

6/14

SBORNÍK
ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Veterinární medicina

12 ✓

ROČNÍK 3 (XXX) — PRAHA, PROSINEC 1957

CENA 10 Kčs

Předseda redakční rady:
Председатель редакционного совета:
Head of the Editorial Board:

dopisující člen ČSAZV prof. MVDr Vincenc Jelínek

Redakční rada:
Редакционный совет:
Editorial Board:

*gen. MVDr Vladimír Chládek, MVDr Eduard Zach, MVDr František Nižňanský
člen korespondent SAV, MVDr Jiří Boháč, MVDr Jan Hiller, MVDr Antonín
Klauz, prof. MVDr Richard Harnach, MVDr Jaroslav Dražan, prof. Dr Karel
Šobra*

Vedoucí redaktor:
Старший редактор:
The Editor-in-Chief:
František Němec

Sborník ČSAZV, řada Veterinární medicína, vychází měsíčně. Uveřejňuje výsledky vědecko-výzkumných prací a kritické přehledy o pokroku zemědělské vědy z oboru veterinární medicíny. Celoroční předplatné 120 Kčs, jednotlivá čísla 10 Kčs. Vydavatel: Československá akademie zemědělských věd. Redakce a administrace: Praha XII, Slezská 7, telefon 575-41, 577-51-5.

Сборник ЧСАСХН, серия Ветеринарная медицина выходит ежемесячно. Публикует результаты научно-исследовательских работ и критические обзоры о прогрессе сельскохозяйственной науки в области ветеринарной медицины. Годовая подписка 120 крон, отдельный номер 10 крон. Издатель: Чехословацкая академия сельскохозяйственных наук. Редакция и администрация: Прага XII, Слезска 7, телефон 575-41, 577-51-5.

The Annals of the CAAS the Series Veterinary Science appear monthly. They publish the results of the scientific and research works and critical reviews of veterinary science. The annual subscription rate 120 Kčs, single copies 10 Kčs. Publisher: The Czechoslovak Academy of Agricultural Sciences. Editorial and executive offices: Praha XII, Slezská 7, tel. num. 575-41, 577-51-5. A-32035

Bílkovinné spektrum některých hospodářských laboratorních zvířat

Спектр белка некоторых хозяйственных и лабораторных животных

Albumen Spectrum of Some Farm and Laboratory Animals

Das Eiweißspektrum einiger Nutz- und Laboratoriumstiere

B. ZÍCHA, V. KALOUSOVÁ

Veterinární výzkumné středisko, Praha

V. NEUMAN, A. PISKAČ, K. HRUŠKA

*Katedra lékařské chemie, fyziky a toxikologie veterinární fakulty VŠZL v Brně,
vedoucí prof. Dr. A. Janeček*

Došlo dne 26. XI. 1956

Úvod

Bílkoviny jsou materiální základnou živé hmoty a vyznačují se velkou rozmanitostí svých biochemických, fyzikálně chemických a fyziologických funkcí. Tvoří základ všech tkání organismu a účastní se všech pochodů biologické výměny látkové. Bez jejich bezprostřední účasti jako biokatalysátorů nedochází k přeměnám tuků, sacharidů a jiných látek. Sotva existuje v organismu proces neenzymatické povahy, proces, jehož by se neúčastnily bílkoviny. Jakákoli látka, která má být vřazena do metabolických pochodů a která má být organismem asimilovatelná, musí vytvářet s bílkovinami komplex. Bílkovina v tomto komplexu určuje směr, kterým bude příslušná látka reagovat a její další osud v organismu (rozdělení, množství v krvi, vyloučení a pod.). Dokonce i resorbce na př. železa se uskutečňuje pomocí specifické bílkoviny, apoferritinu (1).

Významná úloha bílkovin byla předpokládána již v XIX. století a právě z tehdejších velmi skrovných poznatků o bílkovinách vycházel Engels při své klasické definici života. Po velkém rozmachu organické chemie začátkem XX. století se však přesto zdálo, že bližší poznání biologicky účinných koloidů bude těžkým a prakticky neřešitelným problémem. Chemické metody v této době běžně používané neumožňovaly bližší studium těchto látek. Nedařila se izolace koloidů v dostatečně čistém stavu a nebylo je proto možno blíže charakterisovat. Kromě toho látky během preparace ztrácely svoji biologickou účinnost a jednalo se tedy často o artefakty.

Novější znalosti o bílkovinách byly získány hlavně pomocí fyzikální chemie, která spolu s nukleární fyzikou přispěla k nynějšímu rozmachu vědy. Zavedením šetrných, převážně fyzikálně chemických metod (na př. různých metod

vyšetřovacích flokulačních reakcí, metod chromatografických, polarografie bílkovin, ultracentrifugace a elektroforesy) bylo umožněno studium bílkovin v nativním stavu. Hlavní pozornost byla věnována bílkovinám nejsnáze dostupným, a to bílkovinám krevní plasmy, které jsou ve stavu dynamické rovnováhy s ostatními tkáňovými a rezervními bílkovinami. Jejich kvantita a kvalita je odrazem funkčního stavu jednotlivých tkání, orgánů a celého organismu. Studium krevních bílkovin je zvláště v posledních letech věnován velký počet prací a nepřekvapuje proto, že právě na tomto úseku biochemie byly zaznamenány četné významné úspěchy. Získané poznatky měly svůj praktický dosah a byly využity při výrobě očkovacích látek, v klinické a experimentální medicíně, k zpřesnění diagnostiky, při sledování účinnosti terapeutických zásahů a průběhu onemocnění.

I ve veterinární medicíně nabývá studium serových bílkovin svého významu, jak o tom svědčí práce domácích a zahraničních autorů. Hodnocení změn bílkovinného spektra nestalo se však dosud zcela vžitou metodou v klinicko-biochemické diagnostice jako nezbytná součást funkční diagnostiky. Rozšiřováním sítě veterinárních nemocnic a ošetřoven jsou však u nás vytvářeny nejlepší předpoklady pro další zkvalitnění klinické diagnostiky a pro praktické uplatnění výsledků medicínské vědy.

V naší literatuře postrádáme dosud soubornějšího pojednání o složení serových bílkovin u domácích zvířat a o jejich kvantitativních a kvalitativních změnách za různých patologických stavů. Vytkli jsme si proto úkol shrnout výsledky námi provedených elektroforetických analys krevního sera některých hospodářských a laboratorních zvířat a srovnat je s údaji literárními. V příštím sdělení chceme pak uvést nejvýraznější změny serových bílkovin, vypracovat event. typové reakce orgánového onemocnění a ukázat tak na praktické využití získaných poznatků v klinické funkční diagnostice. Nejdříve však stručně pojednáme o biochemii a fyziologii serových bílkovin a o významu jednotlivých bílkovinných frakcí.

Přehled literatury

Již práce Emila Fischera koncem XIX. století ukázaly, že bílkoviny jsou složeny asi z dvaceti aminokyselin. Při poměrně velké molekulové váze bílkoviny dostáváme tak nepřehlednou řadu možných strukturních isomerů. Tím si lze vysvětlit neobyčejnou variabilitu bílkovin, jejich druhovou a orgánovou specifitu. S uspořádáním aminokyselin souvisí i charakter a počet volných funkčních skupin (COOH , OH , NH_2 , SH a j.) na povrchu bílkovinné makromolekuly.

Neméně důležitou vlastností bílkovin je jejich speciální schopnost koloidní rozpustnosti. Koloidní partikule bílkovin mají relativně velký povrch. Jelikož většina metabolických dějů se odehrává na hranici dvou prostředí, vyplývá přímo z tohoto obrovského povrchu funkční význam bílkovin.

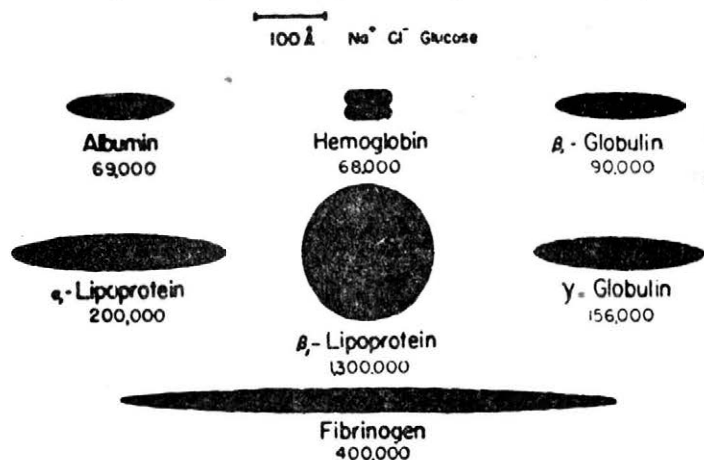
Krevní bílkoviny představují jednotnou látku, ale komplexní směs bílkovinných složek různé velikosti, tvaru, struktury a funkce. Různé fyzikálně-chemické vlastnosti příslušející jednotlivým bílkovinným složkám jsou podkladem analytických a preparativních metod.

Již dříve je známo, že přidáním některých elektrolytů (síranu amonného, síranu sodného, chloridu sodného, fosforečnanu sodného a j.) se snižuje rozpustnost jednotlivých složek plasmatických bílkovin. Podstata tohoto jevu záleží v tom, že koloidní stabilita bílkovin v roztoku je závislá na velikosti a tvaru, dále na náboji a hydratačním obalu bílkovinných makromolekul a na jejich isoelektrickém bodu. Přidáním elektrolytu ztrácí koloidní partikule pravděpodobně svůj hydratační obal a náboj a tím dochází k vypadávání bílkovin z roztoku. Již jednoduchými vysolovacími metodami se podařilo oddělit tři základní bílkovinné složky plasmy, fibrinogen, globulin a albumin. Na stejném principu jsou založeny i vysolovací křivky,

umožňující detailnější rozčlenění globulinové frakce (na př. vysolování z různých konc. roztoků síranu amonného, nebo Wuhrmannova metoda používající řady fosfátových nárazníků o různé iontové síle).

Vysolováním pomocí síranu amonného byly získány následující skupiny: 1. fibrinogen, který se sráží z 28% roztoku síranu amonného. Byl rozdělen na 2 frakce, z nichž jedna urychluje sedimentaci erythrocytů a ovlivňuje rychlost a stupeň retrakce krevního koagula — kontraktinogen. 2. Globulin, který se sráží z polovičně nasyceného roztoku síranu amonného a rozpadá se do dvou skupin: euglobulin nerozpustný ve vodě, který se sráží z 28—32% nasyceného roztoku síranu amonného, a pseudoglobulin I a II. rozpustný ve vodě, který se sráží z 32—50% nasyceného roztoku síranu amonného. 3. Albumin, který se sráží z 50—100% nasycených roztoků.

V tomto sestavení jednotlivých skupin plasmatických bílkovin se odrážejí i jejich nejdůležitější fyzikálně-chemické vlastnosti. Nejlabilnější bílkovinou v roztoku je fibrinogen, který se sráží již po mírném zásahu. Labilita dalších skupin směrem k albuminu klesá a souběžně se zvyšuje jejich rozpustnost ve vodě. Tyto vlastnosti závisí na velikosti molekul a na isoelektrickém bodu jednotlivých bílkovin. Nejmenší molekulu mají albuminy, největší euglobulin a fibrinogen. Srovnání velikosti a tvaru jednotlivých částic plasmatických bílkovin je patrné z obrazu 1.



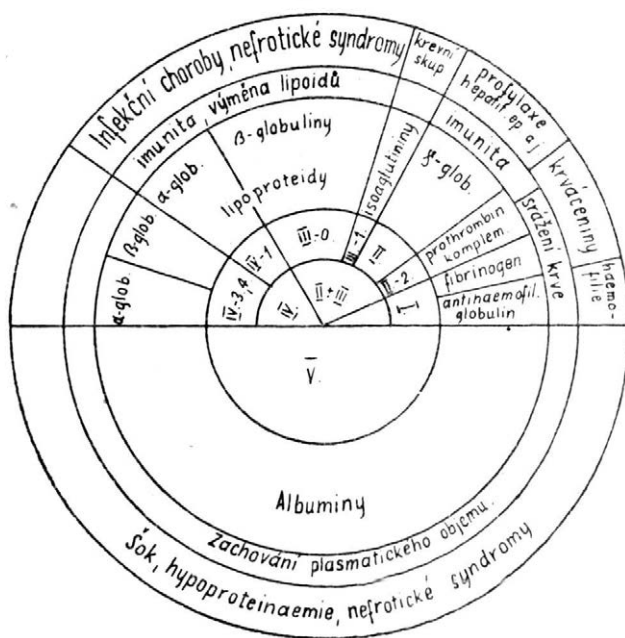
1. Tvar a relativní velikost jednotlivých plasmatických bílkovin (podle Oncleye)

Podobné výsledky poskytuje i alkoholová frakcionace plasmatických bílkovin za snížené teploty (-5°C) zavedená Cohnem, která umožňuje izolaci nativních bílkovin. Přidáním alkoholu k roztoku bílkovin se zmenší dielektrická konstanta rozpouštědla a tím dochází k precipitaci. Touto metodou se podařilo rozdělit krevní a orgánové bílkoviny na řadu složek, které našly uplatnění především v terapii. Tato metoda má především preparativní charakter a uplatňuje se ve výrobě. Schema frakcionace podle Cohna je uvedeno na obr. 2. Isolované frakce po vysušení mrazovou sublimací — lyofilizací lze uchovávat dlouhou dobu, aniž dojde ke ztrátě jejich biologické účinnosti. Řada úspěšných orgánových léčiv, antibiotik, vakcín a sér byla připravena touto metodou.

Preparativní a analytický charakter má ultracentrifugace podle Svedberga. Využívá se zde velkého tíhového zrychlení, dosaženého vysokými obrátkami, při kterém dochází k diferenciální sedimentaci i tak malých partikulí, jako jsou bílkovinné koloidy. Vhodným optickým zařízením lze pak získati t. zv. sedimentační diagram, nebo v preparativní úpravě přímo získat žádanou složku. Stanovení sedimentačních a difusních konstant umožňuje pak vypočítat molekulovou váhu, zjistit osové rozměry molekuly a tak blíže charakterisovat zkoumanou bílkovinu.

Chemické a na nich do jisté míry závislé biologické vlastnosti bílkovinných molekul lze sledovat různými analytickými metodami, kterými lze stanovit na př. počet volných karboxylových, aminových, hydroxylových, sulfhydrylových, iminových, imidazolových, guaninových a jiných skupin na povrchu bílkovinné molekuly. Blokováním jednotlivých skupin lze pak prokázat závislost biologického účinku na jednotlivých funkčních skupinách (2).

V klinické laboratorní diagnostice se uplatnila především metoda elektroforetického dělení plasmatických bílkovin zavedená Tiseliiem a elektroforesa na filtračním papíře. Obě metody umožňují rozdělení plasmatických proteinů podle jejich specifické pohyblivosti ve stejnosměrném elektrickém poli do řady frakcí, takže získáme t. zv. bílkovinné spektrum plasmy. Plasmatické proteiny se tak podařilo rozdělit zhruba do pěti frakcí: na albuminy, které se pohybují v elektrickém poli



2. Schema frakcinace plasmatických bílkovin podle Cohna (Heilmeyer)

nejrychleji, a na alfa, beta a gama globuliny, jejichž rychlost pohybu směrem ke gama-globulinům klesá. Frakce fibrinogenová se při analýze plasmy ocitá mezi frakcí beta a gama-globulinovou. Alfa a beta-globulinové frakce se v některých případech dělí ještě na subfrakce alfa₁, alfa₂ a beta₁, beta₂. Je třeba zdůraznit, že jednotlivé elektroforetické rozdělené frakce nepředstavují chemická individua a že jde v podstatě o různé bílkoviny se stejnou pohyblivostí v elektrickém poli. Tato stejná vlastnost bílkovin není ještě známkou homogenity nalezené frakce. Vzájemný poměr jednotlivých bílkovinných frakcí je u různých jedinců ve stejném období ontogenetického vývoje celkem stálý. Za patologických stavů zjišťujeme kvalitativní a kvantitativní změny ve složení bílkovinného spektra.

