na atretické a neatretické a zastúpenie jednotlivých typov atrezie — Results of the differentiation of tertiary follicles into the atretic and non-atretic ones, and proportions of different types of atresia

Skupina	Zastúpenie terciárnych folikulov [%]		Zastúpenia jednotlivých štádií atrezie [%]		
	neatretické	atretické	raná	definitívna	neskorá
1	43,71	56,29	41,18	52,94	5,88
2	35,34	64,66	41,33	50,67	8,00
3	44,44	55,56	40,00	44,44	15,56
4	51,16	48,84	50,00	35,71	14,29



2. Percentuálne zastúpenie jednotlivých typov buniek žltého telieska: väzivové bunky, tmavé bunky, svetlé bunky — Percent proportions of the different cell types of the corpus luteum: connective tissue cells, dark cells, light-coloured cells

3. Variácie krivky jadrového objemu luteálnych buniek žltého telieska: — 1. skupina, ---- 2. skupina, -.-.-.- 3. skupina, — 4. skupina — Variation curves of the contents of nuclei of the luteal cells of corpus luteum: — group 1, ---- group 2, -.-.-.- group 3, — group 4

zistili u oviec kontrolnej skupiny, najnižší u oviec, ktorým sme podali 1000 m.j. PMSG spolu s vitamínom A. U týchto oviec, ako aj u oviec 2. skupiny sme zistili výraznejší podiel objemu folikulárnych dutín na celkovom objeme vaječníkov. Najväčší podiel tkaniva CL sme zistili u oviec 3. skupiny, najmenší u kontrolných oviec.

DISKUSIA

Počas jesennej prípušťacej sezóny podanie PMSG v dávkach 500 až 1250 m.j. 24 až 72 hodín pred druhou injekciou PGF₂ alfa zvyšuje počet ovulácií v závislosti od použitej dávky PMSG (Thimonier, 1981). Whyman a Moore (1980) zistili u oviec

II. Zastúpenie jednotlivých vaječníkových štruktúr [%] — Proportions of the different ovary structures [%]

Skupina	Zastúpenie vaječníkových štruktúr [%]				
	väzivové tkanivo	folikulárne bunky	dutina folikulov	ciev	CL
1	64,34	6,83	11,25	11,72	5,86
2	47,17	6,33	28,23	6,32	11,95
3	51,82	2,05	2,76	20,24	23,13
4	43,11	4,36	26,42	7,55	18,55

v pripúšťacom období po podaní PMSG a PGF₂ alfa priemerne $7,6 \pm 1,0$ ovulácií na ovcu, po synchronizovaní ruje podaním PGF₂ alfa iba $1,3 \pm 0,1$ ovulácií. Zistili sme hodnoty porovnateľné s týmito výsledkami, i keď počet ovulácií je nižší ($3,4 \pm 3,0$) v dôsledku nižšej dávky PMSG. Zvýšenie počtu ovulácií v porovnaní s kontrolnými ovcami po podaní PMSG počas luteálnej fázy estrálneho cyklu uvádzajú Dott a i., (1979).

Početnosť terciárnych folikulov u oviec po podaní PMSG na 12. deň cyklu sledovali Dott a i., (1979). U kontrolných oviec zistili v priemere $18,8 \pm 2,6$ folikulov, po podaní PMSG ich počet stúpol na 24,1 až 25,6. Zároveň zistili priaznivé ovplyvnenie počtu neatretických terciárnych folikulov podaním PMSG. U kontrolných oviec sme zistili zrovnateľný priemerný počet terciárnych folikulov ($18,87 \pm 8,49$), ale po podaní PMSG ich počet poklesol na 13,5 až 14,5. Opačný účinok popisujú Moor a i., (1985) kedy aplikovanie superovulačných dávok PMSG vytvára predpoklady zmeneného vývoja oocytov s následnými biochemickými zmenami v pohlavnom aparáte oviec. U oviec, ktorým sme spolu s PMSG podali vitamín A, sme zistili vyššie zastúpenie neatretických folikulov v porovnaní s kontrolnou skupinou, čo je v súlade so zisteniami Jacksona a i., (1981). Wang a i., (1988) zistili priaznivé pôsobenie vitamínu A a beta-karoténu na ovariálnu steroidogézu a stav folikulárneho aparátu u kráv, na hladiny progesterónu a luteinizačného hormónu. Dott a i., (1979) sa domnievajú, že PMSG ovplyvňuje atretické procesy u terciárnych folikulov tým, že zabraňuje atrézii a dochádza k zníženiu prechodu neatretických folikulov do procesu atrézie. Staigmiller a England (1982) zistili znížený počet terciárnych folikulov a zmeny štruktúr vaječníka, na ktorom prebieha ovulácia.

Prítomnosť dvoch bunkových typov rozdielnej veľkosti v CL popisujú Ursely a Leymarie (1979). Fitz a i. (1982) sa domnievajú, že práve vzájomné vzťahy medzi veľkými (svetlými) a malými (tmavými) bunkami sú dôležité v regulácii životnosti a funkcie CL oviec. V jesennom pripúšťacom období sme nezistili výraznejšie rozdiely v percentuálnom zastúpení jednotlivých bunkových typov CL, i keď sme na základe výsledkov karyometrickej analýzy poukázali na prítomnosť svetlých i tmavých luteálnych buniek u oviec pokusných skupín.

Na základe literárnych údajov a zistených hodnôt celkovej folikulárnej odpovede, priemerného počtu ovulácií a zastúpenia neatretických folikulov usudzujeme na priaznivé ovplyvňovanie reprodukčného procesu u oviec v pripúšťacom období podaním vitamínu A. Účinok vitamínu A sa výraznejšie prejaví pri jeho podaní s vyššími dávkami PMSG.

Literatúra

- BINDAS, E. M. — GWAZDAUSKAS, F. C. — AIELLO, R. J. — HERBEIN, J. H. — McGILLIARD, M. L. — POLAN, C. E.: Reproductive and metabolic characteristics of dairy cattle supplemented with β -carotene. *J. Dairy Sci.*, 67, 1984, s. 1249 — 1253.
- DOTT, H. M. — HAY, M. F. — CRAN, D. G. — MOOR, R. M.: Effect of exogenous gonadotrophin (PMSG) on the antral follicle population in the sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 56, 1979, s. 683 — 689.
- FISCHER, J. — INKE, G.: Nomogramme zur Berechnung des Kernvolumens. *Acta morph. Acad. Sci. hung.*, 7, 1956, s. 141 — 165.
- FITZ, T. A. — MAYAN, M. H. — SAWYER, H. R. — NISWENDER, G. D.: Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.*, 27, 1982, s. 703 — 711.
- GREYLING, J.P.C. — van der WESTHUYSEN, J. M.: The synchronisation of oestrus in sheep. 5. Interval between prostaglandin injections in the double injection regime. *S. Afr. J. anim. Sci.*, 10, 1980, s. 73 — 75.
- CHOMA, J. — ELEČKO, J. — KAČMÁRIK, J. — KROKAVEC, M. — HAJURKA, J. — MARÁČEK, I. — HENDRICHOVSKÝ, V. — BEKEOVÁ, E.: Výsledky synchronizácie ruje a hormonálne hladiny po Oestrophane inj. (SPOFA). *Biol. a Chem. Veter.*, 17, 1981, s. 17 — 25.
- JACKSON, P. S. — FURR, B. J. A. — JOHNSON, C. T.: Endocrine and ovarian changes in dairy cattle fed a low beta-carotene diet during an oestrus synchronization regime. *Res. Veter. Sci.*, 31, 1981, s. 377 — 383.

- MARAČEK, I. — HENDRICHOVSKÝ, V. — ELEČKO, J.: Intenzifikácia reprodukcie oviec uplatnením biotechnických postupov na báze domácich veterinárnych prípravkov. Veterinár., ÚEVM Košice, 1, 1987, s. 39—41.
- MARCEK, J. M. — APPEL, L. A. — HOFFMAN, C. C. — MAREDICK, P. T. — SWANSON, L. V.: Effect of supplemental β -carotene on incidence and responsiveness of ovarian cysts to hormone treatment. J. Dairy Sci., 68, 1985, s. 71—82.
- MARION, G. B. — GIER, H. T. — CHOUDARY, J. B.: Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. J. anim. Sci., 27, 1968, s. 451—465.
- Mc KENZIE, B. E. et al.: Histological features of ovarian follicles of gonadotropin-injected heifers. Amer. J. veter. Res., 34, 1973, s. 1033—1040.
- Mc NATTY, K. P. — GIBB, M. — DOBSON, C. — BALL, K. — COSTER, J. — HEATH, D. — THURLEY, D. C.: Preovulatory follicular development in sheep treated with PMSG and or prostaglandin. J. Reprod. Fert., 65, 1982, s. 111—123.
- Mc NATTY, K. P. — HENDERSON, K. M.: Gonadotropins fecundity genes and ovarian follicular function. J. steroid Biochem., 27, 1987, s. 365—373.
- MOOR, R. M. — OSBORN, J. C. — CROSBY, I. M.: Gonadotropin-induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. J. Reprod. Fert., 74, 1985, s. 167—172.
- PIVKO, J.: Vplyv gonadotropínov (PMSG, HCG) na histologický obraz a histoenzymatické procesy v pohlavných orgánoch jalovic. Ved. Práce výzk. Úst. živoč. výroby Nitra, 17, 1979, s. 63—71.
- STAIGMILLER, R. B. — ENGLAND, B. G.: Folliculogenesis in the bovine. Theriogenology, 17, 1982, s. 43—52.
- THIMONIER, J.: Practical uses of prostaglandins in sheep and goats. Acta veter. scand., Suppl., 77, 1981, s. 193—208.
- URSELY, J. — LEYMARIE, P.: Varying response to luteinizing hormone of two luteal cell types isolated from bovine corpus luteum. J. Endocrinol., 83, 1979, s. 303—310.
- WANG, J. Y. — HAFI, C. B. — LARSON, L. L.: Endocrine responses and oestrus activity in Holstein heifers fed supplemental beta-carotene. Theriogenology, 29, 1988, s. 731—742.
- WEIBEL, E. R.: Stereological Methods. Vol. I. Practical Methods for Biological Morphometry. London, Academic Press 1979.
- WHYMAN, D. — MOORE, R. W.: Effects of PMSG and the prostaglandin F-2alpha analogue, cloprostenol, on superovulation, fertilization and egg transport in the ewe. J. Reprod. Fert., 60, 1980, s. 267—272.

Došlo dňa 9. 1. 1989

ТОКОШ, М. — ТОКОШОВА, М. — АРЕНДАРЧИК, Й. (Ветеринарный институт, Кошице): Количественное микроморфологическое изучение яичников у овец после синхронизирования течки и суперовуляции в осеннем случном периоде. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 349-355.

Мы наблюдали количественные микроморфологические изменения третичных фолликулов и желтых тел (ЦЛ) у овец в осеннем случном периоде после синхронизирования течки при помощи PGF₂ альфа (Оэстрофан Спофа) дозой 125 мкг и суперовуляции вызванной применением PMSG (Антекс Лео, Дания) дозой 1000 м.г., или PMSG дозой 750 и 1000 м.г. вместе с 50 000 м.г. витамина А (Аксерофтол Спофа). Наибольшее количество овуляций мы установили у овец после применения PMSG дозой 1000 м.г. вместе с витамином А (3,4 ± 3,0), или же после применения 1000 м.г. PMSG (2,6 ± 2,74). Наибольшее количество третичных фолликулов мы установили у овец после применения PGF₂ альфа. Наличие третичных атретических фолликулов было самым большим у овец после применения PMSG (64,6%). Наличие лютеинизирующей формы атрезии мы установили лишь у овец после применения PMSG (4% из общего количества атретических фолликулов). При помощи кариометрического анализа лютеальных клеток (ЦЛ) мы установили у овец подопытных групп двухвершинное течение вариационных кривых, что отвечает теории о наличии двух лютеальных клеточных типов в ткани ЦЛ у овец. При помощи морфометрии мы установили самое низкое представительство соединительной ткани на общем объеме яичников у овец после применения 1000 м.г. PMSG вместе с витамином А. Применение PMSG вместе с витамином А положительно повлияло на общий фолликулярный ответ, среднее количество овуляций и наличие неатретических фолликулов.

третичные фолликулы; желтые тела; PGF₂ альфа; PMSG; витамин А; овцы

TOKOŠ, M. — TOKOŠOVÁ, M. — ARENDARČIK, J. (Košice; University of Veterinary Medicine, Košice): *Quantitative micromorphological study of ovaries in ewes after oestrus synchronization and superovulation in the autumn mating season*. Veter. Med. Praha, 35, 1990 6: 349–355.

The quantitative micromorphological changes of tertiary follicles and corpora lutea (CL) were studied in ewes in the autumn mating season after oestrus synchronization, induced by administration of PGF₂alpha (Oestrophan Spofa) at a rate of 125 µg, and after superovulation, induced by administration of PMSG (Antex Leo, Denmark) at a rate of 1000 I. U., or PMSG at rates of 750 and 1000 I.U. together with 50 000 I.U. vitamin A (Axiophthol Spofa). The highest number of ovulations was obtained in ewes treated with 1000 I.U. together with vitamin A (3.4 ± 3.0) and after administration of 1000 I.U. PMSG alone (2.6 ± 2.74). The highest number of tertiary follicles was recorded in ewes after administration of PGF₂alpha. The proportion of tertiary atretic follicles was the highest in ewes after administration of PMSG (64.6 %). The occurrence of the luteinizing form of atresia was recorded only in ewes treated with PMSG (4 % of the total number of atretic follicles). Using the caryometric analysis of the luteal cells of corpora lutea, the ewes of the experimental groups had two-peak variation curves; this corresponds to the theory of the presence of two luteal types in the tissue of the corpus luteum in ewes. As determined morphometrically, the smallest proportion of connective tissue out of the total volume of ewes' ovaries was found after administration of 1000 I.U. PMSG together with vitamin A. Administration of vitamin A together with PMSG had a favourable influence on the over-all follicular response, on the average number of ovulations, and on the proportion of non-atretic follicles.

tertiary follicles; corpora lutea; PGF₂alpha; PMSG; vitamin A; ewes

TOKOŠ, M. — TOKOŠOVÁ, M. — ARENDARČIK, J. (Košice; Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Die quantitative mikromorphologische Untersuchung der Eierstöcke bei Schafen nach der Synchronisierung der Brunst und Superovulation in der Herbstpaarungsperiode*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 349–355.

Man beobachtete die quantitativen mikromorphologischen Veränderungen der tertiären Follikel und Gelbkörperchen (CL) bei Schafen in der Herbstpaarungsperiode nach der Brunstsynchronisierung mittels PGF₂alpha (Oestrophan Spofa) in einer Gabe von 125 µg und nach der Superovulation, die hervorgerufen wurde durch Verabreichung von PMSG (Antex Leo, Dänemark) in einer Gabe von 1000 I. E., oder PMSG in einer Gabe von 750 und 1000 I. E. gemeinsam mit 50 000 I. E. von Vitamin A (Axiophthol Spofa). Die höchste Ovulationanzahl ermittelte man bei den Schafen nach Verabreichung von PMSG in einer Gabe von 1000 I. E. gemeinsam mit Vitamin A ($3,4 \pm 3,0$), resp. nach Verabreichung von 1000 I. E. PMSG ($2,6 \pm 2,74$). Die höchste Anzahl tertiärer Follikel ermittelte man bei Schafen nach Verabreichung von PGF₂alpha. Die Vertretung tertiärer atretischer Follikel war am höchsten bei den Schafen nach Verabreichung von PMSG (64,6 %). Das Vorkommen der Luteisierungsform der Atresie ermittelte man nur bei Schafen nach Verabreichung von PMSG (4 % der gesamten Anzahl atretischer Follikel). Mittels karyometrischer Analyse der lutealen Zellen CL ermittelte man bei den Schafen der Versuchsgruppen einen Zweigipfelverlauf der Variationskurven, was der Theorie über die Anwesenheit von zwei lutealen Zellentypen im CL-Gewebe der Schafe entspricht. Mittels Morphometrie ermittelte man die niedrigste Vertretung des Bindegewebes am Gesamtvolumen der Schafeierstöcke nach Verabreichung von 1000 I.E. PMSG gemeinsam mit Vitamin A. Die Verabreichung von PMSG gemeinsam mit Vitamin A beeinflusste günstig die gesamte follikuläre Reaktion, die angemessene Ovulationanzahl und die Vertretung unatretischer Follikel.

tertiäre Follikel; Gelbkörperchen; PGF₂alpha; PMSG; Vitamin A; Schafe

Adresy autorov:

MVDr. Marián Tokoš, Kvetná č. 19, 040 15 Košice-Šaca

MVDr. Mária Tokošová, CSc., prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc., Vysoká škola veterinárna, Komenského 73, 041 81 Košice

DVADSÁT ROKOV ČINNOSTI ÚEVM

Z hlediska historie 20 rokov je krátke obdobie, avšak z pohľadu činnosti vedeckovýskumnej organizácie dosť dlhý čas, aby sa mohla urobiť bilancia doterajšej pracovnej činnosti a formulovať koncepcia ďalších zámerov. Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny v Košiciach bol zriadený rozhodnutím MPVŽ SSR a svoju činnosť začal 1. mája 1970. Ako jedinému rezortnému pracovisku na Slovensku zaoberajúcemu sa riešením veterinárnej problematiky boli delimitačným rozhodnutím k ústavu priradené laboratórium chorôb oviec v Košiciach a pracovisko aviarnej patológie z Ivanky pri Dunaji.

