



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

9

ROČNÍK 35 (LXIII)

PRAHA

ZÁŘÍ 1990

CENA 15 Kčs

CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: akademik Jaroslav Otto Vrtiak (předseda), akademik Koloman Bod'a, 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

Vojtíšek B., Hamřík J., Hronová B., Dočekalová H., Diblíková I.: Vliv doby stání nasucho krav ve stádě s výskytem syndromu obezity na vybrané ukazatele jejich metabolismu a stav u telat.....	513
Pavlas M.: Biologické vlastnosti kmenů mykobaktérií izolovaných u skotu z chovu s klinickou paratuberkulózou.....	523
Elečko J., Ševčík A., Maraček I., Bekeová E., Choma J., Kačmárik J.: Zmeny koncentrácie progesterónu, trijódtyronínu a tyroxínu v krvi a výsledky kvantitatívnej histologickej analýzy placentómu i žltého telieska kráv po protrahovanom pôrode	529
Toman M., Krejčí J., Menšík P., Ulmann L.: Nespecifická imunostimulační aktivita bakterinu <i>Bordetella bronchiseptica</i> v testech na myších a telatech	537
Kotrbaček V., Schweigel M., Hönig Z.†: Vliv krátkodobého hladovění na spánek prasat	547
Raszyk J., Pillich J.: Jednoduchý imunologický kožní test u selat.....	553
Mátl J.: Analýza nádorů mléčné žlázy psů v Jihočeském kraji.....	561
Šutta J., Bernáthová Z., Kušnír J., Rózsa J.: Využitie metakrylátu k internej fixácii zlomenín pri malých zvieratách	569

СОДЕРЖАНИЕ

Войтишек Б., Гамржик Я., Гронова Б., Дочекалова Г.: Влияние срока сухостоя коров в стаде с наличием синдрома ожирения на избранные показатели их метаболизма и состояние у телят	520
Павлас М.: Биологические свойства штаммов микобактерий, изолированных у крупного рогатого скота из стада, являющего признаки клинического паратуберкулеза	528
Элечко Я., Шевчик А., Марачек И., Хома Я., Качмарик Й.: Изменения концентрации прогестерона, трийодтиронина тироксина в крови и результаты квантитативного гистологического анализа плацентома и желтого тельца у коров после продленного отела	534
Томан М., Крейчи Й., Улманн Л.: Неспецифическая иммунно-стимулирующая активность бактерины <i>Bordetella bronchiseptica</i> в тестах на мышах и телятах	546
Котрбачек В., Швайгел М., Гюнниг З.†: Влияние кратковременного голодания на сон свиней	551
Рашик Й., Пилич Й.: Упрощенный иммунологический кожный тест у поросят	559
Матл Й.: Анализ опухолей молочной железы собак в Южночешской области	567
Шутта В., Бернатова З., Кушнир Я., Роса Й.: Применение метакрилата для фиксации передомов у мелких животных	576

Vliv doby stání nasucho krav ve stádě s výskytem syndromu obezity na vybrané ukazatele jejich metabolismu a stav u telat

B. Vojtíšek, J. Hamřík, B. Hronová, H. Dočekalová, I. Diblíková

VOJTÍŠEK, B. - HAMŘÍK, J. - HRONOVÁ, B. - DOČEKALOVÁ, H. - DIBLÍKOVÁ, I. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Vliv doby stání nasucho krav ve stádě s výskytem syndromu obezity na vybrané ukazatele jejich metabolismu a stav u telat*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 513-521.

Hodnotili jsem rozdíly ve složení krve (plazmy) a moče krav ve skupinách ($n = 8$) s normální dobou stání nasucho (mezi 50 až 60 dny) a dobou prodlouženou na 80 až 124 dny. Dvěma přístupy, tj. opakovaným vyšetřením stejných zvířat dva až tři týdny před porodem a šest až osm týdnů po jeho průběhu, stejně jako při jednorázovém vyšetření krav nacházejících se ve shodné fázi reprodukčního cyklu, jsme prokázali řadu změn, které u krav s prodlouženou dobou stání nasucho svědčí pro snížení funkce nadledvin a jaterní činnosti. Telata těchto krav vykazovala v krvi (plazmě) odchylky, indikující mimo hypofunkce nadledvin i snížený stupeň fagocytární aktivity krevních leukocytů, jednoho z ukazatelů imunologické vybavenosti.

krávy; doba stání nasucho; telata; metabolismus; nadledviny; játra

Syndrom obezity krav je metabolickohormonální porucha malnutričního původu, charakterizovaná vznikem akutních postpartálních změn vedoucích k častému úhynu krav. V postiženém stádě je i zvýšený výskyt reprodukčních a infekčních chorob. Postihuje především vysokoprodukční dojnice, které jsou v době stání nasucho překrmovány kalorickými živinami. Vyskytuje se u nich i při energeticky bohaté krmné dávce, zkrmované bez ohledu na fáze reprodukčního cyklu a dosahovanou produkci mléka (Morrow aj., 1979; Vrzgula aj., 1982).

V průkazu syndromu obezity má vedle zhodnocení anamnestických údajů (krmného režimu, výskytu poporodních komplikací) přednostní význam stanovení obsahu tuku ve vzorcích jaterní tkáně. Využívá se i průkazu odchylek ve složení krve, které vyplývají z nefyziologické funkce jater (Morrow aj., 1979; Karsai a Gaál, 1980; Sokol aj., 1982; Karsai a Schäfer, 1984; Reichel a Sokol, 1987).

K přesnější metabolické, hormonální a imunologické charakteristice krav v těchto stádech by mohlo přispět stanovení rozdílů mezi jednotlivými ukazateli metabolismu v krvi (plazmě) a moči v závislosti na délce doby působení neadekvátní výživy. K tomu účelu jsme využili rozdíly v době jejich stání nasucho. Za normální jsme považovali dobu 50 až 60 dnů před porodem, za prodlouženou dobu nad 60 dnů (Kudláč a Holý, 1984).

Sledování jsme uskutečnili ve stádě 590 krav, kříženek českého červenostrakatého skotu se skotem holštýnským, se značným výskytem poporodních komplikací (32% výskyt retence sekundin, 64% výskyt endometritid, po první inseminaci zabřezlo 26 % krav, inseminační index byl 2,2 a servis perioda 122 dny). Průměrná užitkovost stáda v minulé laktaci byla 4920 l mléka, z počtu otelených krav do 30 dnů po porodu uhynulo 4,2 % zvířat a 18,4 % bylo nutně poraženo s nálezem tukové degenerace jater.

Provedli jsme dvě šetření. V prvním (pokus 1) jsme opakovaně, a to po prvé v době dvou až tří týdnů před porodem (odběr I) a podruhé v šestém až osmém týdnu po jeho průběhu (odběr II), hematologicky i biochemicky hodnotili 16 krav na druhé až třetí laktaci, rozdělených po osmi do pokusné a kontrolní skupiny. Při shodné základní krmné dávce (zimního typu v době před porodem a letního v době po porodu), odpovídající podle ČSN 46 7070 (1982) produkci 13,5 kg mléka podle obsahu SNL a 12,7 kg mléka podle ŠH (při tučnosti 4,0 %) se lišily tím, že doba stání nasucho krav v kontrolní skupině se pohybovala mezi 50 až 60 dny (v průměru $56 \pm 1,8$ dne), zatímco u pokusného souboru mezi 80 až 120 dny (v průměru $97 \pm 14,2$ dne). Telata těchto krav jsme vyšetřili tři až osm dnů po narození. Ve druhém šetření (pokus 2), uskutečněném za 60 dnů po zahájení prvního, jsme při krmné dávce letního typu vzájemně hodnotili jednorázově vytvořené osmičlenné skupiny krav, sestavené z jedinců, kteří se nacházeli ve stejných časových intervalech jako krávy v prvním pokuse při odběru I a II, tj. dva až tři týdny před porodem a v šestém až osmém týdnu po jeho průběhu. Stejně jsme postupovali i u telat. Doba stání nasucho krav z kontrolních skupin se pohybovala opět mezi 50 až 60 dny (v průměru u krav dva až tři týdny před porodem $58 \pm 1,6$ dne; v šestém až osmém týdnu po porodu $54 \pm 3,6$ dne, u matek telat $56,4 \pm 2,0$ dne). U pokusných krav se doba stání nasucho pohybovala mezi 91 až 124 dny; ve skupině 2 tři týdny před porodem byla v průměru $92 \pm 8,9$ dne, v šestém až osmém týdnu po porodu $99 \pm 17,3$ dne a u matek hodnocených telat $94 \pm 17,6$ dne.

Krev k hematologickým a biochemickým analýzám jsme odebírali u krav a telat punkcí vena jugularis mezi osmou až devátou hodinou dopoledne, moč krav katetrizací při odběrech vzorků krve.

Hematologická a biochemická vyšetření krve (plazmy) zahrnovala stanovení hematokritové hodnoty krve na odstředivce typu 316 (Mechanika Pracznaja, Warszawa) podle návodu výrobce, obsah hemoglobinu a methemoglobinu v krvi metodou, kterou cituje Homolka (1969, dále počtu leukocytů a jejich diferenciálního počtu (Donner, 1956), fagocytární aktivitu krevních leukocytů (FA) a index fagocytární aktivity (IFA) jsme stanovili podle Toman a j. (1985). Obsah acetonu v krvi jsme určili mikrodifúzí (Vojtíšek, 1986), hladinu sodíku a draslíku v krevní plazmě metodou plamenové fotometrie (Homolka, 1969). Pomocí automatického analyzátorů Contiflo (fy Labor MIM, Budapešť) jsme metodami podle výrobce stanovili v plazmě hladinu vápníku, anorganického fosforu, hořčíku, bilirubinu, celkové bílkoviny a albuminu, cholesterolu a močoviny. S využitím Bio-testů (Lachema, Brno) jsme v krvi stanovili obsah glukózy; v krevní plazmě aktivitu aminotransferázy aspartátu (EC 2.6.1.1.) (AST) a alaninu (EC 2.6.1.2) (ALT), dále gamaglutamyltranspeptidázy (EC 2.3.2.1) (GMT) a alkalické fosfatázy (EC 3.1.3.1) (ALP). Měď, zinek a mangan v plazmě jsme stanovili na přístroji Perkin-Elmer, model 4000 v plameni acetylen-vzduch, z toho mangan na elektrotermickém atomizátoru HgA-72. Acidobazický stav krve (pH, pCO₂, BE, SB, BB) byl zjišťován přístrojem Acid-Base Cart ABC 1 fy Radiometer a k výpočtu jednotlivých ukazatelů (kromě aktuálního pH) byl použit Siggard-Andersenův nomogram. Koncentraci trijódthyroninu (T₃) a tyroxinu (T₄) v plazmě jsme stanovili metodou RIA (výrobce testu ÚRVJT Košice). V moči krav jsme stanovili koncentrace vápníku, hořčíku, anorganického fosforu, sodíku, draslíku a močoviny metodami jako v plazmě; dále jeho pH na pH-metru, typ OP 106 (fy Radelkis), specifickou hmotnost urometrem (Homolka, 1969) a čistý acidobazický výluček (ČABV) titračně (Kutas, 1965).

Ze získaných výsledků jsme v krvi stanovili poměr sodíku a draslíku a celkové bílkoviny a albuminu.

Rozdíl mezi výsledky u kontrolních a pokusných skupin jsme hodnotili pomocí *t*-testu (Rod, 1966). Ukazatele, které měly k charakteru pokusu vztah, tj. ty, které vykazovaly shodné tendence v pokusu 1 i v pokusu 2 jsou uvedeny v tabulkách.

VÝSLEDKY

Skupiny krav vytvořené z jedinců s prodlouženou dobou stání nasucho (pokusné) vykazovaly v pokusu 1 (tab. I) a pokusu 2 (tab. II), v porovnání se skupinami kontrolními, opakovaně tendenci k vyšším průměrným hematokritovým hodnotám krve, vyšším hladinám methemoglobinu a acetonu. V krevní plazmě jsme prokázali nižší koncentrace

močoviny, celkové bílkoviny, cholesterolu, karotenu, T₄ a T₃, sodíku, manganu; vyšší byla aktivita ALP. Vzhledem k celkové bílkovině měly v plazmě vyšší procentické zastoupení albuminy, nižší zastoupení měl poměr sodíku a draslíku. V moči jsme prokázali vyšší obsah sodíku a nižší obsah draslíku. Také ČABV moče byl vždy vyšší.

I. Hladiny sledovaných ukazatelů v krvi (plazmě) a moči krav v pokusu 1; K - soubor krav s dobou stání nasucho mezi 50 až 60 dní, P - soubor krav s dobou stání nasucho mezi 80 až 124 dní; a - $P < 0,05$, b - $P < 0,01$ (platí i pro tab. II) - Levels of the parameters recorded in the blood (plasma) and urine of the cows in trial 1; K - set of cows left to stand dry 50 to 60 days, P - set of cows standing dry for 80 to 124 days; a - $P < 0,05$, b - $P < 0.01$ (holds also for Tab. II)

Ukazatel	Skupina krav (K,P)	Hladina hodnocených ukazatelů ($\bar{x} \pm s$)	
		Odběr 2-3 týdny před porodem (odběr I, $n = 8$)	Odběr 6-8 týdnů po porodu (odběr II, $n = 8$)
Krev (plazma)			
Hematokrit [$l.l^{-1}$]	K	$0,36 \pm 0,04$	$0,34 \pm 0,07$
	P	$0,38 \pm 0,01$	$0,34 \pm 0,04$ b I/II
Methemoglobin [rel%]	K	$0,85 \pm 0,66$	$1,57 \pm 0,67$
	P	$2,69 \pm 1,00$ b K/P	$1,70 \pm 0,69$ a I/II
Sodík [$mmol.l^{-1}$]	K	$146 \pm 4,78$	$179 \pm 18,96$ b I/II b K/P
	P	$142 \pm 3,38$	$148 \pm 3,87$ b I/II
Sodík/Draslík	K	35,6	32,5
	P	35,5	27,4
Celková bílkovina [$g.l^{-1}$]	K	$64,8 \pm 3,57$	$84,4 \pm 8,52$ b I/II
	P	$62,6 \pm 5,43$	$82,3 \pm 6,74$ b I/II
Celková bílkovina/Albuminy	K	1,37	2,00
	P	1,18	2,00
Močovina [$mmol.l^{-1}$]	K	$3,4 \pm 0,45$	$4,7 \pm 1,12$ b I/II
	P	$2,8 \pm 0,69$	$3,5 \pm 0,85$ a K/P
Cholesterol [$mmol.l^{-1}$]	K	$2,1 \pm 0,50$	$4,4 \pm 0,30$ b I/II b K/P
	P	$1,8 \pm 0,37$	$3,1 \pm 0,60$ b I/II
Aceton [$mg.l^{-1}$]	K	$1,34 \pm 0,33$	$1,37 \pm 0,96$
	P	$1,66 \pm 1,17$	$2,90 \pm 1,42$ a K/P
Alkalická fosfatáza [$\mu kat.l^{-1}$]	K	$0,56 \pm 0,18$	$0,57 \pm 0,24$
	P	$0,76 \pm 0,49$	$0,64 \pm 0,34$
Karoteny [$\mu mol.l^{-1}$]	K	$18,03 \pm 6,60$	$8,12 \pm 2,28$ b I/II b K/P
	P	$17,53 \pm 4,69$	$4,40 \pm 0,78$ b I/II

Trijódthyronin [nmol.l ⁻¹]	K	1,22 ± 0,69	2,46 ± 0,56	^b I/II ^b K/P
	P	0,83 ± 0,17	1,48 ± 0,56	^b I/II
Tyroxin [nmol.l ⁻¹]	K	51,9 ± 17,61	82,85 ± 24,67	^a I/II
	P	48,3 ± 17,49	67,54 ± 25,51	
Mangan [μg.l ⁻¹]	K	0,63 ± 0,26	0,20 ± 0,09	^b I/II
	P	0,49 ± 0,17	0,13 ± 0,04	^b I/II
Moč				
Sodík [mmol.l ⁻¹]	K	63 ± 31,92	34 ± 22,00	
	P	120 ± 51,09 ^a K/P	71 ± 43,92	
Draslík [mmol.l ⁻¹]	K	243 ± 107,21	564 ± 206,4	^b I/II
	P	250 ± 104,02	373 ± 135,5	^a K/P
Čistý acidobazický výluček [mmol.l ⁻¹]	K	179 ± 69,82	205 ± 95,72	
	P	230 ± 88,30	259 ± 29,46	

II. Hladiny sledovaných ukazatelů v krvi (plazmě) a moči krav v pokusu 2 - Values of the parameters recorded in the blood (plasma) and urine of the cows in trial 2

Ukazatel	Skupina krav (K,P)	Hladiny hodnocených ukazatelů ($\bar{x} \pm s$)	
		odběr 2-3 týdny před porodem (odběr I, $n=8$)	odběr 6-8 týdnů po porodu (odběr II, $n=8$)
Krev (plazma)			
Hematokrit $l.l^{-1}$	K	$0,33 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,04$
	P	$0,36 \pm 0,01$ ^{b K/P}	$0,32 \pm 0,02$ ^{b I/II}
Methemoglobin [rel.%]	K	$1,27 \pm 1,06$	$0,58 \pm 0,84$
	P	$2,62 \pm 1,46$	$1,89 \pm 1,37$
Sodík $[mmol.l^{-1}]$	K	$132 \pm 12,08$	$136 \pm 5,68$
	P	$128 \pm 4,20$	$136 \pm 7,87$
Sodík/Draslík	K	33,0	31,6
	P	30,4	31,6
Celková bílkovina $[g.l^{-1}]$	K	$69,9 \pm 13,86$	$69,1 \pm 7,64$
	P	$67,5 \pm 6,99$	$68,2 \pm 3,84$
Celková bílkovina/Albuminy	K	1,68	1,85
	P	1,61	1,77

Močovina [mmol.l ⁻¹]	K	5,7 ± 0,49	5,6 ± 0,64	
	P	5,5 ± 0,99	5,1 ± 0,53	
Cholesterol [mmol.l ⁻¹]	K	3,3 ± 0,57	5,2 ± 1,02	b I/II
	P	2,7 ± 0,42	4,5 ± 1,60	a I/II
Aceton [mg.l ⁻¹]	K	0,88 ± 0,30	1,84 ± 1,65	
	P	1,31 ± 0,31 ^a K ^P	2,12 ± 1,14	
Alkalická fosfatáza [μkat.l ⁻¹]	K	0,47 ± 0,18	0,77 ± 0,34	
	P	0,53 ± 0,18	1,01 ± 0,98	
Karoteny [μmol.l ⁻¹]	K	16,38 ± 2,95	17,48 ± 5,08	
	P	15,40 ± 3,74	15,87 ± 5,37	
Trijódthyrenin [nmol.l ⁻¹]	K	2,09 ± 0,97	3,41 ± 1,32	a I/II
	P	1,98 ± 0,32	3,12 ± 1,40	
Tyroxin [nmol.l ⁻¹]	K	95,7 ± 9,64	77,5 ± 11,64	a I/II
	P	90,4 ± 32,31	70,7 ± 16,30	
Mangan [μg.l ⁻¹]	K	0,17 ± 0,10	0,14 ± 0,12	
	P	0,14 ± 0,03	0,08 ± 0,05	a I/II
Moč				
Sodík [mmol.l ⁻¹]	K	4 ± 1,38	7 ± 5,42	
	P	4 ± 0,98	6 ± 1,79	
Draslík [mmol.l ⁻¹]	K	411 ± 110,37	442 ± 86,48	
	P	392 ± 91,22	432 ± 43,73	
Čistý acidobazický výluček [mmol.l ⁻¹]	K	132 ± 31,65	189 ± 57,28	
	P	153 ± 42,76	194 ± 32,74	

U telat od krav s prodlouženou dobou stání nasucho jsme zaznamenali v obou pokusech (tab. III) vyšší průměrné hodnoty hematokritu krve. FA krevních leukocytů byla nižší, rovněž tak jejich IFA. V krevní plazmě byly nižší koncentrace manganu, T₄ a T₃.

Rozdíly mezi hodnocenými ukazateli dosáhly u krav v řadě případů (tab. I, tab. II) statistické významnosti (a = $P < 0,05$, b = $P < 0,01$); u telat (tab. III) jsme je u žádného ze sledovaných ukazatelů nezjistili.

Zbývající z 45 námi sledovaných ukazatelů nevykazovaly v průběhu obou pokusů shodné rozdíly v posunu hodnot.

III. Hladiny sledovaných ukazatelů v krvi (plazmě) telat v pokusu 1 a 2; K - soubor telat od krav s dobou stání nasucho mezi 50 až 60 dny, P - soubor telat od krav s dobou stání nasucho mezi 80 až 124 dny; b - $P < 0,01$ - Values of the parameters of blood (plasma) recorded in calves in trials 1 and 2; L - set of calves of cows standing dry for 50 to 60 days, K - set of calves of cows standing dry for 80 to 124 days; b - $P < 0,01$

Ukazatel	Skupina telat (K,P)	Hladiny hodnocených ukazatelů ($\bar{x} \pm s$)	
		pokus 1 ($n = 8$)	pokus 2 ($n = 8$)
Hematokrit [$l.l^{-1}$]	K	$0,32 \pm 0,06$	$0,32 \pm 0,04$
	P	$0,38 \pm 0,06$	$0,33 \pm 0,04$
Fagocytární aktivita krevních leukocytů [%]	K	$28 \pm 17,30$	$34 \pm 13,45$
	P	$18 \pm 15,85$	$26 \pm 15,15$
Index fagocytární aktivity	K	$3,04 \pm 3,00$	$1,94 \pm 0,87$
	P	$2,10 \pm 2,79$	$1,84 \pm 0,90$
Mangan [$\mu g.l^{-1}$]	K	$0,38 \pm 0,06$	$0,45 \pm 0,10$
	P	$0,28 \pm 0,12$	$0,38 \pm 0,09$
Trijódthyronin [$nmol.l^{-1}$]	K	$1,75 \pm 1,06$	$5,74 \pm 1,82$
	P	$2,40 \pm 1,17$	$5,68 \pm 1,36$
Tyroxin [$nmol.l^{-1}$]	K	$83,45 \pm 38,09$	$113,10 \pm 17,89$
	P	$55,00 \pm 19,17$	$108,60 \pm 19,96$

DISKUSE

Výsledky, které jsme získali, naznačily rozdíly v úrovni metabolismu vzájemně hodnocených skupin krav a telat. V průměru vyšší hodnoty hematokritu, při nižším poměru sodíku a draslíku ve skupinách krav s prodlouženou dobou stání nasucho, mohou svědčit o snížené sekreci mineralokortikoidů v kůře nadledvin (Charvát, 1952; Harper, 1977). Domníváme se, že tato závislost využívaná v klinických laboratorních hodnotících endokrinní funkce lidí, kde se za limitní považuje hodnota 35 a její snížení svědčí pro stav hypofunkce, má svoje opodstatnění i v našem případě. Při shodné krmné dávce u kontrolních a pokusných skupin krav to u zvířat pokusných potvrzuje, při relativně nižším obsahu draslíku, i zvýšené vylučování sodíku močí (Harper, 1977).

Hypofunkce nadledvin je doprovázena snížením bazálního metabolismu organismu, charakterizovaná mimo jiné i poklesem T_4 a T_3 , tj. hormonů štítné žlázy v krvi (Homolka, 1971), které jsme u krav s prodlouženou dobou stání nasucho prokázali i my. Podobný nález u krav v případě syndromu obezity uvádějí i Kappaj. (1979).

Se zvýšenou hodnotou hematokritu pokusných krav může souviset vyšší koncentrace hemoglobinu v krvi (Homolka, 1971). U methemoglobinu, jehož zvýšení bylo relativně větší v porovnání s hemoglobinem, usuzujeme při shodné krmné dávce i na možné nižší aktivity methemoglobinreduktázy nebo redukováného glutathionu, odpovědného v organismu za jeho degradaci (Karlsón aj., 1987).

Z prací autorů, kteří se zabývali možnostmi využití krve (plazmy) v diagnostice syndromu obezity (Morrow, 1976; Karsai a Gaál, 1980; Sokol aj., 1982; Reid a Roberts, 1983; Karsai a Schäfer, 1984; Reichel a Sokol, 1987; Vrzgula aj., 1987), vyplývá význam stanovení zvýšených hladin neesterifikovaných mastných kyselin (nad $0,35 \text{ mmol.l}^{-1}$), bilirubinu (nad $5,13 \text{ mmol.l}^{-1}$), aktivity AST (nad $0,50 \mu\text{kat.l}^{-1}$) v krevní plazmě či nižších hodnot celkového cholesterolu (pod $2,6 \text{ mmol.l}^{-1}$) triglyceridů (pod $0,17 \text{ mmol.l}^{-1}$) nebo albuminu (pod $30,0 \text{ g.l}^{-1}$), tj. ukazatelů metabolismu krav souvisejících s funkcí jater. Klinicko-biochemickou diagnózu na živém zvířeti lze však potvrdit s jistotou pouze biopsií (Sokol aj., 1982).

Z výše uvedených ukazatelů, které jsme hodnotili v naší práci, jsme pouze u cholesterolu zaznamenali jeho nižší hladiny v krevní plazmě krav s prodlouženou dobou stání nasucho. Svědčí to o vyšší četnosti krav s narušenou funkcí hepatocytů v této skupině a o nedostatečné tvorbě transportních lipoproteinů, jejichž součástí je cholesterol (Morrow aj., 1979). Tato skutečnost je pravděpodobně příčinou i nižších koncentrací karotenů, které jsou v krvi na ně vázány.

U krav pokusných skupin naznačuje zvýšená aktivita ALP vyšší stupeň intra- nebo extrahepatální cholestázy, související s narušením jaterních funkcí (Cornelius, 1987). U této skupiny byly zajímavé i opakované nižší nálezy hladin manganu v krevní plazmě, který je v krvi vázán převážně na β -globuliny (Georgievskij aj., 1982). Snížená tvorba β -globulinů v játrech, jejichž součástí je řada složek komplementového systému krve (Karls on aj., 1987), pak může být příčinou i nižšího poměru celkové bílkoviny k albuminům.

Při stejné nabídce dusíkatých látek v krmné dávce byla u vzájemně hodnocených skupin krav odlišná i ureosyntetická činnost jater. Ukazují na ni vždy nižší koncentrace močoviny v krevní plazmě krav s prodlouženou dobou stání nasucho. Při narušení funkce jater lze předpokládat zvýšení amonémie (Mas, 1983), která spolu s dalšími mechanismy upravujícími acidobazický stav organismu přispívá ke zvýšení ČABV moče (Karls on aj., 1987; Harper, 1977).

Metabolickohormonální změny v průběhu intrauterinního vývoje krav ovlivnily i metabolický profil telat po narození. U telat od krav s prodlouženou dobou stání nasucho, shodně s jejich matkami, můžeme na základě vyšších hodnot hematokritu a snížených koncentrací T_4 a T_3 v krevní plazmě usuzovat na stav naznačující snížení funkce nadledvin. Nižší hodnota FA krevních leukocytů a IFA svědčí současně i o jejich zhoršené imunologické vybavenosti (Toman a Pšíkal, 1985).

S ohledem na dosažené výsledky lze konstatovat vyšší zastoupení krav a telat s nepříznivou úrovní metabolismu ve skupinách s prodlouženou dobou stání nasucho. Dokazuje to u nich zřetelně působení nutričního stresu a z praktického hlediska nezbytnost cílené prevence u všech krav této skupiny. Při provádění metabolického testu v těchto stádech může být odlišná metabolická odezva jednotlivých složek výživy (energetických živin, dusičnanů a dusitanů, karotenů, manganu, sodíku, draslíku) příčinou četných omylů a chyb při optimalizaci krmné dávky.

Literatura

CORNELIUS, CH. E.: A review of new approaches to assessing hepatic function in animals. *Veter. Res. Com.* 11, 1987, s. 423-441.