Elektroforetická metoda dělení krevních bílkovin blíže objasnila mechanismus různých nespecifických zákalových a vločkovacích reakcí hodně používaných v klinické praxi lidí a v poslední době i ve veterinární. Tyto reakce (Takata-Ara, Weltmannova, kadmiová reakce, thymolová zákalová reakce, cholesterol-kefalinový test, Hejdoва zkouška, zlatosol, formogel a řada jiných) informují o změnách ve složení bílkovinného spektra. Jejich pozitivita závisí ve zmožení labilnějších bílkovinných složek, které se snáze srážejí (koloidní lability plasmy). Z výsledků dosažených uvedenými reakcemi a se zřetelem k elektroforetickému bílkovinnému spektru sestavili někteří autoři tabulku konstelačních typů některých procesů (3, 4, 5).

Plasmatické bílkoviny mají velmi rozmanité funkce, z nichž některé nejsou dosud zcela objasněny. Práce s izotopem S^{35} potvrdily jejich význam jako faktoru výživy. Plasmatické bílkoviny jsou zdrojem tkáňových bílkovin a jsou s nimi ve stavu dynamické rovnováhy. Kromě toho udržují řadu konstantních vlastností krve, a to koloidně osmotický tlak (hospodaření s vodou), acidobazickou rovnováhu a pH krve. Krevní bílkoviny představují materiální základ mechanismu, kterým se uskutečňuje výměna různých látek v organismu. Tímto mechanismem jsou určité látky předávány příslušným orgánům a jen tím je možno vysvětlit, že se tyto látky nerozptylují ve tkáních difusně. Plasmatické bílkoviny plní tak transportní funkci

pro většinu metabolitů, přítomných v krvi (6). Těto funkce zcela odpovídají jejich fyzikálně-chemické vlastnosti a jejich množství v krvi. Jsou to amfolyty a mohou proto vázat kyseliny a zásady. Molekulová váha bílkovinných makromolekul se pohybuje v rozmezí 30—400 tis. i více. Průměr jednotlivých molekul je asi 2000krát menší než je průměr erythrocytů a asi 1000krát větší než je průměr molekul krystalických látek. Celkový povrch, na kterém především probíhají jednotlivé vazby, činí ve 20 ml krve asi 1000 m². S koloidní strukturou plasmasy souvisí dále aglutinace erythrocytů a trombocytů, pochody při srážení krve, regulace acidobazické rovnováhy a pod. Změnou stupně dispersity plasmatických bílkovin mění se i tyto funkce. Plasmatické bílkoviny mají konečně účinek ochranných koloidů a tvoří součást obranného mechanismu.

Jednotlivým bílkovinným frakcím krevní plasmasy byla původně připisována určitá funkce. Již dávno je znám na př. význam fibrinogenu při srážení krve. Experimentálně bylo rovněž prokázáno, že při všech humorálně obranných reakcích se mění koloidní struktura plasmasy, a to nejčastěji v tom smyslu, že nastává přesun na stranu globulinů (hrubě disperzovaných částí), čímž se zvyšuje labilita plasmatických bílkovin. Význam albuminů byl podložen jeho transportní funkcí. Ukázalo se však, že i globuliny plní úlohu přenášejícího činitele a že mají dokonce význam i při srážení krve (akcelerační globuliny). Je třeba opět zdůraznit, že jednotlivé bílkovinné frakce plasmasy nepředstavují chemická individua, ale že je chápeme jako základní funkční biologické jednotky. Každá frakce je komplexem proteinů a proteidů, případně i jiných látek a vyznačuje se určitými biologickými vlastnostmi.

S tohoto hlediska jsou albuminy nejméně diferencovanou bílkovinnou složkou krevního sera. Mají nejménší molekulovou váhu (asi 70.000) a podle tvaru náleží k sferoproteinům. V serech domácích zvířat kolísá množství albuminů od 32—63 rel. %. Molekuly albuminu, díky jejich struktuře, představují velký povrch a vážou proto velké množství vody (1 g albuminu může vázat asi 20 ml vody, t. j. dvojnásobné množství než 1 g globulinu). Onkotický tlak je asi z 80 % udržován především albuminy. Zmnožili-li se globulinová frakce v krvi, sníží se zhravděla množství albuminů o tolik, kolik činí přírůstek onkotického tlaku v důsledku zmnožení globulinů. S uvedenými fyzikálními a fyzikálně-chemickými vlastnostmi albuminu souvisí stabilita jejich molekul, jejich podstatný podíl na regulaci hladiny a rovnováhy vodní výměny a acidobazické rovnováhy. Vzhledem ke své schopnosti vázat ionty, albuminy transportují převážnou většinu metabolitů. Vážou a přenášejí minerální soli (Ca, Cu), žlučová barviva, urobilinogen, anionty mastných kyselin, alkylsulfonové kyseliny, různé aromatické karboxylové kyseliny, acetylované aminokyseliny, látky podobné vitaminu K, vitaminu C, anionty a kationty kyselých a zásaditých barviv. Hladina chemotherapeutik a sulfonamidů v krvi se udržuje rovněž ve vazbě na albuminy. Pokusy s radioaktivním penicilinem bylo dokázáno, že rovněž penicilin se kvantitativně váže na albuminy (7). Albuminy mají dále účinek stabilizační, účastní se detoxikačních pochodů v organismu (svými SH skupinami vážou těžké kovy) a plní funkci ochranných koloidů, čímž udržují v roztoku větší bílkovinné a lipoproteinové komplexy a rovněž jiné těžko rozpustné látky. Snižují ssedlivost červených krvinek a 10krát účinněji zabraňují haemolyse než globuliny. Antikoagulační vlastnost heparinu a pravděpodobně i jeho účinek antisklerogenní je rovněž vázán na spojení s plasmatickým albuminem (8).

Globuliny jsou bílkoviny o větší molekulové váze, přes 100.000 a více, a náleží rovněž ke sferoproteinům. Představují hrubě dispersní fázi krevního sera s menší stabilitou než albuminy. Jejich množství v seru domácích zvířat činí podle druhu 37—60 rel. %. Proti albuminům jsou globuliny daleko více diferencované. Podle pohyblivosti v elektrickém poli rozlišujeme alfa, beta a gama globuliny.

Alfa a beta globuliny představují velmi heterogenní bílkovinné frakce krevního sera. Jejich význam není dosud zcela objasněn. Byla prokázána transportní funkce těchto frakcí při zásobování organismu lipidy a chacharidy. Svědčí pro to i skutečnost, že s těmito frakcemi se v elektrickém poli pohybují dosud blíže neurčené lipoproteidy, dále glykoproteidy, jednoduché bílkoviny, fosfolipidy, sulfolipidy, aminolipidy, mastné kyseliny, cholin, fosfatasa, cholesterol, pohlavní hormony, vitaminy rozpustné v tucích (karoteny a vitamin A) a jiná barviva. Dále je možno v těchto frakcích určit některé inkompletní protilátky, antihemolytické globuliny, některé složky isoaglutininu a některé protilátky, na př. proti slintavce (9). Lipidy, které nezbytně vyžadují bílkovinného nosiče, jsou vázány na bílkovinné frakce jednak pevněji, jednak volněji. Volně vázané lipidy lze oddělit na př. etherovou extrakcí za chladu, nebo saponinem (10). U králíků, ovcí a prasat byly zjištěny dvě frakce lipoproteinů a to v oblasti albuminů a alfa-globulinů a v oblasti alfa₂ a beta globu-

linů s maximem v oblasti beta globulinů (11). Alfa a beta lipoproteidy nelze ovšem považovat pouze za mechanismus, kterým se uskutečňuje transport tuků v organismu. Předpokládá se, že jde o specifickou bílkovinu produkovanou játry, které přísluší určité biologické funkce (hormonální a vitaminová regulace) (12, 13). V beta globulinové frakci je dále obsažen siderofilin, důležitý pro transport a utilisaci železa v organismu a ceruloplasmin, vážící Cu, putující s alfa-globulinovou frakcí, u psa s frakcí beta globulinovou (14). Do alfa globulinové frakce náleží i protein, který byl nazván fetuin (molekulová váha 35–50 tis.) a který byl zjištěn u plodu a ssajících zvířat skotu (15). U plodu dosahuje až 90% globulinové frakce, u nově narozených telat až 28%, kdežto v dalším vývoji poměrně rychle mizí. Někteří autoři jej řadí k muko- nebo glyko-proteidům. Při některých onemocněních se v alfa frakci objevuje t. zv. protein akutní fáze.

Na gama globulinovou frakci krevního sera jsou vázány především obranné protilátky. Tato frakce má důležitý význam při obraně organismu proti nákazám a je v úzké souvislosti s imunitními pochody. Gama globuliny jsou nositeli aglutininů, precipitinů a lysinů. Jsou složeny výlučně z aminokyselin a z cukru (2 mol. hexosy na 1 mol. aminocukru). Ze všech serových bílkovin obsahují nejvíce hydroxyaminokyselin. Molekulová váha se pohybuje kolem 150 tis. Někteří autoři zjišťují molekulovou váhu až 1 mil. Jde však pravděpodobně o produkty polymerisace, jelikož po depolymerisaci (fermentativním štěpením) si příslušné složky uchovávají nadále vlastnosti protilátek (16). V plasmě serových zvířat (kůň, prase) se během imunitace podstatně zvyšuje množství gama globulinů. Již z toho vyplývá, že gama globulin není látkou jednotnou, ale že je směsí různých imunitních bílkovin.

V gama globulinové frakci rozlišujeme t. zv. homogenní a heterogenní globulin. V heterogenní složce jsou cirkulující protilátky jednak přirozené, jednak imunní. Nacházíme zde i isoaglutininy. Zvýšené množství homogenního gama globulinu bylo zjištěno především u plasmocytomů (gama plasmacytom). Heterogenní gama globulinu je možno prokázat pomocí ultracentrifugy a metodami imunochemickými.

Gama globulin chrání vitamin A a B před inaktivací během transportu krevním oběhem. Má nízkou kapacitu vázání alkalie a proto se zvýšením této frakce bývá spojen posun mezi anionty a kationty. Především se mění hladina Ca^{++} .

Produkce bílkovin v organismu je řízena jenně odstupňovaným neurohumorálním mechanismem. Pokud jde o místo syntézy plasmatických bílkovin, existují dosud různé názory. Jisté je, že tvorba bílkovin se neomezuje pouze na některé buňky nebo buněčné systémy. Je možno považovat za prokázané, že veškerý fibrinogen a převážná část albuminů jsou produkovány játry. Potvrzují to pokusy se značkováním methioninem u psů s provedenou hepatoektomií (17) a změna syntézy albuminů zaznamenaná při některých jaterních onemocněních (2 elektroforetické frakce albuminové) (18). Při těchto pokusech a pozorováních nebyla omezena syntéza globulinů. Jelikož albuminy a globuliny se převážně chovají recipročně, byla naopak pozorována intenzivnější produkce globulinů. To vše svědčí pro to, že globuliny jsou produkovány jinými orgány a to především buňkami RES, kostní dřeně, plasmatickými buňkami a lymfatickými uzlinami (3). Klinická zkušenost, že u žádného onemocnění nebyla dosud zaznamenána hyperalbuminaemie by nasvědčovala tomu, že albuminy jsou výchozím materiálem při syntéze globulinů. Ehrlich (19) považuje za prokázané, že protilátky a příbuzné globuliny jsou produkovány plasmatickými buňkami. Tyto buňky na rozdíl od lymfocytů a makrofagů obsahují vysokou koncentraci kyseliny ribonukleové, která je nezbytná pro syntézu bílkovin. Dynamika tvorby protilátek záleží pravděpodobně v tom, že molekula antigenu je vázána fagocyty, které ji degradují. Štěpy antigenních molekul, jsou fagocyty vylučovány do krve a lymfy a prostřednictvím lymfocytů jsou podnětem pro nediferencovaný mesenchym k tvorbě specifických plasmatických buněk, které dozrávají a produkují specifické antilátky. Z plasmatických buněk se skutečně podařilo gama globuliny izolovat. Podle toho již plasmatické buňky je možno považovat za specifické útvary, které produkují určité antilátky. Tomuto názoru odpovídá již známá skutečnost, že nově narozená zvířata, u nichž se plasmatické buňky objevují teprve po porodu, nemohou produkovat gama globuliny. K podobným závěrům dospěla i Fagraeusová (20), která zjistila, že působením antigenu se určité buňky RES postupně přeměňují v dospělé plasmatické buňky. Tyto mohou produkovat alfa, beta a gama globuliny. Není však dosud zcela objasněno, zda i za fyziologických podmínek mohou plasmatické buňky produkovat bílkoviny.

Všechny plasmatické bílkoviny, včetně antilátek se poměrně rychle mění. Nejpomaleji se obnovují albuminy, jejichž poločas byl odhadnut asi na 20 dní, kdežto

u gama globulinů bývá udáván střední poločas bílkovinné molekuly 18 dní, u alfa a beta globulinů 9 dní (9). Pokusy na králících s methioninem značkováným S^{35} bylo dokázáno, že střední poločas molekuly albuminů činí 10 dní a že rozpad pokračuje exponenciálně s časem. U globulinů se jejich rozpad naopak zpomaluje. Vysvětluje se to tím, že každá globulinová frakce se skládá ze subfrakcí s různým středním poločasem molekuly. Střední poločas globulinových frakcí se pohybuje kolem 2–5 dní. U králíků se tedy denně vytváří 2krát více globulinů než albuminů (21).

Bílkovinné spektrum hospodářských zvířat prodělává změny v průběhu individuálního vývoje. K nejpronikavějším změnám dochází ihned po porodu a v prvních dnech po porodu v důsledku zcela odlišných podmínek, působících za intrauterinního a extrauterinního života. Nejde při tom jen o změnu kvantitativního zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí, ale i o změny kvalitativní. Po porodu a v prvních dnech po porodu se v seru mláďat vyskytují bílkoviny se zcela odlišnými elektrochemickými vlastnostmi, s čímž bezpochyby souvisí i jejich odlišná fyziologická funkce (22, 23, 24, 25, 26).

Cetné práce dokazují, že zdrojem gama globulinů u nově narozených zvířat je kolostrum, obsahující anti fermenty, které zabraňují jejich fermentativnímu nadržování. Tím je umožněna resorpce intaktních gama globulinů, které procházejí střevem nově narozených zvířat (27).

Metodika

Metodická část práce byla vykonána na dvou pracovištích. Na obou pracovištích bylo použito k dělení serových bílkovin elektroforetické metody na filtračním papíře pomocí t. zv. vlhké komory. Bylo nanášeno 10–15 μ l krevního sera na předvlhčený filtrační papír Whatman Nr. 1 mikropipetou. Vlastní dělení bílkovin probíhalo však na obou pracovištích za podmínek poněkud odlišných a rovněž k vyhodnocení elektroforetických záznamů bylo použito různých způsobů.

Na pracovišti A probíhalo dělení bílkovin po dobu 6–12 hod. podle druhu zvířat při empiricky stanoveném optimálním napětí 160–250 V. Elektrody platinové, veronalacetátový ústoj pH 8,6, iontová síla 0,06. Bílkoviny byly fixovány v sušárně při 105°C po dobu 15 min. Detekce byla provedena 1% roztokem bromfenolové modři v metanolu nasyceném sublimátem. Vyhodnocení záznamů bylo prováděno přímou fotometrií prosvitěných proužků přebarvených na žluto 7,5% kyselinou citrónovou, speciálním vyhodnocovačem (37).

Na pracovišti B bylo použito veronálového ústoje o pH 8,6 a platinových elektrod; dělení probíhalo při napětí 280–320 V po dobu 4–6 hod. Fixace bílkovin byla prováděna při 120°C po dobu 5 min., detekce 1% roztokem bromfenolové modři v metanolu nasyceném sublimátem. Kvantitativní vyhodnocení jednotlivých bílkovinných frakcí bylo prováděno po jejich eluci roztokem sody (100 g sody/2 l metanolu) fotometricky.

Pro srovnání byly v některých případech elektroforetické záznamy pracoviště A vyhodnoceny na pracovišti B a naopak, jak je patrné na př. z obr. 3–9.

Výsledky a diskuse

Pracoviště A analysovalo krevní sera 25 klinicky zdravých koní, 30 prasat, 74 psů, 20 králíků, 5 průměrných vzorků ze 60 exsanguinovaných myší a vzorek sera 10 morčat.

Pracoviště B vyšetřilo krevní serum 64 klinicky zdravých koní a 38 kusů skotu.

Bílkovinná spektra jednotlivých druhů zvířat spolu s registračním záznamem a s výsledky kvantitativního vyhodnocení jednotlivých frakcí v rel.% metodou přímé fotometrie (pracoviště A) a metodou eluce (pracoviště B) jsou uvedeny na obr. 3–9.