Vďaka úzkej spolupráci s Vysokou školou veterinárskou v Košiciach mohol ÚEVM už v prvých rokoch svojej činnosti aktívne vedecky pracovať. Do roku 1975 bolo na ústave obhájených a do užívateľskej praxe odovzdaných 10 čiastkových a záverečných správ. Okrem toho bol v tomto období ústav koordinačným pracoviskom úlohy plánu RVT „Výskum chorôb prenosných zo zvierat na ľudí“ a úlohy „Kvasnice vhodné pre ľudskú výživu“.

V rokoch 1976 až 1980 ústav bol koordinačným pracoviskom úlohy štátneho plánu RVT „Výskum ekonomiky závažných chorôb zvierat vrátane antropozoonóz“. Pracovný kolektív ústavu početne posilnený a vedecky erudovanejší výsledky svojich prác obhájil v 35 čiastkových a záverečných správach. Význam riešených problémov prekročil celoštátny rámec a ústav sa stáva referenčným centrom RVHP pre besnotu a v spolupráci s VŠV koordinačným pracoviskom RVHP pre výskum vitamínovej výživy hospodárskych zvierat.

V rokoch 1981 až 1984 ústav koordinoval a podieľal sa na riešení úlohy štátneho plánu RVT „Štúdium produkčných a reprodukčných chorôb zvierat vrátane antropozoonóz“. V tomto období bol ústav aj koordinačným pracoviskom úlohy štátneho plánu základného výskumu „Neinfekčné choroby hospodárskych zvierat“ a koordinačným pracoviskom rezortnej úlohy RVT „Výskum úpravy a overenie vhodnosti použitia klinoptilolitu v živočíšnej výrobe“.

V rokoch 1985 až 1988 ÚEVM bol koordinačným a v značnej miere aj riešiteľským pracoviskom úlohy štátneho plánu republikového programu technického rozvoja „Ochrana zdravia zvierat a životného prostredia v špecializovaných chovoch a vo voľnej prírode“. Od roku 1989 ÚEVM je koordinačným a v prevládajúcej miere aj riešiteľským pracoviskom úlohy štátneho plánu republikového programu technického rozvoja „Zdravie zvierat, biotechnologické a biotechnické metódy“. ÚEVM sa zaoberal predovšetkým vedeckými a výskumnými problémami zaradenými do aplikovaného výskumu, avšak 15–20 % svojej riešiteľskej kapacity v záujme kontinuity výskumnej činnosti venoval na riešenie úloh základného výskumu.

Celkovo za 20ročné obdobie svojej činnosti pracovníci ústavu výsledky svojej práce obhájili vo vyše 100 záverečných správach, publikovali viacej ako 400 vedeckých a 500 odbornovo-populárnych prác. Tieto výsledky priniesli veterinárnej, ale aj celej poľnohospodárskej praxi cenné poznatky pre zvyšovanie úrovne chovu a úžitkovosti hospodárskych zvierat, ochranu zdravia a životného prostredia.

V uplynulom období ústav upevňoval svoju autoritu aj v oblasti medzinárodnej spolupráce. V súčasnom období je aktívna spolupráca v problematike profylaxie lyssy, veterinárnej onkológie, vitamínovej výživy hospodárskych zvierat a veterinárnej biotechnológie.

Napriek pozitívnym výsledkom činnosti ÚEVM v uplynulom období v zmysle politicko-hospodárskych zmien prebiehajúcich v našej spoločnosti aj na našom ústave prebieha proces integrácie pracovných kolektívov tak, aby sme vytvorili zoskupenia schopné, kvalifikované a v plnej odbornej šírke riešiť problémy poľnohospodárstva v podmienkach trhového mechanizmu. Základom tejto činnosti na ÚEVM budú nasledujúce odbory:

- I. odbor mikrobiológie, epizootológie a imunológie
 - II. odbor produkčných a reprodukčných porúch zdravia zvierat
 - III. odbor životného prostredia, hygieny potravín a surovín živočíšnych produktov
- Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny vzhľadom na kvalifikačnú úroveň pracovného kolektívu a materiálne podmienky má dobré predpoklady rozvíjať svoju činnosť aj naďalej a byť úspešným aj v nových podmienkach.

Doc. Ing. M. Baran, CSc.
zást. riad. ÚEVM

Doc. MVDr. I. Rosival, CSc.
riaditeľ ÚEVM

POUŽITÍ FILTRAČNÍHO PAPIRU K ODBĚRU KRVE U DRŮBEŽE A K NÁSLEDNÉMU VYŠETŘENÍ PŘÍTOMNOSTI PROTILÁTEK PROTI VIRU NEWCASTLESKÉ NEMOCI

V. Jurajda, B. Schmidtová, L. Rybová

JURAJDA, V. — SCHMIDTOVÁ, B. — RYBOVÁ, L. (Vysoká škola veterinární, Brno; Okresní veterinární správa, Náchod; Okresní veterinární správa, Brno-venkov): *Použití filtračního papíru k odběru krve u drůbeže a k následnému vyšetření přítomnosti protilátek proti viru Newcastlešské nemoci*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 357—363.

Ověřovali jsme možnost odběru krve u drůbeže filtračními papírky s následným vyšetřením eluátů na přítomnost a výši hemaglutinačně inibičních (HI) protilátek proti viru Newcastlešské nemoci (NDV). Kvalitativně jsme vyšetřili 294 párových vzorků sér a eluátů, představujících 10 výběrových souborů ze tří vakcinovaných chovů drůbeže. Porovnáním počtu pozitivních sér (ředění 1 : 20 a vyšší) a pozitivitou eluátů filtračních papírků (ředění 1 : 2 a vyšší) jsme zjistili 238 párových vzorků pozitivních (81 %) a 30 negativních (10,2 %), celkem tedy shodnou reakci u 268 párových vzorků (91,2 %) z vyšetřovaných. Pouze u 25 párových vzorků byla zjištěna pozitivita jen v sérech, a to 22krát titr 1 : 20 a třikrát titr 1 : 40. V jednom případě byla pozitivita zjištěna pouze v eluátu. Porovnáním konečných titrů u 181 párových vzorků sér a eluátů ředěných shodně 1 : 2 jsme stanovili, že koncentrace HI protilátek v eluátu odpovídá ředění séra 1 : 20. Za tohoto předpokladu byl při kvantitativním hodnocení u 164 párových vzorků (55,8 %) prokázán shodný titr protilátek. U 82 vzorků eluátů (27,9 %) byl zjištěn nižší titr a u 48 vzorků eluátů (16,3 %) naopak vyšší titr protilátek v porovnání s titry protilátek v odpovídajících sérech. Průměrný geometrický titr (GMT) protilátek byl celkově v eluátech 1 : 65 a v sérech 1 : 75. Korelace GMT eluátů a sér jednotlivých vyšetřovaných skupin drůbeže byla vysoká ($r = 0,9883$). Odběr krve filtračními papírky a následné vyšetření eluátů na přítomnost HI protilátek proti NDV představuje dostatečně citlivý, jednoduchý a ekonomicky nenáročný způsob monitorování postvakcinační imunity proti NDV.

eluace protilátek; hemaglutinačně inibiční test

Sérologická kontrola postvakcinační imunity proti Newcastlešské nemoci (ND), prováděná státními veterinárními ústavy formou detekce hemaglutinačně inibičních (HI) protilátek proti viru ND (NDV), se stala v chovech drůbeže již samozřejmostí. Odběr krve pro laboratorní vyšetření se obvykle provádí po nabodnutí podkřídelní žíly odchytáváním vytékající krve do zkumavek. Získané sérum se pak posílá na vyšetření poštou nebo poslem. Mezi nevýhody tohoto způsobu odběru krve patří zejména vysoká spotřeba zkumavek a nezbytnost pečlivého zabalení vzorků sér pro poštovní nebo osobní přepravu.

Na základě literární citace (Brugh a Beard, 1980) jsme ověřovali možnost odběru krve u drůbeže pomocí filtračního papíru s následným vyšetřením eluátů na přítomnost a výši titrů HI protilátek proti NDV.

ODBĚR VZORKŮ

Vzorky krve na vyšetření jsme odebírali v laboratorním chovu kuřat vakcinovaných vakcínou Avipest ve třetí dnu věku v pitné vodě podle návodu výrobce (Bioveta Nitra) — skupiny 1 a 2. Dále v několika hejnech prarodičovského chovu kuřat masného typu HYBRO (vakcinace Neopestem, popř. revakcinace inaktivovanou olejovou vakcínou NOBI-VAC IB+G+ND fy Intervet) — skupiny 3 až 6 a v hejnech užitkového chovu nosnic (vakcinace Avipestem) — skupiny 7 až 10.

Vlastní odběr krve jsme prováděli nabodnutím *vena cutanea ulnaris*. Vytékající krev jsme zachycovali do zkumavek (Eppendorf) a na proužky filtračního papíru velikosti 1×8 cm. Po dostatečném nasycení krví jsme papírky usušili při pokojové teplotě nebo v termostatu při teplotě 37°C po dobu dvou hodin a skladovali v igelitovém sáčku při teplotě $+4^\circ\text{C}$ do doby vyšetření.

Zkumavky po vytvoření krevního koláče jsme centrifugovali $200 \times g$ po dobu 20 minut, vytvořené sérum přelili do dalších zkumavek a skladovali při teplotě -20°C do doby vyšetření.

ELUCE PROTILÁTEK

Z filtračního papíru vyseknuté dva disky o průměru 4,8 mm jsme vložili do jamek mikrotitrační destičky a přidali $100 \mu\text{l}$ pufovaného fyziologického roztoku (PBS). Po jednohodinovém protřepání na třepačce (T-22 Lověna) při pokojové teplotě jsme destičky zakryli a uložili na noc do chladničky ($+4^\circ\text{C}$). Druhý den jsme eluáty vyšetřovali společně s párovými vzorky sér v hemaglutinačně inhibičním testu.

HEMAGLUTINAČNĚ INHIBIČNÍ TEST (HIT)

Test jsme prováděli v mikrotitračních destičkách typu U (Gama Dalečín) metodou *beta* (Beard, 1980), tj. dvojnásobným seriovým ředěním sér a eluátů ve směsi virus + PBS s následnou jednohodinovou inkubací v termostatu při teplotě 37°C . Jako antigen jsme používali alantoidní tekutinu kuřecích embryí infikovaných kmenem LaSota v pracovním ředění 8 HA jednotek a erytrocyty kohoutů v 0,5% koncentraci jako indikátor hemaglutinace. Počáteční ředění eluátů bylo 1 : 2, u sér 1 : 2 a 1 : 5. Používaný objem byl $50 \mu\text{l}$.

Statistické hodnocení výsledků jsme prováděli podle Reisenauera (1965) a na počítači TNS-GC (Agrokombinát Slušovice).

VÝSLEDKY

Kvalitativní vyhodnocení výskytu HI protilátek proti NDV v 294 párových vzorcích sér a eluátů, představujících 10 výběrových souborů ze tří vakcinovaných chovů drůbeže, je uvedeno v tab. I. Porovnáním počtu pozitivních sér (ředění 1 : 20 a vyšší) s pozitivitou eluátů (ředění 1 : 2 a vyšší) jsme zjistili 238 párových vzorků pozitivních (81 %) a 30 negativních (10,2 %), celkem tedy shodnou reakci u 268 párových vzorků (91,2 %) z vyšetřovaných. Pouze u 25 párových vzorků byla zjištěna pozitivita jen v sérech a jedenkrát jen v eluátu. Porovnáním výše titrů sér odpovídajících negativním eluátům (tab. II) byly hladiny HI protilátek v sérech na nízké úrovni — 22krát titr 1 : 20 a 3krát titr 1 : 40.

Kvantitativní vyhodnocení titrů HI protilátek u stejných párových vzorků sér a eluátů je uvedeno v tab. III. Nejdříve jsme porovnali konečné titry u 181 párových vzorků sér a eluátů ředěných shodně 1 : 2 a výpočtem stanovili, že koncentrace HI protilátek v eluátu odpovídá ředění séra 1 : 20. Za tohoto předpokladu byl u 164 párových vzorků (55,8 %) prokázán shodný titr protilátek. U 82 vzorků eluátů (27,9 %) byl zjištěn nižší titr a u 48 vzorků eluátů (16,3 %) naopak vyšší titr protilátek v porovnání s titry protilátek v sérech. Výpočtem stanovený průměrný geometrický titr (GMT) protilátek byl celkově v eluátech 1 : 65 a v sérech 1 : 75.

Korelace GMT eluátů a sér jednotlivých vyšetřovaných skupin drůbeže je znázorněna na obr. 1.

I. Kvalitativní vyhodnocení výskytu HI protilátek v párových vzorcích sér (S) a eluátů (E)¹⁾ — Quality evaluation of the occurrence of HI antibodies in paired samples of sera (S) and eluates (E)¹⁾

Skupina	Chov ²⁾	Vakcinace příp. revakcinace	Odběr po poslední vakcinaci	Pozitivní nález ³⁾		Shoda nálezů (E/S)					
				eluát	sérum	+/+	-/-	celkem	+/-	-/+	celkem
1	LCH	1 × Avipest	3. týden	66/82	73/82	66	9	75/82	0	7	7/82
2	LCH	1 × Avipest	4. týden	22/22	22/22	22	0	22/22	0	0	0/22
3	GP	1 × Neopest	3. týden	5/23	8/23	4	14	18/23	1	4	5/23
4	GP	2 × Neopest	4. týden	17/24	19/24	17	5	22/24	0	2	2/24
5	GP	2 × Neopest	4. týden	23/24	23/24	23	1	24/24	0	0	0/24
6	GP	2 × Neopest + + Nobivac	13. týden	24/24	24/24	24	0	24/24	0	0	0/24
7	UCH	1 × Avipest	3. týden	23/23	23/23	23	0	23/23	0	0	0/23
8	UCH	2 × Avipest	4. týden	18/24	24/24	18	0	18/24	0	6	6/24
9	UCH	2 × Avipest	17. týden	22/24	23/24	22	1	23/24	0	1	1/24
10	UCH	2 × Avipest	26. týden	19/24	24/24	19	0	19/24	0	5	5/24
Celkem				239/294	263/294	238	30	268/294	1	25	26/294

¹⁾ Počet pozitivních/počet vyšetřovaných

²⁾ LCH = laboratorní chov, GP = prarodičovský chov kuřat masného typu HYBRO, UCH = užitkový chov nosnic

³⁾ Ředění eluátu 1 : 2 (séra 1 : 20) a vyšší

II. Porovnání negativních eluátů s titrem HI protilátek v odpovídajících sérech —
Comparison of negative eluates with HI antibody titres in the respective sera

Skupina ¹⁾	Celkový počet negativních eluátů	Titr sér			
		0	1 : 10	1 : 20	1 : 40
1	16	9	0	5	2
2	0	—	—	—	—
3	18	9	5	4	0
4	7	2	3	2	0
5	1	0	1	0	0
6	0	—	—	—	—
7	0	—	—	—	—
8	6	0	0	5	1
9	2	0	1	1	0
10	5	0	0	5	0
Celkem	55	20	10	22	3