- ČSN 46 7070. Potreba živin pro hospodářská zvířata. 1982.
- DONNER, L.: Hematologie. 2. vyd. Praha, SPN 1956, 296 s.
- GEORGIEVSKI, V. I. aj.: Minerálna výživa zvierat. Bratislava, Príroda 1982, 418 s.
- HARPER, H. A.: Přehled fyziologické chemie. 15. vyd. (1. české). Praha, Avicenum 1977, 640 s.
- HOMOLKA, J.: Klinické biochemické vyšetřovací metody. 1. vyd. Praha, SZN 1969, 440 s.
- HOMOLKA, J.: Klinická biochemie. 2. vyd. Praha, Avicenum 1971, 463 s.
- CHARVÁT, J. (1952), In: HOMOLKA, J.: Klinická biochemie. 2. vyd. Praha, Avicenum 1971, 463 s.
- KAPP, P. aj.: Adatok a nagyhozamú tejelő szarvas marhák zsírmájszindrómáják kórfejléséhez. Mag. állatorv. Lap., 34, 1979, s. 458-468.
- KARLSON, P. aj.: Pathobiochemie. Academia Praha, 2. vyd. 1987, 480 s.
- KARSAI, F. - GAÁL, T.: A majbetegség megállapításának és előrejezésének lehetőségei tejelő tehenészetekben. Mag. állatorv. Lap., 35, 1980, s. 742-748.
- KARSAI, F. - SCHÄFER, M.: Diagnostische Erfahrungen bei metabolisch bedingten Leberkrankheiten der Milchkühe. Mh. Veter. Med., 39, 1984, s. 181-186.
- KUDLÁČ, E. - HOLÝ, L.: Řízení a kontrola reprodukce ve velkochovech skotu. 1. vyd. Praha, SZN 1984, s.352.
- KUTAS, F.: Determination of net acid base excretion in the cattle urine. A method for estimation of acid base equilibrium. Acta veter. Acad. Sci. hung., 15, 1965, s. 147-153.
- MAAS, J.: Interpreting serum chemistry screen in cattle. Mod. veter. Pract., 64, 1983, s. 132-133.
- MORROW, D. A.: Fat cow syndrome. J. Dairy Sci., 59, 1976, s. 1625-1629.
- MORROW, D. A. aj.: Clinical investigation of dairy cows herd with the fat cow syndrome. J. Amer. veter. med. Assoc., 174, 1979, s. 161-167.
- REICHEL, P. - SOKOL, J.: Vztah medzi obsahom tuku v pečeni a niektorými biochemickými ukazovateľmi v krvnom sére dojnic. Biol. chem. Veter. (Praha), 23, 1987, s. 53-61.
- REID, I. M. - ROBERTS, C. J.: Subclinical fatty liver in dairy cows. Ir. veter. J., 37, 1983, s. 104-110.
- ROD, J.: Statistika, základy biometrie, 1. vyd., Praha, SPN 1966, 126 s.
- SOKOL, J. aj.: Klinický a patologicko-anatomický obraz a diagnostika syndrómu stučnenia kráv. Veterinárství, 32, 1982, s. 299-302.
- TOMAN, M. aj.: Fagocytární aktivita krevních leukocytů u telat od narození do věku tří měsíců. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, s. 401-408.
- TOMAN, M. - PŠIKAL, I.: Test fagocytární aktivity krevních leukocytů telat. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, s. 393-400.
- VOJTÍŠEK, B.: Stanovení acetonu v mléce, mlezivu, krvi a moči dojnic mikrodifúzní metodou. Veterinárství, 36, 1986, s. 394-396.
- VRZGULA, L. aj.: Poruchy látkového metabolismu hospodářských zvířat a ich prevencia. Bratislava, príroda 1982, 492 s.
- VRZGULA, L. aj.: Realizační výstup číastkovej správy výzkumného úkolu VII-4-11/01 „Syndrom stučnenia kráv-Diagnostika tukovej infiltrácie pečene.“ In: Oznamy a pokyny pre veterinárne organizácie v slovenskej socialistickej republike. UVO Bratislava, 12, 1987.

Došlo dne 6.7.1989

ВОЙТИШЕК, Б. - ГАМРЖИК, Я. - ГРОНОВА, Б. - ДОЧЕКАЛОВА, Г. - ДИБЛИКОВА, И. (Научно-исследовательский институт ветеринарной медицины, Брно): Влияние срока сухостя коров в стаде с наличием синдрома ожирения на избранные показатели их метаболизма и состояние у телят. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 513-521.

Мы подитожиwали различия в составе крови (плазмы) и мочи у коров в группах ($n = 8$) с нормальным периодом сухостя (50 - 60 дней) и с периодом 80 - 124 дней. С помощью двух подходов, т.е. при повторном обследовании тех же животных за 2 - 3 недели до отела и спустя 6 - 8 недель после отела, как и при одноразовой обработке коров, находящихся в такой же фазе воспроизводственного цикла, мы выявили ряд изменений, которые свидетельствуют у коров с продленным сухостем о пониженной функции надпочечников и функции печени. В крови (плазме) их телят отмечены отклонения, указывающие помимо гипофункции надпочечников и на понижение фагоцитарной активности лейкоцитов крови, одного из показателей иммуновооруженности.

коровы; период сухостя; телята; метаболизм: надпочечники; печень

VOJTÍŠEK, B. - HAMŘÍK, J. - HRONOVÁ, B. - DOČEKALOVÁ, H. - DIBLÍKOVÁ, I. (Veterinary Research Institute, Brno): *The effect of dry stading time in cows in a herd with the obesity syndrome on selected metabolism parameters of the cows and on the state of the calves.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 513-521.

Differences in the composition of the blood (plasma) and urine of cows were evaluated in groups (n=8) with a normal time of dry standing (50-60days) and in cows standing dry for 80 to 124 days. Two approaches were used: repeated examination of the same animals two to three weeks before parturition and six to eight weeks after parturition, and single examination of the cows being in the same stage of reproduction cycle. A number of changes were recorded, testifying to a reduction of the function of the adrenal glands and to a decrease in the activity of the liver in the cows left to stand dry for a longer time. The calves of these cows had changes in their blood (plasma), indicating a hypofunction of the adrenal glands and a reduced phagocytic activity of the leucocytes, one of the parameters of the immunity system.

cows; dry standing time; calves; metabolism; adrenal glands; liver

VOJTÍŠEK, B. - HAMŘÍK, J. - HRONOVÁ, B. - DOČEKALOVÁ, H. - DIBLÍKOVÁ, I. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Einfluss des Trockenstehens der Kühe in der Herde mit dem Vorkommen von Obesitätssyndrom auf ausgewählte Merkmale ihres Metabolismus und auf den Kälberzustand.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 513-521.

Man bewertete Unterschiede in der Blutzusammensetzung (Plasma) und des Kuhharnes in Gruppen (n=8) mit normalem Trockenstehen (50 - 60 Tage) mit der auf 80 bis 124 Tage verlängerten Zeit. Durch wiederholte Untersuchung der gleichen Tiere 2 bis 3 Wochen vor und 6 bis 8 Wochen nach der Geburt, wie auch bei einer einmaligen Untersuchung der sich in der gleichen Phase des Reproduktionszyklus befindenden Kühe haben wir eine Reihe von Veränderungen nachgewiesen, die bei Kühen mit einem längeren Trockenstehen von der Verminderung der Funktion der Nebennieren und der Lebertätigkeit zeugen. Die Kälber von diesen Kühen wiesen im Blut (im Plasma) Abweichungen auf, die neben der Hypofunktion der Nebennieren auch eine niedrigere Stufe der fagotzytären Aktivität der Blutleukozyten, eines der Merkmale der immunologischen Ausrüstung, indizieren.

Kühe, Trockenstehen; Kälber; Metabolismus; Nebennieren; Leber

Adresa autorů:

MVDr. Bohuslav Vojtíšek, CSc., MVDr. Jaroslav Hamřík, RNDr. Blažena Hronová, RNDr. Hana Dočekalová, RNDr. Ivana Diblíková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

VETERINÁRNA HISTOLÓGIA

M. Belák, M. Mareta, M. Zibrín, V. Cigánková, A. Horáková

Bratislava, *Príroda* 1990. 498 s., 616 obr. Cena 60 Kčs.

Pred niekoľkými týždňami se dostala na pulty našich kníhkupectiev učebnice veterinárnej histológie. Napísal ju kolektív pracovníkov Vysokej školy veterinárskej v Košiciach. Jedná sa vôbec o prvú slovenskú učebnicu veterinárnej histológie. Zaplňuje medzeru, ktorá pretrvávala prakticky už vyše dvadsať rokov od vypredania podobného diela vydaného prof. Novotným a spolupracovníkmi z Vysokej školy veterinárskej v Brne v r. 1966. Preto treba s uznaním oceniť čin vydavateľstva a najmä prácu autorov. Učebnice je napísaná na vysokej odbornej úrovni s bohatým a inštruktívnym dokumentačným materiálom. Prvých 44 strán venovali autori cytológii, popisu stavby a funkcii bunky. Ďalšie štyri kapitoly popisujú tkanivá (epitelové, spojivové, svalové a nervové). Šiesta kapitola charakterizuje telové tekutiny (krv a lymfu), v siedmej popisujú mikroskopickú stavbu srdcovo-cievnej a v ôsmej kapitole stavbu orgánov lymfatickej sústavy. Po charakteristike štruktúry endokrinných žliaz nasleduje popis stavby dýchacích orgánov, potom popis orgánov tráviacej sústavy a močtovných orgánov. Trinásta a štrnásť kapitola charakterizujú mikroskopickú i submikroskopickú stavbu samičích a samčích pohlavných orgánov, potom nasleduje popis nervovej a kožnej sústavy. Učebnicu uzatvára sedemnásť kapitola o zmyslových orgánoch, zoznam literatúry, register a slovensko-český slovníček. Dielo je veľmi bohaté ilustrované, obsahuje 616 obrázkov. Podstatná časť z nich predstavuje originálne mikrofotografie a elektrónogramy a len menšia časť sú perokresby. Je škoda, že mikrofotografie nie sú rovnomernejšie rozložené vo všetkých kapitolách. To ovšem neznižuje úroveň diela, ktoré je napísané moderne a didakticky správne. Autori dobre vystihli nutnosť komplexného hodnotenia mikroskopickej a submikroskopickej stavby každého tkaniva a každého orgánu v kontexte všeobecných biologických zákonitostí. To sa im podarilo a vytvorili tak veľmi dobrý základ pre poznávanie stavby a funkcií orgánov a celého organizmu. Preto kniha, hoci je určená predovšetkým poslucháčom veterinárnej medicíny, môže poslúžiť aj poslucháčom prírodovedeckých fakúlt, zootechnických a ostatných biologických odborov.

prof. MVDr. Vladimír Uhrín, CSc.

BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI KMENŮ MYKOBAKTÉRIÍ IZOLOVANÝCH U SKOTU Z CHOVŮ S KLINICKOU PARATUBERKULÓZOU

M. Pavlas

PAVLAS, M. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Biologické vlastnosti kmenů mykobaktérií izolovaných u skotu z chovů s klinickou paratuberkulózou*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 523-528.

V letech 1983 až 1986 bylo bakteriologicky vyšetřeno na paratuberkulózu 263 vzorků mizních uzlin, sliznice střevní a výkalů skotu, které pocházely ze stájí s výskytem klinické paratuberkulózy. Při kultivaci jsme izolovali 79 kmenů mykobaktérií. Na selektivní agarové půdě s růstovým stimulem - mykobaktinem bylo izolováno 71 kmenů, které v primokultuře nerostly na konvenčních půdách pro kultivaci mykobaktérií. V subkultivaci závislost kmenů mykobaktérií na mykobaktinu klesala, přičemž počet kmenů mykobaktérií v subkultuře rostoucích na konvenčních půdách bez mykobaktinu se zdvojnásobil. Dvě třetiny kmenů mykobaktérií, které nebyly při růstu závislé na mykobaktinu, vykazovaly při serotypizaci shodné antigenní vlastnosti s *Mycobacterium avium* 1, 2, 3, 8. Při biologických testech na laboratorních zvířatech byla prokázána schopnost vyvolat senzibilizaci na PPD aviární tuberkulin nebo paratuberkulin, zejména u kmenů, které nebyly závislé na mykobaktinu. Přitom téměř u poloviny kmenů senzibilizující zvířata na shora uvedené alergeny byla zjištěna virulence pro kuřice s nálezem tuberkulózy v parenchymatózních orgánech. U kmenů mykobaktérií závislých na mykobaktinu byla prokázána z laboratorních zvířat největší virulence u myšek při intravenózní infekci, provázená hyperplazií sleziny s reizolací kultury mykobaktérií do šesti až osmi týdnů po infekci.

paratuberkulóza; *Mycobacterium paratuberculosis*; mykobaktin; alergie; virulence; serotypizace

Údaje o izolaci mykobaktérií s vlastnostmi odpovídajícími *Mycobacterium paratuberculosis* podle závislosti na růstovém faktoru - mykobaktinu se vyskytují kromě savců, rovněž u ptáků. Ve Velké Británii byl popsán výskyt atypických mykobaktérií s vlastnostmi *M. paratuberculosis* u holubů (Collins aj., 1985). V současném období se uplatňuje názor, že původce paratuberkulózy je možno snadno odlišit od jiných patogenních a apatogenních mykobaktérií, poněvadž primokultura roste pouze na půdách s růstovým stimulem připraveným z mykobaktérií. První kulturu paratuberkulózy se podařilo získat na půdách obohacených růstovým stimulem v roce 1912 na Dorsetově vaječné půdě s usmrčenou suspenzí *M. tuberculosis* v glycerinu (Twort a Ingram, 1912). Za rok poté bylo zjištěno, že vhodnější než humánní mykobaktérie tuberkulózy je suspenze připravená z *M. phlei*, která byla později nahrazena jeho extraktem (Smith, 1953). Uvedený extrakt se používá v mnoha zemích pod názvem mykobaktin. V posledních letech bylo zjištěno, že lepších výsledků je možno dosáhnout, jestliže se nahradí kultura *M. phlei* k přípravě mykobaktinu kmenem *M. paratuberculosis*. Takto připravený biopreparát byl nazván mykobaktin J (Merkal a McCullough, 1982). Kromě mykobaktinu podporují růst *M. paratuberculosis* i další

faktory, jako je vaječný žloutek a pyruvát sodný (Jorgensen, 1982). Pomnožování mykobaktérií paratuberkulózy bylo zaznamenáno rovněž na chorioalantoidní membráně kuřecích embryí (Stavitsky a Beck, 1946). Přitom bylo zjištěno, že některé kmeny *M. paratuberculosis* izolované z ovcí se podařilo získat na půdách s růstovým stimulem teprve po sedmiměsíční inkubaci (Dunkin aj., 1935; Watt, 1954). U skotu se zpravidla jedná o kmeny paratuberkulózy dobře rostoucí, na rozdíl od ovcí, které se mnohdy nepodařilo izolovat kultivačně (Taylor, 1945; Sigurdsson, 1945). Z uvedeného důvodu někteří autoři nepokládají diagnostiku paratuberkulózy u ovcí pomocí kultivace za vyhovující metodu (Gunnarsson, 1979).

Všeobecně se považuje za nejdůležitější znak mykobaktérií paratuberkulózy růst pouze na půdách s mykobaktinem v primokultuře (Chiodini, 1986). Pomocí imunoelektroforézy bylo zjištěno u čtyř laboratorních kmenů *M. paratuberculosis* 44 antigenních frakcí, přičemž mezi jednotlivými kmeny nebyl zjištěn rozdíl v antigenní struktuře. Shodné antigenní vlastnosti s laboratorními kmeny byly zjištěny rovněž u 39 kultur *M. paratuberculosis* izolovaných z terénu, a to jak v Norsku, tak i na Islandu, přičemž 27 frakcí *M. avium* a 24 složek BCG kmene bylo shodných s původcem paratuberkulózy (Gunnarsson a Fodstad, 1979).

Při hodnocení virulence *M. paratuberculosis* na laboratorních zvířatech bylo zjištěno, že kmeny paratuberkulózy vyvolaly zpravidla lokální změny v místě inokulace mykobaktérií. Větší virulence byla prokázána při jejich inokulaci v suspenzi s parafrínovým olejem (Mohler, 1939; Sahai, 1940). Při intravenózní inokulaci suspenze *M. paratuberculosis* se podařilo některým autorům vyvolat specifické změny u myši, krys, polních hrabošů, zlatých křečků a králíků i suspenzí *M. paratuberculosis* bez parafrínového oleje (Alikaeva, 1944; Francis, 1943; Levi, 1950; Hirsch, 1956; Lominskij, 1956). Přitom bylo zjištěno, že virulence mykobaktérií paratuberkulózy pro králíky se zvýšila při jejich současné aplikaci se žlučí skotu.

V minulých letech byla v Československu paratuberkulóza skotu i dalších druhů zvířat diagnostikována na základě klinického, patologickeoanatomického, bakteriologického a histologického vyšetření. Kultivačně byla paratuberkulóza u skotu a ovcí prokázána teprve v posledních letech. Účelem našeho sdělení je popsat dosavadní zkušenosti při kultivačním průkazu *M. paratuberculosis*, včetně posouzení jejich biologických vlastností na laboratorních zvířatech.

MATERIÁL A METODA

Při kultivaci byla tkáň přibližně o hmotnosti 1 g zhomogenizována ve třecí misce. Vzorky mízních uzlin nebo orgánů, které nebyly vyšetřeny bezprostředně po odběru, byly dekontaminovány 3,5 ml 1 M HCl a po dvacetiminutové expozici neutralizovány 2 ml 2 M NaOH. Při vyšetřování střevního obsahu nebo střevní sliznice bylo k dekontaminaci tkáně použito 4 % NaOH a 5 % kyseliny šťavelové. Kromě kultivace byly vzorky při bakteriologickém vyšetření posouzeny rovněž bakterioskopicky. Jako selektivní půdy pro kultivační průkaz paratuberkulózy bylo použito agar s mykobaktinem (Smith, 1953) nebo suspenze umrtvených *M. phlei* v glycerínu (podle dr. Štíky z ÚSVÚ Praha). Kromě toho bylo rovněž použito konvenčních půd pro kultivaci mykobaktérií, a to vaječné půdy podle Petragnaniho, Stonebrinka, Löwensteina a sérové půdy pro kultivaci mykobaktérií (ÚSOL Praha). Kultivační média byla inkubována při teplotě 37 stupňů Celsia po dobu 10 až 12 týdnů při odečítání ve dvoutýdenních intervalech. Při hodnocení kultivace byla posuzována morfologie kultur na jednotlivých půdách. U kmenů mykobaktérií vhodných k sérotypizaci byla určena druhová příslušnost a sérovar pomocí aglutinace (Schaefer, 1967). Pro posouzení biologických vlastností izolovaných kmenů mykobaktérií jsme použili kuřice ve věku čtyř týdnů, infikované intramuskulárně v dávce 5 mg a intravenózně v množství 0,5 mg primokultury mykobaktérií *pro dosis*. Kromě kuřic bylo použito

k biologickým pokusům králíků a myšek infikovaných intravenózně v dávce 1 mg a 0,05 mg kultury *pro dosis*. Pokud pokusná zvířata neuhynula, byla za tři měsíce utracena. Před usmrcením byly kuřice a morčata tuberkulinovány aviárním PPD tuberkulinem v dávce 0,001 mg *pro dosis*. Paratuberkulin byl použit ve stejné koncentraci a dávce, přičemž jeho biologická aktivita byla upravena podle PPD johninu - Weybridge.

VÝSLEDKY

V letech 1983 až 1986 bylo na paratuberkulózu bakteriologicky vyšetřeno 263 vzorků mizních uzlin a střevní sliznice skotu, který pocházel ze stájí s vysokým výskytem klinických forem této nákazy. Při kultivaci jsme izolovali 79 kmenů mykobaktérií, které pocházely ze zvířat podezřelých z této nákazy. Pomocí selektivní agarové půdy s růstovým stimulem bylo izolováno 71 kmenů, které v primokultuře nerostly na konvenčních vaječných půdách, včetně sérové půdy pro kultivaci mykobaktérií (tab. I). Přitom 10,2 % kmenů izolovaných z mizních uzlin nebo střevní sliznice skotu s příznaky paratuberkulózy rostlo již v primokultuře a dalších devět kmenů v subkultuře rostlo na konvenčních vaječných půdách bez růstového stimulu.

I. Růstové vlastnosti kmenů mykobaktérií izolovaných u skotu s klinickými příznaky paratuberkulózy - The growth traits of mycobacterium strains isolated from cattle with clinical paratuberculosis signs

Lokalita	Počet kmenů izolovaných			
	v primokultuře			v subkultuře
	celkem	půda selektivní s mykobaktinem	půda konvenční (bez mykobaktinu)	půda konvenční (bez mykobaktinu)
I - M	53	51	2	8
II - F	26	20	6	9
Celkem - počet	79	71	8	17
%	100	89,8	10,2	21,5

U většiny izolovaných kmenů jsme nemohli určit sérovar pomocí aglutinace, a to zejména pro nevyhovující homogenizační vlastnosti kultur mykobaktérií. U 19 kmenů, ze kterých se podařilo připravit homogenní suspenzi, byl výsledek se sérotypizačními séry skupiny *M. avium - intracellulare* - ptb (CCM 5889) u 16 kultur pozitivní, u sedmi negativní (tab. II). Z biologických testů na kuřicích a morčatech vyplynulo, že pouze malá část kmenů vyvolala u těchto zvířat senzibilizaci k ptačímu tuberkulinu nebo paratuberkulinu. Přitom alergenogenní schopnost byla výraznější u kmenů, které rostly již v primokultuře na konvenčních půdách bez růstového stimulu. U čtyř z devíti kmenů mykobaktérií senzibilizujících laboratorní zvířata byla rovněž zjištěna virulence pro kuřata s nálezem patomorfologických změn v parenchymatózních orgánech, a to jak při intramuskulární, tak intravenózní infekci. Naproti tomu u většiny kmenů (94,9 %) se nepodařilo vyvolat orgánovou formu onemocnění při obou způsobech inokulace. Kmeny mykobaktérií závislé na růstovém stimulu vykazovaly největší virulenci pro myši při intravenózní inokulaci, za příznaků zduření sleziny s možností reizolace

použité kultury do šesti až osmi týdnů po infekci, aniž by došlo k příznakům sepse u těchto zvířat.

Z výsledků hodnocení biologických vlastností mykobaktérií izolovaných u skotu vyřazeného pro podezření z nákazy paratuberkulózou vyplynulo, že většina izolovaných kmenů odpovídala růstovými vlastnostmi *M. paratuberculosis*. Zcela ojediněle byly izolovány v chovech skotu kmeny mykobaktérií vykazující již v primokultuře nebo subkultuře vlastnosti odpovídající *M. avium*.

II. Biologické vlastnosti kmenů mykobaktérií izolovaných u skotu s klinickými příznaky paratuberkulózy - Biological characteristics of mycobacterium strains isolated from cattle with typical signs of paratuberculosis

Lokalita	Počet kmenů									
	výšeřeno celkem	s alergenogenní schopností na				sérotypizace (aglutinace)			biologický pokus (drůbež)	
		tuberkulin aviární		paratuberkulin		neurčených negativních	nevyšetřených	A _{1,2,3} B _{Ptb}	pozitivní	negativní
		pozitivních	negativních	pozitivních	negativních					
I - M	53	6	47	6	47	3	41	9	2	51
II - F	26	3	23	3	23	4	15	7	2	24
Celkem počet	79	9	70	9	70	7	56	16	4	75
%	100	11,3	88,7	11,3	88,3	8,8	70,7	20,5	5,1	94,9

DISKUSE

Výsledky dosažené při hodnocení biologických vlastností mykobaktérií izolovaných ze střevní sliznice a mizních uzlin ileocekálních skotu s klinickou paratuberkulózou potvrdily, že většinu kmenů je možno izolovat na půdách obohacených růstovým stimulem, případně suspenzí *M. phlei* v glycerínu. Současně bylo prokázáno, že některé kmeny označené podle růstových vlastností za *M. paratuberculosis* při subkultivaci ztratily závislost na růstovém stimulem. Z uvedeného vyplynulo, že kmeny *M. paratuberculosis* mohou postupně získávat schopnost tvorby růstového stimulu nutného pro růst *in vitro* na kultivačních médiích. Současně bylo potvrzeno, že kromě mykobaktinu podporují růst *M. paratuberculosis* i látky přítomné ve vaječné půdě a některé chemicky definované látky (Jorgensen, 1982).

Dosažené výsledky omezují platnost poznatku, že původce paratuberkulózy je možno snadno odlišit od jiných patogenních a saprofytických mykobaktérií podle závislosti na růstovém stimulem - mykobaktinu. Přitom není vyloučeno, že enteritis u skotu nebo i jiných druhů zvířat, např. koní (Buergelet al., 1988) mohou vyvolat některé kmeny *M. avium* při snížené odolnosti organismu po nevhodném kmení nebo působením jiných faktorů.

Při hodnocení virulence kmenů mykobaktérií izolovaných u skotu s klinickými příznaky paratuberkulózy bylo zjištěno, že většina kmenů byla pro laboratorní zvířata

avirulentní. Současně bylo prokázáno, že virulence těchto kmenů závisí do určité míry na jejich alergenogenních a růstových vlastnostech na kultivačních médiích. Kmeny mykobaktérií závislé v primokultuře na růstovém stimulatoru - mykobaktinu, vyznačující se nízkou alergenogenní schopností, byly pro většinu laboratorních zvířat avirulentní. Největší vnímavost vykazovaly myši, u kterých při intravenózní inokulaci byla zjištěna hyperplazie sleziny s možností reizolace kultury použité k infekci. Nízká virulence *M. paratuberculosis* odpovídala výsledkům uváděným v literatuře (Twort, 1914; Francis, 1943; Alikaeva, 1944).

Literatura

- ALIKAEVA, A. P.: Eksperimentalnyj paratuberkulez krolikov. Veterinarija, 172, 1944, s. 26-32.
- BUERGELT, C. D. - GREEN, S. L. - MAYHEW, I. G. - WILSON, J. H. - MERRITT, A. M.: Avian mycobacteriosis in three horses. Cornell Veter., 78, 1988, s. 365-380.
- COLLINS, P. - McDIARMID, A. - THOMAS, L. H. - MATTHEWS, P. R. J.: Comparison of the pathogenicity of *M. paratuberculosis* and *Mycobacterium* sp. isolated from the wood pigeon (*Columba palumbus* - L.). J. Comp. Pathol., 95, 1985, s. 591-597.
- DUNKIN, G. W. - BALFOUR-JONES, J. B. E.: Preliminary investigation of a disease of sheep possessing certain characteristics simulating Johne's disease. J. comp. Path. Ther., 48, 1935, s. 236-240.
- FRANCIS, J.: Infection of laboratory animals with *Mycobacterium johnei*. J. comp. Path. Ther., 53, 1943, s. 140-150.
- GUNNARSSON, E.: Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from sheep and cattle in Ireland. Acta veter. scand., 20, 1979, č. 2, s. 191-199.
- GUNARSSON, E. - FODSTAD, F. H.: Analysis of antigens in *Mycobacterium paratuberculosis*. Acta veter. scand., 20, 1979, č. 2, s. 200-215.
- HIRSCH, A.: Infection of hamsters and rabbits with *M. johnei*. J. comp. Path. Ther., 66, 1956, s. 260-269.
- CHIODINI, R. J.: Biochemical characteristics of various strains of *Mycobacterium paratuberculosis* from the ileal mucosa of infected cattle. Austral. veter. J., 63, 1986, s. 185-187.
- JORGENSEN, J. B.: An improved medium for culture of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine faeces. Acta veter. scand., 23, 1982, s. 325-335.
- LEVI, M. L.: The susceptibility of voles to *Mycobacterium johnei*. J. comp. Path. Ther., 60, 1950, s. 10-16.
- LOMINSKI, I. - CAMERON, J. - ROBERTS, G. B. S.: Experimental Johne's disease in mice. J. Path. Bacter., 71, 1956, s. 211-222.
- MERKAL, R. S. - Me CULLOUGH, N. G.: A new mycobactin, mycobactin J, from *Mycobacterium paratuberculosis*. Curr. Microbiol., 7, 1982, s. 333-335.
- MOHLER, W. M.: Johne's disease infection of laboratory animals with the acid of paraffin oil. J. Amer. veter. med. Assoc., 94, 1939, s. 590-594.
- SAHAI, L.: Johne's disease infection in laboratory animals. Brit. Veter. J., 96, 1940, s. 407-414; 97, 1941, s. 101-104.
- SCHAEFER, W. B.: Serologic identification of the atypical Mycobacteria and its value in epidemiologic studies. Am. Rev. resp. Dis., 96, 1967, s. 115-118.
- SIGURDSSON, B.: Specific antigen recovered from tissue infected with *M. paratuberculosis* (Johne's bacillus). J. Immunol., 51, 1945, s. 279-290.
- SMITH, H. W.: Modifications of Dubos's media for the cultivation of *Mycobacterium johnei*. J. Path. Bacter., 66, 1953, s. 375-381.
- STAVITSKY, A. B. - BECK, J. D.: Reaction of the developing chicken embryo and the chorioallantoic membrane to inoculation with various strains of *Mycobacterium paratuberculosis*. Amer. J. veter. Res., 7, 1946, s. 470-476.
- TAYLOR, A. W.: Ovine paratuberculosis - Johne's disease of sheep. J. comp. Path. Ther., 56, 1945, s. 41-44.
- TWORT, F. W. - INGRAM, G. L. Y.: A method for isolating and cultivating *M. paratuberculosis* and some experiments on the preparation of a diagnostic vaccine for *Paratuberculosis enteritidis* of bovines. Proc. Roy. Soc., 84, 1912, s. 517-542.
- TWORT, C. C.: The experimental production of Johne's disease in some of the laboratory animals. Veter. News, 11, 1914, s. 79-81.

ПАВЛАС, М. (Научно-исследовательский институт ветеринарной медицины, Брно): Биологические свойства штаммов микобактерий, изолированных у крупного рогатого скота из стада, являющего признаки клинического паратуберкулеза. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 523-528.

За период 1983 - 86 гг. в бактериологическом порядке обследовали на паратуберкулез 263 образцов лимфатических узлов, слизистой кишок и экскрементов скота, происходящего из объектов с наличием клинического паратуберкулеза. Во время культивирования изолировали 79 штаммов микобактерий. На селективной агаровой среде с ростовым стимулятором - микобактином изолировали 71 штамм; они не росли в первичной культуре на традиционной среде для культивации микобактерий. В условиях субкультивации зависимость штаммов от микобактина понижается, а численность штаммов микобактерий в субкультуре, растущих на традиционной среде без микобактина, удваивается. Две трети этих штаммов, которые в процессе роста не зависели от микобактина, показывали при серотипизации аналогичные антигенные свойства с *Mycobacterium avium* 1, 2, 3, 8. В ходе биотестов на лабораторных животных показали способность вызывать восприимчивость к PPD птичьего туберкулина или паратуберкулина, в частности у тех штаммов, которые независимы от микобактина. Притом почти у половины штаммов, вызывающих у животных восприимчивость к упомянутым аллергенам, установлена вирулентность у курочек, показывающих признаки ТБЦ в паренхиматозных органах. У штаммов микобактерий, зависящих от микобактина,

пара-ТБЦ; *Mycobacterium avium*; микобактин; аллергия; вирулентность; серотипизация

PAVLAS, M. (Veterinary Research Institute, Brno): *Biological properties of the mycobacterium strains isolated in cattle herds with clinical paratuberculosis*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 523-528.