Průměrné hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera koní v rel.‰

Alb.	globuliny			
	α	β	γ	
40,5 37,4 (33,7–49,8)	19,6 18,2 (14,7–21,3)	19,4 18,4 (11,7–21,8)	20,5 25,8 (18,2–29,8)	prac. A prac. B

Koňské serum má větší viskozitu, snáze ulpívá na startu a při nasazení nedifunduje příliš do okolí. Frakce α a β globulinová se obtížněji dělí. Při našem pracovním uspořádání se osvědčilo snížení napětí a prodloužení doby dělení. Dobře rozdělená sera odlišují až 3 α frakce. Mezi frakcí β a γ globulinovou je většinou zjištěn nevýrazný difusní přechod (snad subfrakce γ , t. zv. T komponenta). U hemolysovaných ser je hemoglobin nesen s β globulinem. T. zv. omega frakci, popísanou v některých případech u volné elektroforesy (28) i papírové elektroforesy (29) jsme zjistili jen u málo případů. Nevýhodnocovali jsme ji zvlášť.

Průměrné hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera skotu v rel.‰

Alb.	globuliny			
	α	β	γ	
45,1 (37,4–55,8)	16,5 (13,3–23,8)	13,7 (9,1–19,4)	24,7 (20,6–35,0)	prac. B

Krevní serum skotu se v našich pracovních podmínkách dobře dělí, v globulinové části spektra jsou dobře oddělitelné dvě γ frakce.

Průměrné hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera vepřů v rel.‰

Alb.	globuliny			
	α	β	γ	
37,9 (32,0–45,0)	25,4 (19,0–31,2)	14,7 (12,4–16,5)	22,0 (16,5–24,8)	prac. A

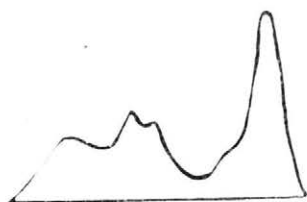
Serové bílkoviny vepře jsou rovněž dobře dělitelné a v celku připomínají až na nižší obsah albuminů spektrum lidského sera.

Průměrné hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera psa v rel.‰

Alb.	globuliny			
	α	β	γ	
47,2 (34,0–53,0)	15,5 (10,8–22,0)	23,1 (13,2–32,6)	14,2 (8,3–20,5)	prac. A



γ β α_1 α_2 A

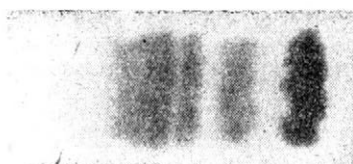


Prima

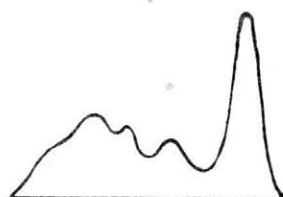
fotometrie : 22,3 14,9 14,5 8,1 40,2

eluce : 24,9 16,8 21,8 36,5

3. Bílkovinné spektrum koně



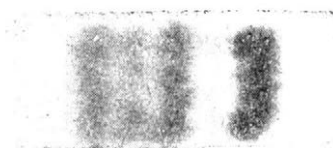
γ_2 γ_1 β α A



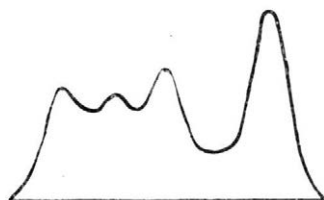
11,7 20,4 12,1 14,7 41,1

eluce : 33,6 15,0 13,8 37,6

4. Bílkovinné spektrum skotu



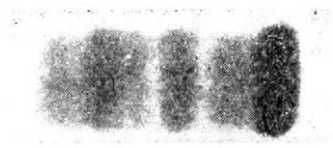
γ β α α_2 A



19,5 15,0 22,0 5,8 37,6

eluce : 22,9 17,8 25,7 34,2

5. Bílkovinné spektrum vepře



γ β_2 β_1 α_2 α_1 A



14,3 15,4 8,3 17,6 9,7 34,9

eluce : 13,2 21,4 26,7 38,7

6. Bílkovinné spektrum psa

Krevní sera psů snadno hemolysují, při čemž se zvyšuje hodnota α_2 globulinu. Při dobrém rozdělení lze zjistit až 4 α subfrakce, z nichž nejpohyblivější putuje těsně s albuminem a odpovídá α_1 frakci lidského sera. Nejsilnější alfa frakce je α_3 globulin, který odpovídá α_2 frakci lidského sera. β globuliny vykazují zřetelnou heterogenitu a lze je odlišit na β_1 a β_2 subfrakce. Frakce γ globulinů navazuje těsně na subfrakci β_2 . Tato frakce je dost široká a špatně odělitelná.

Průměrné hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera králíka v rel. %

Alb.	globuliny			
	α	β	γ	
50,4	12,9	13,9	22,8	prac. A

Krevní sera králíků vykazují silné individuální rozdíly. Podle Stürmera nelze prakticky stanovit průměrnou hodnotu bílkovinného spektra. Lze dobře odlišit dvě α , β a γ globulinovou frakci, dobře oddělitelnou od β frakce.

Průměrné hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera morčete v rel. %

Alb.	globuliny			
	α	β	γ	
49,5	27,4	8,6	14,5	prac. A



γ β α A

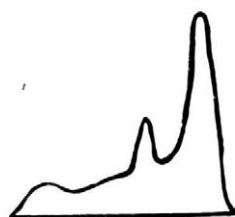


21,6 11,4 15,1 51,9

eluce : 20,7 10,4 16,0 52,9



γ β α A



15,6 8,3 27,9 48,2

eluce : 11,1 11,9 27,4 49,6

7. Bílkovinné spektrum králíka

8. Bílkovinné spektrum morčete

I. Hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera (plasmy) koně

Autor	Albuminy		Globuliny			celkové α
	μ		α_1	α_2	α_3	
Bartík M., Havassy I., Marcaník J.		38,1—44				12,1—18,4
Wittner R.		38,3				19,8
Edsall J. T.		32,1				13,8
Kutáček M., Koloušek J.	2,8	36,0				15,8
Chopard P.		40,9				18,5
Zícha B., Opplt J.		40,5				19,6
Janssen L. W.		38,0				10,0
Neuman V., Piskač A., Hruška K.		37,4				18,2
Deutsch H. F., Goodloe M. B.	0,8	29,8	8,2	12,3		20,5
Polson A.		30,0				11,0
Geinitz W.		32,4	2,9	2,4	11,7	17,0
		(28,4—36,7)	(1,9—3,9)	(1,4—3,5)	(10,1—14,5)	(15,2—20,3)
Hartmann F., Stöckel W., Zacherl M. K.		37,0				20,0
		35,5—45,5				11,2—20,8

Globuliny				Fibri- nogen	Methoda	Citace čís.
β_1	β_2	celkové β	γ			
		15,6—20,2	23,7—29,5		p. e.	42
		22,1	19,8		p. e.	43
		24,2	29,9		Tis.	44
		15,6	30,1		p. e.	45
		19,1	21,5		p. e.	39
		19,4	20,5		p. e.	46
		14,0	38,0		Tis.	18
		18,4	25,8		p. e.	47
		21,9	11,9	15,8	Tis.	28
		12,0	47,0		Tis.	48
14,1	8,9	23,0	27,5		p. e.	32
(10,4—16,6)	(4,3—11,3)	(20,7—26,3)	(25,0—30,0)			
		20,0	24,0		Ant.	49
		11,2—20,2	19,5—36,2		p. e.	50

Srovnáme-li naše výsledky s údaji uvedenými v tab. 1—7 vidíme, že hodnoty jednotlivých bílkovinných frakcí v seru téhož druhu zvířat se podle různých autorů liší. Tyto různé výsledky jsou způsobeny řadou činitelů. V prvé řadě je nutno se zmínit o nejednotnosti metodiky dělení bílkovin a speciálně o způsobu vyhodnocení elektroforeogramů. V poslední době poukázali na tyto chyby J e n c k s a spol. (30).

Nejvíce se rozcházejí výsledky získané papírovou elektroforeosou (p. e.) s výsledky jiných autorů, kteří pracovali volnou elektroforeosou (Tis.). Jelikož mezi oběma způsoby dělení krevních bílkovin existují rozdíly, nelze ani předpokládat naprostou shodu výsledků. Při použití obou metod se některé frakce plasmatických

II. Hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera (plasmy) skotu

Autor	Albuminy	Globuliny		
		α_1	α_2	celkové α
Bartík M.,	31,8			11,2
Havassy I.	38,8			14,6
Gamčík P., Sokol A.,				
Špeník M.	50,7			15,1
Chopard P.	52,4			12,5
Kutáček M., Koloušek J.	34,6			16,1
Janssen L. W.	35,0			11,0
Arendarčík I., Miklušičiak R.	29,3 – 43,6			18,5 – 22,5
Deutsch H. F., Goodloe M. B.	40,6	10,7	8,6	19,0
Hogness K. R., Giffie J. W.,				
Koenig V. L.	41,0			13,0
Stöckel W., Zacherl M. K.	33,8 – 55,7			9,3 – 21,8
Cann J. R., Brown R. A.,				
Kirkwood J. G.	43,0	3,0	13,0	16,0
Geinitz W.	44,9			13,1
	(36,7 – 53,0)			(10,8 – 16,2)
Bradish C. J., Henderson W. M.				
Brooksby J. B.	46,6			14,0
Greve	45,1			14,1

Globuliny				Fibri-nogen	Methoda	Citace čís.
β	γ_1	γ_2	celkové γ			
18,4			38,6		p. e.	
10,3			36,3		p. e. + polarogr.	51
11,6			22,6		p. e.	24
12,5			22,6		p. e.	39
10,5			38,5		p. e.	45
8,0			46		Tis.	18
15,3 – 16,9			30,2 – 34,9		p. e.	52
13,7			11,0	16,3	Tis.	23
8,2			37,8		Tis.	53
6,8 – 19,4			19,1 – 43,1		p. e. a Tis.	50
25,0			15,0		Tis.	54
12,3	8,0	7,0	29,1		p. e.	32
(9,3 – 17,2)	(7,8 – 13,3)	(13,9 – 24,2)	(21,2 – 37,7)			
8,9			30,5		Tis.	55
8,2			32,6		p. e.	56

bílkovin vyznačují různou pohyblivostí v elektrickém poli. Tak na př. fibrinogen, který se při volné elektroforesi nachází mezi beta a gama globulinovou frakcí, se při papírové elektroforesi vyznačuje jen velmi malou pohyblivostí. Obdobně je tomu i s glukoproteidem, izolovaným z hovězí krve, který při volné elektroforesi putuje s albuminem, kdežto při elektroforesi na filtračním papíře s alfa globulinem (31). Při volné elektroforesi je dále někdy obtížné oddělit alfa 1 globulin od albuminu (32). Na papíře se tyto frakce dělí lépe. Konečně u obou metod se uplatňují různé principy hodnocení. U elektroforesy na filtračním papíře se v podstatě stanovuje afinita barviva pozmeněné denaturované bílkoviny. Hodnocení volné elektroforesy záleží v principech optických.

III. Hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera (plasmy) prasete

Autor	Albuminy	Globuliny			Methoda	Citace čís.
		α	β	γ		
Sokol A., Rosocha J., Milár A.	35,4	22,6	17,8	24,2	p. e.	23
Havassy J.,	43,9	19,1	17,6	19,4	p. e. + polarografie	25
Slanina L.	44,4	20,1	16,9	18,6	p. e. + polarografie	
Chopard P.	39,2	21,9	15,6	23,3	p. e.	39
Kainrath W.,						
Stöckel W.	34,0–49,0	15,3–24,9	10,5–18,9	15,8–31,0	p. e.	57
Edsall J. T.	42,4	16,0	16,3	25,3	Tis.	44
Hill I.,						
Schumann G.	41,8–55,4	16,7–21,7	12,9–18,2	14,2–22,0	p. e.	58

Porovnáme-li naše výsledky získané vyhodnocením elektroforeogramů metodou eluční a přímé fotometrie s výsledky, které získali jiní autoři papírovou elektroforeosou, rovněž nekonstatujeme naprostou shodu. Ve většině případů se naše výsledky přibližují literárním údajům, v některých případech jsou však odchylky podstatnější. Tyto rozdíly připisujeme především metodice. Metody elektroforetického dělení plasmatických bílkovin (33, 34, 35) byly mnohými autory modifikovány. Byly měněny podmínky dělení, na př. úprava zařízení, ústoje, napětí proudu, doba dělení, druh papíru, množství analyzované látky, způsob nanášení vzorků, způsob detekce (bromfenolová modř, amidočern 10 B) a vyhodnocení. V této souvislosti odkazujeme na souborný referát Michalec-Hais (36). Je nesporné, že všechny uvedené faktory mají vliv na průběh dělení a ovlivňují výsledky. Z obr. 3–9 je patrné, že dokonce hodnoty eluční a přímé fotometrie rovněž diferují. Zásadní rozdíl mezi oběma způsoby hodnocení elektroforeogramů je v tom, že při eluční metodě se vyhodnocují extinkce měřeného roztoku, kdežto u přímé fotometrie propustnost světla filtračním papírem. Rozdílností těchto výsledků u králíčích ser se zabýval jeden z nás (37). Rozdíly ve výsledcích získaných papírovou elektroforeosou je možno vysvětlit konečně i tím, že není vždy zachováván jednotný postup označení globulínových subfrakcí. Touž subfrakci označují jedni autoři jako alfa 3 globulín, jiní jako beta 1 globulín. Stejně je tomu i při hodnocení beta a gama globulínů (32). Někteří autoři volí při tom pravděpodobně takový postup, aby výsledky papírové elektroforey co nejvíce přiblížili hodnotám volné elektroforey. K vyloučení uvedených možných metodických chyb doporučují proto někteří autoři současné nanášení notoricky normálního sera jako standardu (38).

Z našich výsledků je zřejmé, že mezi jednotlivými zvířaty téhož druhu jsou značné rozdíly. Svědčí pro to dosti široké variační rozpětí hodnot jednotlivých bílkovinných frakcí. Uplatňují se zde zřejmě plemenné rozdíly (39), vliv prostředí a to především vliv krmení, kteréžto faktory jsou dosud zcela opomíjeny. Pokusy na opicích a kryších bylo dokázáno, že deficientní krmení ovlivňuje bílkovinné spektrum krve. Při nedostatku kyseliny nikotinové dochází u opic k poklesu albuminů a ke zmožení beta globulínů. Podobně působí u kryš nedostatky cholinu (40). Tyto skutečnosti je nutno mít na zřeteli při hodnocení výsledků některých prací, které se opírají o malý počet analys. Průměrné hodnoty bílkovinných frakcí zkreslují v těchto případech reálný obraz bílkovinného spektra.

S ohledem na uvedené skutečnosti je proto obtížné kriticky hodnotit výsledky jiných autorů. Spolehlivé srovnání výsledků by bylo možné jen za předpokladu, že by byla použita do všech podrobností naprosto stejná metoda a že by byl analyzován tentýž materiál (za stejných podmínek).

Z těchto poznatků vyplývají pro praktické upotřebení elektroforetického dělení serových bílkovin na papíře některé důležité závěry.