¹⁾ Charakterizace skupin v tab. I

III. Kvantitativní vyhodnocení titrů HI protilátek v párových vzorcích sér (S) a eluátů (E) — Quantity evaluation of the occurrence of HI antibodies in paired samples of sera (S) and eluates (E)

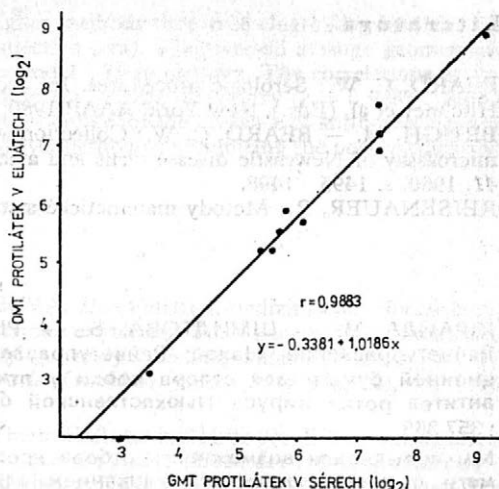
Skupina ¹⁾	Počet vzorků	GMT ²⁾			Titry eluátů a sér ³⁾		
		eluáty	séra	rozdíl (log ₂)	E < S	E = S	E > S
1	82	46	53	−0,18	19	49	14
2	22	149	160	−0,18	7	12	3
3	23	8	11	−0,39	10	9	4
4	24	37	40	−0,12	7	11	6
5	24	121	171	−0,54	12	12	0
6	24	453	557	−0,29	8	14	2
7	23	197	171	+0,26	1	15	7
8	24	49	65	−0,42	8	12	4
9	24	58	55	+0,08	2	17	5
10	24	35	46	−0,42	8	13	3
Celkem	294	65	75	−0,22	82	164	48

¹⁾ Charakterizace skupin v tab. I

²⁾ Reciproční hodnota průměrného geometrického titru protilátek

³⁾ Počet vzorků

1. Korelace titrů HI protilátek v párových vzorcích sér a eluátů — Correlations of HI antibody titres in the paired samples of sera and eluates



DISKUSE

Získané výsledky potvrdily závěry Brugh a Bearda (1980) o použitelnosti filtračního papíru k odběru krve u drůbeže a k následnému vyšetření HI protilátek proti NDV. Protože jsme neměli k dispozici jimi používaný filtrační papír č. 740 fy Schleicher & Schuell, ověřovali jsme proto nejdříve vhodnost druhů u nás dostupného filtračního papíru s ohledem na jeho maximální nasávací schopnosti. Z řady testovaných druhů papíru (Filtrak, Whatmann, zahraniční a tuzemský „laboratorní“ filtrační papír), se nám nejlépe osvědčil tuzemský (archy 130–180/m², ob. č. 622 131). Přesto titr eluovaných protilátek byl v našich testech o 2 $\log_2$ nižší, než získávali Brugh a Beard (1980).

Způsob eluce protilátek z filtračního papíru, který uvádí Brugh a Beard (1980) a používaný i v naší práci je optimální, ale není nezbytný. Stejných výsledků jsme dosahovali při vyšetření eluátů bezprostředně po jednohodinovém protřepávání na třepáče nebo jen pouhou elucí přes noc v chladničce.

Vliv doby skladování usušených filtračních papírků na výši titrů HI protilátek jsme sledovali za 1, 14 a 28 dní po odběru. Podobně jako Brugh a Beard (1980) jsme nepozorovali žádné rozdíly a shodně s nimi považujeme za nejvhodnější skladovat vzorky při teplotě +4 °C maximálně 14 dnů.

Kvantitativní hodnocení eluátů je částečně omezeno nízkou koncentrací eluovaných HI protilátek, což neumožňuje výše popsanou technikou HI testu identifikovat minimální pozitivní titry (1 : 20), ale až hodnoty 1 : 40 a vyšší. V případě nutnosti lze stanovit titr HI protilátek i v neředěném eluátu tak, že za použití objemu 25 μ l se sériově naředí eluát aa v PBS (kromě první jamky v řadě, kam se nanese pouze 25 μ l eluátu) a pak se přidá stejné množství antigenu.

Téměř 92% shoda získaná při kvalitativním hodnocení výsledků a pouze o 0,2 $\log_2$ nižší titry protilátek v eluátech oproti párovým vzorkům sér při kvantitativním hodnocení představují jen minimální rozdíly v porovnání se standardně používanou technikou HI testu ve vyšetřovacích ústavech. Navíc ekonomická nenáročnost a jednoduchost odběru krve filtračními papírky umožňuje zvýšení počtu vyšetřované drůbeže z hejna a tím i vyšší objektivitu výsledků.

Popsaný způsob odběru krve a vyšetření eluátů HI testem představuje dostatečně citlivý, jednoduchý a ekonomicky nenáročný způsob vyšetření, vhodný zejména pro orientační sledování postvaccinační imunity proti viru Newcastleké nemoci.

- BEARD, C. W.: Serologic procedures. In: Isolation and identification of avian pathogens. S. B. Hitchner et al. (Eds.), New York, AAAP 1980, s. 129–135.
- BRUGH, M. — BEARD, C. W.: Collection and processing of blood samples dried on paper for microassay of Newcastle disease virus and avian influenza virus antibodies. Amer. J. Veter. Res. 41, 1980, s. 1495–1498.
- REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace. Praha, SNTL 1965, 210 s.

Došlo dne 15. 5. 1989

ЮРАЙДА, В. — ШМИДТОВА, Б. — РЫБОВА, Л. (Ветеринарный институт, Брно; Райветуправление, Наход; Райветуправление, Брно-венков): Использование фильтрационной бумаги для отбора крови у птицы с последующим исследованием наличия антител ротив вируса Ньюкастленской болезни. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 357-363.

Мы испытывали возможность отбора крови у птицы при помощи фильтрационной бумаги с последующим исследованием элюатов на наличие и количество гемагглютинационно угнетающих (ГУ) антител против вируса Ньюкастленской болезни (НДВ). Качественно мы исследовали 294 парных образцов сывороток и элементов, представляющих собой 10 избранных совокунностей из трех вакцинированных разведений птицы. При сравнении количества положительных сывороток (разведение 1:20 и больше) и позитивностью элюатов фильтрационных бумажек (разведение 1:2 и больше) мы установили 238 парных образцов положительных (81%) и 30 отрицательных (10,2%), в общем тогда похожую реакцию у 268 парных образцов (91,2%) из исследуемых. Лишь у 25 парных образцов была установлена положительность лишь в сыворотках, а то 22 раза титр 1:20 и три раза титр 1:40. В одном случае положительность была установлена лишь у элюатов. При сравнении окончательных титров у 181 парных образцов сывороток и элюатов разведенных одинаково 1:2 мы установили, что концентрация ГУ антител в элюате отвечает разведению сыворотки 1:20. Из этого предположения при количественной оценке у 164 парных образцов (55,2%) вытекает доказательство одинакового титра антител. У 82 образцов элюатов (27,9%) был установлен более низкий титр и у 48 образцов элюатов (16,3%) наоборот более высокий титр антител по сравнению с титрами антител в соответствующих сыворотках. Средний геометрический титр (ГМТ) антител был в общем в элюатах 1:65 и в сыворотках 1:75. Корреляция ГМТ элюатов и сывороток отдельных исследуемых групп птицы была высокой ($r = 0,9883$). Отбор крови при помощи фильтрационных бумажек и последующее исследование элюатов на наличие ГУ антител против НДВ представляет собой достаточно чувствительный, простой и экономически выгодный способ мониторинга послевакцинационной иммунности против НДВ.

элюция антител; гемагглютинационно угнетающий тест

JURAJDA, V. — SCHMIDTOVÁ, B. — RYBOVÁ, L. (University of Veterinary Medicine, Brno; District Veterinary Administration, Náchod; District Veterinary Administration, Brno): Using filter paper for blood sampling in poultry to detect the presence of antibodies against the Newcastle disease virus. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 357–363.

Trials were conducted to verify the possibility of poultry blood sampling with filter papers for subsequent examination of the eluates for the presence (and level) of haemagglutination-inhibition antibodies against the Newcastle disease virus (NDV). Qualitative examination was performed in 294 paired samples of sera and eluates, representing 10 selective sets, coming from three vaccinated poultry flocks. The numbers of positive sera (dilution ratios 1:20 and higher) and positive eluates of filter papers (dilution ratios of 1:2 and higher) were compared and it was found that there were 238 positive paired samples (81%) and 30 were negative (10.2%), hence, there were like reactions in 268 paired samples (91.2% of the total number of samples examined). It was only in 25 paired samples that positivity was recorded just in the sera: 22 times with a titre of 1:20 and three times with a titre of 1:40. In one case, positivity was recorded just in the eluate. The final titres were compared in 181 paired samples of sera and eluates, all diluted at a ratio of 1:2, and it was found that the concentration of the haemagglutination-inhibition antibodies in the eluates corresponded to serum dilution ratio of 1:20. Under this assumption, the antibodies were found to have the same titre in 164 paired samples (55.8%) during the quantitative evaluation. A lower titre

was recorded in 82 eluate samples (27.9 %) and a higher antibody titre in 48 eluate samples (16.3 %) (in comparison with the antibody titres in the respective sera). The over-all average geometrical titre (GMT) of antibodies was 1 : 65 in the eluates and 1 : 75 in the sera. The correlations of the GMT of the eluates and sera were high in the different groups of poultry ($r = 0.9883$). Blood sampling with filter papers, followed by examination of eluate for the presence of antibodies against NDV, is a sufficiently sensitive, simple and inexpensive method of monitoring the post-vaccination immunity to NDV.

elution of antibodies; haemagglutination inhibition test

JURAJDA, V. — SCHMIDTOVÁ, B. — RYBOVÁ, L. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno; Kreislveterinärverwaltung, Náchod; Kreislveterinärverwaltung, Brno-Land): *Die Verwendung von Filtrationspapier für die Blutentnahme beim Geflügel und für die Folgeuntersuchung des Vorhandenseins von Antistoffen gegen den Virus der Newcastle-Krankheit*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 357—363.

Man überprüfte die Möglichkeit der Blutentnahme beim Geflügel mit Hilfe von Filtrationspapieren mit der Folgeuntersuchung der Eluate auf das Vorhandensein und die Höhe der Hämagglutinininhibitionsantistoffe gegen den Virus der Newcastle-Krankheit (NDV). Qualitativ untersuchte man 294 Serenpaarproben und Eluate, welche 10 Auswahlkomplexe von drei vakzinieren Geflügelzuchten darstellen. Durch Beobachtung der Anzahl positiver Seren (Verdünnung 1 : 20 und höher) und der Eluatensitivität der Filtrationspapierchen (Verdünnung 1 : 2 und höher) ermittelte man 238 positive Paarproben (81 %) und 30 negative (10,2 %), insgesamt also eine übereinstimmende Reaktion bei 268 Paarproben (91,2 %) der untersuchten Geflügelgruppen. Nur bei 25 Paarproben ermittelte man die Positivität nur in den Seren, und zwar 22-mal den Titer 1 : 20 und dreimal den Titer 1 : 40. In einem Falle wurde die Positivität nur im Eluat festgestellt. Durch Vergleich der Endtiter haben wir bei 181 Serenpaarproben und Eluaten, die übereinstimmend verdünnt wurden 1 : 2, festgestellt, daß die Konzentration der Hämagglutinininhibitionsantistoffe im Eluat der Verdünnung des Serums 1 : 20 entspricht. Unter dieser Voraussetzung wurde bei der quantitativen Bewertung bei 164 Paarproben (55,8 %) ein übereinstimmender Antistofftiter nachgewiesen. Bei 82 Eluatproben (27,9 %) ermittelte man einen niedrigeren Titer und bei 48 Eluatproben (16,3 %) im Gegenteil einen höheren Antistofftiter im Vergleich mit den Antistofftitern in den entsprechenden Seren. Der durchschnittliche geometrische Titer (GMT) der Antistoffe war insgesamt in den Eluaten 1 : 65 und in den Seren 1 : 75. Die Korrelation der GMT-Eluate- und Seren der einzelnen untersuchten Geflügelgruppen war hoch ($r = 0,9883$). Die Blutentnahme mittels Filtrationspapierchen und die Folgeuntersuchung der Eluate auf die Anwesenheit von Hämagglutinininhibitionsantistoffen gegen den Virus der Newcastle-Krankheit stellt eine genügend empfindliche, einfache und ökonomisch wenig anspruchsvolle Art des Monitorierens der Postvakzinationsimmunität gegen den Virus der Newcastle-Krankheit dar.

Antistoffelution; Hämagglutinininhibitionstest

Adresy autorů:

MVDr. Vladimír Jurajda, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

MVDr. Blažena Schmidtová, Okresní veterinární správa, Českoskalická 1836, 547 01 Náchod

MVDr. Lydie Rybová, Okresní veterinární správa Brno—venkov, Bohunická 117, 619 00 Brno

LÉKAŘSKÁ ENTOMOLOGIE A ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ

B. Rosický, M. Daniel a kol.

Praha, Academia 1989. 437 s.

Od čias kedy akademik Jevgenij Nikanorovič Pavlovskij vystúpil na plenárnom zasadnutí Akadémie medicínskych vied v ZSSR s teóriou o prírodnej ohniskovosti nákaz, uplynulo niečo vyše 50 rokov. Odvtedy prešlo jeho učenie previerkou v celom svete a zapisalo sa medzi trvalé hodnoty ľudského génia. Kniha v podstate z jeho učenia vychádza, obohacuje ho a jedinečným spôsobom syntetizuje poznatky s ohľadom na zmeny, ktoré sa v súčasnom svete okolo nás dejú.

Dielo má 437 strán a vydalo ho koncom roka 1989 ČSAV vo svojom vydavateľstve Academia. Na autorstve podieľa sa 18 význačných československých vedcov, ktorí sú dobre známi nielen u nás, ale aj vo svete. Mnohí z nich boli účastníkmi vedeckých expozícií, ktoré pomohli osvojiť si základy entomológie, ekológie, mikrobiológie v mnohých zemiach a zároveň vyriešiť zložité regionálne problémy. Ich vedecká erudícia je dôkazom vysokej metodologickej úrovne našej vedy. Kniha zaplňa citlivú medzeru — nedostatok textu tohoto druhu. Nadväzuje na prvé vydanie (žiaľ i posledné) monografie B. Rosického a J. Weisera: Škúdcí ľudského zdravia, ktorá vyšla pred 38 rokmi.

Kniha je schválená oboma ministerstvami školstva ako učebná vysokoškolská príručka pre lekárske fakulty. Siahnu po nej aj študenti veterinárneho lekárstva ako aj odborníci, ktorí sa problémami medicínskej (vrátane veterinárnej) entomológie, ekológie, životného prostredia, surveillance zoonóz a inými problémami zaoberajú.

Vybratých 250 citácií domácej a zahraničnej literatúry je vhodným pomocníkom k prehĺbeniu poznatkov v danej problematike, avšak aj príkladom neustálej aktuálnosti a unikátnosti tohoto vedeckého žánru. Je excelentnou prezentáciou československej vedy a jej tvorivej invencie.

V rade pohľadov je kniha originálna. Napr. v pojatí medicínskej ekológie a jej konfrontácie s hospodárskou činnosťou. Obrovské skúsenosti autorov sú prezentované tiež v poznatkoch entomológie mestského prostredia, drobného poľnohospodárskeho hospodárenia, v podmienkach veľkovýroby. Ďalej je to odborné profilovanie lekárskeho entomologických problémov v tropoch, subtropoch.

Kniha je vybavená početnými názornými tabuľkami, grafmi a cennými fotografiami. Všetkým autorom treba k dielu zablahoželať.

Akademik Otto Jaroslav Vrtiak

VEKOVÁ ZÁVISLOSŤ UTILIZÁCIE BIELKOVÍN NA PRÍJME TUKOV RÔZNEJ KVALITY

M. Krajčovičová-Kudláčková

KRAJČOVIČOVÁ—KUDLÁČKOVÁ, M. (Výskumný ústav výživy ľudu, Bratislava): *Veková závislosť utilizácie bielkovín na príjme tukov rôznej kvality*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 365—372.