In the period from 1983 to 1986, bacteriological examination for paratuberculosis was performed in 263 samples of lymph nodes, intestinal mucous membrane and excrements of cattle, kept on a farm where clinical paratuberculosis occurred. Seventy-nine strains of mycobacteria were isolated during the culturing. On selective agar medium with mycobactin as the growth stimulator, 71 strains were isolated which had failed to grow on the conventional mycobacterium-culturing media. In the subculture, the dependence of mycobacteria on the mycobactin declined and the number of mycobacterium strains growing in the subculture on conventional mycobactin-free media doubled. Two-thirds of the mycobacteria which did not depend on mycobactin during growth exhibited the same antigenic properties as *Mycobacterium avium* 1, 2, 3, 8 during serotyping. Ability to induce sensibility to PPD avian tuberculin or paratuberculin was demonstrated during the bioassays of mycobactin. Almost a half of the strains inducing animals' sensitivity to the above-mentioned allergens were found to be virulent to pullets that had tuberculosis in their parenchymatous organs. Of the laboratory animals, the highest virulence of the mycobactin-dependent mycobacterium strains was demonstrated in mice subjected to intravenous infection, accompanied by hyperplasia of the spleen, with reisolation of the mycobacterium culture within six eight weeks after infection.

paratuberculosis; *Mycobacterium paratuberculosis*; mycobactin; allergy; virulence; serotyping

Adresa autora:

MVDr. Milan P a v l a s, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

ZMENY KONCENTRÁCIE PROGESTERÓNU, TRIJÓD TYRONÍNU A TYROXÍNU V KRVÍ A VÝSLEDKY KVANTITATÍVNEJ HISTOLOGICKEJ ANALÝZY PLACENTÓMU I ŽLTÉHO TELIESKA KRÁV PO PROTRAHOVANOM PÔRODE

J. Elečko, A. Ševčík, I. Maraček, E. Bekeová, J. Choma, J. Kačmárik

ELEČKO, J. - ŠEVČÍK, A. - MARAČEK, I. - BEKEOVÁ, E. - CHOMA, J. - KAČMÁRIK, J. (Vysoká škola veterinárská, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Zmeny koncentrácie progesterónu, trijódtyronínu a tyroxínu v krvi a výsledky kvantitatívnej histologickej analýzy placentómu i žltého telieska kráv po proťahovanom pôrode*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9) : 529-535.

V práci sme sa zamerali na simultánne kvantitatívne histologické sledovanie zmien bunkovej štruktúry placentómu i žltého telieska a koncentrácie progesterónu (P₄), trijódtyronínu (T₃) a tyroxínu (T₄) v čase pôrodu (0.h) za dva a šesť hodín po pôrode. Hormonálne koncentrácie sa stanovili RIA-testmi. Z dosiahnutých výsledkov kvantitatívnej histologickej analýzy placentómov a žltých teliesok vyplýva, že pri zadržanom lôžku je v priebehu sledovaného obdobia signifikantne vyšší počet zachovalých epiteliálnych buniek v kryptách placentómu a vyšší počet nezmenených malých, tmavých i veľkých, svetlých sekrečných luteinových buniek v biopsii žltého telieska. S morfológickým nálezom korešpondujú významne vyššie koncentrácie P₄ v krvi kráv so zadržaným lôžkom v porovnaní so zvieratami bez zadržaného lôžka. Dynamika zmien koncentrácie T₃ a T₄ v porovnaní s P₄ a histologickým nálezom poukazuje na funkčný vzťah medzi placentómom, žltým telieskom a štítnou žľazou.

progesterón; trijódtyronín; tyroxín; placentóm; žlté teliesko; histológia; proťahovaný pôrod; kravy

Odborná veterinárska pomoc sa vyžaduje asi pri 2 až 5 % pôrodov, pričom asi pri 8 až 10 % týchto dystokií býva indikovaný cisársky rez. Okrem iných príčin indikácie cisárskeho rezu spravidla vedú k *partus protractus* - pôrodu proťahovanému, čiže dlhotrvajúcemu. Keď sa v Československu chová približne dva milióny jalovic a kráv dokončí sa potom asi päť až osem tisíc sťažených pôrodov cisárskym rezom (K u d l á č, 1987a,b).

Výskyt zadržaného lôžka je častejší u mliekového ako u výkrmového dobytku. Bez brucelózných chovov za optimálnych technologických a zoohygienických podmienok je frekvencia retencií sekundín po fyziologických pôdoch v rozmedzí 3 až 12 % s priemerom 7 % (Grunert, 1980). Zvýšený výskyt zadržania lôžka u kráv po abnormálnych pôdoch (pôrod dvojčiek, cisársky rez, fetotómia, celý rad dystokií, abortov a predčasných pôrodov) a v stádach s výskytom brucelózy sa pohybuje v rozmedzí 30 až 50 % alebo aj viac (Roberts, 1971; Kudláč, Elečko a i., 1977; Grunert, 1980; Fung, 1983).

O výsledkoch nášho pozorovania zameraného na výskyt zadržania lôžka, histológii placentómu a žltého telieska pri proťahovaných pôdoch prvôtok a kráv sme referovali prv (Elečko a i., 1986), kde sme analyzovali a hodnotili materiál na klinike pôrodnictva a gynekológie v rokoch 1981 až 1984, pričom sme zaznamenali 29,4 % výskyt retencií sekundín a v jednotlivých rokoch sa pohybovali v rozmedzí 26,5 až 31,8 %.

V predkladanej práci, ktorá nadväzuje na naše prv prezentované pozorovania (E l e č k o a i., 1986) sme sústredili pozornosť na simultánne kvantitatívne histologické sledovania zmien štruktúr placentómu, žltého telieska a koncentrácie progesterónu (P₄), trijódtyronínu (T₃) tyroxínu (T₄) v čase porodu a do šiestich hodín po vybavení teľaťa. Cieľ práce spočíva v porovnaní zmien histologických a cytologických ukazovateľov placentómu a žltého telieska pri zvieratách s uvoľneným a zadržaným lôžkom ako aj hodnotenie týchto zmien s dynamikou koncentrácie P₄, T₃ a T₄ v systémovom obehú u tých istých zvierat. Získané objektívne údaje sledovaných ukazovateľov sa uplatnia v mozaike etiologických a patogenetických mechanizmov zadržania lôžka.

MATERIÁL A METÓDY

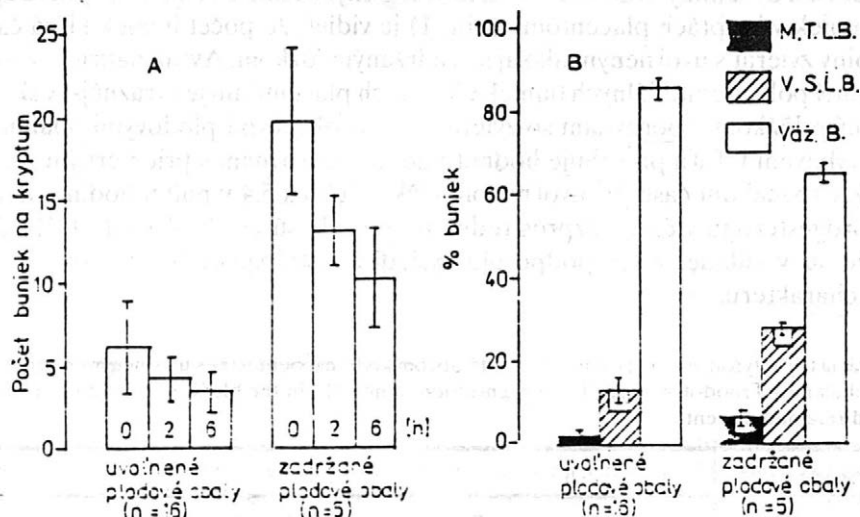
K histologickému štúdiu sme použili vzorky od 14 prvôtok dvojročných až dva a polročných a siedmich kráv vo veku tri až osem rokov v čase pôrodu. Vzorky sme odoberali pri cisárskom reze (0.h), dve a šesť hodín po vybavení teľaťa.

Placentóm po podviazaní a extirpácii sme prerezali tak, aby sme zachytili oblasť krypt a stopky. Excízy sme fixovali v 10% neutrálnom formalíne. Vzorky žltého telieska (CL) sme odoberali biopsiou pomocou punkčnej ihly s vnútorným priemerom 1,5 mm. Punktát tkaniva CL sme fixovali v 10% neutrálnom formalíne. Po vypratí a odvodnení fixovaných vzoriek sme ich zaliali do parafínu. Nakrájané 5 až 7 μ m hrubé rezy sme oľadili hematoxylineozínom a reakciou PAS s jadrovým farbením Harrisovým hematoxylinom. Koncentrácie tyroxínu, trijódtyronínu a progesterónu sa stanovili RIA-testom T₄, RIA-testom T₃ a RIA-Prog-Testom (ÚRVJT Košice). Pri hodnotení kvantitatívnej mikroskopickej analýzy sme stanovili aritmetický priemer ($\bar{x}$) hodnôt a smerodajnú odchýlku (σ). Diferenciu medzi priemernými hodnotami sme štatisticky hodnotili t-testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zo súboru sledovaných 21 zvierat bolo lôžko zadržané v šiestich prípadoch (28,6 %). Toto zistenie sa v podstate zhoduje s 28,2% výskytom zadržaného lôžka pri protrahovanom pôrode prvôtok a kráv ošetrovaných na klinike pôrodnictva a gynekológie v rokoch 1981 až 1984 (Š e v č í k a i., 1986) a je v súlade s literárnymi údajmi, ktoré uvádzajú, že po abnormálnych pôrodoch vrátane cisárskeho rezu, abortoch, predčasných pôrodoch a pri závažných infekčných chorobách môže výskyt zadržaného lôžka dosiahnuť 30 až 50 % (G r u n e r t, 1980).

V placentómoch od dvoch zvierat sme pozorovali úplné chýbanie štruktúr chorioalantoisu, pričom sa krypty kontrahovali a zvýšila sa ich PAS pozitivita. V placentómoch zvierat so zadržaným lôžkom sa zvýšil počet epiteliálnych buniek v maternicových kryptách ($20,15 \pm 5,18$) oproti nálezu pri zvieratách bez zadržaného lôžka ($5,39 \pm 2,74$) v čase po vybavení plodu (obr. 1). Tieto nálezy sú porovnateľné s dostupnými údajmi (Z i e g e r, 1978; B a d e, 1980; G r u n e r t, 1980). Z druhej časti obr. 1 je vidieť, že s opísaným nálezom na placentóm pri zadržanom lôžku koreloval vyšší počet tmavých i svetlých luteinových buniek žltého telieska v porovnaní s výraznejšími luteolytickými a atretickými zmenami CL popri plemeniciach s nezadržaným lôžkom. Na obr. 1 znázornené diferencie medzi skupinou so zadržaným a skupinou s nezadržaným lôžkom sú signifikantné ($P < 0,001$). Tieto nálezy sú porovnateľné s výsledkami, ktoré zaznamenali Č a n d e r l e a i. (1985).



1. Výsledok kvantitatívnej mikroskopickej analýzy placentómu (A) a žltého telieska (B) v čase pôrodu a po pôrode kráv - Result of the quantitative microscopic analysis of the placentoma (A) and the corpus luteum (B) during and after parturition in cows

I. Koncentrácia progesterónu (P_4) v nmol.l^{-1} v systémovom obehu kráv s uvoľnenými a zadržanými plodovými obalmi - Progesterone (P_4) concentration in nmol.l^{-1} in the blood circulation in the cows with released and retained placenta

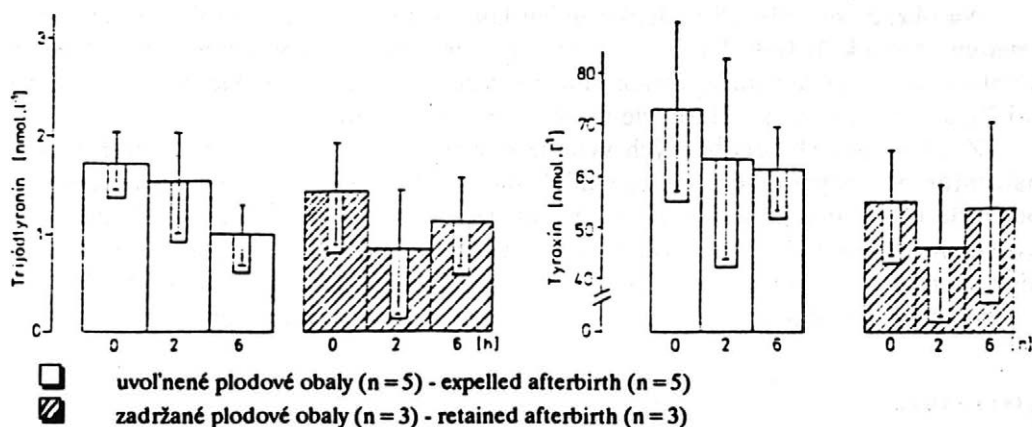
Zviera	0 h	2 h	6 h
	Bez zadržania plodových obalov		
18	4,8	3,5	3,2
20	4,5	-	-
29	6,7	3,8	-
37	1,6	-	2,2
88	2,1	2,2	2,9
46	2,5	-	-
$\bar{x}$	3,70	3,17	2,77
σ	1,96	0,85	0,51
Zadržané plodové obaly			
25	7,0	-	5,7
27	6,0	6,4	3,2
38	5,1	2,9	-
$\bar{x}$	6,03	4,65	4,45
σ	0,95	2,47	1,77

Z hľadiska dynamiky kvantitatívnych histologických zmien a zmien rozpočtu epiteliálnych buniek v kryptách placentómu (obr. 1) je vidieť, že počet buniek klesá časom tak u skupiny zvierat s uvoľneným ako aj so zadržaným lôžkom. Avšak napriek tomu, že zaznamenaný pokles epiteliálnych buniek v kryptách placentómu je výraznejší v skupine so zadržaným lôžkom v porovnaní so zvieratami s uvoľnenými plodovými obalmi šesť hodín po vybavení teľaťa presahuje hodnotu desať v porovnaní s priemerným počtom 3,5 buniek v rovnakom čase pri uvoľnenom lôžku alebo s 5,4 v nulte hodine. Zistené hodnoty progesterónu v čase bezprostredne po pôrode sú uvedené v tab. I. Z údajov vyplýva, že sú v súlade, resp. podporujú výsledky histologických pozorovaní kvalitatívneho charakteru.

II. Koncentrácia trijódtyronínu (T_3) v nmol.l^{-1} v systémovom krvnom obehu kráv s uvoľnenými a zadržanými plodovými obalmi - Triiodothyronine (T_3) concentration in nmol.l^{-1} in the blood circulation of cows with released and retained placenta

Zviera	0 h	2 h	6 h
	Bez zadržaných plodových obalov		
In 18/85	1,95	0,90	0,95
20/85	1,70	-	-
29/85	2,05	2,1	-
37/85	1/50	-	0,65
88/85	1/88	1/55	1/40
46/85	1/22	-	-
$\bar{x}$	1/72	1/52	1/00
σ	0,28	0,49	0,31
Zadržané plodové obaly			
In 25/85	2,00	-	1,60
27/85	1,53	1,45	0,68
38/85	0,75	0,20	-
$\bar{x}$	1,43	0,83	1,14
σ	0,52	0,63	0,46

Zmeny koncentrácie trijódtyronínu (T_3) v systémovom krvnom obehu kráv (tab. II) s uvoľnenými a zadržanými plodovými obalmi sme znázornili na obr. 2. Je vidieť, že T_3 v sledovanom období má s ohľadom na čas klesajúci trend, pričom je signifikantne nižšia koncentrácia šesť hodín po vybavení teľaťa v porovnaní s časom vybavenie teľaťa, t.j. nultú hodinu ($P < 0,01$). V skupine so zadržaným lôžkom zaznamenané rozdiely s ohľadom na čas neboli štatisticky významné.



2. Koncentrácia trijódtyronínu (T_3) v systémovej krvnom obehu kráv s uvoľnenými a zadržanými plodovými obalmi - Triiodotyronine (T_3) concentration in the blood circulation of cows with expelled and retained afterbirth

3. Koncentrácia tyroxínu (T_4) v systémovej krvnom obehu s uvoľnenými a zadržanými plodovými obalmi - Tyroxine (T_4) concentration in the blood circulation of cows with expelled and retained afterbirth

III. Koncentrácia tyroxínu (T_4) v nmol.l^{-1} v systémovej krvnom obehu kráv s uvoľnenými a zadržanými plodovými obalmi - Tyroxin (T_4) concentration in nmol.l^{-1} in the blood circulation of cows with released and retained placenta

Zviera	0 h	2 h	6 h
	Bez zadržaných plodových obalov		
In 8/85	73	42	66
20/85	79	-	-
29/85	90	80	-
37/85	57	-	52
88/85	90	68	66
46/85	50	-	-
x	73	63,3	61,33
σ	16,72	19,42	8,00
Zadržané plodové obaly			
In 25/85	57,0	-	56,0
27/85	38,0	45,0	32,0
38/85	40,0	27,0	-
x	45,0	36,0	44,0
σ	10,4	12,7	16,9

Na obr. 3 sme zhrnuli výsledky zmien koncentrácie tyroxínu (T₄) v systémovej krvnom obehu kráv (tab. III) s uvoľneným a zadržaným lôžkom. Z obr. 3 je vidieť, že s ohľadom na čas dynamika zmien koncentrácie T₄ má podobný klesajúci trend ako pri T₃, ale zaznamenané diferencie nie sú štatisticky významné.

Z dosiahnutých predbežných výsledkov vyplýva funkčný vzájomný vzťah medzi palcentómom, žltým telieskom, tyreoidálnymi a pohlavnými hormónmi pri zrelosti a odchode lôžka. Pre hlbšie poznanie mechanizmov zapojených do regulácie zrenia a uvoľnenia lôžka v čase pôrodu bude potrebné komplexne sledovať histologické, histochemické a hormonálne parametre. V práci sa pokračuje v snahe rozšíriť pozorovania na väčší súbor zvierat a prehľbiť sledovania dynamiky hormonálnych zmien.

Literatúra

- BADE, K.: Untersuchungen über die nicht infektiösen Ursachen des Nachgeburtsverhaltens beim Rind unter besonderer Berücksichtigung der Trächtigkeitsdauer. [Diss.] Hannover, 1980, s. 12-13.
- ČANDERLE, J. - ZRALÝ, Z. - KUMMER, V. - HRUŠKA, K. - ŠVECOVÁ, D. - MATOUŠKOVÁ, O. - VĚŽNÍK, Z.: Příspěvek k objasnění mechanismu odlučování fetální placenty u indukovaných porodů skotu. In: Zbor. Aktuálne problémy a zdravotné aspekty intenzifikácie reprodukcie hospodárskych zvierat. Košice, ÚEVM 1985, s. 35-36.
- ELEČKO, J. - MARAČEK, I. - ŠEVČÍK, A. - KAČMÁRIK, J.: Zadržanie ložka, histológia placenty a žltého telieska pri proťahovaných pôdoch prvôtok a kráv. Veterinářství, 36, 1986, s. 120-123.
- FUNG, H. P.: A study of placenta retention of dairy cows. I. Survey and treatment. J. Chinese Soc. Veter. Sci., 9, 1983, s. 75-80.
- GRUNERT, E.: Etiology of retained bovine placenta. In: Current therapy in theriogenology. Philadelphia, Ed. by D. A. Morrow, W. B. Saunders Co. 1980, s. 180-186.
- KUDLÁČ, E.: Příčiny a kategorizace stížených porodů. In: KUDLÁČ, E. - ELEČKO, J. a kolektiv: Veterinární porodnictví a gynekologie. Praha, SZN 1987a, s. 192-194.
- KUDLÁČ, E.: Císařský řez. In: KUDLÁČ, E. - ELEČKO, J. a kolektiv: Veterinární porodnictví a gynekologie. Praha, SZN 1987b, s. 256-170.
- KUDLÁČ, E. - ELEČKO, J. a kolektiv: Veterinární porodnictví a gynekologie. Praha, SZN 1977, s. 766.
- ROBERTS, S. J.: Veterinary obstetrics and genital diseases. 2nd Ed. Ann Arbor, Mich., Edwards, Brothers, Inc., 1971.
- ŠEVČÍK, A. - MARAČEK, I. - ELEČKO, J. - BEKEOVÁ, E. - CHOMA, J. - KAČMÁRIK, J.: Proťahované pôrody u kráv vo vzťahu k zmenám placenty, žltého telieska a hladín niektorých hormónov. In: Sbor. Ref. Reprodukce hospodárskych zvierat. VI. Príbylovy dny, Brno, 1986, s. 3.
- ZIEGLER, U.: Zytologische Untersuchungen an Placentomen im Hinblick auf das Nachgeburtsverhalten beim Rind. [Inaug. Diss.] Hannover, 1978, s. 40.

Došlo dňa 2.10.1989

ЭЛЕЧКО, Я. - ШЕВЧИК, А. - МАРАЧЕК, И. - БЕКЕОВА, Э. - ХОМА, Я. - КАЧМАРИК, Й. (Институт ветеринарии, Кошице; Институт экспериментальной ветеринарии, Кошице): Изменения концентрации прогестерона, триодтирониона и тироксина в крови и результаты количественного гистологического анализа плаценты и желтого тела у коров после продленного отела. Veter.Med. (Praha), 35, 1990 (9) : 529-535.

Мы нацелились в своей работе на одновременное количественное гистологическое прослеживание за изменениями клеточной структуры плаценты и желтого тела, как и за концентрацией прогестерона (P₄), триодтирониона (T₃) и тироксина (T₄) в период отела (О.час.) через 2 и 6 час. после отела. Гормональные концентрации определяли с помощью RIA-тестов. Как показывают результаты упомянутого анализа, при задержании последа в данный период значимыми представляются повышенное количество сохранившихся клеток эпителия в крипах плаценты, как и неизменных малых, темных и крупных, светлых секреторных лютеиновых клеток в биопсии желтого тела. С морфодиагнозом коррелируют и повышенные концентрации P₄ в крови

коров с задержанным последом в сравнении с коровами без его задержания. Динамика изменений концентрации ТЗ и Т4 в сравнении с Р4 и с гистодиагнозом указывает на функциональную увязку между плацентомом, железым телом и щитовидной железой.

прогестерон; трииодтиронин; тироксин; плацентом; желтое тело; гистология; продленные роды; коровы

ELEČKO, J. - ŠEVČÍK, A. - MARAČEK, I. - BEKEOVÁ, E. - CHOMA, J. - KAČMÁRIK, J. (University School of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Changes in progesterone, triiodothyronine and thyroxine concentrations in the blood and the results of the quantitative histological analysis of the placenta and corpus luteum in cows after protracted parturition.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 529-535.

Changes in the cell structure of the placenta and the corpus luteum were subjected to quantitative histological investigation, parallel with the examination of the concentrations of progesterone (P₄), triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄) during parturition (0th hour) and two and six hours after parturition. The hormone concentrations were determined by the RIA method. The results of the quantitative histological analysis of the placenta and the corpus luteum suggest that when the placenta is retained there is a significantly higher number of maintained epithelial cells in the placenta crypts and a higher number of unchanged small, dark and large, light lutein secretion cells in the biopsy of the corpus luteum during the period under investigation. The morphological finding significantly correlates with higher concentrations of P₄ in the blood of the cows with retained placenta, as compared with those whose placenta was not retained. It can be derived from the pattern of changes in T₃ and T₄ concentrations, compared with P₄ and with the histological finding, that there is a functional relationship between the placenta, corpus luteum, and the thyroid gland.

progesterone; triiodothyronine; thyroxine; placenta; corpus luteum; histology; protracted parturition; cows

ELEČKO, J. - ŠEVČÍK, A. - MARAČEK, I. - BEKEOVÁ, E. - CHOMA, J. - KAČMÁRIK, J. (Veterinärmedizinische Hochschule Košice; Institut der experimentellen Veterinärmedizin, Košice): *Veränderungen der Konzentration von Progesteron, Trijodthyronin und Thyroxin im Blut und Ergebnisse der histologischen, quantitativen Analyse des Plazentoms und des Gelbkörpers der Kühe nach der protrahierten Geburt.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 529-535.

In der Arbeit konzentrierten wir uns auf die simultane, quantitative, histologische Untersuchung der Veränderungen der Zellstruktur des Plazentoms und auch des Gelbkörpers und der Konzentration von Progesteron (P₄), Trijodthyronin (T₃) und Thyroxin (T₄) bei der Geburt (0. Stunden) 2 und 6 Stunden nach der Geburt. Hormonale Konzentrationen wurden durch die RIA-Tests festgestellt. Aus den vorangehenden Ergebnissen der quantitativen, histologischen Analyse der Plazentome und der Gelbkörper ergibt sich, dass bei dem Nachgeburtsverhalten im Verlauf der untersuchten Zeit die Anzahl von verhaltenen Epithelzellen in den Plazentomkrypten signifikant höher, und die Anzahl von stabilen, kleinen dunklen und auch grossen, hellen Sekretions-luteinellen in der Biopsie des Gelbkörpers ist. Mit dem morphologischen Befund korrespondieren bedeutend die grösseren Konzentrationen von P₄ im Blut der Kühe mit Nachgeburtsverhalten im Vergleich mit Tieren ohne Nachgeburtsverhalten. Die Dynamik der Konzentrationsveränderungen von T₃ und von T₄ im Vergleich mit P₄ und dem histologischen Befund deutet auf die funktionelle Beziehung zwischen dem Plazentom, dem Gelbkörper und der Schilddrüse hin.

Progesteron; Trijodthyronin; Thyroxin; Plazentom; Gelbkörper-Histologie; Protrahierte Geburt; Kühe

Adresy autorov:

Prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., doc. MVDr. Anton Ševčík, CSc., doc. MVDr. Juraj Kačmárik, CSc., Vysoká škola veterinárna, Komenského 73, 041 81 Košice
MVDr. Imrich Maraček, CSc., MVDr. Eva Bekeová, CSc., MVDr. Ján Choma, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

M. Pavlas: Alergická a sérologická diagnostika paratuberkulózy skotu

M. Lopatářová, L. Holý: Výtěžnost embryí ve vztahu ke zpracování výplašku superovulovaných krav-dárců

A. Rybníkář, J. Chumela, V. Vrzal: Experimentální trichofytóza telat, vyvolaná kulturami *Trichophyton verrucosum* a *Trichophyton equinum*

J. Szakács, A. Klega, L. Chrastinová, J. Vančíšín: Starostlivost o zvieratá s bachorovou fistulou

J. Danko: Morfogenéza hraničných mozgových brázd u ovce

D. Ježková, M. Smrčková, Z. Knotková: Změny glukozémie a laktacidémie u březích prasnic, fétů a u prasnic a selat do desátého dne po porodu

S. Navrátil, Z. Knotek, M. Maňásková, M. Štefan: Posouzení fertilizační schopnosti plemenných kanců hodnocením faktoru časné gravidity u testačních prasnic

J. Paulová, M. Dvořák, F. Kolouch, L. Váňová, L. Janečková: Ověření hepatoprotektivního a terapeutického účinku silymarinu při experimentálním poškození jater tetrachlórmetanem u psů

J. Mareš, M. Hasanová, J. Lidický, M. Břešťák, J. Daněk: Vliv terguridu na kontraktilitu kryšího děložního proužku

M.Toman, J.Krejčí, P.Menšík, L.Ulmann

TOMAN, M. - KREJČÍ, J. - MENŠÍK, P. - ULMANN, L. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Nespecifická imunostimulační aktivita bakterinu Bordetella bronchiseptica v testech na myších a telatech*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9) : 537-546.

Ve třech experimentálních modelech jsme ověřovali účinnost imunostimulačních preparátů mikrobiálního původu. Ze čtyř mikrobiálních druhů, použitých v testu stimulace myši proti následné infekci virulentním kmenem *Pasteurella multocida*, zvyšovala nejvíce odolnost *Bordetella bronchiseptica*. Mezi jejími kmeny byly ve stimulační aktivitě výrazné rozdíly od kmenů s nízkou aktivitou až po kmen 6229, zvyšující LD₅₀ infikovaných myši 72x proti kontrole. Rozdíly v přežívání myši byly také podle intervalu mezi imunostimulací a infekcí, přičemž nejlepší efekt se projevil při stimulaci myši 48 h před infekcí. Mezi aplikací samotného bakterinu *B. bronchiseptica* nebo *B. bronchiseptica* spolu s olejovým adjuvans nebyl průkazný rozdíl. Imunostimulační aktivitu *B. bronchiseptica* jsme potvrdili i v modelu subletálně ozářených myši, v němž jeho preventivní aplikace 24 h před ozářením vedla k časnější a rychlejší regeneraci lymfoidní tkáně, která se projevila vyšší hmotností slezin, vzrůstajícím počtem periferních leukocytů a aktivitou chemiluminiscence za šest dnů po ozáření. Bakterinem *B. bronchiseptica* v různé koncentraci a v kombinaci s dalšími látkami jsme stimulovali také dvouměsíční, klinicky zdravá telata. Nejvýraznějšího efektu jsme dosáhli po aplikaci *B. bronchiseptica* s olejovým adjuvans a *B. bronchiseptica* s olejovým adjuvans a vitamínem A, kdy jsme za 24 h pozorovali zvýšený počet periferních leukocytů a za 2 až 4 dny zvýšenou aktivitu v testu fagocytózy MSHP částic a v testu chemiluminiscence. Aktivita lymfocytů v testu blastické transformace byla nevýrazně zvýšená za sedm dní po stimulaci.

imunostimulační preparáty: *Bordetella bronchiseptica*; odolnost proti infekci; ionizující záření; leukocyty; fagocytární aktivita

Mikrobiální antigeny byly prvními cíleně aplikovanými preparáty při nespecifické imunostimulaci a dodnes patří mezi nepoužívanější. Velmi známá je *Bordetella pertussis*, která od roku 1948, kdy byla její nespecifická imunostimulační aktivita popsána poprvé (Fleming aj., 1948), byla použita v řadě experimentálních modelů zvyšování nespecifické odolnosti proti virové nebo bakteriální infekci (Kirschner aj., 1978; Winters aj., 1985; Baggett aj., 1986) nebo jako adjuvans k vakcínám (Finger a Emmerling, 1970; Athanassiades, 1977; Bomford, 1980a, b). Její imunostimulační aktivita je vázána nejen na lipopolysacharid stěny bakterie, jehož efekt na imunitní systém byl popsán i u řady dalších gramnegativních bakterií, ale i na jiné struktury, včetně exotoxinu (Le Garrec, 1986). Své účinky uplatňuje aktivací makrofágů a produkcí interleukinu 1, navozujících řadu aktivačních procesů v imunitním systému, jejichž výsledkem je výrazná imunostimulace, která byla prokázána především v oblasti buňkami zprostředkované imunity (Bomford, 1980a; Athanassiades, 1977), zatímco adjuvantní efekt v tvorbě protilátek byl nižší (Bomford, 1980b).