Při hodnocení bílkovinného spektra v klinicko-laboratorní diagnostice není možno brát za základ normální hodnoty udávané různými autory. Je nutno vycházet z vlastních výsledků, protože jsou tím zaručeny stejné pracovní podmínky při určení fyziologických hodnot a při analýze krve vyšetřovaného zvířete. Fyziologické

IV. Hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera (plasmy) psa.

Autor	Albuminy	Globuliny			
		α_1	α_2	α_3	celkové α
Chopard P.	51,1				11,3
Deutsch H. F.,	39,6	16,9	8,0		24,9
Goodloe M. B.	42,2	3,0	4,2	11,3	18,5
Geinitz W.	(37,3–46,6)	(2,2–6,0)	(2,7–5,5)	(9,1–12,8)	(17,4–20,0)
Stöckel W.,	43,6	9,9	9,2		19,1
Zacherl M. K.					
Gjessing E. C.,					
Ludewig S.,					
Chanutin A.	46,0				20,0
Moore D. H.	50,0				10,0
Gjessing E. C.	51,9				14,9
Boguth W.	53,5	4,2	4,3	5,3	13,8
Freudiger U.	51,9				17,7
Muntz	44,0				26,0
Gajsniskaja	44,0				24,0
Groulade	57,9	6,4	8,2		14,6
od 6 měs. do 2 roků	59,8	2,9	6,5		9,4
do 8 let	55,2	4,5	6,8		11,3
nad 8 let	41,8	6,4	11,9		18,3

Globuliny					Fibri- nogen	Me- to- da	Cita- ce čís.	Pozn.
β_1	β_2	β_3	celkové β	γ				
			17,7	19,9			39	
			13,0	9,3	13,3	p. e.	28	
			22,3	17,0		p. e.	32	
5,7 (3,8–8,6)	8,0 (7,5–8,3)	8,6 (7,2–10,5)	(19,9–25,4)	(15,0–21,5)				
			14,3	8,8	14,5	Tis.	50	
			26,0	8,0		Tis.	60	
10,0	16,0		26,0	14,0		Tis.	61	
			28,5			Tis.	62	
3,2	4,9	12,3	20,4	12,3		p. e.	63	
			14,4	16,0		p. e.	64	
			18,9	11,1		Tis.	65	
			21,0	11,0		Tis.	66	
8,6	10,1		18,7	6,6		p. e.		do 6 més.
8,7	12,3		21,0	10,4				do 2 let
7,9	12,3		20,2	12,3				do 8 let
10,8	13,4		24,2	15,2				nad 8 let

hodnoty musí být opřeny o velký počet analys, aby bylo možné spolehlivě určit variační rozpětí jednotlivých hodnot.

Elektroforetická metoda samotná je zatížena dost velkou chybou a proto je nutno provést paralelně vždy několik analys, vyhodnocovat pouze nejlépe rozdělené vzorky a za skutečnou hodnotu vzít průměrný výsledek z několika měření.

V. Hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera (plasmy) králíka

Autor	Albuminy	Globuliny		
		α_1	α_2	celkové α
Chopard P.	62,5			10,7
Weinmann O.,				
Hammerl H.	59,3			10,2
Svensson H.	59,6			7,1
Stürmer K.	61,2			7,6
	(52,6–68,0)			(4,6–10,8)
Geinitz W.	63,2	6,5	5,9	12,4
	(57,6–69,3)	(4,8–7,5)	(4,8–8,5)	(9,0–16,0)
Deutsch H. F.,	63,3			11,5
Goodloe M. B.				
Moore D. H.	65,1			13,0
	(57,0–75,0)			(11,0–14,0)

Globuliny		Fibrinogen	Methoda	Citace čís.
β	γ			
14,8	12,0		p. e.	39
14,4	15,9		p. e.	68
12,0	21,4		Tis.	69
11,3	19,9		Ant.	70
(6,2–15,3)	(9,7–31,1)			
10,7	13,7		p. e.	32
(9,3–13,9)	(9,5–19,7)			
13,0	4,3	7,9	Tis.	28
14,3	18,8		Tis.	61
(11,0–18,0)	(10,0–27,0)			

VI. Hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera morčete

Autor	Albuminy	Globuliny			Methoda	Citace čís.
		α	β	γ		
Schermer S.	54,5	22,8	8,1	14,6	p. e.	71

Při posuzování patologických ser bude zřejmě nutno vycházet nikoli z průměrné hodnoty, ale z krajních hodnot zjištěných analysou ser většího počtu klinicky zdravých jedinců.

Pro klinika bude zvlášť významné sledování změn v bílkovinném spektru v průběhu nemoci. Tyto údaje budou dobrou pomůckou pro správné prognostické závěry a při sledování výsledků léčebného zákroku.

Při hodnocení experimentálních výsledků je nejvýhodnější a nejpřesvědčivější vycházet z elektroforeogramů téhož zvířete, sledovaného po několik dní před pokusem. Při tomto postupu se hodnotí signifikantní odchylky.

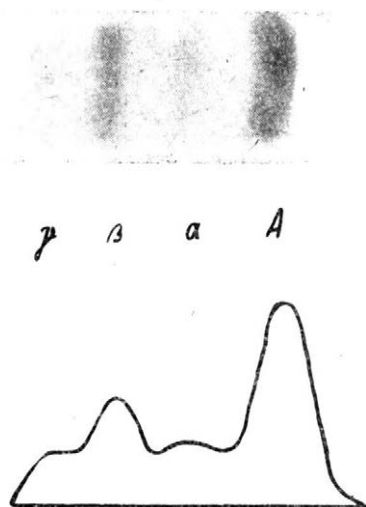
Některé naše praktické zkušenosti souvisící s technickou stránkou metody elektroforetického dělení krevních bílkovin na papíře shrnujeme takto:

Nejjednodušší úprava elektroforetického zařízení je t. zv. vlhká komora.

VII. Hodnoty bílkovinných frakcí krevního sera myši

Autor	Albuminy	Globuliny		
		α_1	α_2	α_3
Letterer E. Geinitz W.	41,0 42,9 (34,2–50,8)	6,0 4,2 (2,9–5,3)	11,0 11,0 (7,7–14,0)	5,4 (4,0–7,2)
Berg M. H., Mole P. R. Schermer S.	62,5 48,0			

Globuliny			Metoda	Citace čís.
celkové α	β	γ		
17,0	32 (β + fibr.)	11	Tis.	72
20,6 (17,2–24,8)	20,2 (15,3–24,7)	16,3 (12,6–17,8)	p. e.	32
11,3	21,4	4,7	Tis.	73
18,5	19,0	14,5	p. e.	71



12,0 24,0 19,8 44,4
eluce : 11,7 23,2 18,3 46,8

9. Bílkovinné spektrum myši

Optimální šíře rozděleného bílkovinného spektra je 6–8 cm. Kratší spektra se neshodnou odděluje v minimech, ačkoliv jednotlivé frakce jsou kontrastní; delší spektra mají příliš difusní přechody v jednotlivých frakcích. Příliš krátká spektra roztáhneme snížením napětí a prodloužením doby dělení. Zvýšením napětí spektra zkracujeme, frakce jsou kontrastní.

Vícekrát použitý ústoj lépe dělí. Střídavým přepolováním zvyšujeme životnost ústaje.

Při nasazení příliš malého množství sera se zvyšuje adsorbce albuminů podél celého spektra na papíře a tím se i zvyšují hodnoty globulinů.

Fyzikálně chemickou stránkou vlhké komory se zabývá Pučar (41).

*

Myší sera představují průměrný vzorek získaný ze 60 myší. Jak je patrné z grafického registračního záznamu, mají bílkovinná spektra myší a morčat charakteristický průběh.

V tabulkách č. I.–VII. jsou sestaveny údaje, zjištěné jednotlivými autory u téhož druhu zvířat.

Souhrn

V literárním přehledu jsou shrnuty nejdůležitější fyzikální a fyzikálně chemické vlastnosti krevních bílkovin, způsoby separace jednotlivých bílkovinných frakcí a jejich biologická funkce.

V metodické a experimentální části bylo sledováno bílkovinné spektrum některých hospodářských a laboratorních zvířat pomocí elektroforesy na filtračním papíře. Analýze byla podrobena sera 89 koní, 38 kusů skotu, 30 prasat, 74 psů, 20 králíků, 5 průměrných vzorků ser 60 myši a serum 10 morčat. Elektroforeogramy jednotlivých druhů zvířat jsou vyobrazeny na obr. 3–9, u nichž jsou uvedeny rovněž průměrné hodnoty u jednotlivých zvířat.

Získané hodnoty jsou porovnávány s literárními údaji a jsou diskutovány příčiny rozdílných výsledků různých autorů. V této souvislosti je zdůrazněno, že spolehlivé srovnání výsledků různých autorů by bylo možné jen za předpokladu, že by byla použita do všech detailů naprosto stejná metoda a že by byl analysován tentýž materiál.

Z řečeného vyplývá, že při hodnocení bílkovinného spektra nemocných zvířat je nutno vycházet z fyziologických norem stanovených touž metodou na témže pracovišti. Při tom nelze vycházet pouze z průměrných hodnot, ale z krajních hodnot, zjištěných analýsou dostatečného počtu ser zdravých jedinců. Zvláštní význam je přikládán sledování změn v bílkovinném spektru v průběhu nemoci.

Při hodnocení experimentálních výsledků je nejpřesvědčivější vycházet z elektroforeogramů téhož zvířete opakovaně vyšetřovaného po několik dní před pokusem.

Analytické chyby by bylo možno odstranit vhodnou standardizací metody, případně s použitím trvalého standardu.

Jsou shrnuty naše praktické poznatky související s technickou stránkou metody elektroforetického dělení krevních bílkovin na filtračním papíře.

*

Děkujeme s. Karlu Táchovi za pečlivé provedení obrázkových příloh.

Literatura

1. Wuhrmann F., Jasinski B.: Klin. Wschr. 33 (1957) 7. — 2. Greenberg: Amino-Acids and Proteins, 1951. — 3. Wuhrmann F., Wunderly Ch.: Die Bluteiweißkörper des Menschen, Basel 1952. — 4. Wiesner E.: Monatshefte f. Vet. Med. 17 (1954) 384. — 5. Freudinger U.: Schweiz. Arch. f. Thlk. 95 (1953) 493. — 6. Bernhold H.: cit. podle Heilmeyera L.: Lehrbuch der speziellen pathologischen Physiologie, Jena 1951. — 7. Oeff K., Rust S., Schwarcz E., Weiss H. J.: Klin. Wschr. 33 (1955) 419. — 8. Reiniš Z., Hrabáně J.: ČLČ 49 (1955) 194. — 9. Hořejší J.: ČLČ 49 (1955) 1021. — 10. Reiniš Z., Hrabáně J.: ČLČ 93 (1954) 497. — 11. Milar A., Sokol A., Milarová R.: Vet. časopis 4 (1955) 353. — 12. Fraper A. C.: Physiol. Rev. 26 (1946) 103. — 13. Zilversmit D. B.: J. Biol. Chem. 172 (1948) 647. — 14. Wolf A. D., Lang N., Knedel M.: Klin. Wschr. 33 (1955) 186. — 15. Pedersen K. O.: J. Fys. Chem. 51 (1948) 164. — 16. Kabat E. A.: J. Exp. Med. 69 (1939) 103. — 17. Tarver, Reinhart: J. Biol. Chem. 167 (1947) 395. — 18. Janssen L. W.: Elektroforetic studies on serum proteins, Amsterdam 1951. — 19. Ehrlich W. E.: Klin. Wschr. 33 (1955) 315. — 20. Fagraeus A.: Antibody production in relation to the development of plasma cells, Stockholm 1948, cit. podle Jansena. — 21. Niklas A., Maurer W.,

Krause H.: *Biochem. Z.* 325 (1954) 464. — 22. Bartík M., Havassy I.: *Vet. časopis* 4 (1955) 22; 4 (1955) 131. — 23. Sokol A., Rosocha J., Milar A.: *Vet. časopis* 4 (1955) 139. — 24. Gamčík P., Sokol A., Špeník M.: *Vet. časopis* 4 (1955) 276. — 25. Havassy I., Slanina L.: *Vet. časopis* 5 (1956) 1. — 26. Janěček A., Neuman V., Hruška K., Piskač A.: *Sborník ČSAZV: Vet. medicína* 29 (1956) 407. — 27. Laskowski M. Jr., Laskowski M.: *J. Biol. Chem.* 190 (1951) 563. — 28. Deutsch H. F., Goodloe M. B.: *J. of Biol. Chem.* 161 (1954) 1. — 29. Kutáček M., Koloušek J.: *ČLČ* 9 (1954) 16. — 30. Jencks W. P., Jetton R. M., Durrum E. L.: *Biochem. J.* 60 (1955) 205. — 31. Stary Z., Ugur A.: *Klin. Wschr.* 33 (1955) 766. — 32. Geinitz W.: *Klin. Wschr.* 32 (1954) 1108. — 33. Turba E., Enenkel H. J.: *Naturwiss.* 37 (1950) 93. — 34. Durrum E. L.: *J. Amer. Chem. Soc.* 72 (1950) 2943. — 35. Cremer H. D., Tiselius A.: *Biochem. Z.* 320 (1950) 293. — 36. Michalec Č., Hais J. M.: *Chem. listy* 47 (1953) 284. — 37. Zícha B., Kaloušová V., Marčan K., Sobotka V.: *Automatický registrační přístroj pro papírovou elektroforesu, Sborník Veter. medicína č. 2, r. 1957, str. 135-146.* — 38. Opplt J., Musil: *ČLČ* (1955) č. 45. — 39. Chopard P.: *Schweiz. Arch. f. Thkl.* 96 (1954) 252. — 40. Fischer M. A., Gavriety G. C.: *J. of Biol. Chem.* 204 (1953) 759. — 41. Pučar: *Arh. za kern.* 25 (1953) 205. — 42. Bartík M., Havassy I., Marčaník J.: *Vet. časopis* 3 (1954) 169. — 43. Wittner R. a j.: *Schweiz. Arch. f. Thkl.* 95 (1953) 419. — 44. Edsall J. T.: *Adv. Protein. Chem.* 3 (1947) 399. — 45. Kutáček M., Koloušek J.: *Sborník ČSAZV* 26 (1953) 575. — 46. Zícha B., Opplt J.: *Vet. časopis* 3 (1954) 254. — 47. Neuman V., Piskač A., Hruška K.: *Veterinářství* 1 (1956). — 48. Polson A.: *Nature* 152 (1943) 413. — 49. Hartmann F., Schäfer E. P.: *Z. Naturforsch.* 7b (1952) 88. — 50. Stöckel W., Zachere M. K.: *Z. Physiol. Chem.* 293 (1953) 278. — 51. Bartík M., Havassy I.: *Vet. časopis* 3 (1954) 270. — 52. Arendarčík I., Miklušičiak R.: *Vet. časopis* 5 (1956) 130. — 53. Hogness K. R., Giffey J. W., Koenig V. L.: *Arch. of Biochem.* 10 (1946) 281. — 54. Cann J. R., Brown R. A., Kirkwood J. G.: *J. Amer. Chem. Soc.* 71 (1949) 1609. — 55. Bradish C. J., Henderson W. M., Brooksby J. B.: *Biochem. J.* 56 (1954) 329. — 56. Greve: *Deutsche tierärztliche Wschr.* 62 (1955) 536. — 57. Kainrath W., Stöckel W.: *Wiener Tierärztliche Mschr.* 41 (1954) 140. — 58. Hill J., Schumann G.: *Tierärztl. Umschau* 8 (1953) 355. — 59. Lewis L. A., Page L. H., Gasser V.: *Amer. J. Physiol.* 161 (1950) 101. — 60. Gjessing E. C., Ludewig S., Chanutin A.: *J. of Biol. Chem.* 170 (1947) 551. — 61. Moore D. H.: *J. of Biol. Chem.* 161 (1945) 21. — 62. Gjessing E. C., Chanutin A.: *J. of Biol. Chem.* 165 (1946) 413. — 63. Boguth W.: *Naturwiss.* 40 (1953) 22. — 64. Freudiger U.: *Schweiz. Arch. f. Thkl.* 96 (1954) 469. — 65. Muntz J. A.: *Arch. of Biochem.* 23 (1949) 434. — 66. Gajsinckaja O. N.: *Biochimija* 19 (1954) 320. — 67. Groulade: *Bull. de l'Académie vétérinaire de France* 6 (1954) 335. — 68. Weimann O., Hammerl H.: *Wien. klin. Wschr.* (1953) 639. — 69. Svensson H.: *Cit. podle Geinitze W.* (32). — 70. Stürmer K.: *Z. exper. Med.* 117 (1951) 359. — 71. Schermer S.: *Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, Leipzig* 1954. — 72. Letterer E.: *Dtsch. med. Wschr.* (1950) 15. — 73. Berg M. H., Mole P. R.: *Arch. of Biochem. a. Biophysics* 31 (1951) 391.

Спектр белка некоторых хозяйственных и лабораторных животных

В обзоре литературы в сжатой форме изложены важнейшие физические и физико-химические свойства белков крови, способы определения отдельных фракций и их биологические функции.

В методической и экспериментальной части описаны спектры белков некоторых хозяйственных и лабораторных животных путем электрофореза на фильтрованной бумаге. Анализ сывороток был произведен у 89 лошадей, 38 голов рогатого скота, 30 свиней, 74 собак, 20 кроликов, 5 средних проб сывороток, 60 мышшей и сывороток, 10 морских свинок. Электрофореграммы отдельных видов животных изображены на рисунках 3—9, где указаны также средние показатели для отдельных животных.