Potkanom, samcom, veku 30 dní sa do veku 150 dní podávala *ad libitum* potrava s fyziologickým obsahom živín podľa veku a s rôznym zdrojom tukov — slnečnicový olej, bravčová masť, maslo. Každých 15 dní sa stanovil parameter využiteľnosti bielkovín NPR (net protein ratio), obsah telového tuku a v pečeni zvierat špecifická aktivita fosfoenolpyruvátkarboxykinázy PEPCK. NPR dosahuje pre všetky tri tukové zdroje rovnaké a vysoké hodnoty pre obdobie prudkého rastu (vek 45 a 60 dní — zvýšená potreba bielkovín na výstavbu organizmu), nižšie a opäť rovnaké pre vek 75 až 105 dní. Od 120. dňa do 150. dňa, čo je záver dospievania, sa dlhodobý príjem bravčovej masti a masla za fyziologickej skladby potravy s obsahom kvalitnej bielkoviny a optimálnym pomerom sacharidových zložiek potravy prejavil negatívne na využiteľnosť bielkovín. Výsledok je v korelácii s nárastom aktivity PEPCK, čo dokazuje použitie bielkovín ako substrátov glukoneogenézy a nie na proteosyntézu. Bravčová masť a maslo s 3,5 až 5-násobnou prevahou nasýtených mastných kyselín v porovnaní s olejom znamená poskytnutie mastných kyselín s krátkym retazcom ako efektívnej glukoneogenézy a v podmienkach fyziologického príjmu živín tiež substrátov pre mitochondriálnu syntézu mastných kyselín. Tieto dva účinky nasýtených mastných kyselín vysvetľujú významný nárast telového tuku v období 120 až 150 dní pre maslo, nevýznamný pre masť, keďže druhý tukový zdroj má menší obsah (42 : 58) nasýtených mastných kyselín než maslo (60 : 40) a zúčastňuje sa výrazne, tak ako maslo na procese glukoneogenézy.

potrava s fyziologickým obsahom živín; tukové zdroje; slnečnicový olej; bravčová masť; maslo; čistý proteínový pomer NPR; glukoneogenéza; lipogenéza

S vekom sa mení pomer medzi tvorbou nových telových bielkovín (rast) a bielkovín pre obnovu tkanív, údržbu organizmu (Bressani a i., 1973; Krajčovičová-Kudláčková a Dibák, 1986, 1989a). Tomuto pomeru odpovedá potreba jednotlivých živín vzhľadom na vek, ktorú sme stanovili na základe aplikácie adekvátnych metód u laboratorného potkana až do veku 360 dní (Krajčovičová-Kudláčková, 1985).

Krátkodobu (14 dní) podávanú potravu potkanom vo veku 30, 75 a 150 dní, ktorá mala optimálne zloženie živín s rôznym tukovým zdrojom (maslo, bravčová masť, slnečnicový olej) nespôsobilu zmenu utilizácie bielkovín (Krajčovičová-Kudláčková a Dibák, 1989b) v žiadnej vekovej kategórii. Cieľom práce bolo zistiť ako sa bude meniť využiteľnosť bielkovín za podmienok dlhodobého podávania uvedených kvalitatívne odlišných zdrojov tukov.

MATERIÁL A METÓDA

Potkanom, samcom (kmeň Wistar z chovnej stanice Velaz Praha), o hmotnosti $64,5 \pm 2,8$ g sme do 150. dňa veku podávali potravu s fyziologickým obsahom živín so zdrojom tukov — slnečnicový olej (SO), bravčová masť (BM) a maslo (MS). Obsah tuku [g] v 100 g zdroja: SO $99,2 \pm 0,3$;

BM 98,4 ± 1,6; MS 83,7 ± 0,6. Obsah tuku v potrave bol prepočítaný na 100% tuku v zdroji. Obsah mastných kyselín [g] v 100 g zdroja: SO 95,00; BM 94,33; MS 78,95; pomer nasýtených ku nenasyteným mastným kyselinám: SO 12 : 88; BM 42 : 58; MS 60 : 40 (Krajčovičová — Kudláčková a Dibák, 1989b). Zostavenie potravy s fyziologickým obsahom živín:

vek [dni]	bielkoviny [%]	tuky [%]	sacharidy [%]	soľna zmes [%]	agar [%]
30—45	15,0 (1)	30 (2)	36 (3)	4 (4)	15,0
46—75	15,0 (1)	20	41 (5)	4	20,0
76—90	12,5 (1,6)	15 (7)	46 (8)	4	22,5
91—120	11,5 (1,5)	11 (9)	51 (10)	4	22,5
121—150	10,0 (5)	10 (5)	51 (5)	4	25,0

V obsahu sacharidov je pomer pšeničného škrobu, zemiakového škrobu a cukru 6,4 : 1 : 1,2 (4). Čísla v zátvorkách znamenajú: 1 — Krajčovičová a Dibák (1980a), 2 — Krajčovičová a Dibák (1980b), 3 — Krajčovičová a Dibák (1982a), 4 — Henry (1965), 5 — Krajčovičová — Kudláčková (1985), 6 — Dibák (1980), 7 — Krajčovičová a Dibák (1982b), 8 — Krajčovičová a Dibák (1982c), 9 — Krajčovičová a Dibák (1981), 10 — Krajčovičová a Dibák (1983). Ku všetkým diétam bola pridávaná štandardná vitamínová zmes (Henry, 1965).

Zvieratá v počte 48 kusov pre každý z troch tukových zdrojov boli umiestnené po šiestich v klietkach s mriežkovou podlahou. Potravu a pitnú vodu dostávali *ad libitum*. Každých 15 dní (od 45. do 150. dňa) sme šesť zvierat z každého tukového zdroja usmrtili éterovou narkózou, rýchlo vypitvali pečeň, schladili a odobrali vzorku na stanovenie enzymatickej aktivity. Po vyčistení gastrointestinálneho traktu sme stanovili suchú hmotnosť zvierat a po zhomogenizovaní obsah tuku v karkase. 16 hodín pred usmrtením sme zvieratám potravu odobrali.

Hodnoty úbytku hmotnosti na bezbielkovinovej potrave boli zistené nastavením šiestich zvierat 15 dní pred usmrtením na potravu s fyziologickým obsahom tukov (Krajčovičová — Kudláčková a Dibák, 1989b) a zvýšeným obsahom sacharidov o hodnotu bielkovín.

Utilizáciu bielkovín sme vyjadrili parametrom NPR — net protein ratio (Bender a Doell, 1957):

$$\text{NPR} = \frac{\text{prírastok hmotnosti zvierat na testovanej potrave [g]} + \text{úbytok hmotnosti zvierat na bezbielkovinovej potrave [g]}}{\text{príjem bielkovín [g]}}$$

Na výpočet špecifickej aktivity boli určované bielkoviny v homogenáte pečene biuretovou reakciou (Tomášek, 1959). Aktivita fosfoenolpyruvátcarboxykinázy PEPCCK (E.C.4.1.1.32) bola stanovená UV-spektrofotometrickou metódou, ktorú stanovili Flores a Alleyne (1971).

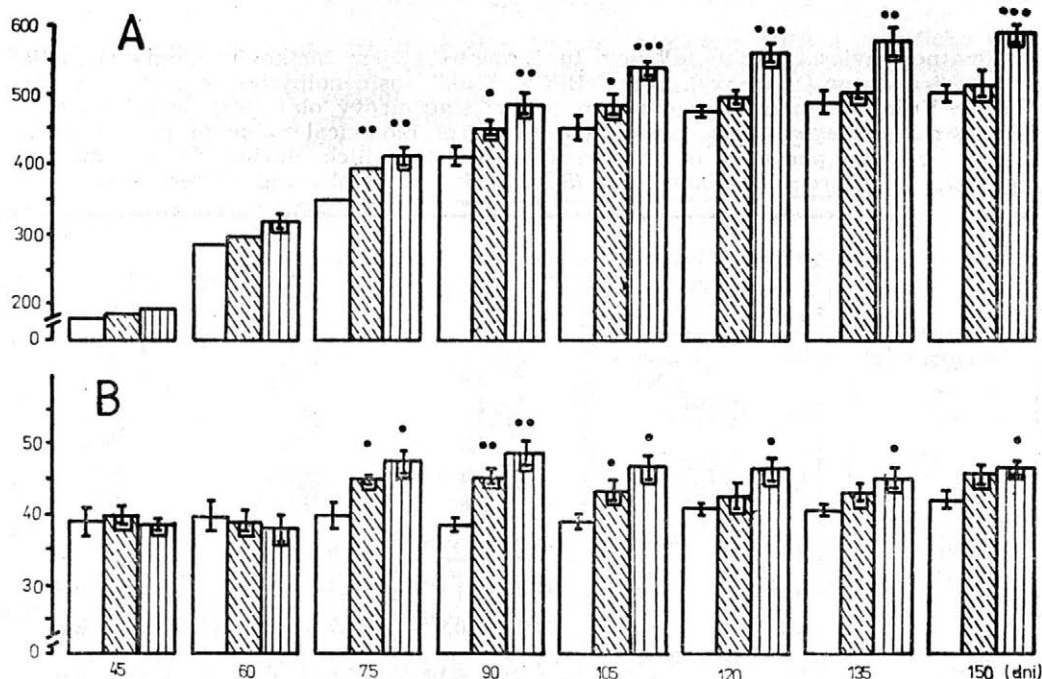
Obsah dusíka v kazeíne a potrave bol určený Dumasovou metódou (Vondenhof a Schulte, 1979). Obsah bielkovín = N × 6,25. Obsah tuku v zdrojoch, potrave a karkase zvierat bol stanovený extrakčnou Soxhletovou metódou. Obsah sacharidov v škroboch, cukre, kazeíne a v potrave bol určený Schoorlovou metódou (Príbela, 1978). Obsah živín v diétach bol v rozmedzí prípustných odchýlok (chyba 0,3 až 0,5 %).

VÝSLEDKY

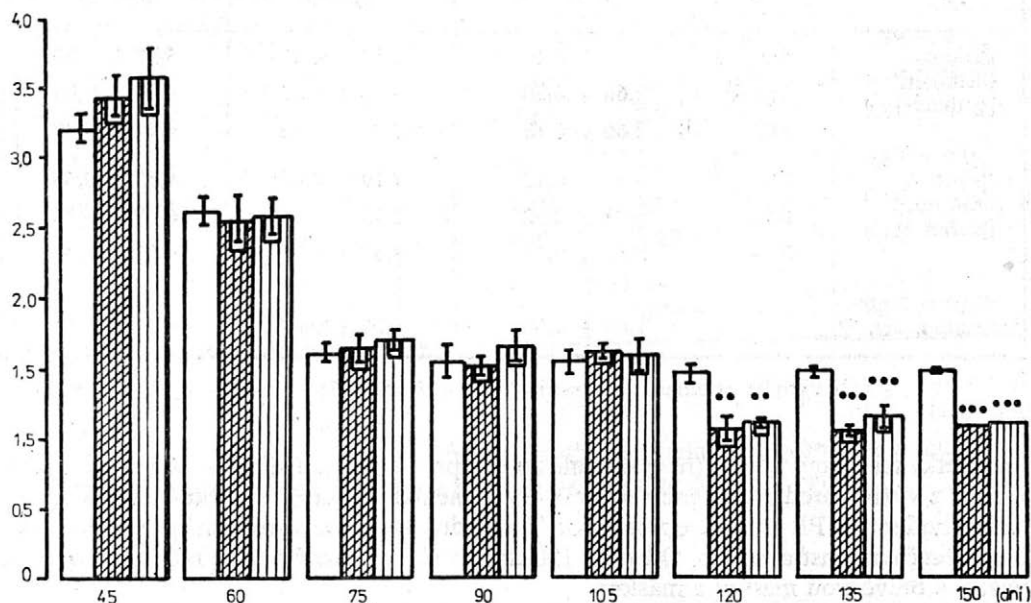
V tab. I a na obr. 1 v hornej časti je uvedená hmotnosť zvierat vo veku od 45 do 150 dní (v 15-dňových odstupoch) na potrave s fyziologickým obsahom živín a menším zdrojom tukov. Vo vekovej hranici po 60 dní nie sú zmeny v hmotnosti vplyvom rôznej kvality tukov. V úseku 75 až 105 dní je významne vyššia hmotnosť zvierat na bravčovej masti aj masle v porovnaní so slnečnicovým olejom. V etape 120 až 150 dní spôsobilo nárast hmotnosti len maslo.

V dolnej časti obr. 1 obsah telového tuku koreluje s hmotnosťou, i keď nárast tuku je na hranici významnosti okrem veku 90 dní.

Obr. 2 a tab. I vyjadruje využiteľnosť bielkovín v organizme pod vplyvom príjmu rozdielnych tukových zdrojov. NPR pre vek 45 a 60 dní má vysoké hodnoty a vyrovnané



1. A-hmotnosť zvierat v g a B-obsah telového tuku v g na 100 g suchej hmotnosti zvierat vo veku 45 až 150 dní, ktoré od 30 dní nepretržite dostávali potravu s fyziologickým obsahom živín vzhľadom na vek so zdrojmi tukov: □ slnečnicový olej, ▨ bravčová masť, ▤ maslo; P-oproti slnečnicovému oleju: ● — $P < 0,05$, ●● — $P < 0,01$, ●●● — $P < 0,001$ (platí i pre obr. 2 a 3) — A — weight of animals in g and B — content of body fat in g per 100 g of dry weight of the animals at an age of 45 to 150 days. From the age of 30 days on, they were continuously given feeds with a physiological content of nutrients with respect to age, containing the following fat sources: □ sunflower oil, ▨ pork lard, ▤ butter; P — compared with sunflower oil: ● — $P < 0,05$, ●● — $P < 0,01$, ●●● — $P < 0,001$ (holds also for Figs. 2 and 3)



2. Čistý proteinový pomer NPR u zvierat vo veku 45 až 150 dní pod dlhodobým vplyvom potravy s fyziologickým obsahom živín a zdrojmi tukov — Net protein ratio NPR in animals at an age of 45 to 150 days with long-continued administration of feeds with a physiological content of nutrients and with fat sources

I. Hmotnosť zvierat, obsah telového tuku, denný príjem bielkovín, denné prírastky vita fosfoenolpyruvátkarboxykinázy PEPCK (μmol fosfoenolpyruvátu $\cdot \text{min}^{-1}$) v pe- obsahu živín s meniacim sa zdrojom tukov: slnečnicový olej (SO), bravčová masť intake, daily weight gains, growth parameter of biological value of protein NPR, phenolpyruvate per min) in the livers of animals which, during the age interval changing fat sources: sunflower oil (SO), pork lard (BM), and butter (MS)

	Zdroj tukov	Vek			
		30	45	60	75
Hmotnosť [g]	SO	64,5 $\pm 2,8$	177,7 7,4	285,6 8,8	350,4 11,1
	EM	—	185,8 9,2	296,8 9,2	395,4 ⁺⁺ 8,9
	MS	—	192,4 8,8	318,3 12,8	412,1 ⁺⁺ 14,7
Telový tuk [g $\cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ s. h.}$]	SO	—	39,0 $\pm 2,6$	39,6 $\pm 3,2$	39,5 $\pm 2,6$
	BM	—	39,8 $\pm 1,8$	38,8 $\pm 2,2$	45,0 $\pm 0,9^+$
	MS	—	38,4 $\pm 0,9$	37,7 $\pm 2,8$	47,6 $\pm 2,0^+$
NPR	SO	—	3,19 $\pm 0,14$	2,62 $\pm 0,11$	1,61 $\pm 0,09$
	BM	—	3,42 $\pm 0,20$	2,55 $\pm 0,19$	1,66 $\pm 0,11$
	MS	—	3,58 $\pm 0,24$	2,56 $\pm 0,17$	1,71 $\pm 0,09$
PEPCK	SO	—	13,9 $\pm 0,8$	10,0 $\pm 0,3$	11,9 $\pm 0,6$
	EM	—	12,0 $\pm 0,8$	11,9 $\pm 0,7$	11,6 $\pm 0,8$
	MS	—	8,2 $\pm 1,4^{++}$	11,6 $\pm 0,9$	11,4 $\pm 0,5$
		30–45		45–60	60–75
Príjem bielkovín [g $\cdot \text{deň}^{-1}$]	SO	2,68 $\pm 0,15$		3,19 $\pm 0,19$	3,52 $\pm 0,22$
	BM	2,66 $\pm 0,20$		3,30 $\pm 0,22$	4,76 $\pm 0,53$
	MS	2,66 $\pm 0,18$		3,74 $\pm 0,32$	4,44 $\pm 0,37$
Prírastok hmotnosti [g $\cdot \text{deň}^{-1}$]	SO	7,54 $\pm 0,40$		7,19 $\pm 0,62$	4,32 $\pm 0,33$
	BM	8,08 $\pm 0,62$		7,40 $\pm 0,46$	6,57 $\pm 0,38$
	MS	8,52 $\pm 0,61$		8,39 $\pm 0,82$	6,25 $\pm 0,42$
Úbytok hmotnosti [g $\cdot \text{deň}^{-1}$]		1,04 $\pm 0,06$		1,20 $\pm 0,07$	1,36 $\pm 0,10$

$\pm$ = $S_{\bar{x}}$ – stredná chyba priemeru; P oproti SO; $^+$ = $P < 0,05$; $^{++}$ = $P < 0,01$; $^{+++}$ = $P < 0,001$

pre všetky tri tukové zdroje (nevýznamné zmeny pre vek 45 dní sú spôsobené prechodom zvierat z výživy pred odstavením na naše experimentálne diéty). V úseku veku 75 až 105 dní sú hodnoty NPR znížené oproti veku 45 a 60 dní, no znova vyrovnané pre slnečnicový olej, bravčovú masť aj maslo. Od veku 120 dní nastáva výrazný pokles NPR u zvierat na výžive s bravčovou masťou a maslom.