V oblasti veterinární medicíny byla imunostimulační aktivita prokázána u příbuzného druhu *B. bronchiseptica*, u něhož byl prokázán adjuvantní účinek při zvyšování imunitní odezvy myši na tetanový toxoid (M a g y a r aj., 1983), ale i adjuvantní efekt při zvyšování humorální odezvy skotu k viru BVD (C h e n aj., 1985).

V našich pokusech, které jsou součástí komplexního studia nespecifické imunostimulace hospodářských zvířat a výzkumu nových imunostimulačních a adjuvantních látek, jsme ověřovali nespecifické imunostimulační účinky *B. bronchiseptica* na modelech laboratorních myši a v testech na telatech.

MATERIÁL A METODY

IMUNOSTIMULAČNÍ PREPARÁTY

Kmeny *B. bronchiseptica* CCM 6229 a 6230 jsme získali z Čs. sbírky zoopatogenních mikroorganismů v Brně a kmeny OT 27 a BE 9 jsme získali jako terénní izoláty z prasat. Kmeny vykazovaly růst ve fázi 1, produkovaly adenylácyklázu, hemaglutinin pro boviní erytrocyty, cytotoxin a v různém rozsahu i neurotoxin (6229 slabě toxigenní, 6230 vysoce toxigenní). Kmeny jsme pomnožili v tekutém BHI médiu (Difco). Narostlou osmnáctihodinovou kulturu jsme inaktivovali 24 h 0,5% formalínem. Při stimulaci myši jsme aplikovali preparáty v koncentraci $5 \times 10^8 \text{ ml}^{-1}$; ke stimulaci telat jsme používali různé koncentrace zárodků od $5 \times 10^8 \text{ ml}^{-1}$ po $3 \times 10^{10} \text{ ml}^{-1}$.

Kmeny *Propionibacterium acnes* (*Corynebacterium parvum*) jsme pomnožili za anaerobních podmínek v tekutém živném médiu; kmeny *Lactobacillus casei* jsme pomnožili v tekutém médiu M. R. S. Broth (Difco). Oba druhy jsem používali ve formě bakterinu, inaktivovaného 0,5% formalínem. Virus parainfluenzy (PI3) jsme používali ve formě živého vakcinačního kmene (Bioveta Nitra), jehož 10 imunizačních dávek jsme resuspendovali v 10 ml destilované vody a pro myš použili dávku 0,1 ml.

Bakterin *B. bronchiseptica* jsme aplikovali buď ředěný pufovaným fyziologickým roztokem, nebo resuspendovaný 1:1 s olejovým adjuvans na bázi emulze minerálního oleje a vody (zředěná 0, Bioveta Ivanovice na Hané). Vitamin A jsme do preparátu přidávali ve formě koncentráту 1,5 mil. m.j. v 1 ml olivového oleje (Slovakofarma Hlohovec).

STIMULACE MYŠÍ PROTI NÁSLEDNÉ INFEKCI *PASTEURELLA MULTOCIDA*

Konvenční bílé myši (Velaz) jsme stimulovali i.p. vybranými preparáty v dávce 0,1 ml a za 48 h, případně i v jiných intervalech, jsme je infikovali virulentním kmenem *P. multocida* (kmen CCM 65, Čs. sbírka zoopatogenních mikroorganismů v Brně). Ke stanovení LD₅₀ jsme používali infekční dávky 5×10^2 až 5×10^6 bakterií v 1 ml a pro další pokusy používali standardní dávku 20 x LD₅₀, při níž hynulo do 48 h nejméně 80 % kontrolních myši. Sledovali jsme hynutí myši kontrolních a stimulovaných po dobu pěti dnů a podíl LD₅₀ obou skupin vyjádřili jako stimulační index daného preparátu.

STIMULACE MYŠÍ PROTI IMUNOSUPRESIVNÍM ÚČINKŮM RADIAČNÍHO ZÁŘENÍ

Myši CBax 657B jsme stimulovali i.p. 0,1 ml testovaného preparátu a v různých intervalech, nejčastěji však za 24 h, je ozařovali po celém těle přístrojem Chirostat ⁶⁰Co v přílivu 0,36 Gy.min⁻¹ a celkové dávce 450R (4,5 Gy). Po ozaření jsme sledovali zdravotní stav myši a v pravidelných intervalech od tří do 18 dnů odebírali krev z ocasní vény k imunologickému vyšetření, případně je utráceli a stanovovali hmotnost sleziny a její poměr k hmotnosti těla.

TESTACE AKTIVITY PERIFERNÍCH LEUKOCYTŮ TELAT STIMULOVANÝCH *IN VIVO*

Telata ve věku dvou měsíců, ustájená v konvenčním teletníku s dobrou úrovní chovu a dobrým zdravotním stavem, jsme stimulovali i.m., případně i.p., různými dávkami imunostimulačních preparátů a za dva až tři a sedm dnů po stimulaci sledovali změny včetně aktivity periferních leukocytů v testech *in vitro* a porovnávali je s aktivitou leukocytů kontrolních neošetřených telat.

Celkový počet leukocytů jsme počítali standardní metodou v Bürkerově komůrce.

Fagocytární aktivitu jsme sledovali pomocí testu fagocytózy syntetických MSHP částic (Větvická aj., 1982). K 0,1 ml heparinizované krve (10 m.j. na 1 ml) jsme přidali 0,05 ml suspenze MSHP částic (ÚVVVR Praha) a po hodinové inkubaci při teplotě 37 stupňů Celsia a přidání 0,02 ml 0,05 M EDTA III jsme zhotovili krevní nátěry. Po obarvení standardním barvením May Grünwald-Giemsou jsme odečítali u každého nátěru 200 buněk a hodnotili diferenciální rozpočet leukocytů a procento fagocytujících buněk.

Metaboličnou aktivitu fagocytujících buněk jsme stanovovali pomocí chemiluminiscence. Vzorek 0,1 ml heparinizované krve jsme přidali k 0,7 ml média MEM bez séra a těsně před měřením přidali 0,1 ml 10^{-4} M luminolu a na přístroji pro měření kapalně scintilace Izocap Nuclear měřili spontánní chemiluminiscenční aktivitu buněk. Po trojím měření jsme přidali 0,1 ml 1% rýžového škrobu a sledovali dynamiku chemiluminiscence v pětiminutových intervalech po dobu jedné hodiny.

Aktivitu lymfocytů jsme sledovali testem blastické transformace lymfocytů v plné krvi za pomoci mikrometody v mikroploštích. Heparinizovanou krev jsme ředili 1:9 médiem MEM s 5 % precolostrálního telecího séra a nanášeli ji po 200 μ l do jamek mikroploštny pro tkáňovou kultivaci (ÚMG-ČSAV Praha). Ke kulturám krve jsme přidávali po 20 μ l fytohemaglutininu (20 μ l.ml⁻¹) nebo konkanavalinu A (10 a 2 μ g.ml⁻¹), laboratoř pro výrobu a využití iktinů PpF UK Praha, a to nejméně ve trojím opakování; buňky ve třech prvních jamkách zůstaly nestimulované. Mikroploštny jsme inkubovali 24 h při teplotě 37 stupňů Celsia s 5 % CO₂, pak přidali 50 μ l média značeného ³H thymidinem a kultivovali dalších 24 h. Lymfocyty z jednotlivých jamek jsme zacytili na sklovláknitém filtru ve sklížeči buněk (Dynatech), přenesli do plastických zkumavek a izotopovou aktivitu měřili na přístroji pro kapalnou scintilaci Izocap Nuclear. Mitogenní aktivitu lymfocytů jsme vyjadřovali buď pomocí počtu impulsů za minutu (CPM), nebo ve formě stimulačních indexů, což jsou poměry izotopové aktivity jamek stimulovaných mitogenem a jamek kontrolních.

I. Odolnost myší stimulovaných různými preparáty proti infekci *Pasteurella multocida* - Resistance of mice stimulated with various preparations against infection with *Pasteurella multocida*

	Čelenž <i>P. multocida</i> za 48 h po stimulaci ^{a)}			
	přežívající za 48 h	přežívající za 120 h	odhad LD ₅₀ , počet bakterií v 1 ml	stimulační index ^{c)}
<i>B. bronchiseptica</i> směs kmenů	25/40 ^{b)}	21/40	1,4x10 ⁵	56,0
<i>B. bronchiseptica</i> kmen 6229	28/40	26/40	1,9x10 ⁵	72,4
<i>Propionibacterium</i> <i>acnes</i> směs kmenů	17/40	13/40	2,1x10 ⁴	8,4
<i>Lactobacillus casei</i>	20/40	16,40	5,0x10 ⁴	20,0
Virus PI ₃	12/25	9/25	3,2x10 ⁴	12,8
Olejové adjuvans	19/40	15/40	3,6x10 ⁴	14,4
Kontrola bujón BH1	11/44	9/44	2,6x10 ³	1,05
Kontrola pufrovaný fyziologický roztok	12/48	9/48	2,5x10 ³	1,0

a) k čelenži použito pět koncentrací *P. multocida* (5x10² až 5x10⁶ .ml⁻¹)

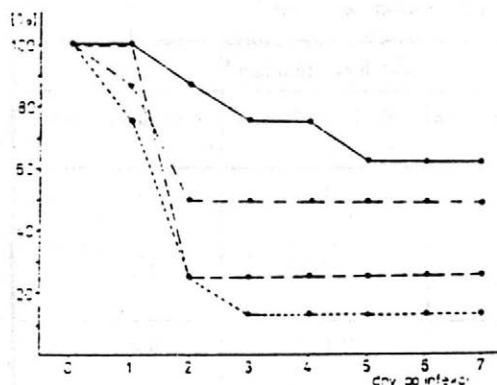
b) přežívání uváděno jako podíl přežívajících k celkovému počtu testovaných

c) stimulační index = podíl LD₅₀ stimulovaných a kontrolních myší

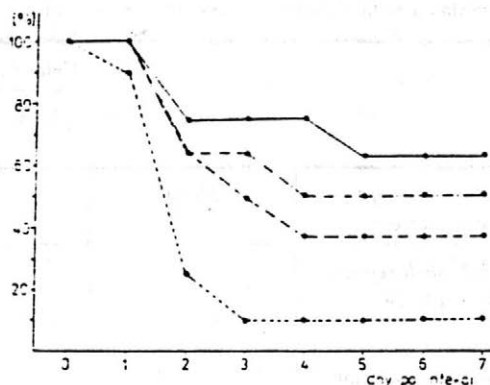
STIMULACE MYŠÍ PROTI NÁSLEDNÉ INFEKCI *PASTEURELLA MULTOCIDA*

V testu stimulace myši proti následné infekci jsme sledovali schopnost vybraných preparátů nespecificky zvyšovat jejich odolnost proti infekci *P. multocida*. Použitý infekční kmen vyvolával u nestimulovaných myši po i.p. aplikaci sepsi a hynutí do 48 h v dávce $LD_{50} = 2,5 \times 10^3$ zárodků v 1 ml.

Ke stimulaci jsme použili různé kmeny tří bakteriálních druhů a vakcinační kmen viru parainfluenzy. Z použitých imunostimulačních preparátů se ukázaly jako nejúčinnější kmeny *B. bronchiseptica*, které výrazně zvyšovaly přežívání infikovaných myši oproti myším kontrolním, kterým jsme aplikovali fyziologický roztok (tab. I). Mezi jednotlivými kmeny *B. bronchiseptica* byl v účinnosti imunostimulace značný rozdíl. Zatímco kmen BE 9 zvyšoval odolnost myši jen nevýrazně, kmeny 6229 a 6230 navozovaly výrazný stupeň odolnosti, a to u kmene 6229 až 72x vyšší, po jehož aplikaci se LD_{50} zvýšilo na $1,9 \times 10^5$ zárodků v 1 ml.



1. Přežívání myši stimulovaných bakterinem *Bordetella bronchiseptica* a v různých intervalech infikovaných *Pasteurella multocida*; — — — *B. bronchiseptica* současně s infekcí, ————— *B. bronchiseptica* 48 h před infekcí, *B. bronchiseptica* 120 h před infekcí, - - - - - fyziologický roztok 48 h před infekcí - Survival of mice stimulated with *Bordetella bronchiseptica* bacterine and infected, in different intervals, with *Pasteurella multocida*; — — — *B. bronchiseptica* together with infection, ————— *B. bronchiseptica* 48 h before infection, *B. bronchiseptica* 120 h before infection, - - - - - saline 48 h before infection



2. Přežívání myši stimulovaných bakterinem *Bordetella bronchiseptica* s olejovým adjuvans a za 48 h infikovaných *Pasteurella multocida*; ————— *B. bronchiseptica*, *B. bronchiseptica* + olejové adjuvans, — — — olejové adjuvans, - - - - - fyziologický roztok - Survival of mice stimulated with *Bordetella bronchiseptica* bacterine with oil adjuvant and infected with *Pasteurella multocida* 48 h later; ————— *B. bronchiseptica*, *B. bronchiseptica* with oil adjuvant, — — — oil adjuvant, - - - - - saline

Nespecifická imunostimulační aktivita dalších mikrobiálních druhů byla podstatně nižší, ačkoliv zvýšenou odolnost myši jsme zaznamenali i po aplikaci kmenů *Lactobacillus casei* (tab. I).

Maximální imunostimulační účinky jsem docílili při aplikaci *B. bronchiseptica* 48 h před infekcí, i když zvýšenou odolnost a delší přežívání myši jsme zaznamenali i po aplikaci pět a sedm dní před infekcí (obr. 1), avšak při současné aplikaci bakterinu *B. bronchiseptica* s infekcí byl efekt nízký. Minimální imunostimulační efekt jsme pozorovali také po aplikaci bakterinu subkutánně.

Bakterin *B. bronchiseptica* jsme také kombinovali s olejovým adjuvans, ale nepozorovali jsme zvýšený imunostimulační efekt oproti bakterinu aplikovanému ve fyziologickém roztoku, ačkoliv podání samotného olejového adjuvans zvýšenou odolnost navodila také (obr. 2).

STIMULACE MYŠÍ PROTI IMUNOSUPRESIVNÍMU ÚČINKU RADIAČNÍHO ZÁŘENÍ

Imunostimulační aktivitu *B. bronchiseptica* jsme potvrdili i na modelu subletálně ozářených myši. Zatímco u nestimulovaných myši jsme po ozáření zaznamenali výrazný a dlouhodobý úbytek leukocytů, provázený útlumem imunologické aktivity a nižší hmotností sleziny třetí až šestý den, u myši stimulovaných bakterinem *B. bronchiseptica* jsme po počátečním útlumu pozorovali častější a výraznější nástup regeneračních pochodů. Za tři dny po ozáření byl ještě pozorovatelný výrazný pokles celkového počtu leukocytů, ale za šest dnů po ozáření byly počty již téměř srovnatelné s kontrolní ozářenou skupinou. Chemiluminiscenční aktivita byla velmi vysoká a výrazně převyšovala i aktivitu kontrolních myši (tab. II). Za 12 až 18 dní po ozáření byly hodnoty jednotlivých testů u skupiny stimulovaných myši již na úrovni kontrolní skupiny.

II. Hodnoty imunologického vyšetření stimulovaných a nestimulovaných myši za šest dní po ozáření ^{60}Co -
Values of immunological examination of stimulated and nonstimulated mice six days after irradiation with ^{60}Co

Imunostimulace ^{a)}	Celkový počet leukocytů [$10^9 \cdot l^{-1}$]	Hmotnost sleziny [mg]	Procento fagocytujících monocytů a neutrofilů	Chemiluminiscence CPM/1 000 b
<i>B. bronchiseptica</i>	3,95	153	57,1	1 270
<i>B. bronchiseptica</i> + olejové adjuvans	4,88	147	44,8	1506
Kontrolní ozářené myši	1,30	58	36,4	82
Kontrolní neozářené myši	6,40	109	40,2	107

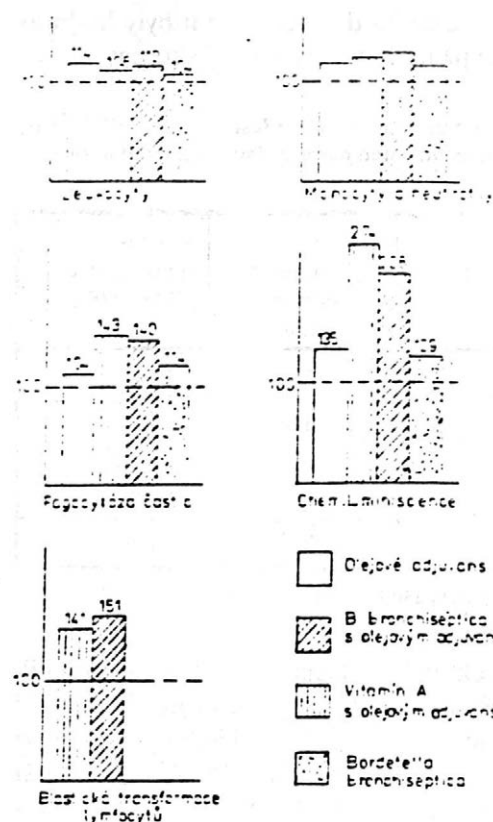
^{a)} myši byly stimulovány 24 h před ozářením, dávka ozáření byla 450 R (4.5 Gy)

Nejvýraznější imunostimulační a radioprotektivní efekt jsme dosáhli při aplikaci *B. bronchiseptica* 24 h před ozářením, zatímco při aplikaci těsně před ozářením byl její účinek již nižší a dále se s pozdější dobou aplikace snižoval, takže při jejím podání čtyři dny po ozáření jsme již žádný imunostimulační efekt nepozorovali. Při stimulaci myši jsme radioprotektivního účinku dosáhli jak při aplikaci *B. bronchiseptica* ve fyzio-

logickém roztočtu, tak v kombinaci s olejovým adjuvans, přičemž efekt obou preparátů byl podobný.

AKTIVITA PERIFERNÍCH LEUKOCYTŮ TELAT STIMULOVANÝCH *IN VIVO*

U telat stimulovaných různými variantami preparátu obsahujících *B. bronchiseptica* jsme prokazovali různou míru zvýšené fagocytární aktivity periferních leukocytů v závislosti na použité dávce *B. bronchiseptica*, zda byla *B. bronchiseptica* kombinována s dalšími látkami a podle intervalu mezi imunostimulací a testací. Samotný bakterin měl jen mírné imunostimulační účinky, a to v nejvyšší koncentraci $1 \times$ až $3 \times 10^{10} \text{ ml}^{-1}$ při dávce 5 ml na tele, kdy mírně stimuloval fagocytární aktivitu jak v testu fagocytózy MSHP částic, tak v testu chemiluminiscence. Podstatně výraznějšího efektu jsme dosáhli po aplikaci bakterinu *B. bronchiseptica* (koncentrace $5 \times 10^9 \text{ ml}^{-1}$) v kombinaci s olejovým adjuvans (obr. 3). Za 24 h po aplikaci preparátu jsme pozorovali zvýšený počet celkových leukocytů, který přetrvával ještě druhý a třetí den. Od druhého a čtvrtého dne jsme zaznamenali vzestup fagocytární aktivity v obou použitých testech s maximem za 72 h po aplikaci. Za pět až sedm dní po aplikaci preparátu byla fagocytární aktivita zvýšena jen u některých telat a celkově rozdíly v porovnání k nestimulované skupině již nebyly průkazné. V testu blastické transformace lymfocytů jsme nevýrazné zvýšení zaznamenali jen za sedm dnů po stimulaci. Podobné, ale ještě výraznější účinky jsme dosáhli při použití preparátu, který kromě *B. bronchiseptica* a olejového adjuvans obsahoval i vitamín A v koncentraci 150 000 m.j. v 1 ml (obr. 3).



3. Aktivita periferních leukocytů telat po imunostimulaci různými preparáty: počty leukocytů a parametry fagocytární aktivity jsou uváděny za dva dny po stimulaci; blastická transformace za sedm dní po stimulaci; hodnoty jsou vyjádřeny v procentech ve vztahu ke kontrolním zvířatům - Activity of peripheral leucocytes in calves after immunostimulation with various preparations; numbers of leucocytes and parameters of phagocytic activity are indicated two days after stimulation; blastic transformation seven days after stimulation; values are given as percentages in relation to the control animals

Kontrolní skupina telat, kterým jsme podali samotné olejové adjuvans měla za 24 až 48 h po aplikaci zvýšený celkový počet leukocytů, ale fagocytární aktivita zůstávala beze změny. Aplikace vitamínu A měla za následek mírné zvýšení fagocytární aktivity bez zvýšeného počtu leukocytů, vitamín A v olejovém adjuvans zvyšoval celkový počet leukocytů a výrazně aktivoval metabolické procesy fagocytózy, prokazované chemiluminiscencí.

DISKUSE

Nespecifická stimulace imunitního systému je progresivně se rozvíjejícím, perspektivním směrem ochrany zdraví hospodářských zvířat (M u l c a h y a Q u i n n , 1986), většina dosavadních prací je však zaměřena na laboratorní ověřování imunostimulačních účinků jednotlivých látek a vývoj vhodných testačních systémů. Zprávy tohoto typu se začínají objevovat i v naší odborné literatuře (S a n g r e t a V r t i a k , 1985; B o r o š k o v á aj., 1985; M a ě a r aj. 1985; H o š p e s aj., 1988; S a n g r e t aj., 1988; P a u l í k aj., 1987; B o u š k a aj., 1988).

V našich pokusech jsme použili tři různých experimentálních modelů k průkazu nespecifické imunostimulační aktivity vybraných preparátů. Test stimulace myši proti následné infekci je velmi častým modelem testování imunostimulační aktivity, v němž se jako infekční agens používají bakterie *Pseudomonas aeruginosa* (C a m p a n i l l e aj., 1986; S a i t o aj., 1986); *Streptococcus* sp. (M a g o aj., 1988), *Staphylococcus aureus* (F i s c h e r aj., 1975; A y m e aj., 1988), *Listeria monocytogenes* (M o r a h a n aj., 1986; F i s h e r aj., 1975; K i r c h n e r aj., 1978) nebo virus vztekliny (C h a v a l i a C h a m p b e l l , 1987). My jsme použili k infekci virulentní kmen *Pasteurella multocida*, podobně jako B o k h o u t aj., (1986), který vyvolává sepsi a hynutí s poměrně stálým LD₅₀.

B. bronchiseptica v tomto infekčním modelu navodila vysokou míru odolnosti, i když je třeba uvážit, že se jednalo o stejnou cestu stimulace a infekce a že oba mikrobiální druhy mají zřejmě obdobný způsob patogeneze s ohledem na synergistický účinek při rozvoji změn zahrnutých do syndromu sípavky prasat. V orientačních pokusech jsme však prokázali imunostimulační efekt i proti infekci virem Aujeszkyho choroby (nepublikované údaje) a efekt v dalších modelech ověřujeme. Mechanismus účinku v našem modelu spočíval zřejmě v aktivaci peritoneálních makrofágů, které vychytávají a zneškodňují infekční agens. Proto také efekt stimulace trval jeden až sedm dní po stimulaci s maximem za 48 h po aplikaci preparátu a projevoval se především při stejné cestě stimulace a infekce.

V druhém myším modelu jsme prokázali, že *B. bronchiseptica* je schopna působit i proti imunosupresi a depleci lymfoidních buněk navozené ionizujícím zářením. Imunosupresivní účinek záření byl v minulosti podrobně studován, a to především z hlediska změn krevního obrazu, fagocytární aktivity a tvorby protilátek (D i x o n aj., 1952; M a k i n o d a n a G e n d o z i a n , 1959; T a l i a f e r r o aj., 1964). Doposud málo byl model ozáření myši využit k testování aktivity imunostimulačních preparátů, i když, jak se zdá, je při použití nízkých radiačních dávek poměrně citlivým systémem. V našich pokusech se nejvýraznější efekt projevil při preventivním podání preparátu 24 h před ozářením. Účinnost imunostimulace v tomto modelu naznačuje, že působení *B. bronchi-*

septica je komplexní a neuplatňuje se jen prostřednictvím fagocytárních mechanismů, které zřejmě hrají hlavní roli v případě zvýšené odolnosti proti infekci.

Příznivý imunostimulační účinek jsme pozorovali i po aplikaci klinicky zdravým telatům, u nichž došlo do 48 h k vzestupu fagocytární aktivity. Na rozdíl od myších modelů *B. bronchiseptica* zde byla účinná jen ve spojení s olejovým adjuvans, přičemž není jasné, zda se jednalo o sumaci aktivit dvou stimulačních látek nebo o jejich synergistický účinek.

Adjuvantní efekt emulze vody v oleji je ovšem znám již dlouho (Freund, 1951) a projevuje se jednak schopností zadržovat antigen a v malých dávkách jej uvolňovat a prodlužovat jeho účinek, jednak schopností nezávisle na antigenu stimulovat makrofágy a zvyšovat jejich ingestivní i metabolickou aktivitu. Takto aktivované makrofágy jsou po aplikaci myším schopné zvyšovat protilátkovou odpověď proti odděleně podanému antigenu (Unanue, 1969). V našich pokusech se imunostimulační efekt samotného olejového adjuvans projevil také, ale byl poměrně nízký.

Souhrnně lze konstatovat, že jsme opakovaně ve třech různých modelech prokázali nespecifický imunostimulační účinek bakterinu *B. bronchiseptica*, který se projevil především ve stimulaci fagocytární aktivity leukocytů. Zatímco v modelech na myších jsme nejvyššího efektu dosáhli po aplikaci samotného bakterinu, u telat jsme stimulaci zaznamenali jen u *B. bronchiseptica* v kombinaci s dalšími komponentami, olejovým adjuvans nebo vitamínem A.

Dosažené výsledky naznačují možnost praktického uplatnění bakterinu *B. bronchiseptica* v preparátech určených k imunostimulaci hospodářských zvířat. V současné době ověřujeme jejich využití jako preparátu při lokální imunostimulaci dělohy v prevenci poporodních komplikací (Zralý aj., 1990) i jako součásti preparátu k prevenci ztrát selat po odstavu v chovech s výskytem různých forem enterotoxémie.

Literatura

ATHANASSIADES, T. J.: Adjuvant effect of *Bordetella pertussis* vaccine to sheep erythrocytes in mice: enhancement of cell mediated immunity by subcutaneous administration of adjuvant and antigen. *Infect. and Immun.*, 18, 1977, s. 416-423.

AYME, G. - CAROFF, M. - CHABY, R. - HAEFFNER-CAVAILLON-LE DUR, A. - MOREAU, M. - MUSET, M. aj.: Biological activities of fragments derived from *Bordetella pertussis* endotoxin: isolation of a nontoxic, schwartzman-negative lipid A possessing high adjuvant properties. *Infect. and Immun.*, 27, 1980, s. 739-745.

BAGGETT, D. W. - LEBLANC, P. A. - ALLISON, F. S. - THOMLEY, M. J. - WINTERS, A. L.: Antiviral activity of *Bordetella pertussis* vaccine-elicited peritoneal exudate cells. *J. Immunopharm.*, 8, 1986, s. 586-609.

BOKHOUT, B. A. - VAN DER HEIJDEN, PH. J. - NABUURS, M. J. A. - BIANCHI, A. T. J.: Research of the application of a water-in-oil emulsion for the prevention of post-weaning diarrhoea and oedema disease in piglets. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.*, 9, 1986, s. 277-283.

BOMFORD, R.: The comparative selectivity of adjuvants for humoral and cell-mediated immunity. *Clin. exp. Immunol.*, 39, 1980a, s. 435-441.

BOMFORD, R.: The comparative selectivity of adjuvants for humoral and cell-mediated immunity. *Clin. exp. Immunol.*, 39, 1980b, s. 426-434.

BOROŠKOVÁ, Z. - BENKOVÁ, M. - BEREŽKOVÁ, V. K. - ROSIVAL, I. - TOTTH, G.: Nešpecifická stimulácia imunitnej odpovede vitamínom A pri prasatách po experimentálnej askaridóze. In: Kongres čs. imunológov, Nitra, 1985, s. 37.

BOUŠKA, J.: První výsledky klinicko-biochemických sledování preparátů Ivastimul v provozních podmínkách odchovu telat. *Veterinářství*, 38, 1988, č. 1, s. 19-21.