Полученные в результате произведенных экспериментов показатели были сравнены с литературными данными и были выяснены причины различных результатов, полученных отдельными авторами. В связи с этим авторами было подчеркнуто то обстоятельство, что точное сравнение результатов отдельных авторов можно было бы провести только в том случае, если бы применялся до мельчайших подробностей одинаковый метод и подвергался анализу один и тот же материал.

Из выше изложенного вытекает, что при оценке спектра белка больных животных необходимо исходить из физиологических норм, установленных тем же самым методом на одном и том же рабочем месте. При этом нельзя базироваться только на средних показателях, а необходимо принимать в расчет крайние показатели, установленные путем анализа достаточного числа сывороток здоровых животных. Особое значение придается наблюдению за изменениями спектра белка в течение всего периода болезни.

При оценке результатов эксперимента весьма важно исходить из электрофореграммы того же животного, повторно исследованного в течение нескольких дней перед экспериментом.

Ошибки анализа можно было бы устранить путем установления подходящего стандартного метода или применением постоянного стандарта.

Albumen Spectrum of Some Farm and Laboratory Animals

This survey summarizes the most important physical and physical-chemical properties of blood albumens, the methods of separating the different albumen fractions and their biological function.

In the methodical and experimental part the albumen spectrum of some farm and laboratory animals was observed by means of electrophoresis on filter paper. An analysis was made of the serum of 89 horses, 28 head of cattle, 30 pigs, 74 dogs, 20 rabbits, 5 average samples of serum from 60 mice and serum from 10 guinea pigs. The Electrophorographs of the different kinds of animals are shown in illus. 3—9, giving at the same time the average values for the different animals.

The values obtained were compared with data given in literature on the subject and the reasons for the differences in results of the different authors were discussed. In this connection it is emphasized that a reliable comparison of the results of the different authors could be made only under the condition that absolute the same method is used, to the last detail, and that the same material is analyzed.

From what is said above it follows that evaluating the albumen spectrum of diseased animals must be based on the physiological norms established by the same method at the same place of work. At the same time the basis cannot be merely the average values, but the extreme values obtained by an analysis of a sufficient number of sera of healthy animals. Special significance is attributed to the observation of changes in the albumen spectrum during the illness.

In evaluating experimental results, the most reliable method is to use as basis the electrophorographs of the same animal, repeatedly examined over a period of several days before the experiment.

Errors in analysis could be eliminated by a standardization of method, perhaps by using a permanent standard.

Das Eiweißspektrum einiger Nutz- und Laboratoriumstiere

Die Literaturübersicht enthält eine Beschreibung der wichtigsten physikalischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften der Bluteiweißstoffe, der Separationsmethoden einzelner Eiweißfraktionen und ihrer biologischen Funktion.

Im methodischen und experimentellen Teil wurde das Eiweißspektrum mancher Nutztiere und Laboratoriumstiere mittels Elektrophorese am Filtrierpapier verfolgt. Der Analyse wurden Sera von 89 Pferden, 38 Stück Rindvieh, 30 Schweinen, 74 Hunden, 20 Kaninchen, 5 Durchschnittsproben von 60 Mäusern und das Serum von 10 Meerschweinchen unterworfen. Elektrophoreogramme einzelner Tiergattungen sind aus den Abb. 3—9 sichtbar, wo auch Durchschnittswerte einzelner Tiere angeführt sind.

Die ermittelten Werte sind mit den Literaturangaben verglichen und die Ursachen der Uneinigkeit verschiedener Autoren diskutiert. In diesem Zusammenhang wird betont, daß ein verlässlicher Vergleich der Ergebnisse verschiedener Autoren nur unter der Voraussetzung möglich wäre, wenn bis zu allen Details eine und dieselbe Methode angewendet und dasselbe Material analysiert würde.

Aus dem besagten geht hervor, daß bei der Bewertung des Eiweißspektrums kranker Tiere aus den durch dieselbe Methode und auf derselben Arbeitsstätte festgestellten physiologischen Normen ausgegangen werden muß. Dabei darf nicht von den Durchschnittswerten, sondern von den mittels Analyse genügender Anzahl gesunder Individuen festgestellten Grenzwerten ausgegangen werden. Ein besonderes Gewicht wird dem Verfolgen der Änderungen im Eiweißspektrum im Laufe der Krankheit beigemessen.

Bei der Bewertung experimenteller Ergebnisse ist es am überzeugendsten, von den Elektrophoreogrammen desselben wiederholt einige Tage vor dem Versuch untersuchten Tieres auszugehen.

Analytische Fehler könnten durch eine geeignete Methodenstandardisierung, evtl. unter Heranziehung eines Dauerstandards beseitigt werden.

Zhodnocení klinického vyšetření čepce u skotu, prováděného základními fyzikálními methodami

Оценка клинического исследования сетки у крупного рогатого скота,
проводимого основными физическими методами

Evaluation of the clinical Examination of Reticulum in Cattle performed by fun-
damental physical Methods

Bewertung der mittels physikalischer Grundmethoden durchgeführten klinischen
Untersuchung der Haube beim Rind

Dr V. KRAJSA

Z ústavu pro pathologickou fyziologii Vet. fak. VŠZL v Brně, přednosta: Prof. Dr
V. Jelinek

Úvod

Klinické vyšetření čepce u skotu přímými vyšetřovacími metodami je do dneška málo ceněno, přesto že čepce je zpravidla sídlem jednoho z nejdůležitějších patologických procesů-peritonitid různého charakteru po perforaci stěny čepce, vyvolaných cizími předměty pohlcenými potravou. Příčinou toho je nesnadný přístup k orgánu, nesnadnost vyšetření a domněnka, že nálezy, klinickým vyšetřením získané, neposkytují žádného přínosu pro diagnosu. Byť resultát vyšetření nepřinášel vedoucích diagnostických symptomů, je systematické klinické vyšetření čepce v každém diagnostickém postupu nepostradatelné, neboť přispívá do komplexního nálezu přínosem jemných doplňků, pro diagnosu a diferenciální diagnosu onemocnění zažívacího i jiných ústrojí důležitých.

Literární přehled

Potíže vyšetření spočívají již v nejasnosti o absolutně přesném uložení, velikosti a tvaru čepce za živa. Ackerknecht ještě v roce 1943 uvádí, že čepce je skoro kulovitý útvar, ležící mezi bachorem a bránicí na ventrální stěně břišní, a to tak, že průměrně 7/16 leží vlevo a 9/16 vpravo od střední linie těla. Jedná se vlastně o údaj Schmaltzův z let 1890—1895, převzatý jinými autory jako Martinem (1912—1923), Weberem (1928). Martin-Schneider (1938) opírá se již o výsledky prací Lagerlöfa z let 1929 a 1930, který prokazuje, že čepce naopak leží z větší části v levé polovině dutiny břišní. Podle něho je to útvar kulovitý, jehož přední plocha naléhá na vnitřek kopule bránice, ventrálně vpravo vybíhá ve slepý vak, který se vila-

čuje mezi játra a knihu a dosahuje podle momentálního stavu a stavu sousedních orgánů až stěny hrudní vpravo u 6. žebra a 6. mezižebřího prostoru. Ventrálně leží na spodině břišní v promítnutí chrupavky mečové sterna a přiléhá na stěnu břišní řasovým okrskem asi 10 cm širokým probíhajícím odleva doprava. Dorsální část orgánu uložena je zcela vlevo od mediální linie. Posuzováno z levé strany těla leží čepce ve výši 6.—7. event. 8. žebra, promítnut do trojúhelníka, tvořeného zadní hranicí plic, *arcus costarum* 6. a 7. žebra a 8. žebrem. Na tomto místě je čepce dosažitelný klinickým vyšetřením mimo zmíněný příčný pruh na spodině břicha. Fysiologické výkyvy tvaru a uložení dány jsou vývojem (stářím individua) a změnami poměrů v dutině břišní, na př. březostí. U narozených telat orgán je malý a uložen zcela vlevo od mediální linie. Teprve po 1. měsíci stáří počne přesahovati přes mediální linii vpravo. Velká slezina telat brání až do 4. měsíce stáří nalehnutí na stěnu břišní. V 5. měsíci počne čepce slepým vakem vnikati pod knihu a teprve v 7.—9. měsíci stáří jeho uložení blíží se tomu, jaké zaujímá v dospělosti. Pokročilou březostí je prostorově omezen v pravé polovině dutiny břišní a tlakem dělohy na knihu, která vniká pod čepce, je tlačěn vzhůru na bránici, takže sousedství s bránicí je v té době co nejtěsnější.

Motorická činnost čepce je v harmonické souvislosti s činností předsíně batorové, která tvoří funkční mezičlánek mezi batorou a čepcem. Akce čepce a předsíně batorové jsou přirovnávány k synchronní činnosti srdce (S p ö r r i). U L a g e r l ö f a podle tohoto schématu:

I. *Systola reticuli — diastola atrii ruminis:*

- a) první kontrakce čepce,
- b) krátká přestávka s bezvýznamným ochabnutím čepce a
- c) druhá maximální kontrakce čepce.

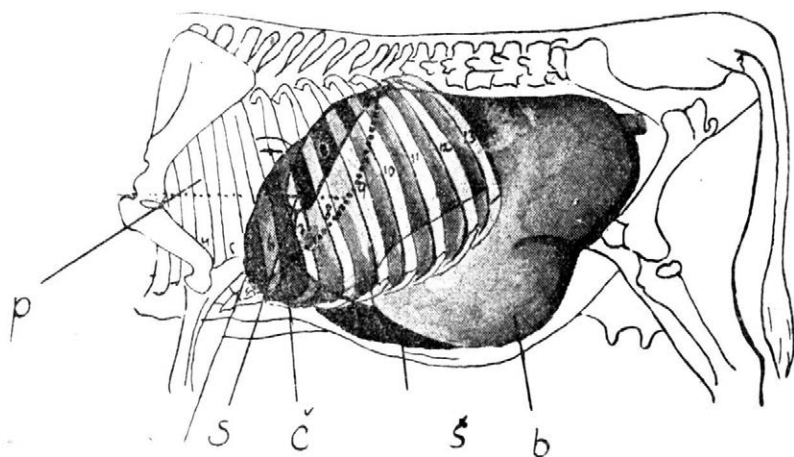
II. *Systola atrii — diastola reticuli.*

III. *Diastola reticuli — diastola atrii.*

Činností čepce a předsíně batorové jsou ingesta především provlčována. Při druhé kontrakci čepce, kdy lumen redukuje se skoro na nulu, je řídký obsah čepce s drobnými, specificky lehkými částicemi potravy vystřiknut na poměrně tuhé masu v předsíni batorové. V náhle na to ochablém čepci nastává jakési vakuum, které působí jako nassávací pumpa a spolupůsobí na to, že zředěný obsah předsíně přetéká zpět do čepce. Dochází takto k třídění obsahu batoru a čepce a k pravému odstředování, při kterém vždy řídkší obsah čepce je vystřikován na obsah předsíně jako při zahrádním postřiku. Z čepce potom jemně roztrávený obsah v době ochabnutí a klidu orgánu přetéká do knihy.

Motorická činnost čepce je dvojfázová. V první fázi nastoupí kontrakce orgánu trvajícím asi 2 *vt.* Tato kontrakce je neúplná a čepce se stáhne podle údajů L a g e r l ö f o v ý c h na $\frac{1}{2}$ — nejvýše na $\frac{2}{3}$ svého objemu. Na to následuje přibližně stejné, ba i kratší údobí klidu s bezvýznamným ochabnutím stěny čepce. V druhé fázi, která trvá 3—4 *vt.*, nastoupí tak mocná kontrakce, že čepce se stáhne skoro úplně a lumen redukuje se téměř na nulu. Doba této jedné dvojfázové kontrakce trvá v celku přibližně 6—8 *vt.* Na to se vrací čepce rychle do stavu ochabnutí a klidu, kterážto doba není stejná a je uváděna různě (30—60 *vt.*, 40—60 *vt.*, 30—70 *vt.*). Tuto dvojfázovou kontrakci a následnou přestávku do nasazení nové motorické činnosti označují R a d e f f - S t o j a n o v jako jednu revoluci činnosti orgánu a uvádějí, že revoluce čepce a revoluce dorsálního a ventrálního vaku batoru tvoří jeden komplex. Časový sled revolucí uvedených tří útvarů je takový, že čepce nasadí první kontrakci, kterou hned v zárodku stíhá kontrakce dorsálního vaku batorového. Během poloviční doby

trvání kontrakce dorsálního vaku dozní obě fáze kontrakce čepce a čepce nastoupí do klidu trvající oněch 30–40 až 60–70 *vt.*, během kteréžto doby pokračuje činnost bachoru. Po skončení první kontrakce dorsálního vaku nastoupí první fáze ventrálního vaku a dorsální vak zůstává v klidu po dobu činnosti



Topografická situace zleva

č = čepce, b = bachor, S = část slezn., p = plíce, S = slezina

ventrálního vaku a potom ještě dále, když kontrakce ventrálního vaku skončila. Nato následuje druhá obdobná fáze činnosti obou vaků a po hlavní pauze nastupuje nová motorická revoluce všech tří útvarů zahájená opět činností čepce. Podle Westera impuls k zahájení činnosti čepce vychází vlnovitě ze žlabu jícnového.

	Motoristická revoluce				Celková doba motorické revoluce ve vteř.
	I. fáze		II. fáze		
	I. kontrakce ve vteř.	Interkontr. pauza ve vt.	II. kontr. ve vteř.	Hlavní pauza ve vt.	
Dorsál. vak bachoru	11,8	10,55	7,56	26,28	56,19
Ventrál. vak bachoru	8,15	9,96	7,08	29,0	56,19
Čepec	2	1—2	3—4	48—50	56

Tabulka sestavená z hodnot registrovaných Radeff-Stojanovem a dosazená hodnotami uváděnými různými autory pro dobu jednotlivých fází motorické revoluce potvrzuje, že dvojfázové kontrakce čepce nastupují za 48 až 50 *vt.*, což odpovídá v průměru údajům Westerovým (30–60 *vt.*), nebo údajům Lagerlöfovým (40–60 *vt.*), ač tento autor rozmezí 30–70 *vt.* pokládá za hranice normální činnosti vzhledem k fyziologickým variacím.

Vlastní pozorování

Rozličné údaje autorů a nejasnost o ceně vyšetřovacích metod nabádaly nás k tomu, abychom přezkoušeli v klinickém obraze praktika vyzbrojeného pouze základními vyšetřovacími prostředky jednotlivé údaje. Naše vyšetřování měla také obhájit účinnost základních vyšetřovacích metod — poklepu, poslechu a pohmatu —, aniž by byly dotčeny doplňovací metody laboratorního vyšetření nebo t. zv. speciální diferenciatlné diagnostické fenomena, jako je na př. Kalchschmiedem aplikovaná Head-Zacharjina zona. Naše pozorování byla zahájena v roce 1940 systematickým vyšetřováním zažívacími poruchami onemocnělých zvířat a systematickým srovnávacím vyšetřováním zvířat klinicky nepodezřelých pomocí fyzikálních vyšetřovacích method. Kontrolou byly v mnoha případech pitvy vyšetřovaných zvířat, poražených pro různé afekce zažívacího ústrojí, zvláště však sledování stavů, které přináší s sebou nepříznivé působení ostrých cizích předmětů.