Aktivita fosfoenolpyruvátkarboxykinázy PEPCK v pečeni zvierat (obr. 3, tab. I) je po vek 120 dní vyrovnaná pre všetky tukové zdroje. Od veku 120 dní je vysoko preukazne zvýšená aktivita u bravčovej masti, ešte viac u masla v porovnaní s olejom. Inak s ve-

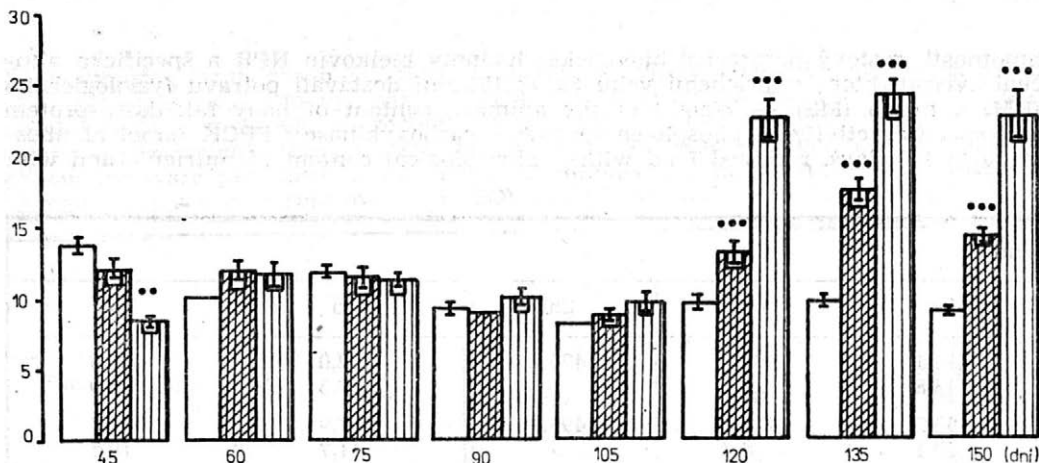
hmotnosti, rastový parameter biologickej hodnoty bielkovín NPR a špecifická aktív-
čeni zvierat, ktoré v priebehu veku 30 až 150 dní dostávali potravu fyziologického
(BM) a maslo (MS) — Weight of the animals, content of body fat, daily protein
and specific activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase PEPCK (μmol of phos-
of 30 to 150 days, received food with a physiological content of nutrients and with

[dni]				
90	105	120	135	150
413,1 13,8	457,1 9,2	476,2 6,8	492,0 18,3	505,0 12,9
453,2+ 10,1	487,2+ 8,8	498,2 9,1	507,9 11,7	517,0 19,8
489,3++ 19,8	542,9+++ 11,8	563,4+++ 14,9	581,4++ 21,2	592,1+++ 11,2
38,3 $\pm$ 1,0	38,9 $\pm$ 1,1	40,7 $\pm$ 1,0	40,6 $\pm$ 0,9	42,0 $\pm$ 1,4
45,3 $\pm$ 1,2++	43,3 $\pm$ 1,6+	42,5 $\pm$ 2,0	43,0 $\pm$ 1,6	45,7 $\pm$ 1,6
48,6 $\pm$ 2,6++	46,6 $\pm$ 2,2+	46,4 $\pm$ 2,0+	45,1 $\pm$ 1,7+	46,7 $\pm$ 1,2+
1,56 $\pm$ 0,10	1,54 $\pm$ 0,06	1,46 $\pm$ 0,07	1,48 $\pm$ 0,04	1,48 $\pm$ 0,02
1,51 $\pm$ 0,08	1,62 $\pm$ 0,05	1,06 $\pm$ 0,08++	1,04 $\pm$ 0,03+++	1,07 $\pm$ 0,01+++
1,65 $\pm$ 0,11	1,59 $\pm$ 0,13	1,12 $\pm$ 0,04++	1,16 $\pm$ 0,06+++	1,09 $\pm$ 0,01+++
9,3 $\pm$ 0,4	8,1 $\pm$ 0,2	9,5 $\pm$ 0,4	9,8 $\pm$ 0,6	9,0 $\pm$ 0,3
9,0 $\pm$ 0,3	8,7 $\pm$ 0,4	13,1 $\pm$ 0,7+++	17,6 $\pm$ 0,9+++	14,2 $\pm$ 0,4+++
10,0 $\pm$ 0,7	9,7 $\pm$ 0,9	22,4 $\pm$ 1,6+++	24,2 $\pm$ 1,6+++	22,8 $\pm$ 2,0+++
75—90	90—105	105—120	120—135	135—150
3,68 $\pm$ 0,26	3,08 $\pm$ 0,22	2,27 $\pm$ 0,11	2,25 $\pm$ 0,16	2,29 $\pm$ 0,10
3,60 $\pm$ 0,35	2,52 $\pm$ 0,27	2,62 $\pm$ 0,16	2,81 $\pm$ 0,12	2,90 $\pm$ 0,09
4,08 $\pm$ 0,29	3,38 $\pm$ 0,16	3,06 $\pm$ 0,12	2,99 $\pm$ 0,23	2,89 $\pm$ 0,19
4,18 $\pm$ 0,26	2,93 $\pm$ 0,24	1,27 $\pm$ 0,08	1,05 $\pm$ 0,06	0,87 $\pm$ 0,03
3,85 $\pm$ 0,22	2,26 $\pm$ 0,11	0,73 $\pm$ 0,09	0,64 $\pm$ 0,03	0,60 $\pm$ 0,02
5,14 $\pm$ 0,38	3,57 $\pm$ 0,26	1,36 $\pm$ 0,07	1,20 $\pm$ 0,07	0,64 $\pm$ 0,03
1,60 $\pm$ 0,08	1,83 $\pm$ 0,09	2,06 $\pm$ 0,13	2,29 $\pm$ 0,15	2,53 $\pm$ 0,13

kom sa aktivita prakticky nemení, zmeny na 45. deň veku sú spôsobené podobne ako
u NPR zmenou výživy odstavením a po ňom nastavením na naše diéty.

DISKUSIA

Z predchádzajúcej našej práce (Krajčovičová-Kudláčková a Dibák, 1989a)
vyplýva zaradenie zvierat veku 30 až 60 dní na optimálnej potravu do obdobia prud-



3. Špecifická aktivita fosfoenolpyruvátcarboxykinázy PEPCK v pečeni (μmol fosfoenolpyruvátu za min na 1 g bielkovín) zvierat veku 45 až 150 dní vplyvom dlhodobého podávania potravy fyziologického obsahu živín so zdrojom tukov — Specific activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase PEPCK in liver (μmol phosphoenolpyruvate per 1 min per 1 g of protein) in animals at an age of 45 to 150 days after long-continued administration of feeds with physiological nutrient content and with a fat source

kého rastu (6,73 g za deň), od 75 do 105 dní bol denný nárast hmotnosti 2,88 g a od 120 do 150 dní zvieratá mali denný prírastok hmotnosti 0,53 g. Rozdelenie zvierat podľa intenzity rastu sa prejavilo pri aplikácii rôznych zdrojov tukov v optimálnych podmienkach výživy.

Čistý proteinový pomer (NPR) poukázal na vysokú mieru využiteľnosti bielkovín v období prudkého rastu (45 a 60 dní), kedy prebieha výstavba organizmu. Od 75 dní veku sú hodnoty NPR nižšie, čo odpovedá použitiu bielkovín na dokončovanie výstavby a vývoja organizmu, ktoré sa prakticky končí od 120 do 150 dní veku zvierat. Práve v tomto období záveru dospievania sa prejavil negatívne dlhodobý príjem bravčovej masti a masla (od 30 dní) za fyziologického režimu skladby potravy na využiteľnosť bielkovín v organizme. Výsledok koreluje s nárastom aktivity fosfoenolpyruvátcarboxykinázy PEPCK, čo znamená, že bielkoviny sa odbúravajú procesom glukoneogenézy a nevyužívajú sa na proteosyntézu. Je známa aktivácia procesu glukoneogenézy vplyvom vysokého príjmu tukov (Tarnowski, 1970; Krajčovičová-Kudláčková a Dibák, 1988). Tuky sú efekty glukoneogenézy (Tarnowski, 1970) jednak cez glycerol a tiež cez mastné kyseliny s nízkym počtom atómov uhlíka. Bravčová masť a maslo majú 3,5 až 5-násobnú prevahu nasýtených mastných kyselín než slnečnicový olej. Teda, hoci príjem tukov bol rovnaký pre všetky tri zdroje a vo fyziologickom množstve, prevaha nasýtených mastných kyselín pri prijíme bravčovej masti a masla bola výrazná, čo sa prejavilo v aktivácii procesu glukoneogenézy. Pri krátkodobom prijíme (14 dní) tukových zdrojov sa vplyv masla a masti u zvierat neprejavil ani vo veku 150 dní (Krajčovičová-Kudláčková a Dibák, 1989b).

Nasýtené mastné kyseliny sú substrátmi lipogenézy. Pritom v prípade fyziologického obsahu živín, teda bielkovín, tukov aj sacharidov v potrave sa uplatní mitochondriálny systém syntézy mastných kyselín — elongácia už existujúcich mastných kyselín o kratšom reťazci (Harper, 1977). Aktiváciu extramitochondriálnej syntézy palmitátu možno ťažko predpokladať, pretože v optimálnych nutričných podmienkach niet vysvetlenia pre pôvod acetyl-CoA. Nárast telového tuku potvrdzuje lipogenézu v prípade príjmu bravčovej masti aj masla u zvierat veku 75 až 105 dní. Od 120 dní veku je nárast telového tuku výrazný len u masla. Ak vezmeme do úvahy menší obsah nasýtených mastných ky-

selín u bravčovej masti v porovnaní s maslom a účasť mastných kyselín aj v procese glukoneogenézy v tejto vekovej skupine u oboch zdrojov tukov, je opodstatnený nevýznamný nárast celotelového tuku vplyvom bravčovej masti. Rovnaké hodnoty telového tuku pre všetky tri zdroje tukov v potrave pre vek 45 a 60 dní možno pravdepodobne pripísať pretrvávajúcej adaptácii zvierat na príjem vysokotukovej potravy do odstavu.

Práca prináša poznatok o negatívnom ovplyvnení využiteľnosti bielkovín tesne pred dospelosťou dlhodobým príjmom masla a bravčovej masti v potrave s fyziologickým obsahom živín meneným postupne s vekom a pri zastúpení kvalitnej bielkoviny a optimálneho pomeru sacharidových zložiek potravy.

Literatúra

- BENDER, A. E. — DOELL, B. H.: Biological evaluation of proteins, a new aspect. *Brit. J. Nutr.*, 11, 1957, s. 140—148.
- BRESSANI, R. — VITERI, F. — ELUAS, L. G.: The usefulness of results with human beings in standardizing rat assays. In: PORTER, J. W.C. — ROLLS, A. B.: Protein in human nutrition. London — New York, Academic Press 1973, 560 s.
- DIBÁK, O.: Utilizácia rôznych proteinov a niektoré ukazovatele lákovej premeny pri rôznych nutričných stavoch. Bratislava, Výskumný ústav výživy ľudu 1980, 108 s.
- FLORES, H. — ALLEYNE, G.A.O.: Phosphoenolpyruvate carboxykinase of kidney. *Biochem. J.*, 123, 1971, s. 35—39.
- HARPER, H. A.: Přehled fyziologické chemie. Praha, Avicenum 1977, 639 s.
- HENRY, K. M.: A comparison of biological methods with rats for determining the nutritive value of proteins. *Brit. J. Nutr.*, 19, 1965, s. 125—135.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Protein utilization in correlation to protein intake. *Physiol. bohemoslov.*, 29, 1980a, s. 37—47.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Protein utilization in correlation to energy intake. *Physiol. bohemoslov.*, 29, 1980b, 233—241.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Determination of optimum fat intake. *Physiol. bohemoslov.*, 30, 1981, s. 55—62.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Determination of the optimum proportion of saccharides in the diet of weanling rats. *Physiol. bohemoslov.*, 31, 1982a, s. 549—555.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Determination of the optimum dose of fats in the food of rats of different ages. *Physiol. bohemoslov.*, 31, 1982b, s. 175—181.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Utilizácia bielkovín u potkanov pri rôznom príjme tukov a sacharidov. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982c, s. 45—56.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Determination of the optimum proportion of saccharides in the diet of adult rats. *Physiol. bohemoslov.*, 32, 1983, s. 366—373.
- KRAJČOVIČOVÁ — KUDLÁČKOVÁ, M.: Metabolické regulačné vzťahy za rôznych nutričných podmienok. Bratislava, Výskumný ústav výživy ľudu 1985, 51 s.
- KRAJČOVIČOVÁ — KUDLÁČKOVÁ, M. — DIBÁK, O.: The relationship between protein retention and energy requirements in rats of different ages. *Physiol. bohemoslov.*, 35, 1986, s. 243—250.
- KRAJČOVIČOVÁ — KUDLÁČKOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Utilizácia bielkovín v závislosti od veku, príjmu tukov a sacharidov. *Bratisl. lek. Listy*, 89, 1988, s. 264—269.
- KRAJČOVIČOVÁ — KUDLÁČKOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Utilizácia bielkovín a vysoký príjem tukov a sacharidov u potkanov veku 30 až 150 dní. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989a, s. 361—370.
- KRAJČOVIČOVÁ — KUDLÁČKOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Biologická hodnota bielkovín a príjem tukov rôznej kvality v experimente. *Čs. Gastroent. Výž.*, 43, 1989b, s. 375—382.
- PRÍBELA, A.: Analýza prírodných látok v požívatinách. Bratislava, Alfa 1978, 430 s.
- TARNOWSKI, W.: Glukoneogenie und ihre Steuerung durch Nahrungsbestandteile. *Nutr. Diet.*, 15, 1970, s. 135—156.
- TOMÁŠEK, V.: Fiuretová reakcia. In: KEIL, B. — ŠORMOVÁ, Z.: Laboratorní technika biochemie. Praha, ČSAV 1959, 872 s.
- VONDENHOF, T. — SCHULTE, K.: Bestimmung des Stickstoffs bei Fleischerzeugnissen nach dem Kjeldahl- und Dumas-Verfahren. *Dtsch. Lebensmittel „Rundschau“*, 75, 1979 s. 187—189.

Došlo dňa 25. 4. 1989

КРАЙЧОВИЧОВА-КУДЛАЧКОВА, М. (Научно-исследовательский институт питания населения, Братислава): **Возрастная зависимость утилизации белковых веществ от потребления жиров разного качества.** Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 365-372.