- CAMPANILLE, F. - BONMASSER, E. - FIORETTI, M. C. - BORGHI, C. - PUCCETTI, P.: Evaluation of immunostimulant activity in a mouse bacterial infection model. *J. Immunotherapy*, 4, 1986, s. 317-323.
- DIXON, F. J. - TALMADGE, D. W. - MAURER, P. H.: Radiosensitive and radioresistant phases in the antibody response. *J. Immunol.*, 68, 1952, s. 693-700.
- FINGER, H. - EMMERLING, P.: *Bordetella pertussis* als immunologisches adjuvants. *Deutsch. med. Wchsr.*, 95, 1970, s. 89-90.
- FISCHER, G. W. - PODGORE, J. K. - BASS, J. W. - KELLEY, J. L. - KOBAYASHI, G. Y.: Enhanced host defense mechanisms with levamisole in sucking piglets. *J. Infect. Diseases*, 132, 1975, s. 578.
- FLEMING, S. S. - GREENBERG, L. - BEITH, E. M.: Use of combined antigens in immunization of infants. *Can. med. Assoc. J.*, 59, 1948, s. 101-105.
- FREUND, J.: The effect of paraffin, oil and mycobacteria on antibody formation and sensitization. *Amer. J. clin. Path.*, 21, 1951, s. 645-652.
- HOŠPES, J. - BENDA, V. - PALISA, V.: Stimulační účinek glukanu na vybrané imunologické parametry u koz. In: Kongres čs. imunologů, *Imunologický zpravodaj*, 1988, č. 3, s. 59.
- CHAVALI, S. R. - CAMPBELL, J. B.: Immunomodulatory effects of orally administered saponins and nonspecific resistance against rabies infection. *Int. Archs Allergy appl. Immunol.*, 84, 1987, s. 129-134.
- CHEN, K. S. - JOHNSON, D. W. - MUSCOPLAT, C. C.: Adjuvant enhancement of humoral immune response to chemically inactivated bovine viral diarrhoea virus. *Can. J. comp. Med.*, 49, 1985, s. 91-94.
- KIRCHNER, H. - SCOTT, M. T. - HIRT, H. M. - MUNK, K.: Protection of Mice against viral infection by *Corynebacterium parvum* and *Bordetella pertussis*. *J. gen. Virol.*, 41, 1978, s. 97-104.
- LE GARREC, Y.: Immunomodifiers of bacterial origin. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.*, 9, 1986, s. 137-141.
- MAĐAR, M. - ŠVRČEK, Š. - VRTIAK, O. J. - AUGUSTINSKÝ, V. - BENÍŠEK, Z. - ZÁVADOVÁ, J. - ONDREJKA, R. - BAJOVÁ, V. - BEBIBGHAUS, T. - MLYNÁRČÍKOVÁ, K.: Využitie imunostimulácie levamisolu pri profylaktickej antirabickej imunizácii hovädzieho dobytku. In: Kongres čs. imunologov Nitra, *Imunologický zpravodaj*, 1985, s. 43.
- MAGO, S. - GERLACH, G. F. - PETROLDT, K.: Efficacy of an immunomodulating drug in immunodeficient and immunocompetent mice. *Comp. immunol. Microbiol. and infect. Dis.*, 11, 1988, s. 43-50.
- MAGYAR, T. - GÉRESI, M. - SEMJÉN, G. - SOLTÉNSZKY, J. - RÉTHY, L. A. - RÉTHY, L.: Studies on the immunological adjuvant activity of *Bordetella bronchiseptica* in mice. *Acta veter. hung.*, 31, 1983, s. 31-35.
- MAKINODAN, T. - GENDOZIAN, N.: X-ray depression of the recognition mechanism of antibody-forming cells. In: Mechanism of Antibody formation. Praha, 1959, s. 339-352.
- MORAHAN, P. S. - DEMPSEY, W. L. - VOLKMAN, A. - CONNOR, J.: Antimicrobial activity of various immunomodulators in dependence from normal levels of circulating monocytes and natural killer cells. *Infect. Immuns.*, 51, 1986, s. 87-93.
- MULCAHY, G. - QUINN, P. J.: A review of immunomodulators and their application in veterinary medicine. *J. veter. Pharmacol. Therap.*, 9, 1986, s. 119-139.
- PAULÍK, Š. - SLANINA, L. - DUBAJ, J. - SKOTNICKÝ, J. - GEDEON, V.: Fagocytóza teliat a jej dynamika po experimentálnom zásahu. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 93-104.
- SAITO, H. - WATANABE, T. - HORIKAWA, Y.: Effects of *Lactobacillus casei* on *Pseudomonas aeruginosa* infection in normal and dexamethasone - treated mice. *Microbiol. Immunol.*, 30, 1986, s. 259-259.
- SANGRET, M. - VRTIAK, O. J.: Využitie transferového faktora vo veterinárnej medicíne. In: Kongres čs. imunológov, Nitra, 1985, s. 13.
- SANGRET, M. - BAJOVÁ, V. - HIPÍKOVÁ, V. - MOJŽÍŠOVÁ, J. - VILČEK, Š. - VRTIAK, O. J. - KUČA, V. - BREZŇAN, P. S. - LEV - KUTOVÁ, M.: Imunostimulácia teliat glukánom. In: Kongres čs. imunologů. *Imunologický zpravodaj*, č. 3, 1988, s. 59.
- TALIAFERRO, W. H. - TALIAFERRO, L. G. - JAROSLOW, B. N.: Radiation and immune mechanisms. New York-London, Academic Press 1964.
- UNANUE, E. R. - ASKONAS, B. A. - ALLISON, A. C.: A role of macrophages in the stimulation of immune response by adjuvants. *J. Immunol.*, 103, 1969, s. 71-78.
- VĚTVÍČKA, V. - FORNŮŠEK, L. - KOPEČEK, J. - KAMÍNKOVÁ, J. - KAŠPÁREK, L. - VRÁNOVÁ, M.: Phagocytosis of human blood leukocytes: a simple micromethod. *Immunol. Letters*, 5, 1982, s. 97-100.
- WINTERS, A. L. - BAGGETT, D. W. - BENJAMIN, W. R. - BROWN, H. K. - KLEIN, T. W.: Resistance to adenovirus infection after administration of *Bordetella pertussis* vaccine in mice. *Infect. Immun.*, 3, 1985, s. 587-591.
- ZRALÝ, Z. - KUMMER, V. - ČANDERLE, J.: Imunoterapie puerperálních endometritid dojníc. *Veterinářství*, 40, 1990, s. 57-61.

Došlo dne 27.10.1989

ТОМАН, М. - КРЕЙЧИ, Й. - УЛМАНН, Л. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Неспецифическая иммуно-стимулирующая активность бактерины *Bordetella bronchiseptica* в тестах на мышах и телятах. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9) : 537-546.

На трех экспериментальных моделях испытывали действие иммуностимулирующих препаратов микробного происхождения. Из 4 микробных видов, использованных в тесте стимулирования у мышей против последующей инфекции вирулентным штаммом *Pasteurella multocida*, более всего повышала устойчивость *Bordetella bronchiseptica*. Среди ее штаммов отмечены заметные различия в стимулирующей активности, начиная с низкоактивных и до штамма 6229, повышающего LD₅₀, инфицированных мышей в 72 раза против контроля. Различия в выживании мышей даны также промежутком между иммуностимуляцией и заражением, причем лучшим был эффект при стимуляции мышей за 48 час. до заражения. Между введением одного лишь бактерины *B. bronchiseptica* или *B. bronchiseptica* вместе с масляной добавкой достоверной разницы не отмечено. Иммуностимулирующую активность *B. bronchiseptica* мы подтвердили и в модели сублетально облученных мышей, в которой предварительная обработка за сутки до облучения вела к более раннему и ускоренному восстановлению лимфоидной ткани, что проявилось в повышении веса селезенки, числа периферийных лейкоцитов и активности хемилюминесценции через 6 дней после облучения. С помощью *B. bronchiseptica* в разной концентрации и в комбинации с другими веществами мы стимулировали также 2-месячных клинически здоровых телят. Наибольшего действия мы добились от обработки *B. bronchiseptica* с масляной добавкой и ими же с добавкой витамин А: за сутки численность периферийных лейкоцитов увеличилась, а через 2 - 4 дня усилилась активность в тесте фагоцитоза MSHP-частиц, как и в тесте хемилюминесценции. Активность лимфоцитов в тесте бластотрансформации несколько повысилась через 7 дней после стимулирования.

иммуностимулирующие препараты; *Bordetella bronchiseptica*; устойчивость к заражениям; ионизирующее облучение; лейкоциты; фагоцитарная активность

TOMAN, M. - KREJČÍ, J. - MENŠÍK, P. - ULMANN, L. (Veterinary Research Institute, Brno): The nonspecific immunostimulation activity of the bacterine of *Bordetella bronchiseptica* in tests on mice and calves. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9) : 537-546.

Three experimental models were used to verify the effectiveness of immunostimulant preparations of microbial origin. Of the four microbial species, used in the tests with the stimulation of mice against subsequent infection with the virulent strain of *Pasteurella multocida*, the highest resistance-increasing power was recorded in *Bordetella bronchiseptica*. There were large differences in stimulation activity between its strains, ranging from those with a low activity up to strain 6229, which increased the LD₅₀ of the infected mice to a level 72 times as high as in the control. The differences in the survival of the mice also varied within the range between immunostimulation and infection, the best effect being obtained when the mice were stimulated 48 h before the infection. No significant difference was recorded between the use of the bacterine of *B. bronchiseptica* alone or *B. bronchiseptica* bacterine with oil adjuvant. The immunostimulant activity of *B. bronchiseptica* was also demonstrated in the model of sublethally irradiated mice in which the preventive administration 24 h before irradiation led to earlier and faster regeneration of the lymphoid tissue; this led to a higher weight of the spleen, to an increase in the number of peripheral leucocytes, and increased activity of chemiluminescence six days after irradiation. The bacterine of *B. bronchiseptica* was also used at different concentrations and in combinations with other substances to stimulate two-month-old clinically healthy calves. The most pronounced effect was obtained after the administration of *B. bronchiseptica* bacterine with oil adjuvant and after administration of the same substances together with vitamin A: twenty-four hours after these treatments there was an increased number of peripheral leucocytes and after 2-4 days an increased activity was observed in the MSHP particle phagocytosis test and in the chemiluminescence test. The activity of lymphocytes in the blastic transformation test was insignificantly increased seven days after stimulation.

immunostimulating preparations; *Bordetella bronchiseptica*; resistance to infection; ionizing radiation; leucocytes; phagocytic activity

Adresa autorů:

MVDr. Miroslav Toman, CSc., MVDr. Josef Krejčí, MVDr. Petr Menšík, MVDr. Leopold Ullmann, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

KOTRBÁČEK, V. - SCHWEIGEL, M. - HÖNIG, Z.[†] (Vysoká škola veterinární, Brno; Humboldt-Universität, Berlin): *Vliv krátkodobého hladovění na spánek prasat*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9) : 547-552.

V pokusech na 12 selatech plemene německé ušlechtilé určených k výkrmu ve věku 56 ± 2 dny a průměrné hmotnosti $21 \pm 3,7$ kg, jsme sledovali vliv krátkodobého hladovění na dobu spánku a jeho charakter. Po 18hodinovém hladovění, navozeném vypuštěním ranního krmení, byl u fixovaných selat analyzován 90minutový polygrafický záznam elektroencefalogramu (EEG), elektromuskulogramu (EMG) a elektrookulogramu (EOG). Z tohoto záznamu byla zjišťována délka bdění a spánku, a to jak NREM fáze, tak REM epizod. Stejná sledování byla provedena u selat po nakrmení. Rozdíly v nalezených veličinách mezi oběma skupinami zvířat byly statisticky vyhodnoceny. Spánek u hladovějících selat zaujímal přibližně 15 % z celkové sledované doby a byl charakterizován krátkými úseky NREM spánku přerušovanými bděním. REM spánek nebyl u hladových selat zjištěn. Selata po nakrmení spala prokazatelně delší dobu ($p < 0,01$), a to více jak polovinu sledovaného období. U čtyř zvířat se opakovaně objevovaly epizody REM spánku. Z dosažených výsledků vyplývá, že hladovění zkracuje délku spánku a mění i jeho charakter.

selata; hladovění; příjem krmiva; spánek

Informace o spánku prasat nejsou rozsáhlé. Je však známo, že spánek u tohoto druhu zaujímá větší část denní i noční doby (Ruckebusch a Morel, 1968; Pokorná aj., 1989).

V našich dřívějších pokusech (Kotrbáček, 1988) jsme zjistili, že u selat v prvních dnech života je spánek výrazně ovlivňován tepelnými podmínkami prostředí. V termoneutralitě stoupá celková délka spánku a mění se výrazně i jeho charakter. Stoupá podíl tzv. aktivního neboli REM spánku, ve kterém dochází k hlubokému útlumu CNS při současném uvolnění kosterní svaloviny. V chladu nebo naopak v příliš teplém prostředí tohoto spánku rychle ubývá, a to v souvislosti s aktivací termoregulačních mechanismů. Ty jsou u selat plně účinné jen v průběhu bdění nebo ve spánkové NREM fázi (Kotrbáček, 1988).

U selat v prvních dvou týdnech po narození jsme pozorovali i zřetelný vztah mezi spánkem a příjmem krmiva. V časném postprandiálním období spánek rychle nastupoval a v případě, že i tepelné podmínky byly komfortní, docházelo ke střídání NREM a REM fází bez přerušování spánku. Vypuštění jednoho krmení nebo jeho časový posun v denním režimu vedlo ke zvýšené aktivitě, a to na úkor spánku.

Abychom souvislosti mezi příjmem krmiva a spánkem selat blíže objasnili a zjistili především do jaké míry může krátkodobé hladovění délku a charakter spánku ovlivňo-

vat, provedli jsme další experimenty, které jsme zaměřili k objasnění vlivu krátkodobého hladovění na délku celkového spánku a jeho NREM a REM fáze.

MATERIÁL A METODA

Do pokusů bylo zařazeno 12 selat, určených k výkrmu. Jejich průměrný věk byl 56 ± 2 dny a průměrná hmotnost $21 \pm 3,7$ kg. Zvířata byla chována v pokusné stáji za přirozeného světelného režimu s teplotou vzduchu pohybující se od 18 do 22 stupňů Celsia a s vlhkostí od 60 do 80 %. Dvakrát denně byla krmena směsí pro výkrm prasat, a to v 6,30 a ve 14,00 hodin. Přístup k pitné vodě byl volný. Selata, na kterých bylo měření prováděno, byla přenesena do laboratoře, kde byla fixována k pokusnému stolu tak, aby pohodlně ležela. Poté byly připevněny elektrody a byl pořízen polygrafický záznam zahrnující elektroencefalogram (EEG) a elektrookulogram (EOG). Na tuto manipulaci byla zvířata před vlastními měřeními několik dnů adaptována. Záznamy byly pořizovány přístrojem Bioscript BST 111. Pro snímání EEG jsme použili jehlové elektrody, umístěné subkutánně na dvou místech, a to frontálně a parietálně. EMG byl pořízen pomocí bipolární jehlové elektrody z *musculus trapezius cervicis*. EOG byl zaznamenán pomocí povrchových elektrod, umístěných v mediálním a laterálním očním koutku.

Teplota místnosti, v níž byla měření prováděna, byla udržována kolem 21 až 22 stupňů Celsia a relativní vlhkost se pohybovala od 70 do 80 %. Místnost byla oddělena od přístrojového prostoru stěnou, opatřenou oknem, takže selata nebyla rušena, ale byla stále sledována. Postup měření byl následující. Sele po 18 h hladovění bylo zváženo a přeneseno do pokusné místnosti. Po vložení do fixačního zařízení a upevnění elektrod bylo ponecháno asi 20 min. v klidu. Poté po dobu 90 min. bylo provedeno sledování uvedených parametrů. Po této době bylo sele vráceno do stáje, kde mu byla podávána krmná směs v dávce 30,0 g na kg živé hmotnosti a znovu přeneseno do laboratoře. Po dobu 90 min. probíhalo druhé stejné měření. Ze záznamů byla zjištěna délka bdění i spánku a v průběhu spánku pak trvání REM a NREM fáze. Údaje, získané u jedinců hladovějících i nakrmených, byly analyzovány pomocí Studentova *t*-testu.

VÝSLEDKY

V první sérii pokusů se projeví ve sledovaných parametrech vysoké individuální rozdíly. Ty zcela překrývaly difference mezi sytými a hladovějícími selaty. Bylo zřejmé, že zejména někteří jedinci citlivě reagovali na manipulaci a podmínky experimentu. Tato měření nebyla proto do hodnocení zahrnuta. Zjistili jsme, že neklid u pokusných zvířat způsobovala i jejich fixace bezprostředně po příjmu potravy. Ve druhé sérii pokusů byla proto po nakrmení selata ponechána 60 min. ve stáji a teprve po této době byla převezena do laboratoře k měření.

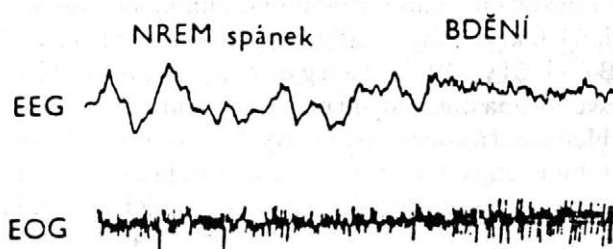
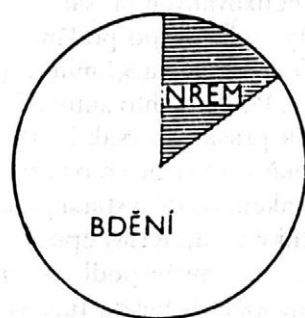
Hladovějící selata spala v průběhu sledovaného 90minutového období jen velmi krátce, např. sele č. 3 a 5, nebo nespala vůbec, jako sele č. 4 a 7. Spánek zaujímal průměrně 15 % sledované doby. Byl charakterizován krátkými epizodami NREM spánku, vyznačujícími se pomalými vlnami EEG, často přerušovanými vysokofrekvenční aktivitou, typickou pro bdělý stav. REM spánek nebyl u těchto selat zjištěn vůbec (tab. I, obr. 1).

Selata po nakrmení spala v pokusných podmínkách prokazatelně delší dobu ($p < 0,01$), a to více jak polovinu sledovaného období (sele č. 1-71 % a č. 3-74 % času). Převážnou část spánku tvořily NREM fáze, jeho menší část pak REM spánek (obr. 2). Ten se u čtyř selat objevoval opakovaně. Délka epizod se pohybovala od dvou do čtyř minut s průměrnou dobou $3,1 \pm 1,0$ min. (tab. I). REM spánek byl charakterizován desynchronizací EEG a záznamem pohybů očních koulí. Byl doprovázen poklesem svalového tonu a změnou frekvence a hloubky dechu. Ta však nebyla u všech pokusných jedinců zaznamenávána a není proto v této práci vyhodnocena.

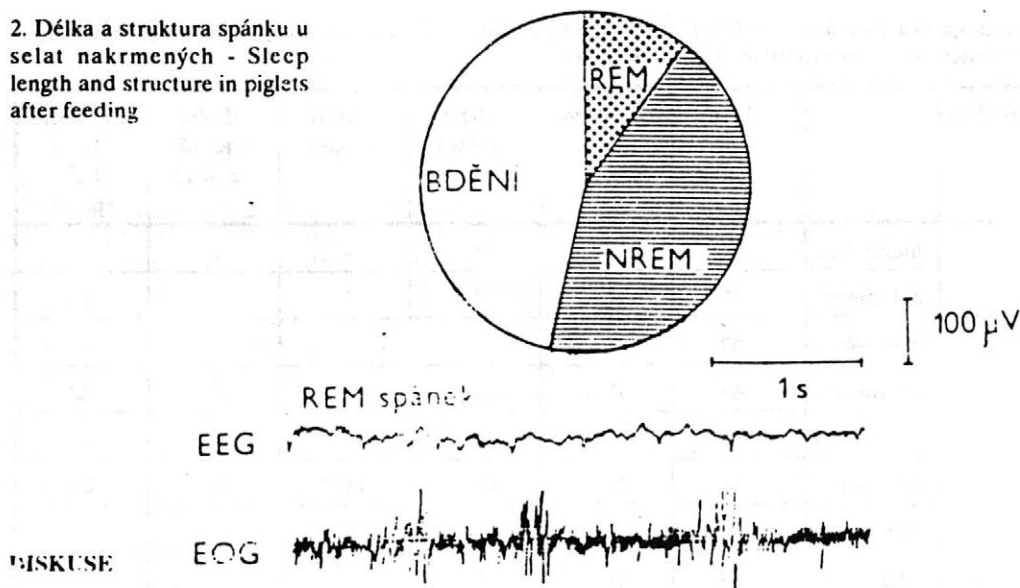
I. Délka spánku a bdění u selat (v minutách z doby pokusu 1,5 h) - Length of sleep and waking in the piglets (in minutes out of the experimental time of 1.5 h)

Sele číslo		Bdění	Celkový spánek	NREM spánek	REM spánek	Počet REM epizod	Průměrná doba REM epizody
1	hladovějící	51	39	39	-	-	-
	nakrmené	19	71	47	24	6	4,0
2	hladovějící	57	33	33	-	-	-
	nakrmené	45	45	33	12	5	2,4
3	hladovějící	85	5	5	-	-	-
	nakrmené	16	74	61	13	6	2,0
4	hladovějící	90	-	-	-	-	-
	nakrmené	69	21	21	-	-	-
5	hladovějící	83	7	7	-	-	-
	nakrmené	48	42	42	-	-	-
6	hladovějící	82	8	8	-	-	-
	nakrmené	41	49	37	12	3	4,0
7	hladovějící	90	-	-	-	-	-
	nakrmené	55	35	35	-	-	-
Průměr +SE	hladovějící	76,9 ± 6,0	13,2 ± 6,0	13,2 ± 6,0	-	-	-
	nakrmené	41,8 ± 7,1	48,2 ± 7,2	39,5 ± 4,5	8,7 ± 3,4	2,8 ± 0,20	3,1 ± 1,0

1. Délka a struktura spánku u selat hladových - Sleep length and structure in fasting piglets



2. Délka a struktura spánku u
selat nakrmených - Sleep
length and structure in piglets
after feeding



Spánek mladých prasat zabírá 55 % denní i noční doby (Ruckebusch a Morel, 1968). U selat po narození může tvořit dokonce až 90 % této doby, avšak jen za podmínek tepelného komfortu a při pravidelném krmení *ad libitum* (P o k o r n á aj., 1989). Srovnáme-li tyto literární údaje s výsledky zjištěnými u obou skupin našich pokusných selat je zřejmé, že hladovění navozené vypuštěním ranního krmení spánek selat ve sledovaném období významně ovlivňovalo. Podstatně zkracovalo jeho délku a měnilo i strukturu spánku. NREM fáze byly u hladovějících zvířat velmi krátké, často přerušované delší dobou bdění. REM spánek nebyl u těchto jedinců vůbec zaznamenán. Po nakrmení spala selata více jak polovinu z 90minutového pozorovaného období. Tento poměr spánku a bdění je již velmi dobře srovnatelný s 24hodinovými měřeními, které provedli Ruckebusch a Morel (1968) a Robert a Dallaire (1986) u mladých nefixovaných prasat.

U čtyř selat se po podání krmiva opakovaně objevovaly epizody REM spánku. Jejich průměrná délka 3,1 min. se prakticky nelišila od údajů R o b e r t a a D a l l a i r a (1986). Podle těchto autorů je REM spánek významnou a stabilní součástí spánkového cyklu prasat. Je však i citlivým ukazatelem jejich pohody, a to jak tepelné, tak nepochybně i nutriční (K o t r b á č e k, 1988). O souvislosti mezi příjmem krmiva a REM spánkem svědčí i starší práce Rubinstein a Sonnenscheina (1971), kteří zjistili vzestup REM epizod u koček vždy po jejich nakrmení.

Hladovění může podle dosavadních poznatků spánek jak stimulovat, tak rušit. Např. u dospělých husí a tučňáků (D e w a s m e s aj., 1984, 1989) prokázal výrazné prodlužování spánku v období dlouhodobé absence potravy. Krátkodobé hladovění u mladých krys a myší vedlo naproti tomu vždy ke zvýšení jejich aktivity na úkor spánku (B o r b é l y, 1977; D a n g u i r a N i c o l a i d i s, 1979). Tato skutečnost je obvykle vysvětlována omezenými energetickými rezervami mláďat a tím i nezbytností častějšího vyhledávání a konzumu potravy. U laboratorních zvířat bylo prokázáno, že řada projevů, vztahujících se k obživnému chování, jako je zvýšená lokomoce, explorace, ale i agrese, je zároveň stimulována deprivací REM spánku (H i c k s aj., 1979).

Prudký pokles celkové doby spánku i vymizení REM epizod u našich pokusných selat potvrzuje, že také u nich hlad vede k cílené aktivaci CNS. V této souvislosti je třeba zdůraznit značnou energetickou náročnost hladem vyvolaného obživného chování, jak to dokládá Dauncey a Ingram (1979). Nelze proto vyloučit, že při dlouhodobém hladovění může docházet, zejména u dospělých prasat, ke stimulaci spánku, jako mechanismu šetřícího endogenní energetické zdroje.

K-átkodobé hladovění mladých prasat, vyvolané vypuštěním ranního krmení, vyvolává pokles doby spánku a zvláště pak spánkových REM epizod. Aktivita, která místo spánku nastupuje, je vždy spojena se zvýšeným výdejem energie, což může negativně ovlivňovat energetickou bilanci organismu.

Literatura

- BORBÉLY, A. A.: Sleep in the rat during food deprivation and subsequent restitution of food. *Brain. Res.*, 124, 1977, s. 457-471.
- DANGUIR, J. - NICOLAIDIS, S.: Dependence of sleep on nutrients availability. *Physiol. and Behav.*, 22, 1979, s. 735-740.
- DAUNCEY, M. J. - INGRAM, D. L.: Effect of dietary composition and cold exposure on non-shivering thermogenesis in young pigs and its alteration by the beta-blocker propranolol. *Brit. J. Nutr.*, 41, 1979, s. 361-370.
- DEWASMES, G. - COHEN-ADAD, H. - KOUBI, H. - LE MAHO, Y.: Sleep changes in long-term fasting geese in relation to lipid and protein metabolism. *Amer. J. Physiol.*, 247, 1984, s. R 663-R671.
- DEWASMES, G. - BUCHET, C. - GELOEN, A. - LE MAHO, Y.: Sleep changes in emperor penguins during fasting. *Amer. J. Physiol.*, 256, 1989, R476-R480.
- HICKS, R. A. - MOORE, J. D. - HAYES, C. - PHILLIPS, N. - HAWKINS, J.: REM sleep deprivation increases aggressiveness in male rats. *Physiol. and Behav.*, 22, 1979, s. 1097-1100.
- KOTRBÁČEK, V.: Energetický metabolismus a tepelná výměna u hospodářských zvířat. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1988. 72 s.
- POKORNÁ, Š. - JANCÍKOVÁ, J. - VAHALA, P. - HANKE, R. - KOTRBÁČEK, V. - HÖNIG, Z.: Sledování spánkových fází u selat po narození. In: Sbor. Ref. VIII. seminář mladých veterinárních lékařů, Brno, 1989.
- ROBERT, S. - DALLAIRE, A.: Polygraphic analysis of the sleep-wake states and the REM sleep periodicity in domesticated pigs (*Sus scrofa*). *Physiol. and Behav.*, 37, 1986, s. 289-293.
- RUCKEBUSCH, Y. - MOREL, M. T.: Etude polygraphique du sommeil chez le porc. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* 162, 1968, s. 1346-1355.
- RUBINSTEIN, E. H. - SONNENSCHNEIN, R. R.: Increased REM sleep in the cat after food intake. *Proc. of the 25th Congress of Physiol. Sci.*, 9, 1971, s. 482.

Došlo dne 9. 10. 1989

KOTRBÁČEK, V. - ŠVAJGEL, M. - GÖNIG, Z.[†] (Institut veterinární, Brno; Universität im. Humboldt, Berlin): Vliv krátkodobého hladování na spánek u prasat. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (9): 547-552

V průběhu pokusů na 12 porosařích německé vylepšené plemene, určených na odchov do věku 56 ± 2 dnů, se střední hmotností $21 \pm 3,7$ kg, sledovali za vlivem krátkodobého hladování na trvanlivost a charakter spánku. Po 18-hodinovém hladování v důsledku nedostatku ránošního krmiva analyzovali 90-minutovou polygrafickou záznam elektroencefalogramu (EEG), elektromyogramu (EMG) a elektrookulogramu (EOG), podle kterého určovali trvanlivost bdělosti a spánku, přičemž jako NREM-fáze, tak i REM-epizody. Také je sledování prováděli i u porosařů po jejich nasycení. Rozdíly statisticky podloženy. Hladověcí spali asi 15% z celého sledovaného období, jejich spánek charakterizovaly krátkými úseky NREM, přerývanými bdělostí. Typ REM-spu u nich nebyl zaznamenán. Nasycení porosaři spali spolehlivě déle ($p < 0,01$)

и проспали более половины времени. У 4 из них повторялись РЭМ-эпизоды. Как показывают результаты, голодание сокращает сон и меняет его характер.

поросята; голодание; потребление корма; сон

KOTRBÁČEK, V. - SCHWEIGEL, M. - HÖNIG, Z.[†] (University School of Veterinary Medicine, Brno; Humboldt-Universität, Berlin) : *Effect of short fasting on the sleep of pigs*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 547-552.