Klinicky bylo vyšetřeno:

Zvířat	V roce:										
	1940	1941	1942	1943	1944	1945	1946	1947	1948	1949	1950
Zdravých	321	286	227	247	119	110	157	131	155	181	99
Nemocn.	87	98	73	59	75	54	63	58	62	52	49
	V roce:										
	1951	1952	1953	1954	1955	1956	1957				
Zdravých	121	120	193	171	102	130	88				
Nemocn.	67	38	74	69	75	51	34				

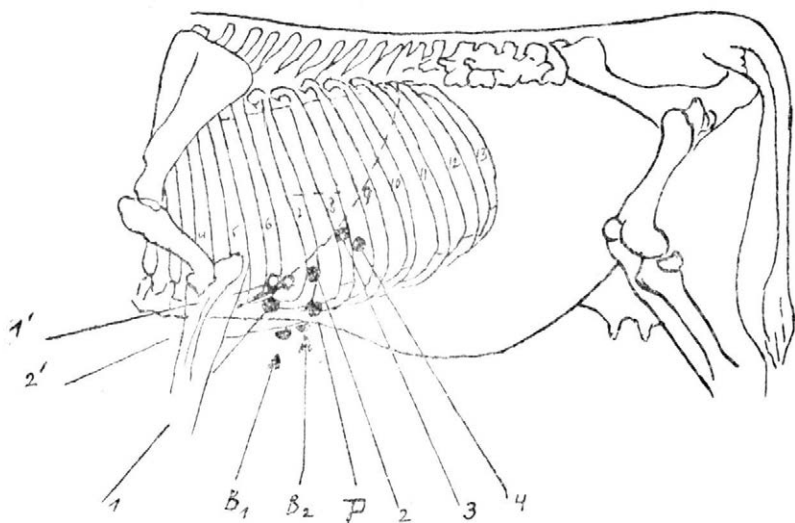
Celkem bylo vyšetřeno 2958 kusů zdravého resp. nepodezřelého skotu a 1138 zvířat onemocnělých zažívacími poruchami, nebo i jinými onemocněními vnitřní povahy. Srovnávací vyšetřování neměla jen za účel sledovati dynamickou patologii čepce, nýbrž také ostatních zažívacích ústrojí s přihlédnutím k jemnostem dosaženým variacemi použitých fyzikálních method.

Vyšetření čepce pomocí poklepu

Poklep čepce se prováděl pomocí plesimetru a poklepového kladívka nebo pomocí samotného kladívka na krajinu čepce. Zkoušeno bylo několik druhů plesimetrů, z nichž nejlépe se nám osvědčil lopatkovitý plesimetr Pflugův s vhodným držadlem a možností vtlačení kovové části do mezižeberního prostoru, méně potom obdobný plesimetr podle Seitze. U každého vyšetření bylo kontrolně používáno několik poklepových kladívek jako lehkého a středního kladívka typu Hannover a těžkého kladívka Pflugova. Výběr nástrojů a správné přiložení na vyšetřovanou krajinu jsou nemalého významu. Byly také srovnávány metoda dvojúhozu a trojúhozu kladívka na plesimetr. Osvědčil se nám lépe dvojúhoz s větším intervalem, před dvojúhozem s kratším intervalem a před trojúhozem. Rychle za sebou následující úhoz získaný vněm zkresluje, stejně tak činní zvuk získaný třetím úhozem. Tyto rozdíly nejlépe nám vynikaly, když bylo po sobě použito kladívek různé váhy a kalibru.

Pokleповé pole čepce nachází se vlevo dole za zadní hranicí plic mezi 6.—7., event. 8. žebrem, presentující se jako konvexní výběžek uvedené zadní hranice pokleповého pole plicního. Normálně pokleповý zvuk je matný ve srovnání s jasným pokleповým zvukem sousedních zdravých plic. Zadní hranice pokleповého pole čepce dá se podle našich zjištění těžko vyklepati a zůstává do jisté míry vždy neurčitá. K rozšíření pokleповého pole čepce směrem kaudálním a něco dorsokaudálním dochází v akutních případech traumatických peritonitid, jako důsledek stase potravy a přeplnění čepce, vyvolané reflexně z bolestivého peritonea. Dále dochází k rozšíření tohoto pokleповého pole při atonii a současné dilataci orgánu, způsobené narušením n. vagu, a to jeho větve pro knihu a slez s následnou funkční stenózou *ostia reticulo-omasica*. Za příčiny takových funkčních poruch uvádí Hoflund narušení vagu adhaesemi nebo abscesy v krajíně větvi vagu při traumatické peritonitis, tuberkulosně změněné mizní uzliny zadního mediastina, suchou pleuritis s adhaesemi nebo abscesy v okolí jícnu, nádorovitá a lymfadenoidní bujení s lokalizací a tlakem na vagus. Rozšíření pokleповého pole čepce může být podle Lagerlöfa event. příznakem oedemu bránice, který se v našich případech nevyskytl.

Z jakosti pokleповého zvuku snažili jsme se odhadnouti fysikální a anatomický stav čepce a jeho blízkého okolí. Za chronických traumatických změn čepce, při roz-



Místa poslechu čepce

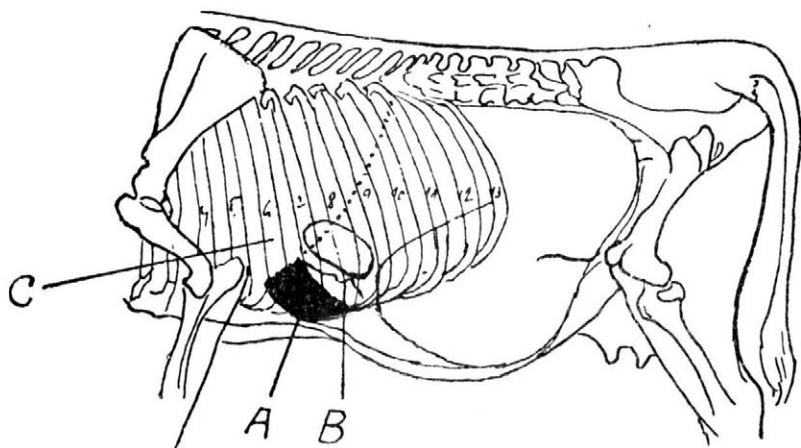
P = punctum maximum poslechu — 1, 2, 3, 4 = další místa poslechu zleva — B, B₁ = místa poslechu zleva a zprava vedle chrupavky mečové — 1, 2 = místa poslechu zprava

sáhlé tuberkulóse nebo lymfadenóse stěny čepce je zvuk prázdný a působí značný pocit odporu při poklepu. Diferenciálně vyskytuje se tento zvuk i při zánětlivých změnách stěny břišní se silným prosáknutím a nádorovitým nebo jiným bujením shodné lokalizace. Nádechem tympanickým zbarvený pokleповý zvuk nacházeli jsme při atoniích čepce s mírnou tympanií. K takovým stavům dochází podle Hoflunda při funkčních stenózách mezi knihou a čepcem při narušení obou kmenů vagu u kardie. Pokleповý zvuk je zastřen tehdy, kdy dojde k současné tympanii bachoru, třeba i mírné, při primárních motorických poruchách z krmiva. Tyto podle Stünziho vznikají za abnormální povahy žaludečního obsahu a abnormálního odbourávání součástí krmiva, kdy dochází na cestě chemické i mechanické k lokálním poruchám cirkulace, dilataci a tympanii předžaludku. Podle Marka dá se vyklepati v horní části krajiny čepce ztemnění při traumatické gastritis, s tvorbou abscesů v blízkosti stěny břišní. Tento poznatek nebyl námi získán. Babík však uvádí, že typické místo pro tvorbu abscesů je spodina čepce za srdeční krajínou vlevo a na druhém místě spodina dutiny břišní v místě, kde se stýkají bachor, čepce a kniha, vzadu od

ostia reticulo-omasica. Prímý poklep za účelem vyvolání bolestivosti volným poklepovým kladívkem doporučován je Markem Mócsym, a to z obou stran mediální linie a odtud postupně směrem vzhůru po stranách těla a postupně za zadními hranicemi poklepového pole plic. Weber praví, že tento poklep je technicky těžce proveditelný, má však po provedení diagnostickou cenu. Stejně obtížné je vyklepatí při akutním stadiu traumatické peritonitis škatulový zvuk v šířce 10–15 cm podél linea alba, kterouž metodu podle Babíka uvádí do diagnostiky škola bulharská. Obě poslední dvě metody vyžadují položení zvířata do postranní nebo i hřbetní polohy, což u skotu je záležitost celkem jednoduchá a i opatrné položení, které by nepoškodilo stávající stav pacienta, dá se provést snadno. Srovnávací vyšetřování ceny obou metod s položením do postranní — pravé — polohy, nebo do polohy hřbetní, právě zkoušíme.

Vyšetření čepce poslechem

Vyšetřování čepce poslechem vyžaduje velké trpělivosti a zacvičeného ucha. Přesto, že phonendoskop bývá sídlem vedlejších šelestů, vznikajících v rezonanční objímce, je nutné používatí tohoto nepřímého poslechu vzhledem k nepřístupnosti



A = normální poklepové pole, B = rozšířené poklepové pole s neurčitou zadní hranicí, C = ztemnění za abscesu v blízkosti stěny břišní

orgánu. V našich vyšetřováních bylo používáno řady phonendoskopů typu Bazzi-Bianchi a stethoskopů typu Götzeho a Steffana. Každý z vyšetřovacích nástrojů se nevydaří, jedny jsou příliš citlivé, jiné jsou hluché. Zaposlouchaný phonendoskop je věrným přítelem vyšetřujícího a dá to mnoho práce než vhodný nástroj najdeme a hodně času než se naše ucho s nástrojem shodne.

Podle Webera byl to Faure, který prvý poukázal na to, že při traumatické peritonitis schází normální peristaltický šelest. Proti údajům Faureho, který uváděl nutnost vyšetřovati čepce zprava, je dnes ustáleno snadnější a výhodnější vyšetření s levé strany těla, ač je proveditelné také s pravé strany. Místa dobrého poslechu jsou s levé strany 6. žebro ventrálně, 7. žebro zcela ventrálně, kde má být podle Lagerlöfa místo nejlepšího poslechu, potom 7. žebro na kostochondrálním spojení vlevo (podle Williamse na 4 palce před mléčnou jamkou), 8. žebro za hranicí plic a podle Bočarova také 8. mezižeberní prostor v nižší polovině hrudníku vlevo. Kontrakce jsou dobře slyšitelné také ventrálně pod *arcus costarum* vlevo od chrupavky mečové, ač se jedná o hůře přístupné místo. S pravé strany možno kontrakce odposlouchávat opět po straně chrupavky mečové, avšak méně zřetelně, potom také zprava zcela vespod na 6. žebro a v 6. mezižeberním prostoru, kde však poslech bývá částečně rušen činností knihy. V našich vyšetřováních osvědčilo se nejlépe místo vlevo na 7. žebro, v místě kostochondrálního spojení. Toto místo po zkušenostech pokládáme za nejvhodnější, a to proto, že je snadno v běžném klinickém postupu naleznitelné, kontrakce jsou dobře slyšitelné a toto místo je dobře přístupné.

Normálně jsou popisovány dvoufázové kontrakce čepce jako jasné glu-glu-glu. Nám se stále jevily jako blu-lu-lu-lu-lu-lululuk, asi tak jako když se přelévá voda z nádoby do nádoby. Zjišťovali jsme však současně, že zvuk nemá vždy stejný charakter a zjistili jsme, že popsáný zvuk přichází hlavně za vodnatějšího obsahu čepce. (Kontroly prováděny u jatečního skotu.) Je-li obsah sušší, zvuk má jiný charakter, slyšíme jakýsi třecí šelest, jako jakési zzzz-zz-s-zzzzssss. V případě, že obsah byl smíšen s bublinkami plynu, zjišťovali jsme zvuk s praskavým nádechem jako pt-pt-pt---pt-ptptpt-ptssss, s jakýmsi pískavým zakončením. Intervaly kontrakcí opakují se relativně pravidelně v průměru za 50 vteřin, ač rozmezí normální činnosti je 30—70 vt. Podle Westera má čepce vykonati za 5 min. 7—11 motorických akcí.

V klinické praxi je také potřeba přihlížeti k fyziologickým výkyvům. Intensita poslechu závisí především na konfiguraci hrudníku a na výživném stavu. Kontrakce jsou slaběji slyšitelné u zvířat přetučněných, jako u plemenných býků, u zvířat s vyklenutým, sudovitým hrudníkem běžným u žirafy, naopak silnější jsou slyšitelné u zvířat mléčných typů s hrudníkem ploším. Silnější činnost vykazuje čepce dobře naplněný, nikoli však přeplněný a rozšířený, a čepce zvířat mladších. Řidší revoluce podle Lagerlöfa i našich zjištění přichází u zvířat zesláblých a vyhublých (za 60—70 vt.) a u zvířat s vadným chrupem a špatnou živkací schopností. Ráno a před krmením jsou intervaly značně delší (okolo 60 vt.) a naopak po krmení zvyšuje se frekvence a intervaly se zkracují na 40—50 vt. nebo i 30—35 vt. Shodně bylo prokázáno, že intervaly jednotlivých revolucí se prodlužují v přímé závislosti s délkou doby uplynulé od krmení. Nápadně zleněná je činnost po 24hod. hladovění, avšak údaj, že po 40—48hod. hladovění ustává u zdravého zvířete veškerá zjiřitelná činnost předžaludků, nemohl býti námi potvrzen.

Za patologických stavů čepce, oslabené kontrakce jsou prvním ukazatelem úchytky od normální činnosti orgánu, za předpokladu vyloučení všech zmíněných fyziologických odchylek. Markantnější změny projevují se nejen oslabenými kontrakcemi, nýbrž také řídkou frekvencí motorických revolucí, a manifestační reakce jeví se zastavením činnosti orgánu vůbec. Takový stav nastává nejčastěji při čerstvých perforacích čepce cizím předmětem a při akutní prudké *reticulo-phrenitis*. Diagnosticky cenný a námi ověřený je Lagerlöfův postřeh v tom směru, že vyšetřující může při traumatické peritonitidě onoho stupně, kdy činnost čepce opět pozvolna nastupuje, t. j. kdy proces stává se provleklejším, sledovati za prováděného poslechu reakci pacienta na nastupující kontrakci orgánu. V takovém případě kontrakce čepce po čas svého trvání má odezvu v bolestivé reakci, jeví se jemným shrbením hřbetu, nebo i obrannou reakcí proti nezabranitelné křečové bolesti, projevované bolestivým zvedáním zadní končetiny nebo pokopnutím po břichu. Williams za důležitý příznak pokládá patologický šelest čepcové činnosti za traumatických peritonitid pravděpodobně provleklejšího druhu, ve formě chrochtavého zavrčení.

Oslabené kontrakce, řídká nebo zastavená činnost čepce objevují se také při atoniích a dilatacích čepce za poruch větvi vagu. Nejistí-li však vyšetřující činnost čepce vůbec, nemůže z tohoto momentálního stavu usuzovati hned na patologické stavy čepce a je nutno vzhledem k nesnadnosti poslechu čepce vyšetření opakovati a nálezy korigovati.

Vyšetření čepce pohmatem

Pohmatem vyšetřujeme čepce za účelem zjištění bolestivosti. Místo pohmatu, t. zv. hloubkové palpce, nachází se na spodině břišní v krajně chrupavky mečové sterna. Hloubkovou palpaci provádíme pěsti podle známé metody, kdy tlak podporujeme perovitým pohybem nohy, o kterou opíráme loket ruky, kterou vyšetřujeme. Nejlepší místo podle Bočarova i jiných leží vlevo od chrupavky mečové. Palpaci možno prováděti také z pravé strany na korespondujícím místě. Boddie doporučuje dokonce simultánní pohmat z obou stran za pomoci odborné asistence. Vyšetření palpaci je nutno prováděti trpělivě, pomalu a šetrně. Ukvapený, mocný a náhle provedený tlak má za následek reflektorické stažení stěny břišní a opakovaná palpce dá potom negativní výsledek. A výsledku možno dosáhnouti pouze vícekrát opakovanou palpaci, za rozličné síly tlaku a současného bedlivého sledování reakce ze strany pacienta. Tato jednoduchá hloubková palpce má svoji cenu, ježto vyšetřujeme čepce na onom 10 cm širokém pruhu, kterým se čepce dotýká spodiny břišní, a zjišťujeme bolest přímo na místě jejího vzniku, kdež bývá obyčejně nejintenzivnější. Pacienti reagují bolestivou odezvou, jako je sténání, uhýbání tlaku, zvedání končetiny pod břicho, neklid, vytřeštěný zrak, snaha úniku stranou nebo dopředu a zpět dozadu a pod. Avšak i méně markantní projevy reakce mají

býti postřehnuty. V 50 % bolestivá reakce ukazuje na to, že proces je lokalizován v čepci, v druhých 50 % může však být lokalizován v jiných orgánech dutiny břišní i mimo tuto, na př. na pohrudnici. K určení lokalizace procesu možno použití manévru napětí svalstva. Určitým tlakem provedeme palpací čepce a zaznamenáme jakost a sílu bolestivé odezvy. Po té necháme snížit pokud možno nejvíce hlavu vyšetřovaného zvířete dolů, čímž dosáhneme napětí svalstva. Na to vykonáme druhý stejně mocný tlak na témže místě a sledujeme, zda bolestivá reakce se zmenšila nebo vymizela, nebo trvá ve stejné intenzitě. Bořest, která má své sídlo v hloubce (játra, ledvina), zmizí nebo se sníží, kdežto bolest vycházející z povrchových vrstev (stěna břišní, pobřišnice) se nemění. Tato zkouška, stejně jako přímá palpce jako taková, má cenu pouze relativní. V mnoha případech vyzní palpce negativně i při ostrém patologickém pozitivním procesu.