Пасюкам, самцам в возрасте 30 дней до возраста 150 дней давалось по желанию питание с физиологическим содержанием питательных веществ по возрасту и с разным источником жиров — подсолнечное масло, свиное сало, масло. Каждых 15 дней устанавливался параметр используемости белковых веществ NPR (net protein ratio), содержание телесного жира и в печени животных специфическая активность фосфоэнолпируваткарбоксикиназы PEPCK. NPR достигает для всех трех жировых источников одинаковые и высокие значения для периода быстрого роста (возраст 45—60 дней — повышенное потребление белковых веществ для постройки организма), низкие и опять одинаковые для возраста 75—105 дней. От 120 дня до 150 дня, что является заключением созревания; одновременное потребление свиного жира и масла при физиологическом сложении и пищи с содержанием качественных белковых веществ с оптимальным соотношением сахаридовых составных частей пищи проявилось отрицательно на используемости белковых веществ. Результат в корреляции с нарастанием активности PEPCK, что доказывает использование белковых веществ как субстратов глюконеогенеза, а не на протеиносинтез. Свиной жир и масло с 3,5—5 кратным преобладанием насыщенных жирных кислот по сравнению с подсолнечным маслом означает предоставление жирных кислот с короткой цепью как эффекторов глюконеогенеза и в условиях физиологического потребления питательных веществ также субстратов для митохондриального синтеза жирных кислот. Эти два действия насыщенных жирных кислот объясняют значительное наращивание телесного жира в период 120—150 дней для масла, незначительный для сала, у каждого второго жирового источника меньшее содержание (42 : 58) насыщенных жирных кислот, чем у масла (60 : 40) и принимает значительное участие, так же как масло в процессе глюконеогенеза.

пища с физиологическим содержанием питательных веществ; жировые источники; подсолнечное масло; свиной жир; масло; чистое протеиновое соотношение NPR; глюконеогенез; липогенез

KRAJČOVIČOVÁ—KUDLÁČKOVÁ, M. (Institute for Human Nutrition, Bratislava): *The age dependence of protein utilization on the intake of fats of different quality.* Veter. Med. (Praha). 35, 1990 (6) : 365—372.

From an age of 30 days to 150 days, male rats were given *ad libitum* feed with a physiological content of nutrients (adequate to their age) and with different sources of fat: sunflower oil, pork lard, butter. The net protein ratio (NPR), body fat content, and the specific activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase PEPCK were determined every 15 days. For all the three fat sources, NPR had the same high values in the intensive growth period (age 45 and 60 days: increased protein demand for building the organism); lower and the same again are the NPR values at an age of 75 to 105 days. From an age of 120 days to 150 days (the end of maturation), the long-continued intake of lard and butter had an adverse effect on the availability of protein for the animals, though their food had a physiological structure and an optimum proportion of the saccharide components. The result correlates with the growth of PEPCK activity, as indicated by exploitation of protein as substrate for gluconeogenesis, not for proteosynthesis. Pork lard and butter with a 3.5 — to 5-fold prevalence of saturated fatty acids, compared with sunflower oil, implies that short-chain fatty acids were provided as effectors of gluconeogenesis and that, under the conditions of physiological intake of nutrients, substrates were also provided for mitochondrial synthesis of fatty acids. These two effects of saturated fatty acids can serve to explain the increase in body fat in the period from 120 days of age to 150 days: this increase is significant for butter and insignificant for lard; the latter fat source has a lower content (42 : 58) of saturated fatty acids than butter (60 : 40), and is markedly (like butter) involved in the process of gluconeogenesis.

food with physiological nutrient content; fat sources; sunflower oil; pork lard; butter; net protein ratio NPR; gluconeogenesis; liponeogenesis

Adresa autorky:

Ing. Marica Krajčovičová—Kudláčková, CSc., Výskumný ústav výživy ľudu, Nám. 4. apríla 7, 812 30 Bratislava

HODNOCENÍ ÚČINNOSTI VYVÍJENÉ VAKCÍNY PROTI VZTEKLINĚ TKÁŇOVÉ INAKTIVOVANÉ NIH TESTEM

V. Vrzal, Z. Čupera, J. Chumela, L. Zatloukal

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (Bioveta, Ivanovice na Hané; Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Brno): *Hodnocení účinnosti vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované NIH testem*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 373–379.

NIH testem jsme ověřili 12 operačních čísel vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované a volumetrickou metodou výpočtu stanovili počet mezinárodních jednotek v 1 cm³ vakcíny. Počet mezinárodních jednotek (UI) v 1 cm³ vyvíjených vakcín byl zjištěn v rozmezí od 1,08 do 2,59 UI.cm⁻³, průměrná hodnota všech 12 testovaných šarží je 1,52 UI.cm⁻³. Průměrná hodnota mezinárodních jednotek ve vakcinační dávce pro psy je 4,57. Všechna testovaná operační čísla vyvíjených antirabických vakcín vyhověla normě aktivity doporučené Světovou zdravotnickou organizací pro veterinární vakcíny tohoto typu.

antirabická vakcína tkáňová inaktivovaná; stanovení kvality; NIH test; mezinárodní jednotky

Během posledních let došlo vlivem intenzivního výzkumu a technického rozvoje k převratnému pokroku v kontrolních metodikách stanovování účinnosti antirabických vakcín i imunitního stavu vakcinovaných zvířat. Tato kontrola účinnosti vakcín a imunitní odpovědi u zvířat je jedním z nejzávažnějších problémů, souvisejících s otázkami celkové imunoprofylaxe vztekliny a stává se samostatným odvětvím při studiu této nákazy. Na účinnosti antirabických vakcín, stejně jako na zjišťování a hodnocení stavu imunity zvířat, bude do velké míry záviset úspěch v boji za plné utlumení této nebezpečné nákazy.

Stanovení účinnosti vakcín proti vzteklině je nezbytnou kontrolní zkouškou před uvolněním každé vyrobené šarže do praktického použití (Precausta aj., 1983). Pro jednotlivé druhy vakcín doporučuje Světová zdravotnická organizace (WHO) standardní zkoušky účinnosti (WHO, 1984).

Z testačních zkoušek účinnosti antirabických inaktivovaných vakcín dosáhla největšího uplatnění metoda, kterou zavedl Habel (1973a) a NIH test (Seligmann, 1973). V současné době je používán NIH test, který u tkáňových antirabických vakcín umožňuje použitím volumetrické metody stanovit účinnost v mezinárodních jednotkách (UI) na 1 cm³ vakcíny. Navržené normy aktivity antirabických vakcín pro veterinární použití byly uveřejněny v doporučení WHO (1984). WHO stanovila, aby vakcíny pro veterinární použití měly minimální antigenní aktivitu 1,0 UI ve vakcinační dávce pro zvíře.

Cílem naší práce bylo ověřit kvalitativní parametry vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované stanovením počtu mezinárodních jednotek. K porovnání účinnosti v NIH testu byla současně s referenční vakcínou WHO ověřena i veterinární inaktivovaná antirabická vakcína francouzské výroby, expedovaná pod komerčním označením Rabisin.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÁ ZVÍŘATA

K provedení NIH testu bylo použito laboratorních myší kmene Swiss albino z produkce Velaz Praha o hmotnosti 10 až 12 g, obojího pohlaví. Na jedno ředění vakcíny bylo použito 20 až 40 myší.

POUŽITÉ VAKCÍNY

a) Vakcína proti vzteklině tkáňová inaktivovaná, vyvíjena v Bioverě, Ivanovice na Hané. Jednotlivá operační čísla byla připravena z vakcinačního kmene viru vztekliny Vnukovo - 32, pomnoženého na tkáňových kulturách buněčné linie BHK-21. Sklizený virus byl inaktivován betapropiolaktonem v koncentraci 0,025 až 0,050 % po dobu 24 hodin při teplotě 4 °C. K ředění této lyofilizované vakcíny bylo použito olejové solvens, které zároveň slouží jako imunitní adjuvans. Bylo testováno celkem 12 operačních čísel vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované.

b) Vakcína proti vzteklině tkáňová inaktivovaná pro veterinární použití zahraniční výroby, expedovaná pod komerčním označením Rabisin. Tento biopreparát je vyráběn firmou Rhône Mérieux ve Francii. Pro účely ověřování byl použit přípravek Rabisin operační číslo 4 OW 562. Vyhovující kvalita uvedeného operačního čísla je deklarována kvalitativním atestem výrobce (Certificate of Analysis ze dne 19. 3. 1985). Vakcína je vyráběna pomnožením fixního viru vztekliny kmene Pasteur na tkáňových kulturách NIL (křeččího původu). Sklizený virus se inaktivuje betapropiolaktonem. Expediční forma vakcíny je tekutá, obsahující jako adjuvans hydroxid hlinitý.

c) Mezinárodní referenční vakcína antirabická (inaktivovaná betapropiolaktonem a lyofilizovaná) operační číslo O RBA 1X 541. Po naředění lyofilizátu obsahuje jedna lékovka šest mezinárodních jednotek (UI). Mezinárodní referenční vakcína byla dodána dne 18. 9. 1985 laskavostí Dr. J. Souleboty, ředitele kontrolního ústavu firmy Rhône Mérieux ve Francii.

ŘEDĚNÍ VAKCÍN

Vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované byly rehydratovány olejovým solvens do základního naředění (příprava k aplikaci podle návodu k použití). Pro další ředění v pětinasobcích byl použit fyziologický roztok. Vakcína Rabisin (tekutá) byla rozředěna do požadovaných ředění fyziologickým roztokem. Mezinárodní referenční vakcína byla rehydratována a naředěna do požadovaných ředění fyziologickým roztokem.

NIH TEST

NIH testy jsme prováděli standardní metodou podle Seligmanna (1973). Antirabické vakcíny (referenční standardní a testované) se ředí v pětinasobných ředěních a každé ředění se aplikuje skupině myší intraperitoneálně po 0,5 cm³ dvakrát v intervalu sedmi dnů. Čelenž se provádí za sedm dní po revakcinaci intracerebrálně dávkou 5 až 50 LD₅₀ CVS viru vztekliny a 14 dní po čelenži se test uzavírá a vyhodnocuje.

VIRUS K ČELENŽI

CVS kmen rabického viru fix, uchovávaný jako 20% lyofilizovaná suspenze infikovaných myších mozků při teplotě -20 °C. Obsahuje minimálně 10⁵ MIC LD₅₀ v 0,03 cm³.

VÝPOČET ÚČINNOSTI

K výpočtu účinnosti lze použít dvě metody — gravimetrickou a volumetrickou. Gravimetrická je určena pro použití u klasických nervových vakcín typu Semple, Fermi, Hempt a u embryonálních vakcín. Pro později vyvinuté vakcíny, připravené z virových suspenzí, není gravimetrický výpočet vyhovující. Vakcíny z tkáňových kultur obsahují asi 90 % virové suspenze. Pro tyto tkáňové vakcíny se používá výpočet volumetrickou metodou. Při této metodě se stanoví nejvyšší ředění (ED₅₀) referenční mezinárodní a testované vakcíny, které chrání 50 % myší proti intracerebrální čelenži kmenem CVS. Antigenní hodnota (AV) testované vakcíny se stanoví podílem ED₅₀ referenční vakcíny a ED₅₀ testované vakcíny. Při použití volumetrické metody musí být AV minimálně 0,3. Použití mezinárodního standardu antirabické vakcíny s deklarovanou hodnotou mezinárodních jednotek umožňuje provedení NIH testu a výpočtem volumetrickou metodou stanovit počet mezinárodních jednotek v 1 cm³ testované vakcíny.

Příklad výpočtu:

a) Mezinárodní referenční standard O RBA 1X 541

ředění vakcíny	počet myši	počet přeživ- ších	počet uhynu- lých	nespeci- fický úhyn	kumulativní součet		procento mortality
					přeživších	uhynulých	
5%	40	37	2	1	112	2	1,7
1%	40	35	4	4	75	6	7,4
0,2%	40	28	11	1	40	17	29,8
0,04%	40	12	28	0	12	45	78,9

ED_{50} = účinná 50% dávka vakcíny (výpočet podle Reeda a Muencha, 1938)

$ED_{50} = \frac{\% \text{ mortality v ředění nejbliže nad } 50 \% - 50 \%}{\% \text{ mortality v ředění nejbliže nad } 50 \% - \% \text{ mortality v ředění nejbliže pod } 50 \%}$
 . koeficient faktory ředění (odlogaritmování hodnoty) .
 . hmotnostní množství vakcíny vyšší než 50 %

$$ED_{50} = \frac{78,9 - 50}{78,9 - 29,8} = \frac{28,9}{49,1} = 0,58 \cdot 0,699 = 0,41 \text{ (odlog.} = 2,57) \cdot 0,4 = 1,02$$

b) Testovaná vakcína V 01 05 84

ředění vakcíny	počet myši	počet přeživ- ších	počet uhynu- lých	nespeci- fický úhyn	kumulativní součet		procento mortality
					přeživších	uhynulých	
5%	40	35	5	0	93	5	5,1
1%	40	28	10	2	58	15	20,5
0,2%	40	19	18	3	30	33	52,3
0,04%	40	11	26	3	11	59	84,2

$$ED_{50} = \frac{52,3 - 50}{52,3 - 20,5} = \frac{2,3}{31,8} = 0,07 \cdot 0,699 = 0,05 \text{ odlog.} = 1,12 \cdot 2 = 2,24$$

c) Vlastní výpočet AV (antigenic value — antigenní hodnota)

$AV = \frac{ED_{50} \text{ referenční vakcíny}}{ED_{50} \text{ testované vakcíny}}$. koeficient počtu mezinárodních jednotek v 1 cm³ 5% vakcíny .
 . ředění vakcíny : 5 (propočten na 1 cm³ vakcíny)

$$AV = \frac{1,02}{2,24} = 0,45 \cdot 0,375 \cdot 66 = 11,2 : 5 = 2,24$$

Testovaná vakcína obsahuje 2,24 UI v 1 cm³ vakcíny.

VÝSLEDKY

Výsledky stanovení počtu mezinárodních jednotek u testovaných antirabických vakcín jsou přehledně znázorněny v tab. I. V tab. jsou uvedeny hodnoty mezinárodních jednotek v 1 cm³ vakcíny a propočtem počet mezinárodních jednotek ve vakcinační dávce pro psy, která činí 3 cm³ u vyvíjené antirabické vakcíny a 1 cm³ u zahraničního preparátu Rabisin. Uvedeny jsou i skutečně aplikované dávky viru CVS, které byly vypočteny z kontrolních titrací.

I. Výsledky stanovení počtu mezinárodních jednotek v 1 cm³ a ve vakcinační dávce pro psy u testovaných vyvíjených antirabických vakcín a u vakcíny Rabisin — Results of determination of the number of international units in 1 cm³ and in a vaccine dose for dogs in the tested newly developed anti-rabies vaccines and in the Rabisin vaccine

Operační číslo	UI/cm ³ vakcíny	UI/vakcinační dávka pro psy	MIC LD ₅₀
V 01 05 84	2,24	6,72	31
V 02 02 85	1,49	4,47	31
V 03 03 86	1,79	5,37	31
V 04 06 86	2,59	7,70	31
V 05 03 87	1,13	3,39	75
V 06 04 87	1,66	4,98	75
V 07 06 87	1,25	3,75	75
V 08 08 87	1,33	3,99	75
V 09 08 87	1,08	3,24	58
V 10 09 87	1,40	4,32	58
V 11 09 87	1,18	3,54	58
V 12 09 87	1,16	3,48	58
Aritmetický průměr	1,52	4,57	54, 66
Rabisin 4 OW 562	2,27	2,27	31

Počet mezinárodních jednotek v 1 cm³ vyvíjených vakcín proti vzteklině je v rozmezí od 1,08 do 2,59 UI.cm⁻³. Aritmetický průměr všech 12 operačních čísel antirabických vakcín činí 1,52 UI.cm⁻³. Počet mezinárodních jednotek ve vakcinační dávce pro psy je v rozmezí od 3,24 do 7,70 UI. Aritmetický průměr všech 12 operačních čísel je 4,57 UI ve vakcinační dávce pro psy.

Počet mezinárodních jednotek v 1 cm³ zahraniční veterinární antirabické vakcíny Rabisin je 2,27 UI.cm⁻³, což je současně i počet mezinárodních jednotek ve vakcinační dávce pro psy.

Infekční dávka viru CVS používaného v testech se pohybovala od 31 do 75 MIC LD₅₀ v 0,03 cm³. Aritmetický průměr infekčních dávek použitých v testacích je 54,66 MIC LD₅₀ v 0,03 cm³.