Trials were conducted with twelve piglets of the German Large White breed, intended for fattening. Their age was 56 ± 2 days and their average weight was $21 \pm 3,7$ kg. The piglets were studied for the effect of short fasting on the time and nature of sleep. After 18 hours of fasting (skipping the morning feeding), the piglets were fixed to obtain a combined record, including the electroencephalogramme (EOG). This record was used for analyzing the time of waking and sleep, both the NREM atage and REM episodes. The same observations were performed in the piglets after feeding. The differences in the obtained data between the groups of animals were subjected to statistical evaluation. The fasting animals slept for about 15% of all the time under study and their sleep included short NREM periods interrupted by waking. No REM sleep was observed in the fasting piglets. After feeding the piglets slept significantly longer ($p < 0,01$), more than half the period of study. Episodes of REM sleep occurred repeatedly in four animals. It is indicated by the results that fasting reduces the length of sleep and the nature of sleep.

piglets; fasting; feed intake; sleep

KOTRBÁČEK, V. - SCHWEIGEL, M. - HÖNIG, Z.[†] (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno; Humboldt-Universität, Berlin) : *Wirkung des kurzfristigen Hungerns auf den Schlaf der Schweine*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990, (9) : 547-552.

Bei den Versuchen an 12 Ferkeln der deutschen edelmütigen Rasse, die zur Mast im Alter von 56 ± 2 Tagen und bei einem Durchschnittsgewicht von $21 \pm 3,7$ kg bestimmt sind, untersuchten wir die Wirkung des kurzfristigen Hungerns auf die Schlafdauer der durch das Auslassen der Morgenfütterung herbeigeführt worden war, wurde bei den fixierten Ferkeln eine 90 Minuten lange polygraphische Aufnahme des Elektroencephalogramms (EEG), des Elektromuskulogramms (EMG) und des Elektrookulogramms (EOG) analysiert. Aus dieser Aufnahme wurde die Wachsamkeits- und Schlaflänge festgestellt, und zwar wie bei der NREM-Phase, so auch den REM-Episoden. Die gleichen Versuche wurden bei den Ferkeln nach der Fütterung durchgeführt. Die Unterschiede in den gefundenen Konstanten zwischen beiden Tiergruppen wurden statistisch ausgewertet. Der Schlaf bei den Ferkeln machte etwa 15% von der insgesamt untersuchten Zeit aus und wurde durch kurze Zeitabschnitte des NREM-Schlafes durch Wachsamkeit unterbrochen. Der REM-Schlaf wurde bei den hungernden Ferkeln nicht festgestellt. Die Ferkel schliefen nach der Fütterung nachweisbar längere Zeit ($p < 0,01$), d.h. länger und zwar mehr als die Hälfte der untersuchten Periode. Bei 4 Tieren wiederholten sich die Episoden des REM-Schlafes. Aus den erreichten Ergebnissen ergibt sich, dass das Hungern die Schlaflänge verkürzt und seinen Schlafcharakter verändert.

Ferkel; Hungern; Futtermiteinnahme; Schlaf;

Adresy autorů:

Ing. Václav Kotrbáček, CSc., MVDr. Zbyněk Honig, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

Dr. Maria Schweigel, Section tierproduktion und Veterinarmedizin der Humboldt-Universität zu Berlin, BRD

J. Raszyk, J. Pillich

RASZYK, J. - PILLICH, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno; Biofyzikální ústav ČSAV, Brno): *Jednoduchý imunologický kožní test u selat*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 553-560.

Jednoduchý imunologický kožní test byl proveden u 73 odstavených selat o hmotnosti 15 až 30 kg. Na hřbetní část těla, po předchozím vyholení štětín, byly intradermálně (*i.d.*) aplikovány v objemu 0,1 ml čtyři látky: izotonický roztok chloridu sodného (900 µg NaCl v 0,1 ml), histamin (100 µg v 0,1 ml), fytohemaglutinin (200 µg v 0,1 ml) a stafylokokový lyzát (STAVA). Místa aplikace jednotlivých látek byla od sebe vzdálena 5 cm. Kožní reakce byla hodnocena za 20 min., 24 a 48 h po *i.d.* aplikaci. Měřila se velikost pupenu (za 20 min.) a velikost indurace (za 24 a 48 h) ve dvou na sebe kolmých směrech a z naměřených hodnot se stanovil průměr (v mm). Průměrná velikost pupenu za 20 min. po aplikaci chloridu sodného (NaCl) byla 8,1 mm, za 20 min. po aplikaci histaminu (HIS) 19,6 mm. Průměrná velikost indurace po aplikaci fytohemaglutininu (PHA) byla za 24 h 13,1 mm a za 48 h 11,0 mm. Průměrná velikost pupenu za 20 min. po aplikaci stafylokokového lyzátu (STA) byla 11,1 mm, průměrná velikost indurace za 24 h po aplikaci STA byla 10,6 mm a za 48 h 8,5 mm. Za selata s náchylností k alergickým stavům jsme považovali taková, která za 20 min. po aplikaci HIS měla velikost pupenu větší než 15 mm (po odečtení velikosti pupenu po aplikaci NaCl) nebo velikost pupenu větší než 24 mm (bez odečtení velikosti pupenu po aplikaci NaCl). Za selata se sníženou buněčnou imunitou jsme považovali taková, která za 24 h po aplikaci PHA měla velikost indurace menší než 10 mm a za 48 h menší než 8 mm. Za selata s časnou přecitlivělostí na stafylokoky jsme považovali taková, která za 20 min. po aplikaci STA měla velikost pupenu větší než 5 mm (po odečtení velikosti pupenu po aplikaci NaCl). Za selata s pozdní přecitlivělostí na stafylokoky jsme považovali taková, která měla za 24 nebo 48 h po aplikaci STA velikost indurace větší než 14 mm. Navrženým jednoduchým imunologickým kožním testem jsem zjistili u 10 % selat zvýšenou náchylnost k alergickým stavům, u 10 až 11 % selat sníženou buněčnou imunitu a u 5 až 7 % selat časnou či pozdní přecitlivělost na stafylokoky.

chlorid sodný; histamin; fytohemaglutinin; stafylokokový lyzát; náchylnost k alergiím; buněčná imunita; časná a pozdní přecitlivělost na stafylokoky

V naší předcházející publikaci (Raszyk a Pillich, 1989) jsme sledovali, které látky by bylo možné využít v imunologických kožních testech u selat. Celkem jsme testovali 13 látek, ze kterých se ukázaly jako nejnadějnější tři, a to histamin, fytohemaglutinin a stafylokokový lyzát (STAVA).

Účelem předkládané práce je vypracovat jednoduchý imunologický kožní test u selat, pomocí kterého by bylo možné u daného jedince určit jeho náchylnost k alergickým stavům, úroveň buněčné imunity a přecitlivělosti na stafylokoky.

Jednoduchý imunologický kožní test byl proveden na 73 zdravých odstavených selatech (40 prasniček a 33 kanečků), kříženců plemen bílé ušlechtilé (BU) x landrase (L) s vyšším podílem plemen L. Hmotnost těla se pohybovala od 15 do 30 kg a věk selat od 60 do 90 dnů. Selata byla chována v experimentálních stájích Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně, ve vyvýšených celorošových kotcích. Byla krmena komerčními krmnými směsmi pro prasata (ČOS₂; A₁) v sypkém stavu. Přístup k vodě (samočinné napáječky) i ke krmným směsím (samokrmítka) měla selata *ad libitum*. V jednom kotci (1,7 x 1,3 m) byla umístěna tři selata.

Jednoduchý imunologický kožní test byl umístěn na hřbetní části těla selat v úrovni hrudních obratlů. V místě aplikace byly štětiny ostříhány a vyholeny. K intradermální aplikaci byly používány injekční stříkačky o objemu 1 ml, s dělením válce po 0,05 ml (Chirana, Piešťany) a injekční jehly používané k tuberkulinaci prasat s délkou hrotu jehly 4 mm (Chirana, závod Stará Turá).

Intradermálně byly selatům aplikovány čtyři látky: chlorid sodný, histamin, fytohemaglutinin a stafylokokový lyzát. Všechny v objemu 0,1 ml. Místa aplikace jednotlivých látek byla od sebe vzdálena 5 cm a byla předem označena tečkou 1% vodným roztokem genciánové violeti. Na připraveném aplikačním poli byly látky aplikovány od hlavy k zádi v pořadí chlorid sodný, histamin, fytohemaglutinin a stafylokokový lyzát.

Jako negativní kontrola byl použit *Natrium chloratum solutio isotonica* Spofa (Biotika, Slovenská Lupča). V objemu 0,1 ml bylo 900 µg chloridu sodného.

Jako pozitivní kontrola byl použit 1% Histamin ad diagnosim Spofa (Léčiva, Praha). V objemu 0,1 ml bylo 100 µg histaminu. Aplikací histaminu se sledovala náchylnost selat k alergickým stavům.

K hodnocení imunity zprostředkované buňkami (testy *de novo*) byl použit Phytohaemagglutinin HA 15, reagent grade, Wellcome. V objemu 0,1 ml bylo 200 µg fytohemaglutininu. K ředění fytohemaglutininu byl použit *Natrium chloratum solutio isotonica* Spofa.

K hcocení časté a pozdní přecitlivělosti na stafylokoky byl použit stafylokokový lyzát (STAVA), patentově chráněný přípravek Biofyzikálního ústavu ČSAV v Brně. Byl použit v objemu 0,1 ml. Základní charakteristiku stafylokokového lyzátu STAVA jsme uvedli v předchozím sdělení (Raszyk a Pillich, 1989).

Kožní reakce na intradermální aplikaci čtyř výše uvedených látek se posuzovala za 20 min., 24 a 48 h. Měřila se velikost pupenu (za 20 min.) či indurace (za 24 a 48 h.) ve dvou na sebe kolmých směrech a z naměřených hodnot se stanovil průměr (v mm).

Není uveden návod k hodnocení kožních reakcí selat, a to z toho důvodu, že vypracování orientačních hodnot k posuzování jednoduchého imunologického kožního testu selat bylo jedním z cílů práce. Souhrnné výsledky kožních reakcí jsou uvedeny v milimetrech (průměr ± směrodatná odchylka).

VÝSLEDKY

KOŽNÍ REAKCE NA INTRADERMÁLNÍ APLIKACI CHLORIDU SODNÉHO (900 µg v 0,1 ml)

Průměrná velikost pupenu za 20 min. po aplikaci byla 8,1 + 1,4 mm, rozpětí 6 až 10 mm. Za 24 h po aplikaci byla zjištěna zaznamatelná indurace (do 3 mm) u pěti selat.

KOŽNÍ REAKCE NA INTRADERMÁLNÍ APLIKACI HISTAMINU (100 µg v 0,1 ml)

Průměrná velikost pupenu za 20 min. po aplikaci byla 19,6 + 2,9 mm, rozpětí 13 až 28 mm. Za 24 h po aplikaci byla zjištěna indurace u všech selat, její průměrná velikost byla 6,6 + 1,5 mm. Za 48 h po aplikaci byla zjištěna zaznamatelná indurace (do 3 mm) u 24 selat.

Průměrná velikost indurace za 24 h po aplikaci byla 13,1 + 2,7 mm, rozpětí 8 až 20 mm; za 48 h byla 11,0 + 3,1 mm, rozpětí 4 až 16 mm.

Velikost pupenu za 20 min. po aplikaci byla prakticky stejná jako po aplikaci *Natrium chloratum*, kolísala v rozpětí 6 až 10 mm.

KOŽNÍ REAKCE NA INTRADERMÁLNÍ APLIKACI STAFYLOKOKOVÉHO LYZÁTU (0,1 ml STAVA)

Průměrná velikost pupenu za 20 min. po aplikaci byla 11,1 + 1,9 mm, rozpětí 6 až 18 mm. Průměrná velikost indurace za 24 h po aplikaci byla 10,6 + 2,4 mm, rozpětí 5 až 18 mm a za 48 h byla 8,5 + 3,3 mm, rozpětí 0 až 17 mm.

DISKUSE

Diskuse bude především zaměřena na možnou interpretaci získaných výsledků. V naší předchozí práci (Raszyk a Pillich, 1989) jsem v imunologických kožních testech u selat hodnotili celkem 13 látek. Byly to tři diagnostické alergeny (plísňový, kvasinkový a bakteriální), ředící tekutina pro diagnostické alergeny, histamin, fytohemaglutinin, čtyři diagnostické antigeny (toxoplazmin, tuberkulin, kandidin a tetanický antigen), stafylokokový lyzát (STAVA) a laurylsulfát sodný. Tyto látky jsme aplikovali různým způsobem (intradermálně, epikutánně), v odlišných objemech (0,05 ml; 0,1 ml) a rozmanitých koncentracích. Z testovacích látek se ukázaly nejnadějnější tři, a to histamin, fytohemaglutinin a stafylokokový lyzát (STAVA).

Při jednoduchém imunologickém kožním testu u selat jsme použili pouze čtyři látky, a to izotonický roztok chloridu sodného, histamin, fytohemaglutinin a stafylokokový lyzát, které jsme selatům aplikovali intradermálně v jednotném objemu 0,1 ml. Po intradermální aplikaci všech čtyř látek jednotlivým selatům jsme kožní reakci posuzovali ve třech časových obdobích (za 20 min., 24 a 48 h). Zvolené látky nám měly umožnit získání co nejširšího pohledu na imunologickou vybavenost (reaktivitu) jednotlivých selat.

Jako negativní kontrolu jsme použili izotonický roztok chloridu sodného, který obsahuje 900 µg NaCl v 0,1 ml. Izotonický roztok NaCl je také označován jako fyziologický roztok (Barina, 1975). Za 20 min. po jeho aplikaci selatům byla velikost pupenu v průměru 8,1 mm. Prakticky se kryla s velikostí přechodného anemického pupenu, který se objeví bezprostředně po intradermální aplikaci a do jedné až dvou minut mizí. Podle našeho názoru je nutné, při posuzování kožních reakcí u jednotlivých selat za 20 min., tuto reakci odečíst jak od reakce na histamin (posuzování náchylnosti k alergickým stavům), tak i od reakce na stafylokokový lyzát (posuzování časné přecitlivělosti na stafylokoky). U pěti selat (6,8 %) byla zjištěna zaznamenatečná indurace (do 3 mm) i za 24 h po aplikaci izotonického roztoku NaCl. U těchto selat by bylo vhodné odečíst tuto kožní reakci od reakcí hodnocených za 24 hodin (kožní reakce na fytohemaglutinin a stafylokokový lyzát). Tato selata je možné považovat za jedince s nespecificky zvýšenou reaktivitou kůže.

Kožní reakce na intradermálně aplikovaný histamin je třístupňová. Během několika sekund po podání nastává lokální zčervenání (o průměru několika mm) kolem místa

aplikace, jako následek přímého vazodilatačního účinku histaminu. Později se zóna zčervenání rozšiřuje asi 1 cm kolem původní skvrny, tato dilatace je způsobena axonovým reflexem. V průběhu dalších dvou minut se vnitřní červená skvrna změní na pupen, vzniklý exudací tekutiny pro zvýšenou cévní permeabilitu (W e n k e aj., 1984).

Jako pozitivní kontrolu jsme použili 1‰ roztok histaminu, který obsahuje 100 µg histaminu v 0,1 ml. Za 20 min. po jeho aplikaci selatům byla velikost pupenu v průměru 19,6 mm.

Za selata s náchylností k alergickým stavům jsme považovali taková, která za 20 min. po aplikaci histaminu měla velikost pupenu větší než 15 mm (bez odečtení velikosti pupenu negativní kontroly). Tyto hodnoty byly nalezeny u sedmi selat (9,6 %). U dvou selat byla současně zjištěna nespecificky zvýšená reaktivita kůže na podání NaCl i náchylnost k alergickým stavům.

V naší předchozí práci (Raszyk a Pillich, 1989) jsme selatům intradermálně aplikovali 0,05 ml ‰ roztoku histaminu. Za 20 min. byla průměrná velikost pupenu 12,6 mm.

Intradermálně aplikovaný fytohemaglutinin (PHA) působí na kožní T lymfocyty tím způsobem, že PHA reaguje s cukernými znaky povrchových lymfocytových glykoproteinů a tím aktivuje T lymfocyty bez zapojení receptorů pro antigen (N o u z a a J o h n, 1987). Následně vzniklá indurace je histologicky charakterizována mononukleární infiltrací (B l a e s e aj., 1973).

K hodnocení buněčné imunity u selat jsme použili roztok fytohemaglutininu, který obsahuje 200 µg PHA v 0,1 ml. Za 24 h po jeho aplikaci byla zjištěna průměrná velikost indurace 13,1 mm a za 48 h 11,0 mm. Při aplikaci nižší koncentrace PHA (100 µg v 0,1 ml) byla průměrná velikost indurace za 24 h 8,4 mm a za 48 h 5,7 mm (R a s z y k a P i l l i c h, 1989). Při obou koncentracích jsme zjistili výraznější kožní reakci na PHA za 24 h než za 48 h. Tento nálezn je ve shodě se zjištěním, které publikovali B l e c h a aj. (1983, 1985).

Za selata se sníženou buněčnou imunitou jsme považovali taková, která za 24 h po aplikaci PHA měla velikost indurace menší než 10 mm. Tyto hodnoty byly nalezeny u sedmi selat (9,6 %), ze kterých dvě selata měla současně zjištěnou náchylnost k alergickým stavům a dále ta selata, která za 48 h po aplikaci PHA měla velikost indurace menší než 8 mm. Tyto hodnoty byly zjištěny u osmi selat (10,9 %), a to u stejných selat jako za 24 h a ještě u jednoho dalšího.

V lidské populaci kožní test s PHA odhaluje 15 % osob se sníženou buněčnou imunitou (R i c h t e r, 1986).

V naší předchozí práci (R a s z y k a P i l l i c h, 1989) jsme u selat považovali za negativní kožní reakci na PHA (100 µg v 0,1 ml) induraci menší než 5 mm, a to za 24 i 48 h po intradermální aplikaci. Při hodnocení těchto selat za 24 h jich bylo 6,8 %, ale za 48 h již 41,4 %. Tento klinicky nepravděpodobný vysoký počet negativně reagujících selat za 48 h byl způsoben tím, že při hodnocení jsme nepřihlíželi k tomu, že kožní reakce na intradermálně podaný PHA dosahuje maxima již do 24 h a později povolna opadáva.

U zdravých odstavených selat chovaných ve velkochovech prasat Jihomoravského kraje byl *Staphylococcus aureus* izolován z kůže 3 % selat a z nosohltanu 8 % selat (R a s z y k aj., 1984). U zdravých výkrmových prasat chovaných v Japonsku byl z jejich tonsil izolován *S. hyicus* subsp. *hyicus* u 93 % prasat a *S. aureus* u 57 % prasat (S h i m i z u

aj., 1987). Stafylokoky se rovněž účastní v patogenezi dvou kožních chorob prasat, a to exudativní epidermitidy a pustulózní dermatitidy (Mullowney a Hall, 1984). Lze tedy předpokládat, že přecitlivělost na stafylokoky a jejich metabolity se může vyskytovat i u zdravých odstavených selat.

Nejčastější senzitivizační komponenty stafylokokové buňky jsou polysacharid A, protein A, kapsulární antigen a některý z hemolysinů. Přecitlivělost časného typu na stafylokoky je u lidí histologicky charakterizována exudací do tkáňových prostor, přecitlivělost pozdního typu na stafylokoky je pak příznačná lymfocytárním zánětem (Výmola aj., 1983).

K hodnocení časné a pozdní přecitlivělosti na stafylokoky jsme použili stafylokokový lyzát (STAVA, BFÚ ČSAV Brno), který byl aplikován intradermálně v objemu 0,1 ml. Průměrná velikost pupenu za 20 min. byla 11,1 mm. Za 24 h byla průměrná velikost indurace 10,6 mm a za 48 h 8,5 mm.

Za selata s časnou přecitlivělostí na stafylokoky jsme považovali taková, která za 20 min. po aplikaci stafylokokového lyzátu měla velikost pupenu větší než 5 mm (po odečtení velikosti pupenu negativní kontroly). Tyto hodnoty byly zjištěny u čtyř selat (5,5 %). Za selata s pozdní přecitlivělostí na stafylokoky jsme považovali taková, která měla za 24 nebo 48 h po aplikaci velikost indurace větší než 14 mm. Tyto hodnoty byly zjištěny u pěti selat (6,8 %), z toho u dvou selat byla současně zjištěna časná i pozdní přecitlivělost na stafylokoky.

V humánní medicíně u zdravých osob (studentů) byla kožním testem se stafylokokovým antigenem zjištěna časná přecitlivělost na stafylokoky u 16 % a pozdní přecitlivělost u 18 % vyšetřených osob. Nemocní s chronickou stafylokokovou infekcí projevovali časnou přecitlivělost na stafylokoky v 88 % a pozdní přecitlivělost v 68 %. Nebyla prokázána závislost mezi časnou a pozdní přecitlivělostí na stafylokoky (Výmola aj., 1983).

V naší předchozí práci (Raszyk a Pillich, 1989) jsme sledovali kožní reakci selat pouze za 24 h po intradermální aplikaci 0,1 ml stafylokokového lyzátu. Průměrná velikost indurace činila 8,5 mm, byla tedy o něco nižší, než u selat v této studii. Na této odlišnosti se mohla mimo jiné podílet i skutečnost, že v předkládané práci jsme použili starší selata, křížence plemene BU x L, s vyšším podílem plemene landrase. Všechny ostatní podmínky byly v obou pokusech stejné.

Limity navržené k hodnocení jednoduchého imunologického kožního testu u selat byly vytvořeny na základě klinického pravděpodobnostního odhadu. Jde tedy o empiricky odhadovaná rozmezí. Tyto hodnoty jsou pouze orientační a předpokládáme, že dalším prováděním imunologických kožních testů u selat (za různých fyziologických a patofyziologických stavů) budou průběžně upřesňovány. Podobný trend byl zaznamenán i v humánní medicíně, kde technika provádění i způsob hodnocení imunologických kožních testů u lidí jsou průběžně zjednodušovány a upřesňovány (Richter, 1979, 1986).

V naší předchozí práci (Raszyk a Pillich, 1989) jsme při hodnocení kožních testů u selat vycházeli z hodnocení obvykle používaného v humánní medicíně. Přitom jsme si uvědomovali riziko plynoucí z možné mezidruhové variability.

Dále je potřebné respektovat skutečnost, že hodnocení imunologických kožních testů různými pracovníky nebude vždy zcela shodné. Jde tedy o hodnocení zatížené subjektivním faktorem. Je proto žádoucí zúžit počet hodnotících osob na nejmenší počet.

Podle našich dosavadních zkušeností lze doporučit, aby pracovník provádějící imunologické kožní testy je prováděl pravidelně, bez delších přestávek. Tímto způsobem lze přispět jak ke standardizaci techniky provádění i způsobu jejich hodnocení, tak i k rozlišení velmi jemných rozdílů v kožních reakcích slet.

Za hlavní sledovanou kožní reakci jsme považovali velikost pupenu či indurace. Vytvoření pupenu s nepravidelnými okraji, výrazný erytém či vytvoření krusty na induraci hodnotíme jako zesílení kožní reakce (vyšší stupeň kožní reaktivity). Rovněž přihlížíme k výšce pupenu či indurace (konvexnost). Výraznější klenutost pupenu či indurace je považována za vyšší stupeň kožní reaktivity.

Obdobně jako v naší předchozí práci (RASZYK a PILICH, 1989) jsme nenalezli rozdíly v kožních reakcích na použité látky mezi prasničkami a kanečky.

Možná úskalí imunologických kožních testů u slet jsme uvedli zcela záměrně, aby pohled na jejich klinickou využitelnost byl co nejobjektivnější.

ZÁVĚR

Navrženým jednoduchým imunologickým kožním testem, provedeným u 73 zdravých slet, ve věku 60 až 90 dní, jsme zjistili u 10 % slet zvýšenou náchylnost k alergickým stavům, u 10 až 11 % slet sníženou buněčnou imunitu a u 5 až 7 % slet časnou či pozdní přecitlivělost na stafylokoky. U slet prozatím nebyla zjištěna souvislost mezi náchylností k alergiím, sníženou buněčnou imunitou a přecitlivělostí na stafylokoky. Jednoduchý imunologický kožní test lze použít u jednotlivých slet i jako skupinový screeningový test. Mohl by předcházet vyšetření slet náročnějšími imunologickými metodami *in vitro*.

Literatura

- BARNA, K.: Úvod do lékařské chemie. I. vyd. Martin, Osveta 1975, 943 s.
- BLAISE, R. M. - WEIDEN, P. - OPPENHEIM, J. J. - WALDMANN, T. A.: Phytohemagglutinin as a skin test for the evaluation of cellular immune competence in man. *J. Lab. clin. Med.*, 81, 1973, s. 538-548.
- BLECHA, F. - POLLMANN, D. S. - NICHOLS, D. A.: Weaning pigs at an early age decreases cellular immunity. *J. anim. Sci.*, 56, 1983, s. 396-400.
- BLECHA, F. - POLLMANN, D. S. - NICHOLS, D. A.: Immunologic reactions of pigs regrouped at or near weaning. *Amer. J. veter. Res.*, 46, 1985, s. 1934-1937.
- MULLOWNEY, P. C. - HALL, R. F.: Skin diseases of swine. *Veter. Clin. North Amer.: Large Anim. Pract.*, 6, 1984, s. 107-129.
- NOUZA, K. - JOHN, C.: Imunologie zdraví a nemoci. I. vyd. Praha, Avicenum 1987, 356 s.
- RASZYK, J. - BARTOŠ, J. - ČERNÁ, J. aj.: Intravitální vady vepřových kůží u výkrmovaných prasat v ČSR. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1984, 91 s.
- RASZYK, J. - PILICH, J.: Imunologické kožní testy u slet. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989, s. 275-286.
- RICHTER, J.: Zjišťování buněčné imunitní odpovědi kožními testy. *Prakt. Lékař*, 59, 1979, s. 741-743.
- RICHTER, J.: Průkaz imunity zprostředkované buňkami - kožní testy. In: PROCHÁZKOVÁ, J. - JOHN, C. aj.: Vybrané diagnostické metody lékařské imunologie. Praha, Avicenum 1986, s. 186-190.
- SHIMIZU, A. - KAWANO, J. - TERANISHI, H. aj.: Isolation of *Staphylococcus* species from the tonsils of healthy pigs and phage patterns of isolates. *Jpn. J. Veter. Sci.*, 49, 1987, s. 703-709.
- VÝMOULA, F. aj.: Stafylokokové infekce. I. vyd. Praha, Avicenum 1983, 263 s.
- WENKE, M. - MRÁZ, M. - HYNIE, S.: Farmakologie pro lékaře. I. vyd. Praha, Avicenum 1984, 1316 s.

Došlo dne 17.8.1989

РАБИК, Й. - ПИЛЛИХ, Й. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно; Биофизический институт при ЧСАН, Брно): Упрощенный иммунологический кожный тест у поросят. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (9): 553-560.

Этот тест провели у 73 отъемышей весом 15 - 30 кг. На хребтовую партию, очищенную от щетины, внутривожно вводили в объеме 0,1 мл 4 вещества: изотонный раствор хлористого натрия (900 микрограмм NaCl в 0,1 мл), гистамин (100 микрограмм в 0,1 мл), фитогемагглютинин (200 микрограмм в 0,1 мл) и стафилококковый лизат (STAVA). Места введения веществ находились на расстоянии 5 см. Кожную реакцию определяли через 20 мин., 24 и 48 час. после внутривожного укола. Измеряли величину вздутий (через 20 мин.) и индурации (через 24 и 48 час.) в двух перпендикулярных направлениях, из этих величин выводили среднее (в мм). Средняя величина вздутия через 20 мин. после введения NaCl составляла 8,1 мм, через 20 мин. после введения гистамина (HIS) 19,6 мм. Средняя величина индурации после введения фитогемагглютина (PHA) спустя 24 часа 13,1 мм, а спустя 48 час. - 11,0 мм. Средняя величина вздутия через 20 мин. после введения лизата (STA) 11,1 мм, индурации через 24 часа после STA 10,6 мм, а через 48 час. 8,5 мм. Восприимчивыми к аллергическим состояниям поросятами считали тех, у которых размер вздутий после 20 мин. введения HIS превышал 15 мм (после отсчета размера вздутия после введения NaCl) или же свыше 24 мм (без последнего отсчета). Поросят с пониженным клеточным иммунитетом считали тех, у которых величина индурации через 24 часа после PHA была меньше 10 мм а через 48 часов меньше 8 мм. Поросят с ранней сверхчувствительностью к стафилококкам считали тех, у которых через 20 мин. после STA величина вздутия превышала 5 мм (после отсчета размеров вздутия после введения NaCl). Поросят с поздней сверхчувствительностью к стафилококкам считали тех, у которых размеры индурации через 24 или 48 час. после введения STA превышали 14 мм. С помощью предложенного упрощенного иммунологического теста установили у 10 % поросят повышенную восприимчивость к аллергическим состояниям, у 10 % - 11 % пониженный клеточный иммунитет и у 5 - 7 % раннюю или позднюю сверхчувствительность к стафилококкам.

хлористый натрий; гистамин; фитогемагглютинин; стафилококковый лизат; восприимчивость к аллергиям; клеточный иммунитет; ранняя и поздняя сверхчувствительность к стафилококкам

RASZYK, J. - PILLIH, J. (Veterinary Research Institute, Brno; Biophysical Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Brno): A simple immunological skin test in piglets. *Veter. Med. (Praha)* 35, 1990 (9): 553-560.