Diskuse

Hodnota základními fyzikálními metodami získaných příznaků není absolutní. Zdá se však, že základní fyzikální metody vyšetření jsou neprávem a při vyšetřování čepce zvláště zatlačovány pro snadnější použití jiných nepřímých vyšetřovacích metod. Trpělivým, opakovaným, byť časově zdlouhavým vyšetřením čepce poklepem, poslechem a pohmatem můžeme získati jemné příznaky, které ukazují na lokalizaci patologického procesu i jeho charakter a které pro diagnostickou synthesesu jsou nepostradatelné. Narušený orgán (čepce) musí sám být ukazatelem příznaků, hlavně při traumatických změnách s ohledem na to, že je vybaven dvěma vrstvami křížící se svaloviny, jejichž síla obnáší 5 mm, jejichž perforace má bolestivou odezvu. Perforující předměty vyvolávají obrannou schopnost pobřišnice čepce, při čemž hojná innervace serosy, jak uvádí Stünzi, vede k bolestivé reakci rovněž. Tato bolestivá reakce má za následek vysazení motorické činnosti čepce v době perforace a těsně po ní, rovněž tak za prudké, akutní traumatické *reticulo-peritonitis*. Reflexně vyvolaná stase potravy vede k dilataci a rozšířenému poklepovému poli, byť jeho zadní hranice nedá se přesně určit. Čerstvé perforace a akutní *reticulo-peritonitidy* bývají pozitivní ve většině případů na lokální palpaci. Také při funkčních stenozách *ostia reticulo-omasica* je motorická činnost narušena, může dojít k dilataci čepce a rozšíření poklepového pole, při čemž palpce nevykáže bolestivé reakce. Nastoupí-li motorická činnost čepce po perforaci, nebo když se ostrý akutní proces stává provleklejším, je činnost čepce oslabena co do intensity, nebo intensity i frekvence. Nastupující kontrakce bývají spojeny s křečovitými projevy krátkodobé bolestivosti, které mohou být kontrolovány poslechem čepce. Rozšířené poklepové pole mluví pro event. oedem bránice. U abscesů v blízkosti stěny břišní traumatického původu popsána je možnost zjištění poklepem v hořejší části krajiny čepce. Při adhaesivních, tedy chronických peritonitidách, kdy místem perforace byl fundus, bylo námi sledováno, že jednotlivé revoluce nastávají velmi opožděně, za 70, 80, 90, 100 až 150 vt. proti průměru 50 vt. Chronické traumatické změny, produktivní procesy stěny čepce, jakož i rozsáhlé zánětlivé změny břišní stěny čepce odpovídající lokalizace, vykazují prázdny poklepový zvuk poklepového pole čepce. Z uvedeného je vidno, že i základními fyzikálními metodami je možno získati v mnoha případech cenný diagnostický materiál, který nutno uvést v soulad, a potom je potřebí tyto jednoduché diagnostické metody dále propracovávat i v synthesesu chorobného procesu uplatňovati.

Souhrn

Klinické vyšetření čepce základními fyzikálními metodami, poklepem, poslechem a pohmatem nemá být v klinické praxi opomíjeno nebo odbýváno, neboť při trpělivém a zvláště opakovaném srovnávacím vyšetření může přinést komplex jemných příznaků, mnohdy pro lokalizaci i jakost chorobných změn velmi důležitý, který má být základem škály příznaků, získaných jinými vyšetřovacími metodami a kterému vyšetřujícím má být přiřknuto v konečném hodnocení chorobného stavu objektivně odůvodněné místo. Význam vyšetření vysvitne však až v korelaci s klinickým nálezem na bachoru, knize, slezu a jiných orgánech. Metodu klinického

vyšetřování čepce fysikálními prostředky je proto nutno dále trpělivě propracovávat i vytěžit základní kameny pro diagnostiku onemocnění čepce i jiných orgánů dutiny břišní u skotu.

Literatura

1. Ackerknecht v. Ellenberger-Baum: Handbuch d. vergleichenden Anatomie d. Haustiere. Berlin 1943. — 2. Babík J.: Reticuloperitonitis traumatica z hřádiska klinického a rumenotomie. Veterinársky časopis, roč. V, č. 4, 1956. — 3. Bočarov J. A.: Častá patologija i terapije vnutrenych nezaraznyh boleznej domašnich živoťnich. Moskva 1951. — 4. Boddie G. F.: Diagnostic Methods in Veterinary medicine. Philadelphia 1953. — 5. Hoflund S.: Untersuchungen über Störungen der Funktionen d. Wiederkäuermagen durch Schädigungen des n. vagus verursacht. — Diss. Stockholm. Ref. Schw. Arch. f. Tierheilkd. 1941, H 8. — 6. Mócsy J.: Lehrb. der klinischen Diagnostik d. inner. Krankh. d. Haustiere. Jena 1956. — 7. Marek - Mócsy: Lehrbuch d. klin. Diagnostik d. inner. Krankh. d. Haustiere. Jena 1951. — 8. Martin - Schauder: Lehrb. d. Anatomie. B. III. Anatomie der Hauswiederkäuer. Stuttgart 1938. — 9. Lagerlöf N.: Untersuchungen über Typographie der Bauchorgane beim Rinde. Jena 1930. — 10. Lagerlöf N.: Kompendium i Bujatrisk klinisk Diagnostik og Obstetrisk-gynaekologisk klinisk Diagnostik. Kobenhavn 1948. — 11. Radcliff T., Stojanov Iv.: Arch. f. Tierenähr. Band 5, H. 6, 1955. — 12. Siňov A. V.: Klinická diagnostika vnutřních chorob dom. zvíř. Překl. Bratislava 1955. — 13. Spörri H.: Schw. Arch. f. Tierheilkd. Bd. XCIII, 1951. — 14. Stünzi H.: Schw. Arch. f. Tierheilkd. Bd. XCIII, 1951. — 15. Weber E.: Die klinische Untersuchung des Rindes. Berlin 1928. — 16. Weber E.: Die Krankheiten des Rindes. Berlin 1937. — 17. Wester J.: Die Physiologie u. Pathologie der Vormagen beim Rinde. Berlin 1926. — 18. Williams E. I.: Ruminoreticular Studies in Cattle. Vet. Rec. 1955.

Оценка клинического исследования сетки у крупного рогатого скота, проводимого основными физическими методами

Клиническое исследование сетки основными физическими методами, т. е. путем простукивания, выслушивания и прощупывания в клинической практике не должно упускаться из виду или проводиться недостаточно тщательно, так как при терпеливом и в особенности повторном сравнительном исследовании оно может дать комплекс тонких признаков, часто очень важных для локализации и установления качества болезненных изменений и может быть основой для шкалы признаков, полученных другими методами исследования. Этому комплексу в окончательной оценке болезненного состояния должно быть предоставлено объективно обоснованное место. Значение исследования выявится, однако, только в корреляции с клиническим диагнозом на рубце, книжке, сычуге и на других органах. Метод клинического исследования сетки физическими методами поэтому и далее необходимо терпеливо разрабатывать и извлечь основы для диагностики заболевания сетки и других органов брюшной полости у крупного рогатого скота.

Evaluation of the clinical Examination of Reticulum in Cattle performed by fundamental physical Methods

The clinical examination of reticulum by means of fundamental physical methods, i. e. percussion, auscultation and palpation, in clinical practice ought not to be neglected or trifled, because a patient and especially repeated comparative examination can bring out a complex of subtle symptoms — localization and quality of morbid changes being often very important — which ought to be a foundation of a range of symptoms, acquired by other examination methods. The examiner is to adjudge to this complex in the final evaluation of a morbid state an objectively justified place. The importance of examination becomes clear, however, only in

correlation with the clinical finding on rumen, omasum, abomasum and other organs. It is therefore necessary to continue in working up further patiently the method of the clinical examination of reticulum through physical means and bring out foundation stones for diagnostics of diseases both of reticulum and of other organs of abdominal cavity in cattle.

Bewertung der mittels physikalischer Grundmethoden durchgeführten klinischen Untersuchung der Haube beim Rind

Die klinische Untersuchung der Haube mittels physikalischer Grundmethoden — Perkussion, Auskultation und Palpation — soll in klinischer Praxis nicht unterlassen oder vernachlässigt werden, weil sie bei geduldiger und besonders wiederholter vergleichender Untersuchung einen ganzen Komplex von feinen Symptomen herausbringen kann, was manchmal für die Lokalisierung und Qualität der krankenhaften Veränderungen sehr wichtig ist und zu einer Grundlage von Symptomen-Skala führen kann, die mittels anderer Untersuchungsmethoden gewonnen wurden und deren der Untersuchende in Schlußbewertung eines krankhaften Zustandes einen objektiv begründeten Platz zuerkennen soll. Die Bedeutung der Untersuchung tritt aber schon in der Korrelation mit klinischem Befund auf dem Pansen, dem Psalter und dem Labmagen und anderen Organen zutage. Es ist daher nötig, die Methode der klinischen Untersuchung der Haube mittels physikalischer Mitteln auch weiterhin geduldig zu durcharbeiten und so die Grundsteine für Diagnostik der Erkrankung der Haube und anderer Organe der Bauchhöhle beim Rind hervorzu-
bringen.

Adipát piperazinu při askaridiose a heterakidose slepic

Адипат пиперазина при аскаридозе и гетеракидозе кур

The Treatment of Ascaridosis and Heterakidosis in Hens with Piperazine Adipate

Piperazin-Adipat bei Ascaridiosis und Heterakidosis des Geflügels

Promovaná veterinární lékařka Milena POLÁKOVÁ

CSAZV — Výzkumný ústav veterinární, oddělení výzkumu vet. léčiv, Brno,
Palackého č. 1—3, vedoucí prof. Dr. Jaroslav Lebeda

Došlo dne 14. VI. 1957

Uvod

V léčbě askaridiosis drůbeže jsou dosud používány hlavně chlorid uhličitý v dávce asi nejčastěji kolem 1—1,5 ml na kg živé váhy, nebo tetrachlorethylen 1 ml na kg živé váhy, dále u nás benzin v dávce 2 ml na kg živé váhy. Každá z těchto látek má své výhody a nevýhody. Předností chloridu uhličitého je, že kromě vysoké účinnosti, ve vhodných dávkách blízké 100 % (viz Hutýra-Marek, 22, Dorosko, 27, Baudet, 28, Horton-Smith a spol., 7), působí poměrně silněji než ostatní látky i na jiné druhy červů než askaridie (viz na př. Mozgov, 14, Sopikov, 15, Potěmkina, 16 a Mönnig, 17). Pro tento polyvalentní účinek je zaveden v SSSR jako úředně doporučený prostředek a je ve světovém měřítku dosud nejpoužívanějším prostředkem. Další jeho výhodou je, že může být podáván v želatinových kapslích (*Capsulae carboni tetrachlorati*) i ošetřovateli zvířat bez přímého zaneprázdnění veterinárního lékaře. Tetrachlorethylen má podobné vlastnosti jako CCl_4 , avšak je méně běžný. Benzin patří rovněž mezi velmi účinná askarifuga, ale jako hořlavina nemůže být vyráběn hromadně v želatinových kapslích a jeho podávání sondou či stříkačkou do volete má provádět jedině veterinární lékař, nikoliv ošetřovatel.

V poslední době je zaváděn jako anthelmintikum pro drůbež i jiné druhy hospodářských zvířat piperazin ve formě adipátu nebo citrátu, event. i jiných solí. Podle dosavadních zpráv jeví se tento přípravek nejvýhodnějším ze všech dosavadních léčiv proti škrkavkám a některým jiným červům. Jeho výhodami jsou vysoká účinnost, nepatrná toxicita a snadný způsob podávání, plně proveditelný ošetřovateli, ve formě tablet, prášku do krmiva nebo do pitné vody.

Dosologie tohoto přípravku vzhledem k potřebě vysoké účinnosti a zároveň nutné ekonomie při použití není však dosud definitivně stanovena a v literatuře nacházíme velmi rozdílné údaje, opřené zpravidla jen o pokusy na malých po-

čtech zvířat (většinou na 4—6 kusech, zřídka na 10—30 zvířatech). Proto nelze pokládat ani dosavadní výsledky naprostou většinou za spolehlivé a průkazné, ani dávky dnes doporučované za definitivní, bezpečně ověřené co do stupně účinnosti.

Úkolem naší práce bylo přezkoušet účinnost v tuzemsku vyrobeného adipátu piperazinu při askariidose a heterakidose slepic na dostatečně velkém počtu zvířat, který by zajistil spolehlivé výsledky, platné velmi přibližně i pro použití v široké praxi. Tím jsme měli poskytnout příspěvek k stanovení vhodné dávky v našich podmínkách. Tato práce popisuje výsledky zjištěné s dávkou okrouhle 0,25 g na kg živé váhy při askariidose u 34 slepic a při heterakidose u 24 slepic. Kontrola účinnosti byla prováděna nejpreciznější metodou, t. j. přímým určením počtu červů léčivem vypuzených a nevypuzených (t. j. nalezených při pitvě).

Literatura

Pokud se týče *adipátu piperazinu*, s nímž jsme pracovali, našli jsme v dostupné literatuře tyto údaje:

S l o a n a spol. (1) ve svém předběžném sdělení udává, že jediná dávka 0,1 g na kg živé váhy vypudí 73 % askariid; dávka 0,15 g na kg živé váhy má účinek 97 % a dávka 0,3 g na kg živé váhy účinek 100 %. Každá z dávek byla přezkoušena pouze na 4 slepicích. Rovněž 100 % účinek na škrkavky měla dávka 0,4 g (přezkoušeno na 10 slepicích) a dávka 0,44 g na kg živé váhy (přezkoušeno na 6 slepicích). Vzhledem k malým počtům zvířat, na nichž byly přezkoušeny jednotlivé dávky, nelze však tyto výsledky a údaje o účinnosti pokládat za spolehlivé a průkazné.

Kromě těchto pokusů provedli autoři také zkoušky, v nichž přidávali prášek *adipátu piperazinu* do suchého krmiva po 1—3 dny *ad libitum*. Dávka 1 díl *adipátu piperazinu* na 700 dílů potravy podávaná po 3 dny vypudila 94 % askariid (pokus jen u 4 slepic). Dávka 1 díl *adipátu piperazinu* na 500 dílů potravy, podávaná po 3 dny vypudila v průměru tří skupin (celkem 26 slepic) 99,5 % červů. Dávka 1 díl *adipátu piperazinu* na 350 dílů suché potravy po 1—2 dny vypudila 100 % askariid, ve vlhkém krmivu 96 % askariid (jen po 4 slepicích). Při těchto malých počtech zvířat nemohou být výsledky průkazné, kromě snad skupiny 26 slepic.

H o r t o n - S m i t h a spol. (7) zkoušel u kuřat *adipát piperazinu* v různých vzestupných dávkách s těmito výsledky: Dávka 0,075 g na kg živé váhy (u 4 kuřat) vypudila 75 % dospělých askariid, dávka 0,15 g na kg živé váhy (u 4 kuřat) vypudila 84,8 % dospělých askariid a dávka 0,2 g na kg živé váhy (u 6 kuřat) vypudila 100 % dospělých askariid. Dávka 0,3 g na kg živé váhy v jednom pokuse (u 6 kuřat) vypudila 100 % dospělých askariid, ve druhém pokuse (u 4 kuřat) vypudila 92,1 % dospělých askariid. Průměr účinnosti s dávkou 0,3 g na kg živé váhy z obou pokusů je tedy 96,05 %. Tyto nesrovnalosti procentuálních výsledků se stejnou dávkou jsou důkazem, že v obou pokusech byl použit příliš malý počet zvířat, takže výsledky byly náhodné a nepřesné. Dávky 0,4 g a 0,5 g na kg živé váhy (pro každou použito 6 kuřat) vypudily 100 % dospělých askariid. Dávka 0,6 g na kg živé váhy (u 4 kuřat) vypudila 98 % dospělých askariid. — I tyto výsledky, kde nejvyšší dávka 0,6 g na kg živé váhy vypudila méně červů (98 %) než dávka třikrát nižší (0,2 g na kg živé váhy, účinek 100 %), dokazují jasně, jak nepřesné a nespolehlivé jsou vý-

sledky tohoto autora, protože zanedbal základní zásadu experimentální medicíny, t. j. v každé skupině použít postačitelně velký počet zvířat, který podle poznatků variační statistiky může dát výsledky spolehlivé, průkazné, platné velmi přibližně i pro mnohatisícové počty zvířat, léčené v široké praxi.