DISKUSE

Mezi nejdůležitější požadavky testů pro hodnocení účinnosti antirabických vakcín patří zejména schopnost kvantitativního zhodnocení vakcíny, jednoduchost provedení (dostupnost potřebného vybavení, nízká cena a krátký testovací čas) a standardizace kontrolního postupu s možností porovnání dosažených výsledků mezi různými laboratorami (Habel, 1973b). Tyto požadavky do značné míry splňuje NIH test (Seligmann, 1973).

Výsledky dosažené tímto testem umožňují kvantitativní vyhodnocení testovaných antirabických vakcín v antigenní hodnotě nebo v mezinárodních jednotkách. Antigenní hodnota zkoušené vakcíny vyhovující účinnosti má poskytnout výsledek 0,3 nebo vyšší, jedná-li se o vakcínu z mozkové tkáně či ptačích embryí, nebo výsledek alespoň 1,3 jde-li

o nekoncentrovaný preparát připravený ve tkáňových kulturách. Pro koncentrované očkovací látky vyráběné v kulturách lidských diploidních buněk je minimální antigenní hodnota NIH testu 2,5 (WHO, 1978). Původně doporučená hodnota 1,3 pro tkáňové nekoncentrované vakcíny byla později pozměněna obecným požadavkem na antigenní hodnotu 2,5 pro všechny vakcíny z tkáňových kultur (WHO, 1980). Tyto uvedené hodnoty jsou používány pro hodnocení humánních antirabických vakcín.

Doporučená norma aktivity pro veterinární antirabické vakcíny je jedna mezinárodní jednotka ve vakcinační dávce pro všechny druhy a kategorie zvířat (WHO, 1981, 1984). Podle současných informací inaktivované antirabické vakcíny s antigenní hodnotou 2 UI na vakcinační dávku zabezpečují imunitu vakcinovaných zvířat po dobu dvou let (WHO, 1984).

Zavedení mezinárodních jednotek přispívá ke standardizaci výroby, kontroly a použití antirabických vakcín. Přesto však stanovení účinnosti antirabických vakcín metodou NIH testu je kritizováno z hlediska nepřírozené imunizace pokusných zvířat (opakované intraperitoneální aplikace vakcíny) a intracerebrální infekce virem vztekliny (Barth a Jaeger, 1979). Proto byly vypracovány obdobné metody stanovení účinnosti, založené ale na přirozeném způsobu imunizace pokusných zvířat a přirozeném způsobu infekce (Švrček a Vrtiak, 1980).

Přestože NIH test účinně hodnotí protektivní aktivitu antirabických vakcín *in vivo*, řada badatelů se snaží nalézt jednodušší cestu měření *in vitro*, kde by se stanovila kvantita glykoproteinu přítomného ve virových částicích a stimulujícího tvorbu neutralizačních protilátek (Cox aj., 1977). V současné době je pro hodnocení účinnosti antirabických vakcín *in vitro* nejčastěji používán test vazby protilátek (Arko aj., 1973), jehož výsledky jsou srovnatelné s výsledky NIH testu (Barth aj., 1982).

Naše práce referuje o výsledcích získaných při hodnocení vyvíjených inaktivovaných antirabických vakcín metodou NIH testu. Zjištěné hodnoty mezinárodních jednotek jsou v rozmezí od 1,08 do 2,59 UI. cm⁻³, aritmetický průměr všech testovaných operačních čísel je 1,52 UI. cm⁻³. U antirabické vakcíny Rabisin bylo NIH testem zjištěno 2,27 UI. cm⁻³.

Vyjádření dosažených výsledků v mezinárodních jednotkách umožňuje vzájemné srovnání s výsledky jiných autorů zabývajících se podobnou problematikou. Ralph aj. (1983) stanovovali mezinárodní jednotky u nekoncentrovaných a koncentrovaných antirabických vakcín připravených v tkáňových kulturách ledvin syrských křečků z kmene Vnukovo-32, z hlediska vhodnosti pro ustanovení celostátního referenčního standardu. Výsledky tohoto stanovení ukázaly, že nekoncentrovaná inaktivovaná antirabická vakcína obsahuje průměrně 1,2 UI. cm⁻³, koncentrovaná inaktivovaná antirabická vakcína obsahuje 7,6 UI. cm⁻³ stanovených testem NIH.

Humánní inaktivovaná antirabická vakcína připravená v primárních kulturách buněk ledvin syrských křečků z kmene Vnukovo-32 (vakcína z SSSR) užívaná v ČSFR v letech 1977 až 1980 (19 šarží), měla v NIH testu průměrnou antigenní hodnotu $0,76 \pm 0,51$, vakcína užívaná v letech 1981 až 1982 (22 šarží) měla průměrnou antigenní hodnotu $1,27 \pm 0,81$ (Žáčková aj., 1984).

Inaktivovaná antirabická vakcína francouzské výroby Rabisin byla zařazena do ověřování pro dobrou kvalitu, neboť má průměrnou antigenní hodnotu 3,0 (Bögel, 1977). Výsledky ověřování vakcíny Rabisin metodou NIH testu uvádějí ve své práci i Précaus- ta aj. (1982). Průměrná hodnota získaná vyšetřením 27 šarží je 6,0 mezinárodních jednotek ve vakcinační dávce (1 cm³).

Výsledky dosažené při hodnocení účinnosti vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované v mezinárodních jednotkách pomocí NIH testu prezentované v naší práci svědčí o dobré kvalitě těchto vakcín, neboť všechna operační čísla vyhověla již v 1 cm³

přípravku normě aktivity doporučené Světovou zdravotnickou organizací. V souladu s návodem k použití se počet mezinárodních jednotek v závislosti na vakcinační dávce pro jednotlivé druhy zvířat zvyšuje. Dosažené výsledky jsou v souladu s výsledky dosaženými při ověřování protilátkové odpovědi na aplikaci vyvíjené inaktivované antirabické vakcíny (Vrzal aj., 1988) i s výsledky ověřování protekční účinnosti těchto vyvíjených antirabických vakcín (dosud nepublikováno).

Literatura

- ARKO, R. J. — WIKTOR, T. J. — SIKES, R. K.: The antibody binding test for vaccine potency. Labour. Tech. in Rabies. WHO, Geneva 1973, s. 292—294.
- BARTH, R. — JAEGER, O.: Zur Wirksamkeitsprüfung von inaktivierten Tollwut—Gewebe-kulturimpfstoffen im NIH-Test. Zbl. Bakt. Hyg., 169, 1979, s. 488—494.
- BARTH, R. — GRUSCHKAU, H. — JAEGER, O. — MILCKE, L.: Purification, concentration and evaluation of rabies virus antigen. Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., 5, 1982, s. 211—216.
- BÖGEL, K.: WHO. Informal consultation on reference, preparation and potency tests for rabies vaccines. Symp. Standard. of Rabies Vaccines (Rabies III), Marburg/Lahn 1977; Dev. Biol. Stand. 40, 1977, s. 265—271.
- COX, J. H. — DIETZSCHOLD, P. — SCHNEIDER, L. G.: Rabies virus glycoprotein II. Biological and serological characterization. Infect. and Immun., 16, 1977, s. 754—759.
- HABEL, K.: Habel test for potency. Labour. Tech. in Rabies. WHO, Geneva 1973a, s. 276—277.
- HABEL, K.: General considerations in safety and potency testing. Labour. Tech. in Rabies, WHO, Geneva 1973b, s. 271—275.
- PRECAUSTA, P. — SOULEBOT, J. P. — BUGAND, M. — BRUN, A. — CHAPPUIS, G.: Modalities of production and immunity conferred by an inactivated rabies vaccine originating from cell culture. Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., 5, 1982, s. 217—226.
- PRECAUSTA, P. — SOULEBOT, J. P. — CHAPPUIS, G. — BRUN, A. — BUGAND, M. — PETERMANN, H. G.: Vaccin inactive de la rage a partir de virus multiplie sur culture cellulaire. Joint WHO (IMVI) ESSEN Institut Pasteur TUNIS Meeting, Tunis 1983.
- RALPH, N. — ROMANOVA, L. N. — GRACHEV, V. P. — DZAGUROV, S. G. — KLYU-EVA, E. V. — ELBERT, L. B. — GRIBENCHA, L. F. — SHAMSHUVALIEVA, A. E. — FI-NOGENOVA, E. V. — KODKIND, G. H. — POLYUSHKINA, G. S.: A study of candidate rabies vaccines for a national reference preparation for the evaluation of antigenic potency. J. Biol. Standard., 11, 1983, s. 279—288.
- REED, L. J. — MUENCH, H.: A simple method of estimating fifty per cent endpoints. Amer. J. Hyg., 27, 1938, s. 493—497.
- SELIGMANN, E. B.: The NIH test for potency. Labour. Techn. in Rabies, WHO, Geneva 1973, s. 279—286.
- ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J.: Modifikacija kolicestvenno metoda IPVZ dlja opredelenija imunogennoj aktivnosti antirabicheskikh vakcin v opyte na myshach. Acta veter. Acad. Sci. hung., 28, 1980, s. 43—46.
- VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L.: Protilátková odpověď psů na aplikaci vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované a živé. Veter. Med. (Praha), 33, 1988, s. 485—494.
- WHO: Application of rabies vaccines at reduced schedules. Epidem. Rec., 53, 1978, s. 213—215.
- WHO: Report on consultations on cell culture rabies vaccine and their protective effect in man. Rab. Res., 7, Geneva 1980, s. 1—19.
- WHO: Expert Committee on Biological Standardization, 31th report. Techn. Rep. Sér. 658, Geneva 1981.
- WHO: Expert Committee on Rabies, 7th report. Techn. Rep. Sér. 709, Geneva 1984.
- ŽÁČKOVÁ, Z. — DOUŠKOVÁ, N. — SLONIM, D.: Rabická vakcína v ČSSR II. Vakcína z kachních embryí a Selimovova vakcína z tkáňových kultur. Českoslov. Epidem. Mikrobiol. Immunobiol., 33, 1984, s. 76—82.

Došlo dne 23. 3. 1989

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (Bioveta, Ivanovice na Hané; Institut für Staatliche Kontrolle von Veterinärbiopreparaten und Heilmitteln, Brno): *Evaluation of the effectiveness of the newly developed vaccine against tissue rabies inactivated by the NIH test.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 373-379.

NIH тестом мы проверили 12 оперативных чисел разрабатываемой вакцины против бешенства инактивированной в ткань и при помощи волюметрического метода расчета установили количество международных единиц в 1 см³ вакцины. Количество международных единиц (UI) в 1 см³ разрабатываемых вакцин был установлен в пределах от 1,08 до 2,59 UI.см⁻³, среднее значение всех 12 тестируемых доз — 1,52 UI.см⁻³. Среднее значение международных единиц в дозе вакцины для собак — 4,57. Все тестируемые операционные числа разрабатываемых вакцин соответствовали норме активности предложенной Международной медицинской организацией для ветеринарных вакцин данного типа.

вакцина против бешенства инактивированная в ткань; установление качества; NIH тест; международные единицы

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (Bioveta, Ivanovice na Hané; Institute for State Control of Feed Supplements and Veterinary Drugs, Brno): *Evaluation of the effectiveness of the newly developed vaccine against tissue rabies inactivated by the NIH test.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 373—379.

NIH test was used to verify 12 operation batches of the newly developed inactivated tissue vaccine against rabies. The number of international units per 1 cm³ of vaccine was determined by the volumetric method. The number of international units (I.U.) per 1 cm³ of the newly developed vaccines ranged from 1.08 I.U. to 2.59 I.U. per cm³. The average value of all the 12 batches tested is 1.52 I.U. per cm³. The average value of international units in the vaccination dose for dogs is 4.57. All the tested operation batches of the newly developed vaccines met the activity standard recommended by the World Health Organization for veterinary vaccines of this type.

inactivated tissue antirabies vaccine; quality determination; NIH test; international units

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (Bioveta, Ivanovice na Hané; Institut für Staatliche Kontrolle von Veterinärbiopreparaten und Heilmitteln, Brno): *Die Bewertung der Wirksamkeit der entwickelten Vakzine gegen die mittels NIH-Test inaktivierte Gewebetollwut.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 373—379.

Mittels NIH-Test überprüfte man 12 Operationszahlen der entwickelten Vakzine gegen die inaktivierte Gewebetollwut und mittels volumetrischer Berechnungsmethode hat man die Anzahl der internationalen Einheiten in 1 cm³ der Vakzine festgelegt. Die Anzahl der internationalen Einheiten (UI) in 1 cm³ entwickelter Vakzinen ermittelte man in einem Ausmaß von 1,08 bis 2,59 UI.cm⁻³, der durchschnittliche Wert sämtlicher 12 getesteten Chargen ist 1,52 UI.cm⁻³. Der durchschnittliche Wert der internationalen Einheiten in der Vakzinationsgabe für Hunde ist 4,57. Sämtliche getesteten Operationszahlen der entwickelten antirabischen Vakzine entsprachen der von der Welt-Gesundheitsorganisation für Veterinärvakzine dieses Typs empfohlenen Aktivitätsnorm.

antirabische inaktivierte Gewebvakzine; Festlegung der Qualität; NIH-Test; internationale Einheiten

Adresy autorů:

MVDr. Vladimír Vrzal, MVDr. Josef Chumela, MVDr. Libor Zatloukal, Bioveta, n. p., Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané

MVDr. Zdeněk Čupera, Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Hudcova 56a, 621 00 Brno

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 7/90 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

- L. Faldíková, A. Kozdera, Z. Věžník, J. Bendová: Produkce testosteronu po stimulaci varletních buněk býků gonadotropinem *in vitro*
- D. Jalč, I. Zelenák, J. Bučko, T. Vendrák, P. Siroka: Vplyv metanolového extraktu pilín na trávenie celulózy, sena a pšeničných otrúb *in vitro*
- L. Legáth, M. Timkovičová, J. Tomáš, P. Javorský, M. Belák: Elúcia baktérií adherovaných na epitel bachora oviec a ich elektrónovomikroskopický dôkaz
- P. Uhrín: Postmortálny metabolizmus glykogénu svalov zdravých ošípaných a ošípaných postihnutých syndrómom malignej hypertermie
- J. Hrdlička: Rezidua inhibičných látok ve tkáních jatečných zvířat — porovnání mikrobiologických metod agarové difúze
- V. Cigánková: Histologický a submikroskopický obraz diferenciácie semeníkov (*Ovis aries*) z vývojového aspektu
- J. Konrád, M. Cupák, J. Hrušovský, S. Husák, K. Šmíd: Metabolismus minerálií u psů v průběhu výcvikové a pracovní zátěže
- P. Vladík, A. Prouza: Nález *Yersinia ruckeri* u pstruhů duhových v Československu

PATOLOGICKO-MORFOLOGICKÉ ZMĚNY V TRÁVICÍM ÚSTROJÍ RABICKÝCH LIŠEK

P. Pohl, O. Matouch, J. Jaroš

POHL, P — MATOUCH, O — JAROŠ, J (Státní veterinární ústav, Liberec): *Patologicko-morfologické změny v trávicím ústrojí rabických lišek*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 381 až 384.

U 50 přirozeně infikovaných lišek obecných (*Vulpes vulpes crucigera*) byly sledovány patologicko-morfologické změny v trávicím ústrojí. U 19 zvířat byla zjištěna mírná kachexie, u 31 zvířat úplná kachexie. Na sliznici dutiny ústní se u 21 lišek vyskytovaly eroze. Traumatické změny zubů se objevily u 11 zvířat. V jednom případě byl popsán zduřelý a hyperemický jazyk a ve třech případech zánět slinných žláz. V jícnu byl ve třech případech zjištěn mírný stupeň zánětu. Žaludek byl v 15 případech zcela prázdný, u 35 zvířat byla v žaludku prokázána abnormální potrava nebo cizí tělesa: 18× zjištěna prostá hyperemie, 19× akutní katarální gastritida, 2× hemoragická gastritida. Akutní katarální enteritida byla zaznamenána v šesti případech, v jednom případě hemoragická enteritida.

lyssa; lišky; přirozená infekce, patologicko-morfologický nálezy v zažívacích

Rozhodujícím laboratorním testem pro stanovení diagnózy vztekliny je imunofluorescenční vyšetření, které je v indikovaných případech doplněno biologickým pokusem na myších (Goldwasser a Kissling, 1958). Patologicko-morfologický obraz choroby je označován obvykle za nespecifický a navíc byl popsán většinou u psů (Bol, 1957) nebo u jiných domácích zvířat (Vrtiak a i., 1972). Vrtiak a Hejlíček (1986) uvádějí u postižených zvířat vyhublost, poranění dutiny ústní, jazyka, vylámané zuby apod. Při pitvě se zjišťuje parenchymatózní degenerace orgánů, subepikardiální krváceniny, katarální, případně až hemoragická gastroenteritida. Podezření vzbuzuje abnormální obsah žaludku (cizorodé předměty). Obvykle však žaludek a střeva bývají prázdné v důsledku paréz živčáků svalstva a hltnu.