A simple immunological skin test was carried out on 73 weaned piglets at a weight of 15 to 30 kg. Bristles on the piglets' back were shaved off and 0.1-ml amounts of four substances were injected intradermally. These were an isotonic solution of sodium chloride (900 µg NaCl in 0.1 ml), histamine (100 µg in 0.1 ml), phytohaemagglutinin (200 µg in 0.1 ml), and a staphylococcus lysate (STAVA). The sites of administration of the substances were 5 cm apart. The dermal reaction was evaluated 20 minutes, 24 and 48 h after the i.d. administration. The size of the papule (measured after 20 min) and the size of the induration (after 24 and 48 h) were measured in two perpendicular directions and the mean value was calculated from the measured data. The average size of the papule was 8.1 mm 20 min after administration of sodium chloride (NaCl) and 19.6 mm 20 min after administration of histamine (HIS). The average size of induration after the administration of phytohaemagglutinin (PHA) was 13.1 mm after 24 h and 11.0 mm after 48 h. The average size of the papule was 11.1 mm 20 min after the administration of STA, the average size of induration was 10.6 mm 24 h after administration of STA and 8.5 mm after 48 h. Piglets that had papule larger than 15 mm 20 min after HIS administration (after subtracting papule size after NaCl administration) were regarded as piglets susceptible to states of allergy. Piglets that had an induration smaller than 10 mm after 24 h and smaller than 8 mm after 48 h were regarded as piglets with a decreased cell immunity. Piglets having papule larger than 5 mm 20 min after STA administration (after deduction of papule size produced by NaCl administration) were considered as piglets with immediate hypersensitivity to staphylococci. Piglets with induration larger than 14 mm 24 or 48 h after STA administration were considered as animals with delayed hypersensitivity to staphylococci. On the basis of the proposed simple immunological skin test, increased susceptibility to allergy states was recorded in 10 % of the piglets, reduced cell immunity was recorded in

10 to 11 % of the piglets, and immediate or delayed hypersensitivity to staphylococci was recorded in 5 to 7 % of the piglets.

sodium chloride; histamine; phytohaemagglutinin; staphylococcus lysate; susceptibility to allergies; cell immunity; immediate and delayed hypersensitivity to staphylococci

RASZYK, J. - PILLICH, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno; Biophysikalisches Institut der ČSAV, Brno): *Einfacher immunologischer Hauttest bei Ferkeln*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 553-560.

Der einfache immunologische Hauttest wurde bei den 73 abgesetzten Ferkeln mit einem Gewicht von 15-30 kg durchgeführt. Nach vorherigem Borstenausrasieren wurden intramedial (i.d.) im Volumen von 0,1 ml auf den Rückenkörperteil vier Stoffe appliziert: isotonische Lösung von Natriumchlorid (900 µg NaCl in 0,1 ml), Histamin (100 µg in 0,1 ml), Phytohemagglutinin (200 µg in 0,1 ml) und Staphylokokkenlysate (STAVA). Die einzelnen Stoffe wurden in einer gegenseitigen Entfernung von 5 cm appliziert. Die Hautreaktion wurde 20 Minuten, 24 und 48 Stunden nach der i.d. - Applikation bewertet. Es wurde die Knospengröße (20 Minuten) und die Indurationsgröße (24 und 48 Stunden) in zwei an sich senkrechte Richtungen gemessen und aus gemessenen Werten wurde der Durchschnitt (in mm) festgesetzt. Die durchschnittliche Größe der Knospe 20 Minuten nach der Applikation von NaCl war 8,1 mm, 20 Minuten nach der Applikation von Histamin (HIS) war 19,6 mm. Die durchschnittliche Größe der Induration nach der Applikation von Phytohemagglutinin (PHA) war 24 Stunden 13,1 mm und 48 Stunden 11,00 mm. Die durchschnittliche Knospengröße 20 Minuten nach der Applikation des Staphylokokkenlysates (STA) war 11,1 mm, die durchschnittliche Größe der Induration 24 Stunden nach der Applikation von STA war 10,6 mm und 48 Stunden war 8,5 mm. Für Ferkel mit der Anfälligkeit zu allergischen Zuständen hielten wir diejenigen, die 20 Minuten nach der Applikation von HIS die Knospengröße größer als 15 mm (nach dem Abzug der Knospengröße nach der Applikation von NaCl) oder die Knospengröße größer als 24 mm (ohne Abzug der Knospengröße nach der Applikation von NaCl) hatten. Für Ferkel mit erniedrigter Zellimmunität hielten wir diejenigen, die 24 Stunden nach der Applikation von PHA die Größe der Induration kleiner als 10 mm und 48 Stunden kleiner als 8 mm hatten. Für Ferkel mit frühzeitiger Überempfindlichkeit gegen Staphylokokken hielten wir diejenigen, die 20 Minuten nach der Applikation von STA die Knospengröße größer als 5 mm (nach dem Abzug der Knospengröße nach der Applikation von NaCl) hatten. Für Ferkel mit später Überempfindlichkeit gegen Staphylokokken hielten wir diejenigen, die 24 Stunden oder 48 Stunden nach der Applikation von STA die Indurationsgröße kleiner als 14 mm hatten. Mit diesem vorgeschlagenen einfachen immunologischen Hauttest stellen wir bei 10% von Ferkeln eine erhöhte Anfälligkeit zu allergischen Zuständen, bei 10-11 % von Ferkeln eine niedrigere Zellimmunität, bei 5-7% von Ferkeln frühzeitige oder späte Überempfindlichkeit gegen Staphylokokken fest.

NaCl; Histamin; Phytohemagglutinin; Staphylokokkenlysate; Anfälligkeit zu Allergien; Zellimmunität; frühzeitige und späte Überempfindlichkeit gegen Staphylokokken;

Adresy autorů:

MVDr. Josef R a s z y k, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno
RNDr. Jiří P i l l i c h, DrCSc., Biofyzikální ústav ČSAV, Královopolská 135, 612 65 Brno

J. Mátl

MÁTL, J. (Okresní veterinární správa, České Budějovice): *Analýza nádorů mléčné žlázy psů v Jihočeském kraji*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9) : 561-568.

Na pracovišti Státního veterinárního ústavu v Českých Budějovicích jsme v letech 1970 až 1987 histologicky vyšetřili 149 biopsií a excizi nádorově změněné tkáně mléčné žlázy psů. Nádory jsme zařadili podle kritérií doporučených klasifikačním systémem WHO. Podle histogeneze jsme je rozdělili do tří skupin, a to na nádory epitelální (58,4 %), mesenchymální (2 %) a smíšené (39,6 %). Poměr maligních k benigním byl 65,1 % : 34,9 %.

nádory mléčné žlázy psů; histologické vyšetření; zařazení podle klasifikace WHO

Nádory mléčné žlázy fen představují nejpočetnější skupinu nádorů psů. Owen (1979) zjišťoval, že reprezentují více jak 50 % všech tumorů zjištěných u fen. Feny mají pět párů mléčných žláz. Nádory jsou téměř ve 40 % uloženy v posledních dvou párech mléčných žláz (Bostock, 1977). Každá může obsahovat jeden nebo i více benigních či maligních nádorů. Kombinace nádorů různých typů a jejich početnost je pozoruhodná a považuje se za druhově specifický rys (Nielsen, 1983).

Pro posouzení biologických vlastností nádoru je rozhodující histologické vyšetření. Klasifikace nádorů psů byla nejednotná. Závisela často na různých kritériích, takže vzájemná srovnatelnost byla obtížná nebo objektivně nemožná. To vedlo na různých pracovištích ke vzniku řady klasifikačních systémů, které často vylučují srovnatelnost.

Z tohoto důvodu byla do praktického použití zavedena klasifikace WHO, kterou navrhl Hampe a Misdorp (1974). Jejím základem byla srovnávací studie vybrané sestavy 1625 biopsií a excizi nádorů mléčné žlázy psů. Většina autorů, kteří v posledních letech studovali podobné velké soubory nádorů mléčné žlázy psů jejich návrh podporují a doporučují (Misdorp a Hart, 1976; Bostock, 1977; Brodey aj., 1983).

Na našem pracovišti jsem se zabývali rutinní diagnostikou těchto nádorů především pro potřeby veterinárních praktiků. V letech 1970 až 1987 jsme histologicky vyšetřili celkem 149 biopsií a excizi nádorově změněné tkáně mléčné žlázy a pokusili je zařadit podle kritérií doporučených klasifikačním systémem WHO.

MATERIÁL A METODY

V naší práci vycházíme z materiálu shromážděného na oddělení patologické morfologie v průběhu 18 let. V období od roku 1970 do roku 1987 jsme vyšetřili celkem 149 různých nádorů mléčné žlázy psů. Ve většině případů šlo o biotický materiál z veterinární nemocnice SVÚ v Českých Budějovicích, případně

z chirurgických oddělení Okresních veterinárních ošetřoven ve Strakoniciích a Písku. Menší část připadala na sekční materiál z pitvaných psů na SVÚ České Budějovice.

Excize nádorů mléčné žlázy jsme fixovali v 10 % neutrálním formolu. Materiál jsme po fixaci zpracovali běžnými histologickými postupy parafínovou technikou. Histologické řezy jsme barvili hematoxylin-eosinem, hlen jsme prokazovali mucinkarmínem nebo alciánovou modří, kolagenní vazivo jsme barvili modrým trichromem podle Massona a van Giesona.

VÝSLEDKY

Vyšetřené nádory jsme podle histogeneze rozdělili do tří skupin (tab. I).

I. Nádory mléčné žlázy psů podle histogeneze - Mammary gland tumours in bitches according to their histogenesis

Typ nádoru	Benigní		Maligní		Celkem	
	počet	procento	počet	procento	počet	procento
Epiteliální	7	4,8	80	53,8	87	58,4
Mesenchymální	1	0,6	2	1,3	3	2,0
Smíšené	44	29,5	15	10,0	59	39,6
Celkem	52	34,9	97	65,1	149	100,0

Jako benigní jsme označili pouze ty nádory, které byly makroskopicky dobře ohraničené a měly pravidelnou histologickou strukturu bez mitóz a bez výraznější jaderné a buněčné pleomorfie.

Jednoznačným znakem malignity nádoru bylo metastázování. Za další kritéria jsme považovali infiltrativní prorůstání nádorových struktur do okolní tkáně, zejména cév a lymfatických, stupeň diferenciace proliferujících buněk, buněčný a jaderný pleomorfismus a mitózy.

II. Epiteliální nádory mléčné žlázy psů - Epithelial tumours of mammary gland in bitches

Typ nádoru	Počet	Procento
Adenom	7	8,0
Tubulární adenokarcinom	36	41,4
Papilární adenokarcinom	24	27,6
Solidní karcinom	17	19,5
Anaplastický karcinom	1	1,1
Spinozellulární karcinom	2	2,3
Celkem	87	100,0

Jako epiteliální nádory jsme klasifikovali celkem 87 případů (tab. II).

Z benigních nádorů jsme prokázali pouze adenomy, které dosahovaly makroskopicky zpravidla malých rozměrů a byly ohraničené jemným fibrózním pouzdrem.

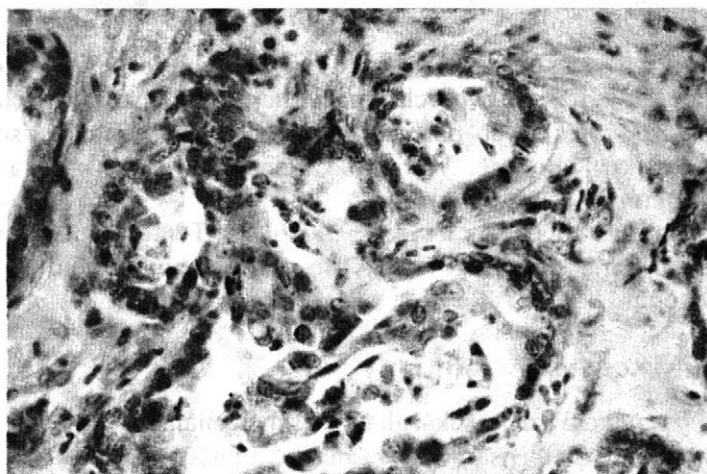
Adenomy měly histologicky pravidelnou, tubulárně adenomatózní strukturu, bez cytologických atypií a bez mitóz.

V případě karcinomů šlo makroskopicky o solitární nebo mnohotné nádory dosahující až extrémních rozměrů. Některé karcinomy byly na řezu homogenní nebo měly pseudolobulární strukturu. Novotvořená tkáň byla často prostoupěna krváceninami nebo splývajícími ložisky prokrvácených nekróz. Některé karcinomy ulcerovaly na povrch kůže. Metastatický výsev jsme mohli posoudit pouze u pitvaných zvířat. K metastázování nejčastěji docházelo u solidních a naplastických karcinomů, u kterých jsme nacházeli metastázy ve skupinách mizních uzlin axilárních a inguinálních. Krevní cestou karcinomy často metastázovaly do plic, sleziny, ledvin a jater. Nápadně hustý výsev nádorových ložsek v mléčné žláze jsme pozorovali v případě anaplastického karcinomu.

HISTOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA KARCINOMŮ

Tubulární adenokarcinomy. V histologické stavbě se tubulární adenokarcinomy vyznačovaly žlázkovitou strukturou, která byla často méně dokonalá nebo se v některých partiích formovala jen do rudimentárních tubulů. Cylindrické buňky žlázkových tubulů, případně jiných formací, byly bazofilní, epitel vystýlající žlázky byl jednovrstevný, místy vícevrstevnatý (obr. 1). V některých partiích se vytvářely větší komplexy, v nichž byly nádorové buňky radiálně orientovány kolem drobných okrouhlých lumin, ale postrádaly bazální membránu i jakékoliv jiné ohraničení vůči okolním, nepravidelně uspořádaným nádorovým buňkám. V takových partiích bylo hojně mitóz. Ve většině tubulárních adenokarcinomů jsme prokázali hlenotvorbu

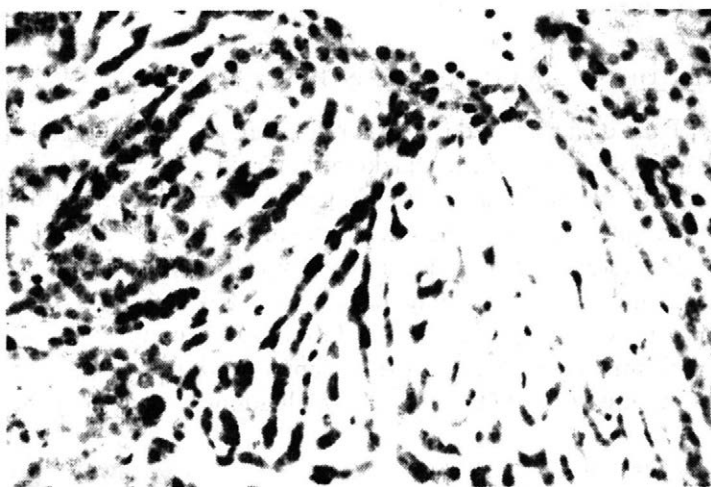
1. Tubulární adenokarcinom mléčné žlázy: novotvořené žlázkové struktury sestávající z pleomorfních epiteliálních buněk (HE, zvětšení 400x).
Tubular adenocarcinoma of mammary gland; the neoplastic glandular structures consist of pleomorphic epithelial cells (H.E., enlarged 400x)



Papilární adenokarcinomy. U tohoto typu tumoru byla již makroskopicky patrná na řezné ploše hojná cystická ložiska vyplněná až želatinózním materiálem. Histologicky šlo o papilárně stavěné karcinomy s různě dlouhými, větvičnými se papilami. Papily obvykle obsahovaly jemné cévnaté stroma, místy papilární formace splývaly a v epitelální masě se vytvářela drobná lumina obklopená cylindrickými buňkami. Častěji však nádorové buňky vytvářely na papilách několik vrstev se ztrátou polaritu jader. Papilární adenokarcinomy se mnohdy vyznačovaly výraznou hlenotvorbou a v cystických šterbinách bylo možné prokázat hojný mucin - pozitivní materiál. V některých případech byly v hleně suspendovány nádorové buňky, které zcela vyplnily hlenovou vakuolu, jež zatlačovala jádra i cytoplazmu.

Solidní karcinomy. Tyto se jevily jako neostře ohraničená ložiska špinavě bílé barvy, většinou tužší konzistence než okolní žlázo parenchym. U některých však byly tvořeny často objemným nádorem s nekrózami a krváceninami. Mikroskopicky nejčastěji sestávaly z ložisek solidních pruhů a řad hustě nakupených, různě diferencovaných buněk (obr. 2).

2. Solidní karcinom mléčné žlázy; ložiska z buněk se světlou, vakuolizovanou cytoplasmou a trámce z buněk s hyperchromními jádry (H.E., zvětšení 400x) - Solid carcinoma of mammary gland; the focus of cells with light, vacuolized cytoplasm and trabeculae of cells with hyperchromic nuclei (H.E., enlarged 400x)



Anaplastické karcinomy. Byly složeny z vysoce anaplastických buněk s hojnou jadernou hyperchromazií, nepravidelnostmi ve velikosti, tvaru a barvitelnosti jader. V některých partiích se ztrácela zcela epitelová souvislost a buňky ležely ve stromatu izolovaně. V tomto karcinomu byla jen zřídka naznačena glanduliformní struktura.

Spinocelulární karcinom. Tento typ karcinomu jsme našli pouze ve dvou případech. Histologicky šlo o ložiska epidermoidních buněk s ojedinělým rohovatěním.

MESENYCHYMÁLNÍ NÁDORY

Celkem jsme prokázali tři mesenchymální nádory. V jednom případě šlo o fibrom, v dalším o fibrosarkom se značně buněčným novotvořeným kolagenním vazivem, buněčnými atypii a mitózami. Ve třetím případě šlo o vřetenobuněčný sarkom, který byl mikroskopicky složen z protáhlých úzkých, hustě k sobě natlačených buněk. Velikost

jader byla značně variabilní a některá byla hyperchromní. Mitózy jsme pozorovali v hojném počtu.

SMÍŠENÉ NÁDORY

Celkem jsme vyšetřili 59 smíšených nádorů mléčné žlázy. Z toho bylo 15 nádorů maligních a 44 benigních (tab. III).

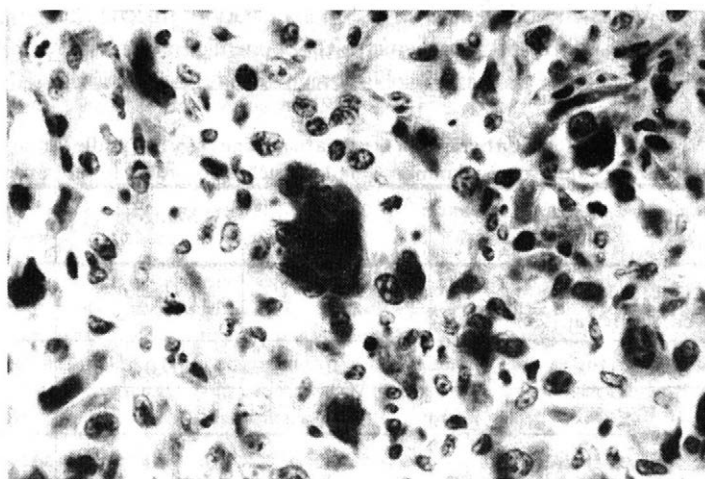
III. Smíšené nádory mléčné žlázy psů - Mixed tumours of mammary gland in bitches

Typ nádoru	Počet	Procento
Myxofibroepiteliom	12	20,4
Myxochondroepiteliom	11	18,6
Osteofibroepiteliom	2	3,5
Osteochondroepiteliom	4	6,7
Chondroepiteliom	15	25,4
S převahou epiteliální složky	15	25,4
Celkem	59	100,8

Ve smíšených nádorech převažovala ve 44 případech (74,6 %) mesenchymální komponenta. Ve zbylých 15 případech (25,4 %) byly v převaze epiteloidní struktury různé histologické skladby, od solidních ložisek a pruhů tubulárních struktur do cysto-papilárně uspořádané epiteliální novotvořené tkáně.

Myxoidní struktury sestávaly z řídky uložených buněk hvězdčovitého tvaru s dlouhými nitkovými výběžky. Fibrózní tkáň se podobala strukturou kolagennímu vazivu, ale buňky měly zpravidla větší, tmavě se barvící jádra vřetenitého, někdy až vezikulárního tvaru. U maligních smíšených nádorů jsme nacházeli hyperchromní jádra.

3. Metastáza osteochondroepiteliomu ve slezině; osifikující nádorová tkáň s osteoklasty; (HE, zvětšení 400x) - Metastasis of osteochondroepithelioma in spleen; ossifying tumorous tissue with osteoclasts (HE, enlarged 400x)



Chondroidní komponenta byla ve smíšených nádorech častá. Místně jsme pozorovali v chondroidní tkáni značnou variabilitu, od struktur typicky zralého chondromu až k nádorům s rudimentární mezibuněčnou hmotou a chondroidními buňkami s různými atypiemi, monstrozitami a mitózami. Nádory s nezralou chondroidní tkání také metastázovaly do regionálních lymfatických uzlin a ve dvou případech do plic, kde byla v metastázách zastoupena především anaplastická chrupavčitá tkáň.

V osteoidní komponentě smíšených nádorů byla ve více diferencovaných variantách základem značně polymorfní síť osteoblastů, v některých případech s příměsí vícejaderných atypických buněk. Mezi buňkami byla v různém množství základní hmota tvořící drobné ostrůvky nebo trámce osteoidu. V případě osteochondroepiteliomu jsme našli metastatické ložisko ve slezině (obr. 3).

DISKUSE

Nádory mléčné žlázy psů představují podle zjištění, které publikoval Bostock (1986) více než 50 % všech nádorů fen. S podobnou situací se setkáváme i v našich podmínkách. Při analýze všech nádorů psů, které jsme histologicky vyšetřili za posledních sedm roků (1981 až 1987) jsme podle lokalizace a histogeneze 283 tumorů zařadili takto: 98 (34,6 %) nádorů mléčné žlázy, 89 (31,44 %) nádorů kůže a 96 (33,92 %) ostatních, mezi kterými byly časté nádory varlat a perianálních žláz.

Pestrost histologických změn s kterými se setkáváme při popisu nádorů mléčné žlázy psů představuje obtíž při navrhování klasifikačního systému a zejména pak reprodukovatelnost výsledků různých pracovišť. Všechny, dosud nám známé navržené klasifikační systémy zdůrazňovaly především rozeznání vzorku tkáně popisnou terminologií (Gilbertson aj., 1983), což zabraňuje reprodukovatelnosti.

V naší sestavě nádorů mléčné žlázy bylo 65,1 % maligních nádorů, 34,9 % nádorů benigních. K podobným závěrům dospěl Überreiter (1968 - cit. Brodey aj., 1983), který rozdělil sestavu 580 nádorů mléčné žlázy psů na 71,9 % nádorů maligních a 28,1 % nádorů benigních. V poslední době Brodey aj., (1983) uvedl v sestavě 446 nádorů 41,7 % nádorů maligních, 10,8 % nádorů potenciálně maligních a 47,5 % nádorů benigních.

V našich podmínkách uvedli poměr nádorů mléčné žlázy psů velmi blízký našim výsledkům Čech aj. (1981) - 69 % maligních a 31 % benigních nádorů. Naopak Zendulka a Halouzka (1985) uvádějí poměr maligních a benigních nádorů mléčné žlázy 32,1 : 67,9 % (tab. IV).

IV. Poměr maligních a benigních novotvarů mléčné žlázy psů podle literárních údajů - The ratio of malignant and benign tumours of mammary gland in bitches according to references in literature

Autor	Počet nádorů	Maligní [%]	Potencionálně maligní [%]	Benigní [%]
Überreiter, 1968 - cit. Brodey aj. 1983	580	71,9	-	28,1
Čech aj., 1981	109	69,0	-	31,0
Brodey aj., 1983	446	41,7	10,8	47,5
Hampe, Misdorp, 1974	1625	49,0	-	51,0
Zendulka, Halouzka, 1985	427	32,1	-	67,9

Při srovnání našeho materiálu s klasifikací WHO (Hampe a Misdorp, 1974), jsme v případě epitelálních nádorů zaznamenali poněkud vyšší procentní zastoupení nádorů maligních (8,3 %) proti nepatrně nižšímu procentnímu zastoupení nádorů benigních (0,2 %).

Ve skupině mesenchymálních nádorů byl výskyt maligní formy nižší (2,2 %) a benigní téměř stejný.

Naše nálezy se výrazněji rozcházejí ve skupině smíšených nádorů. Zde bylo maligních smíšených nádorů o 6,5 % více a benigních o 16 % méně.

Vzhledem k tomu, že v našem materiálu převládaly biopsie nebo excize tumorózní tkáně a my jsme mohli nádor zařadit pouze na základě histologických kritérií, nemusí námi zjištěný poměr benigních a maligních nádorů zcela odpovídat skutečnosti, což platí zejména pro nádory smíšené. Tomu ostatně může odpovídat i poměrně malé zastoupení zvířat pitvaných za určitou dobu po chirurgickém zákroku.

Poměr maligních a benigních nádorů i zastoupení jednotlivých typů nádorů mléčné žlázy u psů jistě značně ovlivňují údaje o získaném materiálu a charakteru klinického předoperačního vyšetření. Nejobjektivnější výsledky může poskytnout jen komplexní týmový přístup.

Literatura

BOSTOCK, D. E.: Neoplasia of the skin and mammary glands in dogs and Cats. *Curr. veter. Ther.*, VI, 1977, s. 493-496.

BOSTOCK, D. E.: Canine and feline mammary neoplasms. *Br. vet. J.* 142, 1986, s. 506-516.

BRODEY, R. S. - GOLDSCHMIDT, M. H. - ROSZEL, J. L.: Canine mammary gland neoplasms. *J. Amer. Anim. Hosp. Assoc.*, 19, 1983, s. 61-90.

ČECH, Z. - MATULÍKOVÁ, J. - CHYTKOVÁ, O.: Přežívání fen po extirpaci mléčné žlázy. *Veterinářství*, 11, 1981, s. 516-518.

GILBERTSON, S. R. - KURZMAN, I. D. - ZACHRAU, R. E. - HURVITZ, A. I. - BLACK, M. M.: Canine mammary epithelial neoplasms: Biologic implications of morphologic characteristics assessed in 232 dogs. *Veter. Path.*, 20, 1983, s. 127-142.

HAMPE, I. F. - MISDORP, W.: Tumours and dysplasias of the mammary glands. *Bull. WHO*, 50, 1974, s. 111-133.

MISDORP, W. - HART, A. A. M.: Prognostic factors in canine mammary cancer. *JNCI*, 56, 1976, s. 779-786.

NIELSEN, S. W.: Classification of tumours in dogs and cats. *J. Amer. Anim. hosp. Assoc.* 19, 1983, s. 14-52.

OWEN, L. N.: A comparative study of canine and human breast cancer. *Invest. cell. Path.* 2, 1979, s. 257-275.

ZENDULKA, M. - HALOUZKA, R.: Typizace a morfologické vlastnosti jednotlivých typů nádorové tkáně psů a koček. [Závěrečná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární, 1985, 53 s.

Došlo dne 1.3.1989

МАТЛ, Й. (Райветуправление, Чешске Будейовице): Анализ опухолей молочной железы собак в Южночешской области. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (9) : 561-568.

В учреждении Государственного ветеринарного института в Чешских Будейовицах, в 1970 - 1987 гг., гистологически обследовали 149 биопсий и эксцизий опухолевой измененной ткани молочной железы собак. Опухоли включили в группы по критериям, рекомендованным классификацией ВОЗ. По гистогенезу их разделили на три группы: опухоли эпителия (58,4 %), мезенхимальные опухоли (2 %) и смешанные опухоли (39,6 %). Отношение раковых опухолей к нераковым составляло 65,1 % : 34,9 %.

опухоли молочной железы собак; гистологическое обследование; включение в группы по классификации ВОЗ

MÁTL, J. (District Veterinary Administration, České Budějovice): *Analysis of mammary gland tumours in bitches in the South Bohemian Region*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9): 561-568.

149 biopsies and excisions of tumorous tissues of the mammary gland in bitches were examined histologically at a workplace of the State Veterinary Institute at České Budějovice in the years 1970 to 1987. The tumours were classified according to the criteria recommended by the WHO classification system. The tumours were divided into three groups with respect to their histogenesis: epithelial (58,4 %), mesenchymatous (2 %) and mixed (39,6 %). The ratio of malignant to benign tumours made 65,1 % to 34,9 %.

mammary gland tumours in bitches; histological examination classification according to WHO

MÁTL, J. (Kreis-Veterinärverwaltung, České Budějovice): *Analyse von Milchdrüsengeschwülsten bei Hunden im Bezirk Südböhmen*. Veter. Med., 35, 1990 (9): 561-568.

In der Arbeitsstätte des Staatlichen Veterinärinstituts in České Budějovice untersuchten wir in den Jahren 1970 bis 1987 histologisch 149 Biopsien und Exzisionen geschwulstartig veränderter Milchdrüsengewebe von Hunden. Die Geschwülste wurden in die durch das Klassifikationssystem der WHO empfohlenen Kategorien eingereiht. Der Histogenese nach teilten wir die Geschwülste in drei Gruppen ein u.zw. in epitheliale (58,4 %), mesenchymale (2 %) und gemischte Geschwülste (39,6 %). Das Verhältnis der malignen zu den benignen Geschwülsten beträgt 65,1 % : 34,9 %.

Milchdrüsengeschwülste bei Hunden: histologische Untersuchung: Einreihung laut Klassifikation der WHO

Adresa autora:

MVDr. Josef Mátl, Okresní veterinární správa, 371 09 České Budějovice

J. Šutta, Z. Bernáthová, J. Kušnir, J. Rózsa

ŠUTTA, J.- BERNÁTHOVÁ, Z.- KUŠNIR, J.- RÓZSA, J. (Experimentálne výskumné stredisko, Zemplínska Teplica; Vysoká škola veterinárna, Košice): *Využitie metakrylátu k internej fixácii zlomenín pri malých zvieratách*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (9) : 569-576.