U lišek, které jsou u nás hlavním vektorem vztekliny, nebylo dosud cílené sledování patologicko-morfologických nálezů prováděno. V naší práci jsme se zaměřili na studium patologicko-morfologických změn v trávicím ústrojí rabických lišek.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÝ MATERIÁL

Byly použity lišky obecné (*Vulpes vulpes crucigera*) různého pohlaví, pocházející z různých oblastí ČR a dodávané k vyšetření do naší laboratoře v průběhu celého roku.

Mozkové tkáně lišek byly podrobeny laboratornímu-imunofluorescenčnímu vyšetření (Dean a Abelseth, 1973). Po stanovení pozitivní diagnózy bylo zahrnuto do souboru celkem 50 přirozeně infikovaných lišek. Byly použity pouze čerstvé kadavry a vyloučeny ty, které vykazovaly známky pokročilého rozkladu.

Dle stanoveného cíle práce jsme se zaměřili na sledování patologicko-morfologických změn v trávicím ústrojí. Patologicko-anatomické vyšetření, doplněné v indikovaných případech histologickým vyšetřením, bylo provedeno podle schválených Veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik (1975, oddíl I. a oddíl IV.) Histologické vyšetření bylo provedeno běžnou technikou. Materiál byl fixován ihned po odběru v 10% roztoku formalinu. Vzorky byly zpracovány běžnou parafínovou technikou, preparáty byly barveny hematoxylinem-eosinem a prohlíženy ve světelném mikroskopu při různém zvětšení.

VÝSLEDKY

Výživný stav lišek byl většinou špatný. U 19 zvířat (38 %) byla zjištěna mírná kachexie, u 31 zvířat (62 %) úplná kachexie. U 14 zvířat (28 %) byla zjištěna na povrchu těla odřená místa, četná alopetická ložiska a automutilační léze, převážně v krajině ocasní.

Na sliznici dutiny ústní se u 21 lišek (42 %) vyskytovaly eroze v různém množství, převážně na dásních obou čelistí v dosahu předních a zadních stoliček. Eroze byly přibližně 1 až 8 mm dlouhé, 1 až 3 mm široké, více či méně hluboké se zarudlou spodinou. Histologickým vyšetřením byla zjištěna hyperémie papilární vrstvy stromatu se zbytky epitelu mezi papilami. Kromě toho byly v dutině ústní nalézány traumatické změny u zubů, tj. zuby čerstvě vylomené či přeražené. Tyto změny se týkaly především řezáků obou čelistí. Změny byly zjištěny celkem u 11 zvířat (22 %). Silně zduřelý a hyperemický jazyk byl zjištěn pouze v jednom případě (2 %). Také změny na slinných žlázách ve formě zduření s hyperémií nebyly příliš časté — *sialoadenitis acuta* byla zjištěna ve třech případech (6 %) s lokalizací na podčelistních i příušních žlázách. Histologicky byly zjištěny početné uzlíčkovité afekce, sestávající z mononukleárů a plazmatických buněk.

V jícnu byl ojediněle zjišťován jen mírný stupeň zánětu (*oesophagitis catarrhalis acuta*), a to ve třech případech (6 %). Histologicky se zjistila mírná infiltrace submukózy lymfocyty a částečně též plazmocyty.

Významnější změny byly nalézány v žaludku. V 15 případech (30 %) byl žaludek zcela prázdný a u ostatních 35 zvířat (70 %) byla v žaludku zjištěna přítomnost abnormálních potravy či cizích těles (sláma, větévký, jehličí, chlupy, peří, kameny, písek, hlína, jíl, úlomky dřeva, fólie z umělých hmot, papír, dráty, staniol, hadry, části pryže a další). Patologicko-morfologické změny v žaludku byly následující: 18 × (36 %) byla zjištěna prostá hyperémie s mírně zarudlou sliznicí, avšak ještě bez ostatních zánětlivých změn; 19 × (38 %) byla zjištěna *gastritis catarrhalis acuta*. Histologicky byla zjištěna hyperémie, zvýšená tvorba hlenu, značná deskvamace epitelu a masivní leukocytární infiltrace. Ve dvou případech (4 %) byla zjištěna *gastritis haemorrhagica*.

Patologicko-morfologické změny ve střevech byly zastoupeny poměrně málo. *Enteritis catarrhalis acuta* byla zaznamenána v šesti případech (12 %). Histologicky byla zjištěna značná deskvamace epitelu se silnou infiltrací neutrofilními granulocyty. Pouze v jednom případě (2 %) byla zjištěna *enteritis haemorrhagica*. Stručná sumarizace hlavních patologicko-morfologických změn je uvedena v tab. I.

DISKUSE

Vlastní pitevní nález u zvířat uhynulých na vzteklinu bývá považován za málo charakteristický (Pitzschke, 1969; Liebke, 1980), ale může být pomocným nástrojem při stanovení konečné diagnózy. Literární záznamy svědčí o tom, že po celá staletí byl při studiu vztekliny v popředí zájmu hlavně pes. Volně žijícím zvířatům, a hlavně liškám, které mají v současné nálezové situaci dominantní roli, byla dosud věnována

Orgán (krajina)	Charakter změn	Výskyt (počet zvířat)	Procento
Povrch těla	automutilace v krajině ocasní	14	28
Dutina ústní	eroze	21	42
	traumatické změny zubů	11	22
	silně zduřelý, hyperemický jazyk	1	2
Slinné žlázy	<i>sialoadenitis acuta</i>	3	6
Jícen	<i>oesophagitis catarrhalis acuta</i>	3	6
Žaludek	prostá hyperemie	18	36
	<i>gastritis catarrhalis acuta</i>	19	38
	<i>gastritis haemorrhagica</i>	2	4
Střevo	<i>enteritis catarrhalis acuta</i>	6	12
	<i>enteritis haemorrhagica</i>	1	2

mnohem menší pozornost. Předložená práce se snaží o částečné zaplnění této mezery a soustřeďuje se na popis patologicko-morfologických změn v trávicím ústrojí vzteklych lišek.

Často nalézaná kachexie je obecně uváděným nálezem (Bol, 1957; Vrtiak a Hejliček, 1986) a souvisí zřejmě jak s anorexií, tak i s dehydratací organismu a neschopností přijímat nápoje následkem parézy polykacího svalstva.

Z povrchových změn stojí za pozornost u lišek často nacházená vykoušaná alopetická ložiska, lokalizovaná obvykle do oblasti ohánky. S tímto jevem se setkáváme často právě jen u lišek.

Téměř u každé druhé rabické lišky byly zjišťovány erozivní změny na sliznici ústní dutiny. Tyto nálezy jsou v souladu s výsledky Liebkeho (1980), který zjišťoval léze na sliznici dutiny ústní v 57 %, zatímco u rabies negativních zvířat byl jejich výskyt pouze 3,8 %. Traumatické změny na zubech obou čelistí jsme zjišťovali u lišek ve 22 %. Tento nález je sice obecně zmiňován i v literatuře (Eichwald a Pitzschke, 1967; Vrtiak a Hejliček, 1986), ale frekvence jejich výskytu není uváděna. Slinné žlázy, ačkoliv představují extraneurální místo multiplikace viru, vykazovaly pouze mírné zduření a příznaky zánětu se vyskytly jen ve třech případech (6 %).

Další oblastí s výraznými změnami byl žaludek. Z našeho souboru byl ve 30 % žaludek zcela prázdný, což je méně než uvádějí Návesník aj. (1976), kteří zjistili prázdný žaludek u 83 % rabických lišek. Naše výsledky se však shodují s uvedenými autory při zjišťování frekvence výskytu cizích nestravitelných předmětů v žaludečním obsahu těch zvířat, kde byla náplň zjištěna. Kameny, písek, dřevo, kovové předměty, PVC, papír, guma, textilie a další se vyskytly zhruba v 70 % případů. Z dalších změn na sliznici žaludku byla nejčastější prostá hyperemie s 18 případy (36 %) a *gastritis catarrhalis acuta* — 19 případů (38 %). Naproti tomu *gastritis haemorrhagica* se vyskytla pouze ve dvou případech (4 %). Hemoragická složka patologicko-morfologického nálezu nebyla zdaleka tak výrazná, jak ji popisuje např. Bol (1957).

Na základě zjištěných výsledků lze konstatovat, že pitevní nález v trávicím ústrojí vzteklych lišek vykazuje určité charakteristické rysy a může vést k vyslovení předběžné diagnózy a napomoci správně směřovat další vyšetřovací postupy.

Literatura

- BOL, B. K.: Pathologicko-anatomická pitva hospodářských zvířat. Praha. SZN 1957, s. 184.
DEAN, D. J. — ABELSETH, M. K.: The fluorescent antibody test. In: Lab. Tech. in Rabies, Geneva, WHO 1973, s. 73—84.
EICHWALD, C. — PITZSCHKE, H.: Die Tollwut bei Mensch und Tier. Jena, 1967, s. 300.
GOLDWASSER, R. A. — KISSLING, R. E.: Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 98, 1958, s. 219—223.
LIEBKE, H.: Erosionen der Lippenschleimhaut bei tollwutbefallenen Füchsen. Tierärztl. Umsch., -5, 1980, s. 627—628.
NÁVESNÍK, S. — MATOUCH, O. — NEVRLÝ, M.: Složení potravy lišky obecné, hlavního vektora vztekliny v ČSR. Veterinářství, 26, 1976, č. 9, s. 421—422.
PITZSCHKE, H.: Handbuch der Virusinfektionen, Jena, 1969, s. 19—81.
VRTIAK, O. J. a kol.: Nákazlivé choroby hospodářských zvířat, 2, Bratislava, 1972, s. 266—291.
VRTIAK, O. J. — HEJLIČEK, K.: Speciální epizootologie, 2, Bratislava, 1986, s. 86—106.

Došlo dne 11. 3. 1989

ПОЛ, П. — МАТОУХ, О. — ЯРОШ, Я. (Государственный ветеринарный институт, Либерец): Патолого-морфологические изменения в пищеварительном тракте лисиц инфицированных бешенством. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 381-384.

У 50 естественно инфицированных лисиц (*Vulpes vulpes crucigera*) изучались патолого-морфологические изменения в пищеварительном тракте. У 19 животных установили среднюю кахексию. У 31 животного полную кахексию. На слизистой оболочке полости рта у 21 лисицы появились эрозии. Травматические изменения зубов появились у 11 животных. В одном случае описали припухлый, и гиперемический язык. В трех случаях определили воспаление слюнных желез. В пищеводе, в трех случаях, установили среднюю степень воспаления. Желудок в 15 случаях был совсем пустой. У 35 животных в желудке была подтверждена ненормальная пища или инородные тела. В 18 случаях установили простую гиперемию; в 19 случаях острый катаральный гастрит и в 2 случаях геморрагический гастрит. Острый катаральный энтерит установили в шести случаях, в одном случае геморрагический энтерит.

lyssa; естественная инфекция; патолого-морфологическая находка в органах пищеварения

POHL, P. — MATOUCH, O. — JAROŠ, J. (State Veterinary Institute, Liberec): Pathologico-morphological changes in the digestive tract of rabid fox. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (6) : 381—384.

Pathologico-morphological changes in the digestive tract were investigated in fifty naturally infected common foxes (*Vulpes vulpes crucigera*). Nineteen animals were found to suffer from mild cachexia, 31 animals suffered from complete cachexia. Erosions were observed in the mucosa of oral cavities of 21 foxes. Traumatic injuries appeared in the teeth of 11 animals. One case of swollen and hyperaemic tongue was described; in three cases there occurred sialoadenitis. A mild degree of inflammation was recorded in the gullet in three animals. Fifteen animals had empty stomachs, thirty-five animals had atypical food or foreign bodies in the stomach contents; simple hyperaemia was recorded 18 times, acute catarrhal gastritis 19 times and haemorrhagic gastritis was observed in two cases. Acute catarrhal enteritis was found in six cases, haemorrhagic enteritis in one case.

lyssa; fox; natural infection; pathologico-morphological findings in digestive tracts

Adresa autorů:

MVDr. Přemysl Pohl, MVDr. Oldřich Matouch, CSc., MVDr. Jaroslav Jaroš, Státní veterinární ústav, U sila 310, 463 11 Liberec

Врзал В., Чупера З., Хумела Й., Затлоукал Л.: Оценка эффективности разрабатываемой вакцины против бешенства инактивированной в ткань NIH тестом	379
Пол П., Матоух О., Ярош Я.: Патолого-морфологические изменения в пищеварительном тракте лисиц, инфицированных бешенством	384

CONTENTS

Kudláč E., Píchová D.: Response of adenohipophysis and effectiveness of administration of synthetic GnRH (Dirigestan inj. Spofa) in cows after parturition	329
Kozumplik J.: Morphological changes and decapitation of spermatozoa as causes of fertility disorders in breeding males	336
Kudweis M., Juliš I., Lojda Z., Vitovec J., Koudela B.: Density of selected enzymes in the goblet cells of the jejunum in piglets experimentally invaded by the coccidium <i>Isospora suis</i>	347
Tokoš M., Tokošová M., Arendarčík J.: Quantitative micromorphological study of ovaries in ewes after oestrus synchronization and superovulation in the autumn mating season	355
Jurajda V., Schmidtová B., Rybová L.: Using filter paper for blood sampling in poultry to detect the presence of antibodies against the Newcastle disease virus	362
Krajčovičová-Kudláčková M.: The age dependence of protein utilization on the intake of fats of different quality	372
Vrzał V., Čupera Z., Chumela, J., Zatloukal L.: Evaluation of the effectiveness of the newly developed vaccine against tissue rabies inactivated by the NIH test	379
Pohl P., Matouch O., Jaroš J.: Pathologico-morphological changes in the digestive tract of rabid fox	384

INHALT

Kudláč E., Píchová D.: Die Responson der Adenohipophyse und die Applikationswirksamkeit des synthetischen GrRH (Dirigestan Inj. Spofa) bei Kühen <i>post partum</i>	329
Kozumplik J.: Morphologische Veränderungen und Spermidekapitation als Ursache von Fertilitätsstörungen bei den Zuchtstieren	336
Kudweis M., Juliš I., Lojda Z., Vitovec J., Koudela B.: Die Densität ausgewählter Enzyme in den becherförmigen Zellen der Dünndarmschleimhaut bei durch Kokzidien <i>Isospora suis</i> experimentell infizierten Ferkeln	348
Tokoš M., Tokošová M., Arendarčík J.: Die quantitative mikromorphologische Untersuchung der Eierstöcke bei Schafen nach der Synchronisierung der Brunst und Superovulation in der Herbstpaarungsperiode	355
Jurajda V., Schmidtová B., Rybová L.: Die Verwendung von Filtrationspapier für die Blutentnahme beim Geflügel und für die Folgeuntersuchung des Vorhandenseins von Antistoffen gegen den Virus der Newcastle-Krankheit	363
Krajčovičová-Kudláčková M.: Die Altersabhängigkeit der Eiweiß-utilisierung von der Annahme von Fett verschiedener Qualität	372 (E)
Vrzał V., Čupera Z., Chumel J., Zatloukal L.: Die Bewertung der Wirksamkeit der entwickelten Vakzine gegen die mittels NIH-Test inaktivierte Gewebetollwut	379
Pohl P., Matouch O., Jaroš J.: Pathologischmorphologische Veränderungen im Verdauungsapparat tollwutkranker Füchse	384 (E)



Rukopisy odevzdány k tisku 1. 3. 1990 — Podepsáno k tisku 28. 8. 1990

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Zdeňka Radošová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, novinářské závody, sdr. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1990

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, ACT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Gottwaldova tř. 206, 709 90 Ostrava 9. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, administrace vývozu tisku, Kovpalkova 26, 160 00 Praha 6.