Experimentálne bola overená možnosť využiť samopolymerizujúcu metakrylátovú živicu Duracryl extra používanú v zubnej protetike k jednoduchej stabilizácii zlomenín malých zvierat. Metakrylát bol umiestnený v nepatrnej vzdialenosti od kosti a spojenie s kostnými fragmentami zabezpečovali všeobecne dostupné ortopedické materiály (Kirschnerove drôty a ortopedický drôt). Vyhodnotené boli tri spôsoby diafyzárnych zlomenín femuru a humeru na skupine králikov, psův a oviec. Histologické sledovanie reakcie okolitých mäkkých i tvrdých tkanív na metakrylát v štádiu hojenia fraktúry dokumentuje normálny priebeh reparatívnych procesov bez známkov vážnejšej neadekvátnej reakcie. Celková jednoduchosť i ekonomická a inštrumentálna nenáročnosť ponúkajú možnosť využitia metakrylátu v praxi i pri iných druhoch zlomenín, predovšetkým tam, kde chýba špeciálne ortopedické vybavenie pre kostnú chirurgiu.

fixácia zlomenín; metakrylát; stabilizácia zlomenín; osteosyntéza malých zvierat; reakcia tkanív na metakrylát

Finančná náročnosť terapeutického zákroku a technické vybavenie ošetrojúceho lekára sú dva veľmi vážne faktory, ktoré často rozhodujú o ďalšom osude pacientov i pri zlomeninách malých zvierat. Nákladné vybavenie nie je pre mnoho ošetrovní dostupné, čo je možné vidieť i v rozvinutých kapitalistických krajinách, obzvlášť ak sa kostnou problematikou nezaoberajú príliš často.

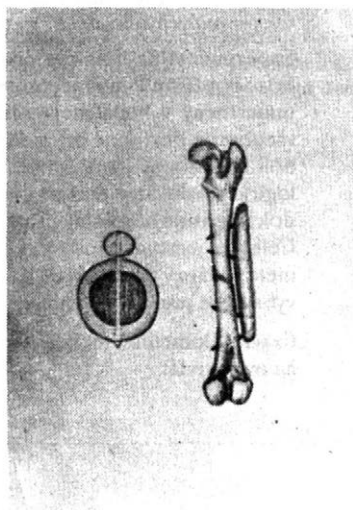
Cieľom našej experimentálnej práce bolo získanie poznatkov o možnostiach využitia metakrylátu ako ľahko dostupného materiálu k odstatočne spoľahlivej a inštrumentálne nenáročnej osteosyntéze vhodnej práve pre malé zvieratá, ak z rôznych dôvodov nie je možný presun do špecializovaného centra a radikálny zákrok je nevyhnutný.

V posledných rokoch sa aj vo veterinárnej medicíne úspešne rozšírila metóda externej fixácie zlomenín, kde v mnohých prípadoch k zabezpečeniu stability boli namiesto nákladných a zložitých kovových externých fixátorov použité akryláty, ako materiály mechanicky vhodné a ekonomicky nenárodné (Sittnikow, 1982; Meutstege, 1983). Metylmetakrylát bol už použitý aj k internej fixácii zlomenín stavcov a pri liečbe luxácie krčnej časti chrčtice v kombinácii so Steinmanovými klincami (Blass a i., 1988). O použití akrylátov k internej fixácii iných kostných zlomenín sme v literatúre zmienku nenašli.

Kritérium všeobecnej dostupnosti a zároveň vhodného materiálu pre styk s kosťou dobre spĺňajú Kirschnerove drôty a ortopedický drôt. Stabilita kostných fragmentov bola zabezpečená prepojením týchto kovových materiálov v tesnej blízkosti kosti metakrylátovou živcou Duracryl extra (Spofa Dental, Praha), ktorá sa používa v ortodoncii a zubnej protetike a pozostáva z polyméru (prášok) a monoméru (tekutina). Po ich vzájomnom zmiešaní a rozpustení polyméru tuhne do piatich minút. Prechádza postupne do cestovitej konzistencie a v tomto stave sa formuje pri stabilizácii fraktúry. Konečná fáza tuhnutia prebieha veľmi rýchle a netrvá viac ako dve minúty.

Odskúšané boli tri spôsoby stabilizácie jednoduchých priečnych i šikmých zlomenín tela femuru a humeru na skupine 16 králikov plemena novozélandský biely, šiesti psov bez plemennej príslušnosti vo veku jeden až tri roky, s hmotnosťou 5 až 17 kg (tri z toho boli použité dvakrát) a šiestich oviec slovenské merino s hmotnosťou 45 až 55 kg.

1. Interná fixácia zlomeniny metakrylátom analogicky s metódou externej fixácie - Internal fixation of a fracture with methacrylate, analogical to the method of external fixation

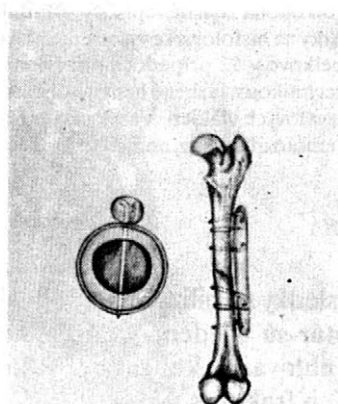
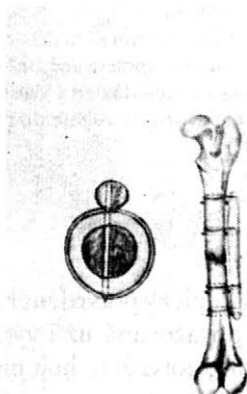


Princíp prvého spôsobu vychádzal z myšlienky externej fixácie (obr. 1). Aspoň dva Kirschnerove drôty primeranej hrúbky k danej kosti sú vedené v rozličnom uhle k pozdĺžnej osi kosti cez obe kompakty v proximálnom fragmente a v rovnakom počte i v distálnom fragmente s tým rozdielom, že metakrylát je umiestnený v nepatrnej vzdialenosti od kosti do vnútra organizmu.

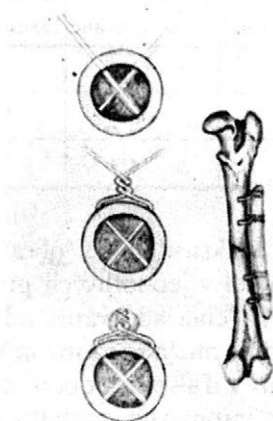
Druhý spôsob (obr. 2, 3) dopĺňal celý systém o jednu, alebo i dve cerkláže z ortopedického drôtu na každý fragment, ktorých stočené konce boli taktiež zaliate do metakrylátu.

Tretí spôsob (obr. 4) využíva dva tenké Kirschnerove drôty vedené v rôznom uhle približne v tej istej priečnej rovine kosti. Následným stočením sa získa veľmi pevné a spoľahlivé spojenie s kosťou i retencia pre metakrylát. Do každého fragmentu boli umiestnené aspoň dve takéto dvojice.

Stav reponovaných fraktúr bol pravidelne röntgenologicky kontrolovaný s odstupom dvoch až troch týždňov a po ich zhojení bol metakrylát operačne sprístupnený, prešitý prevodovými kliešťami a kovový materiál z kosti, resp. jej okolia, odstránený.



2. a 3. Využitie cerkláže s cieľom podporiť stabilitu spojenia metakrylát - kov - kosť - The use of cerclage wire aimed at increasing the stability of the joint methacrylate - steel - bone



4. Využitie dvoch stočených Kirschnerových drôtov zabezpečuje dobrú retenciu pre metakrylát i fixáciu kostných fragmentov - The use of two coiled Kirschner wires enables to obtain good retention of methacrylate and fixation of bone fragments



5. Röntgenologická transparentia umožňuje detailné hodnotenie repozície i stavu hojenia. Pes, zhojená fraktúra tela femuru - Radiographic transparency enables to evaluate in detail fracture reduction and state of healing. Dog, healed fracture of femur

V týždennom časovom slede od operácie až po desiaty týždeň boli odoberané vzorky na histologické vyšetrenie s cieľom získať obraz o reakcii mäkkých tkanív v procese hojenia. Vzorky kostného tkaniva zo strany priliehajúcej metakrylátu boli vyšetrené na možné tepelné poškodenie, pretože pri jeho tuhnutí sa uvoľňuje do okolia značné teplo, čo vyžaduje chladenie fyziologickým roztokom.

Vzorky na histologické vyšetrenie boli odobrané (vždy operačným sprístupnením a len raz z toho istého jedinca) celkovo v 12 prípadoch a fixované v 10% formalíne. Mäkké časti boli spracované bežnou histologickou technikou a farbené hematoxilín-eozínom a azanom na dôkaz kolagénnych vlákien a Van Giesonom na dôkaz svalových vlákien. Vzorky kostného tkaniva boli odváňňované elektrolyzou, zaliate do celoidínu a farbené hemotoxilín - eozínom.

VÝSLEDKY

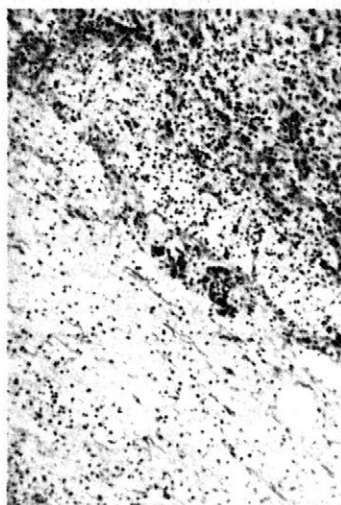
Výsledky stabilizácie potrebnej k dosiahnutiu röntgenologicky potvrdeného zhojenia fraktúr sú uvedené v tab. I., kde za destabilizáciu je považovaná už i výraznejšia zmena uhlovania končatiny. Röntgenologické sledovanie potvrdilo hojenie stabilizovaných fraktúr s vytvorením definitívneho kalusu pri králikoch v rozmedzí 8 až 12 týždňov, psoch 6 až 10 týždňov a ovciach 12 až 15 týždňov. Kalus sa formoval poväčšine symetricky v kraniokaudálnom smere, ale o mnoho mohutnejšie na protiľahlej strane ako bol umiestnený metakrylát. Tento je röntgenologicky absolútne transparentný, čo umožňuje detailné sledovanie ako repozície, tak i správnosti hojenia v celej oblasti bez obmedzenia z ktorejkoľvek projekcie (obr. 5).

I. Vyhodnotenie zabezpečenia dostatočnej stability fragmentov pre dosiahnutie úspešného zhojenia fraktúry
- Evaluation of the provision of sufficient stability of the fragments for successful healing of the fracture

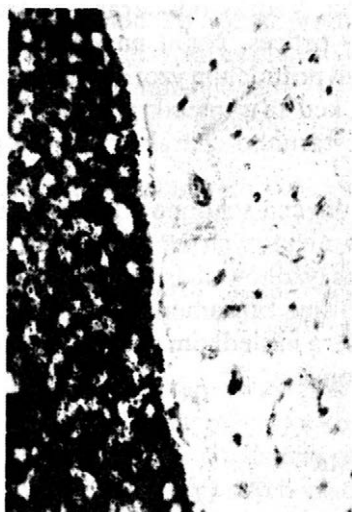
Druh zvierat'a	I.spôsob (obr. 1)		II.spôsob (obr. 2 a 3)		III.spôsob (obr. 4)	
	Stabilizované	Destabilizované	Stabilizované	Destabilizované	Stabilizované	Destabilizované
Králik	5	5	3	1	2	-
Pes	1	1	2	1	4	-
Ovca	1	-	1	-	4	-

Všetky rany sa zhojili *per primam intentionem*. Makroskopický obraz okolia metakrylátu hodnotený pri odbere vzoriek značne závisel v jednotlivých prípadoch na predchádzajúcom chirurgickom výkone, no stupeň hojenia adekvátne odpovedal časovému odstupe od operácie. V počiatočnom období bolo možné pozorovať v oblasti výraznú exsudáciu, čo si vyžiadalo i niekoľkodňovú drenáž. V ďalšom období metakrylát obaľovala tenká vazivová blanka priliehajúca rôzne intenzívne na jeho povrch. Medzidruhové rozdiely sme v tomto smere nepozorovali. Jej hrúbka bola najtenšia pri králikoch a najhrubšia pri ovciach.

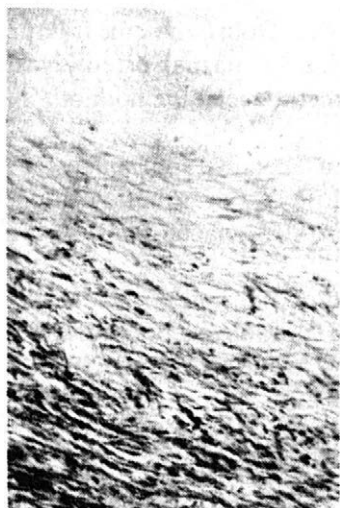
Histologické vyšetrenie bolo v súlade s makroskopickým nálezom. Na vzorkách odoberaných do piatich dní po operácii možno pozorovať nehnisavý serofibrinózny bunecný infiltrát bez repartívnych procesov. Na vzorke odobranej siedmy deň po zákroku (obr. 6) sme zistili nehnisavý serofibrinózny exsudát a počínajúcu reparáciu, ktorú možno v rôznom stupni postupne sledovať aj na vzorkách z ďalšieho obdobia do troch týždňov po operácii. Kostná vzorka (obr. 7) vyšetrená z toho istého odberu je tepelne



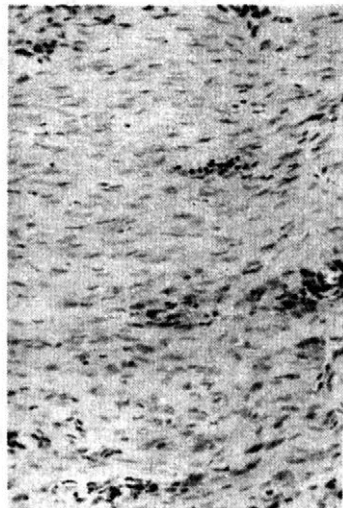
6. Siedmy deň po zákroku, nehnisavá serofibrinózna exsudácia s počínajúcou reparáciou (HE, 6,3x) - Seven days after intervention, nonpurulent serofibrinous exudation with incipient repair (HE, 6.3x)



7. Siedmy deň po zákroku, vzorka kostnatého tkaniva, dobre sa farbiace osteoblasty, počínajúca reparácia (HE, 6,3x) - Seven days after intervention, specimen of bone tissue, well-stained osteoblasts, incipient repair (HE, 6.3x)



8. Tri týždne po zákroku, pokročilá reparácia (Azan, 6,3x) - Three weeks after intervention, advanced repair (azane, 6.3x)



9. Desať týždňov po zákroku, úplné zviazovanie procesu (Azan, 6,3x) - Ten weeks after intervention. Completed process of granulation (azane, 6.3x)

nepoškodená s dobre sa farbiacimi osteocytmi a počiatkom reparatívnych procesov na povrchu. Vzorky odoberané po troch týždňoch (obr. 8) zachytávajú pokročilý reparatívny proces, čomu nasvedčuje aj farbenie azanom. Histologické vyšetrenie sme uzavreli posúdením vzoriek odoberaných 10 týždňov po zákroku pri psoch (obr. 9), teda v čase, keď sa už metakrylát odstraňoval z organizmu. Nepozorovali sme žiadnu reakciu leukocytárneho charakteru, zistili sme zväzovatenie procesu bez nadmernej proliferácie.

Funkčná schopnosť končatín po femorálnych zlomeninách bola až prekvapujúco dobrá v niektorých prípadoch už tesne po operácii, s plným obnovením funkcie do dvoch až troch týždňov od druhej operácie. V dvoch prípadoch po zlomeninách humeru (králik a ovca) sme zaznamenali trvalú zmenu funkcie celej končatiny, čo pokladáme za chybu operátora následkom poškodenia mäkkých tkanív, nakoľko stabilizácia zlomeniny bola uspokojivá.

DISKUSIA

Odskúšanie prvej metódy zlyhávalo už pri králikoch, pretože uhol, ktorý zvierajú vzájomne Kirschnerove drôty nie je v blízkosti kosti dostatočný k vytvoreniu bezpečnej retencie pre metakrylát. Analogický postup s metódou externej fixácie sa takto ukázal ako nevhodný, i keď jej overovaním vo väčších priestorových podmienkach, pri psoch a ovciach, úspešnosť relatívne vzrástla. Pri ovciach sme však pozorovali (a rovnako aj pri druhom spôsobe s doplnením o cerkláž) náznak osteolýzy v okolí Kirschnerových drôtov, podobne ako ju možno pozorovať v prípade nedostatočnej stability externých fixátorov (Aron a i., 1984). Prevencii tepelného poškodenia kosti pri vŕtaní bola vždy venovaná značná pozornosť a tak sa zdá, že môže byť spôsobená len väčším účinkom síl na malom priestore v závislosti na vyššej hmotnosti oviec. Dobré zhojenie fraktúr značne redukuje možnosť nedostatočnej stability zlomeniny, avšak náznak osteolýzy vo vzťahu k možným pohybom vo viacerých smeroch pri tejto metóde je nutné hodnotiť ako vážny nález.

Doplnenie systému o cerkláž podporilo stabilitu a celkovú spoľahlivosť, avšak i tu sme zaznamenali destabilizáciu celej zlomeniny v dôsledku prasknutia ortopedického drôtu. Pracnosť i silná periostálna reakcia na cerkláž značne znevýhodňujú tuto metódu.

Použitie dvoch stočených Kirschnerových drôtov neprinieslo žiadne problémy. Spojenie ako s kosťou, tak i s metakrylátom je veľmi spoľahlivé a bezpečné. Technické prevedenie je taktiež veľmi rýchle a jednoduché. Značné rozloženie síl neprinieslo žiaden náznak osteolýzy v okolí Kirschnerových drôtov ani pri ovciach. Analogicky s touto metódou sa ponúka využiť na tenších kostiach, alebo v prípade hmotnostne ľahších pacientov, jednoduché stehy z ortopedického drôtu vedené cez obe kompakty, ktorých stočené konce môžu byť opäť vzájomne fixované v metakryláte. Veľmi dôležité je však to, že v žiadnom prípade nebolo zaznamenané fyzické zlyhanie metakrylátu dôsledkom jeho preťaženia. Problémy sa vyskytli len v jeho spojení s kovovým materiálom, kde je nutné vytvoriť dobré podmienky pre jeho dostatočnú retenciu.

Naše sledovanie bolo zamerané predovšetkým na overenie samotnej možnosti použiť metakrylát vo výrobku Duracryl extra k internej fixácii niektorých typov zlomenín. Použitie výhradne jednoduchého kovového ortopedického materiálu je vhodné

predovšetkým pre situácie bez možnosti inej voľby a nevylučuje v praxi kombináciu kostných šraub vzájomne stabilizovaných metakrylátovou masou. To však už predpokladá aspoň základné ortopedické inštrumentárium. Metakrylát, ako tvárny materiál, dáva v praxi operatérovi veľký priestor pre vlastnú invenciu, čím sa môžu podariť zvládnuť i komplikovanejšie prípady. Zaujímavou oblasťou s jeho výborným uplatnením môžu byť práve zlomeniny panve.

Dôležité je použiť primerané množstvo metakrylátu k zabezpečeniu jeho mechanickej pevnosti, ale pritom zbytočne nezväčšovať jeho objem v organizme, čo môže mať za následok dehiscenciu rany, obzvlášť v oblasti so slabšou muskulatúrou, kde metakrylát ostáva uložený len subkutánne. Nutnosť ďalšej operácie za účelom jeho odstránenia z organizmu ostáva veľkou nevýhodou, ktorú v dnešnej kostnej chirurgii riešia úplne len rezorbovateľné materiály (Axelson, 1989).

Nepatrný priestor, ktorý ostáva medzi metakrylátom a kosťou umožňuje prístup ku kosti zo všetkých strán pre okolité tkanivá, čo ovplyvňuje i reparatívne procesy v kostnom tkanive a hlavne tvorbu periostálneho kalusu. Tento fakt potvrdzuje aj relatívne skoršie klinické zhojenie fraktúr v porovnaní s dobou v prípade použitia kovových platničiek (Brinker a i., 1984), čo si však ešte vyžaduje dôsledné histologické štúdium tvorby definitívneho kalusu. Poľskou metódou ZESPOL (Włodarczyk a i., 1988) je hojenie dlhých kostí psov ešte kratšie vďaka možnosti axiálnej kompresie. Typický „banánový jav“ pri tvorbe kalusu ako je pozorovaný pri pacientoch v humánnej praxi operovaných metódou ZESPOL (Bielawski, 1987) sme pozorovali len v jednom prípade. V ostatných prípadoch bol omnoho väčší, čo však v prípade diafyzárných zlomenín môžeme hodnotiť pozitívne. Jeho mohutnejšia forma práve v porovnaní s metódou ZESPOL vyplýva zrejme z jednoduchšej adaptácie bez založenia kompresie.

Veľmi dôležitá je otázka sterilizácie metakrylátu. Kostný cement (methylmetakrylát) určený pre potreby humánnej medicíny prichádza už v sterilnom balení. Je to však výrobok z dovozu a pre potreby veterinárnej medicíny finančne nedostupný. Možná sterilizácia elylénoxidom je pre veterinárnu prax v momentálnych podmienkach obtiažna. Monomér je však tekutina silne lipolytická, ale o jej presnom baktericídnom účinku informácie nemáme. Naše klinické a histologické pozorovania v ktorých neboli použité antibiotiká, podporujú možnosť použiť metakrylát ako materiál zabezpečujúci stabilitu kostných fragmentov bez obáv, že vyvoláva lokálnu reakciu, ktorá by ovplyvnila proces hojenia mäkkých i tvrdých tkanív. Celková i lokálna aplikácia širokospektrálnych antibiotík by mala v oblasti mäkčích tkanív, kam je metakrylát umiestňovaný, eliminovať i teoreticky možnú kontamináciu.

Po stuhnutí methylmetakrylátu sa postupne uvoľňuje do okolia približne 2,5 až 3,5 % nezreagovaného monoméru (Benzoska a i., 1987), ktorý pôsobí na okolie toxicky. Aj keď histologické sledovanie priniesli obraz o relatívne dobrej tolerancii tohto materiálu v organizme počas pomerne krátkej doby potrebnej k zhojeniu fraktúry, otázka možnej alergizácie a teda i celkovej reakcie ostáva otvorená. Naše pozorovania pri použití metakrylátu i viackrát pri tom istom jedincovi nepriniesli zatiaľ žiadne negatívne výsledky. V rámci histologického vyšetrenia sa ukázalo, že reakcia okolitého tkaniva bola omnoho výraznejšia len ak metakrylát nebol dostatočne hladký. V týchto prípadoch bolo možné pozorovať výraznejšiu bunecnú infiltráciu a hlavne mikrohematómy. Tie však pretrvávali i v niektorých starších procesoch, keď už došlo k zväzovateniu.

Ekonomické vyčíslenie použitého materiálu pre veľkých i malých psov, napr. v prípade zlomeniny femuru či humeru predstavuje čiastku približne 20 až 40 Kčs, čo

v porovnaní so všetkými doposiaľ používanými metódami osteosyntézy je čiastka minimálna.

Táto materiálovo, inštrumentačne, technicky a predovšetkým ekonomicky nenáročná metóda stabilizačnej osteosyntézy môže byť vhodná predovšetkým pre tie pracoviská, ktoré postrádajú špeciálne ortopedické vybavenie. Veľká variabilita, ktorou môže metakrylát pokryť určitú kostnú problematiku malých, stredných i veľkých plemien psov, zlomenín mačiek, ako aj rôznych kostí, poskytuje v tomto smere široké možnosti.

Literatúra

ARON, N. D. - TOOMBS, P. J.: Updated principles of external skeletal fixation. *Compend. Cont. Educ. Pract. Veter.*, 6, 1984, č. 9, s. 845-858.

AXELSON, P. B.: Fixation of cancellous bone and physal canine and feline fractures with biodegradable self-reinforced polyglycolide devices. [Academic dissertation.] College of Veter. Med., Helsinki, 1989.

BEZNOSKA, S. - ČECH, O. - LOBL, K. Umělé náhrady lidských kloubů. Praha, SNTL 1987, s. 162-166.

BIELAWSKI, J.: ZESPOL - Uniwersalny płytkowy stabilizator odłamów kostnych. *Polski przegląd chirurgiczny*, 59, 1987, č. 12, s. 1075-1080.

BLASS, E. CH. - WALDRON, D. R. - EE, T. R.: Cervical stabilization in three dogs using Steinmann pins and methylmethacrylate. *J. Amer. Anim. Hosp. Assoc.*, 24, 1988, s. 61-68.

BRINKER, W. O. - HORN, R. B. - PRIEUR, W. D.: Manual of internal fixation in small animals. New York, Springer-Verlag 1984, s. 241-243.

MEIJTSTEGE, F. J.: The use of the transfixation technique with technovit, *R. Proc.*, Utrecht, Voorjaarsdagen 1983, s. 48-50.

SITTNIKOW, K.: Transfixation as treatment of closed radius-ulna fractures in dogs. [Academic dissertation.] College of Veter. Med., Helsinki, 1982, s. 14-15.

WŁODARCZYK, J. - SZYMONIS-SZYMANOWSKI, W. - WŁODARCZYK, R.: Próby zastosowania stabilnej osteosyntezy metoda ZESPOL w leczeniu złamań kości długich psów. *Med. wet.*, 44, 1988, č. 5, s. 282-285.

Došlo dňa 18. 9. 1989

ŠUTTA, J. - BERNÁTOVÁ, Z. - KUŠNÍR, J. - RÓZSA, J. (Experimental Research Centre, Zemplínska Teplica. University School of Veterinary Medicine, Košice): *Using metacrylate for internal fixation of fractures in small animals. Vetr. Med. (Praha)*, 35, 1990 (9): 569-576.

An experiment was conducted to verify the possibility to use the self-polymerizing metacrylate resin DURACRYL EXTRA, commonly used in dental prosthetics, for simple fixing of fractures in small animals. The metacrylate was placed in a very small distance from the bone and the generally available surgical materials were used to connect it with the bone fragments (Kirschner's wires and surgical wire). Three types of diaphysal fractures of femur and humerus were evaluated in a group of rabbits, dogs and sheep. The histological study of the reaction of the adjacent soft and hard tissues to metacrylate in the stage of healing of fracture is documented by the normal course of the reparative processes with no signs of more serious non-adequate reaction. The method of using the resin is generally simple, inexpensive and has low requirements for the use of instruments. This promises broad use in practice in the treatment of other kinds of fractures, mainly in those cases where there is a lack of special equipment for the surgery of bones.

fixation of fractures; metacrylate; osteosynthesis of small animals; reaction of tissues to metacrylate

Adresy autorov:

MVDr. Juraj Šutta, MVDr. Ján Kušník, Experimentálne výskumné stredisko VŠV Košice, 076 64 Zemplínska Teplica

MVDr. Zuzana Bernáthová, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Jozef Rózsa, Poľná 930/3, 929 01 Dunajská Streda

CONTENTS

Vojtíšek B., Hamřík J., Hronová B., Dočekalová H., Diblíková I.: The effect of dry stading time in cows in a herd with the obesity syndrome on selected metabolism parameters of the cows and on the state of the calves.....	521
Pavlas M.: Biological properties of the mycobacterium strains isolated in cattle herds with clinical paratuberculosis	528
Elečko J., Ševčík A., Maraček I., Bekeová E., Choma J., Kačmárik J.: Changes in progesterone, triiodothyronine and thyroxine concentrations in the blood and the results of the quantitative histological analysis of the placenta and corpus in cows after protracted parturition	535
Toman M., Krejčí J., Menšík P., Ulmann L.: The nonspecific immunostimulation activity of the bacterine of <i>Bordetella bronchiseptica</i> in tests on mice and calves	546
Kotrbaček V., Schweigel M., Hönig Z. †: Effect of short fasting on the sleep of pigs.....	552
Raszyk J., Pillich J.: A simple immunological skin test in piglets.....	559
Mátl J.: Analysis of mammary gland tumours in bitches in the South Bohemian Region.....	568
Šutta J., Bernáthová Z., Kušnír J., Rózsa J.: Using metacrylate for internal fixation of fractures in small animals	576

INHALT

Vojtíšek B., Hamřík J., Hronová B., Dočekalová H., Diblíková I.: Einfluss des Trockenstehens der Kühe in der Herde mit dem Vorkommen von Obesitätssyndrom auf ausgewählte Merkmale ihres Metabolismus und auf den Kälberzustand.....	521
Pavlas M.: Biologische Eigenschaften der Mykobakterienstämme, die beim Rind aus der Zucht mit klinischer Paratuberkulose isoliert wurden (E).....	528
Elečko J., Ševčík A., Maraček I., Bekeová E., Choma J., Kačmárik J.: Veränderungen der Konzentration von Progesteron, Trijodthyronin und Thyroxin im Blut und Ergebnisse der histologischen, quantitativen Analyse des Plazentoms und des Geißkörpers der Kühe nach der protrahierten Geburt.....	535
Toman M., Krejčí J., Menšík P., Ulmann L.: Unspezifische Immunstimulationsaktivität des Bakterins <i>Bordetella bronchiseptica</i> in Testen an Mäusen und Kälbern (E).....	546
Kotrbaček V., Schweigel M., Hönig Z. †: Wirkung des kurzfristigen Hungerns auf den Schlaf der Schweine	552
Raszyk J., Pillich J.: Einfacher immunologischer Hauttest bei Ferkeln	560
Mátl J.: Analyse von Milchdrüsengeschwülsten bei Hunden im Bezirk Südböhmen.....	568
Šutta J., Bernáthová Z., Kušnír J., Rózsa J.: Nutzung des Metakrylates zur inneren Fixierung der Frakturen bei kleinen Tieren (E).....	576

Rukopisy odevzdány k tisku 11.6.1990 - Podepsáno k tisku 24.5.1991

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 25 75 41 ● Sazba a tisk
Economic Service CPC

© 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, Kovpakova 26, 160 00 Praha 6.