B a r k e a spol. (14) uvádějí, že terapeutická dávka piperazinových přípravků pro drůbež je 0,25 g pro zvíře.

V i a n e l l o a spol. (4) uvádí, že dospělé i nedospělé askaridie drůbeže vypudí s účinkem 100% dávka 0,3–0,4 g adipátu piperazinu pro kg živé váhy. Předběžné hladovění není nutné. Dávka 5 g pro kg živé váhy působí pouze lehkou ospalost zvířat. Preparát je účinný také proti taeniím skupiny *Raillietina*.

Referát z J. Am. Vet. Med. Ass., bez autora (5) udává, že adipát piperazinu je velmi účinné anthelmintikum také proti askaridiose drůbeže v dávce 0,4 g na kg živé váhy.

Kromě těchto autorů, kteří udávají dávku adipátu piperazinu na kg živé váhy při individuálním podání, zkoušeli další badatelé použitelnost piperazinu v pitné vodě a do krmiva, t. j. k hromadným léčbám celých hejn. Tak na příklad E n i g k a spol. (10) doporučují pro drůbež zamořenou askaridiemi adipát nebo citrát piperazinu po 4 dny v dávce 2 g na 1 litr pitné vody. Tím bylo zbaveno červů 75 % zvířat, u ostatních zůstalo nepatrné zamoření. V jiném chovu obdržely slepice po 3 dny pitnou vodu se 3,5 % citrátu. U 20 % zvířat nebyly askaridie zcela vypuzeny, účinnost (EE) byla tedy 80 %. Dalších 11 kohoutků dostalo citrát piperazinu 0,3 g na kg živé váhy v měkkém krmivu; 91 % zvířat bylo odčerveno.

S citrátem ev. hydrochloridem piperazinu pracovali tyto autoři:

V o d r á ž k a a spol. (2) podával citrát piperazinu v tabletách 31 kuřatům v dávce 0,125 g na kg živé váhy *per os*. Tato dase vypudila 37,1 % askaridií a 5,7 % heterakid. Odchod červů sledován 3 dny. Zvýšená dávka 0,5 g na kg živé váhy u 10 slepic měla 100% účinnost na *A. galli*, účinek na heterakidy nezkoušen.

Tito autoři zkoušeli rovněž hydrochlorid piperazinu v tabletách *per os* na 46 kuřatech v jednorázové dávce 0,25 g na kg živé váhy s účinkem 96,8 % na askaridie a 12,7 % na heterakidy. Škrkavky byly vypuzeny do 24 hod. po aplikaci. Preparát nevyvolal žádné vedlejší příznaky.

Další skupině 17 slepic byl injikován do volete hydrochlorid piperazinu v 5% roztoku v dávce 0,125 g na kg živé váhy. Při pitvě byly zjištěny ve voletech rozsáhlé nekrotické změny, avšak i při tom byla účinnost na škrkavky 79,4 %, na heterakidy 21,9 %. Dose 0,25 g hydrochloridu piperazinu na kg živé váhy aplikovaná injekčně do volete v 5% roztoku vypudila z 19 slepic všechny askaridie (účinek 100 %) a 38,3 % heterakid. Pitva byla provedena za 120 hodin po aplikaci. Autoři uvádějí, že parenterální aplikaci nelze doporučit vzhledem k nekrotisujícímu účinku léčiva v 5% koncentraci. Pravděpodobně tím míní injekční aplikaci do volete, neboť skutečnou parenterální aplikaci (t. j. mimo zažívací trakt) u drůbeže nezkoušeli.

Therapeutický index citrátu piperazinu shledali větší než 1 : 40.

H o r t o n - S m i t h a spol. (7) zkoušel účinnost citrátu piperazinu *per os* u skupin po 4 kuřatech pro každou dsi s těmito výsledky: dávka 0,15 g na kg živé váhy vypudila 88,8 % zralých askaridií, dávky 0,3 g, 0,6 g a 1,2 g na kg živé váhy vypudila všem 100 % askaridií. Tyto výsledky však nejsou spolehlivé průkazné, vzhledem k nepatrnému počtu 4 kuřat v každé skupině, na kterých byly jednotlivé dávky vyzkoušeny.

K něž í k a spol. (18) podávali dávku citrátu piperazinu 0,5–1 g na kus, což může přibližně odpovídat 0,5 g na kg živé váhy. U 20 slepic zjistili proti askaridiím IE 99,7 %, EE 92,3 % proti heterakidose IE 44,2 %, EE 5,2 %. V méně průkazných pokusech v terénu zjistili při askaridiose EE 80 %, respektive 40 %.

Další údaje týkají se použití citrátu piperazinu v pitné vodě nebo v krmivu při hromadné léčbě bez udání dávky na kg živé váhy:

Návod pro piperazin citrát *ad us. vet.* fy Bayer (3) uvádí, že účinná dávka pro drůbež je mezi 0,3–0,5 g pro toto. Při váze drůbeže 1–2 kg by tato dávka odpovídala asi 0,25–0,5 g citrátu piperazinu na kg živé váhy. Léčivo je možno podávat buď v pitné vodě v 0,3–0,5% roztoku, nebo v měkkém krmivu vždy 0,5 g na zvíře. Při použití nižších dávek může být preparát podán ještě jednou následujícího dne nebo za 8–10 dní po první aplikaci. Dietetická příprava i projimadlo nejsou nutny, jestliže na počátku léčby není zácpa.

Příbalový leták přípravku „PIPRICIDE“ fy Burroughs Wellcome (6) uvádí pro drůbež přídavek 0,3 g citrátu piperazinu na kus do 2 zvlhčených krmných dávek v jediném dni, nebo totéž množství do vody denně po 2 dny. Tato dávka při váze zvířete 1–2 kg odpovídá 0,15–0,3 g na kg.

Bradley (8) použil citrátu piperazinu ve dvou chovech kuřat, z nichž každý rozdělil na hejno pokusné a kontrolní asi stejně početné. V prvním chovu hejno čítající přibližně 7600 kusů ve věku 8 týdnů dostávalo 8 g citrátu piperazinu pro gallon, t. j. 1,77 g na 1 litr pitné vody po dobu 60 hodin. Při zabití vzorku 50 zvířat nalezeno celkem 12 nedospělých nevypuzených škrkavek, dospělé žádné. U stejného počtu zvířat z kontrolní skupiny nalezeno dohromady 121 škrkavek nedospělých a 341 dospělých.

V druhém chovu hejno čítající 8900 zvířat, stáří 6 týdnů, dostávalo v jednom gallonu 6 g, t. j. v 1 litru pitné vody 1,33 g citrátu piperazinu po 24 hodiny. Po zabití vzorku 200 kusů zvířat nalezeno u všech dohromady 170 škrkavek nedospělých a 28 dospělých. U stejného počtu zabitých kuřat z kontrolní skupiny nalezeno 506 nedospělých a 488 dospělých škrkavek. Spotřeba vody i krmiva nebyla ovlivněna. Autor uvádí, že pro praxi bude výhodné podávat piperazin ve vodě, protože nemocná kuřata spíše přijímají vodu než potravu. Bude však žádoucí z pracovních důvodů předkládat lék ve vodě jen po 24 hodin, a výzkumem určit koncentraci, která při této době podávání bude nutná pro dosažení vyhovujícího účinku.

Shumard a spol. (9) infikoval uměle vajíčky *A. galli* skupiny po 8 kuřatech. Za 50 dní po poslední dávce vajíček podal citrát piperazinu v pitné vodě, předložené zvířatům po 24 hodin, s tímto výsledkem (procenta udávající nález červů při pitvě vzhledem ke kontrolní skupině):

Po dávce 2 g na gallon (= 0,44 g na 1 litr) pitné vody bylo zamoření u pokusné skupiny nižší o 82,4 % než u skupiny kontrolní. Po dávce 1 g na gallon (= 0,22 g na 1 litr) pitné vody bylo zamoření u pokusné skupiny nižší o 74,8 % než u kontrolní skupiny. Po dávce 0,5 g na gallon (= 0,11 g na 1 litr) byl nalezen u pokusné skupiny počet červů o 38,5 % nižší než u skupiny kontrolní.

K těmto výsledkům nutno podotknout, že jsou naprosto neprůkazné, protože stupeň zamoření ve skupinách po 8 kuřatech může být tak rozdílný, že nelze vyjadřovat zamořenost pokusných skupin ve vztahu ke skupině kontrolní.

V jiném pokusu autor infikoval vajíčky *A. galli* skupiny po 10 kuřatech a podával jim citrát piperazinu v pitné vodě. V práci neuvádí, jak dlouho byl

I. Přehled účinnosti jednotlivých dávek různých solí piperazinu na askaridie a heterakidy u drůbeže podle různých autorů

Autor :	Sůl piperazinu	Způsob aplikace	Počet zvířat	Dávka pro kg ž. v. v g	Počet aplikací	Účinnost % na	
						askar.	heter.
Horton—Smith a sp. (7)	adipát	<i>per os</i>	4	0,075	1	75	—
Sloan a sp. (1)	adipát	<i>per os</i>	4	0,1	1	73	—
Vodrážka a sp. (2)	citrát	<i>per os</i>	31	0,125	1	37,1	5,7
Vodrážka a sp. (2)	hydrochlorid 5%*)	inj. do volete	17	0,125	1	79,4	21,9
Sloan a sp. (1)	adipát	<i>per os</i>	4	0,15	1	97	—
Leták fy Burroughs Wellcome, London (6)	citrát	<i>per os</i>	—	0,15	1	—	—
Horton—Smith a sp. (7)	adipát	<i>per os</i>	4	0,15	1	84,8	—
Horton—Smith a sp. (7)	citrát	<i>per os</i>	4	0,15	1	88,8	—
Horton—Smith a sp. (7)	adipát	<i>per os</i>	6	0,2	1	100	—
Prospekt fy Bayer (3)	citrát	<i>per os</i>	—	0,25	1—2	—	—
Vodrážka a sp. (2)	hydrochlorid (tbl)*)	<i>per os</i>	46	0,25	1	96,8	12,7
Vodrážka a sp. (2)	hydrochlorid 5%*)	inj. do volete	19	0,25	1	100	38,3
Poláková	adipát	<i>per os</i>	34	0,25	1	78,23	23,20
			24	0,25	1		
Leták fy Burroughs Wellcome, London (6)	citrát	<i>per os</i>	—	0,3	1	—	—
Sloan a sp. (1)	adipát	<i>per os</i>	4	0,3	1	100	—
Horton—Smith a sp. (7)	adipát	<i>per os</i>	4	0,3	1	92,1	—
Horton—Smith a sp. (7)	adipát	<i>per os</i>	6	0,3	1	100	—
Horton—Smith a sp. (7)	citrát	<i>per os</i>	4	0,3	1	100	—
Vianello a sp. (4)	adipát	<i>per os</i>	—	0,3—0,4	1	100	—
Ref. z JAVMA bez autora (5)	adipát	<i>per os</i>	—	0,4	1	—	—
Horton—Smith a sp. (7)	adipát	<i>per os</i>	6	0,4	1	100	—
Sloan a sp. (1)	adipát	<i>per os</i>	10	0,4	1	100	—
Sloan a sp. (1)	adipát	<i>per os</i>	6	0,44	1	100	—
Vodrážka a sp. (2)	citrát	<i>per os</i>	10	0,5	1	100	—
Prospekt fy Bayer (3)	citrát	<i>per os</i>	—	0,5	1—2	—	—
Horton—Smith a sp. (7)	adipát	<i>per os</i>	6	0,5	1	100	—
Kněžík a sp. (18)	citrát	<i>per os</i>	20	0,5	1	99,7	44,2
Horton—Smith a sp. (7)	adipát	<i>per os</i>	4	0,6	1	98	—
Horton—Smith a sp. (7)	citrát	<i>per os</i>	4	0,6	1	100	—
Horton—Smith a sp. (7)	citrát	<i>per os</i>	4	1,2	1	100	—

*) Hydrochlorid piperazinu zařazujeme do tabulky podle váhové dávky. Vzhledem k tomu, že obsahuje přibližně dvojnásobně base piperazinu (72 %) než adipát (37 %) nebo citrát (30,9 %, resp. tripiperazin dicitrát Bayer 40,5 %), je nutno účinek určité dávky hydrochloridu srovnávat s účinkem asi dvojnásobné dávky adipátu nebo citrátu.

piperazin aplikován a jaký byl časový vztah aplikace piperazinu s umělou infekcí. U kontrolní skupiny při pitvě provedené za 50 dní po úvodní infekci vajíčky nalezl na jedno kuře průměrně 1,3 dospělých a 6,2 nedospělých škrkavek. U skupiny, která dostávala 2 g na gallon (= 0,44 g na litr), nebyly nalezeny žádné zralé škrkavky a 0,1 nedospělých průměrně na kus. — U skupiny s dávkou 1 g na gallon (= 0,22 g na litr), nebyly rovněž nalezeny žádné dospělé škrkavky a průměrně 0,25 nedospělých škrkavek na kuře. Z toho autor uzavírá, že preventivní podávání citrátu piperazinu v pitné vodě je vysoce účinné v prevenci askaridiosis u drůbeže.

V jiné své práci S h u m a r d a spol. (12) podávali citrát piperazinu v koncentraci 8 g na gallon (t. j. 1,77 g na litr) pitné vody 3 slepicím po jeden den, třem po 2 dny, třem po 3 dny a 3 slepicím po 4 dny. Jedna slepice dostávala 16 g citrátu piperazinu na gallon (t. j. 3,55 g na litr) pitné vody po 4 dny. Odchod červů nesledován. Všechny slepice byly zabity 7 den a nenalezeny u nich žádné askaridie. Rovněž u jedné kontroly bez piperazinu nenalezena žádná askaridie, u druhé kontroly zjištěno 8 červů.

Heterakidy nalezeny u jedné slepice, která dostávala piperazin po jeden den, u všech tří slepic, které jej dostávaly po 2 dny, u žádné ze tří, které její dostávaly 3 dny a u jedné, která přijímala piperazin po 4 dny. Slepice, která dostávala 16 g na gallon (t. j. 3,55 g na litr) pitné vody, neměla heterakid. Obě kontroly měly heterakidy.

V dalším pokusu 750 slepic bylo napájeno roztokem 10 g citrátu piperazinu v 1 gallonu (t. j. 2,22 g v litru) pitné vody po dobu 3 dnů. Byl pozorován silný odchod škrkavek. Za 5 dnů byly 2 slepice zabity, nález askaridií a heterakid byl negativní. Dalších 12 slepic pitváno za 15 dní, všechny byly bez askaridií a 7 z nich mělo heterakidy. Z těchto pokusů autor uzavírá, že léčba se všemi dávkami byla 100% účinná. Je ovšem jasné, že vzhledem k nepatrným počtům zvířat nemohou být tyto výsledky věrohodné.

V tabulce I jsme sestavili přehled dosud zkoušených nebo doporučených dávek různých solí piperazinu, zjištěné účinnosti a počtu použitých zvířat. Ukazuje v celku vysokou účinnost těchto sloučenin, ale počty použitých zvířat jsou většinou nepatrné a nepostačitelé.

Metodika

Slepice (leghornky a koroptví vlašky) pro naše pokusy byly odebírány vesměs z chovů, které byly příslušnými veterinárními lékaři označeny jako silně zamořené, nebo ve kterých došlo k uhynutí jednotlivých slepic a při pitvě zjištěno, že jejich střeva byla přeplněna askaridiemi. Na základě těchto hlášení vybrali jsme pak v příslušných chovech zvířata ve špatném zdravotním a výživném stavu, s pozitivním koprologickým nálezem vajíček škrkavek, resp. heterakid. Takto vyhledané slepice byly převezeny do laboratoře, umístěny po jedné v kleci s drátěným dnem, jímž propadávaly výkaly na skleněnou desku. Adipát piperazinu námi použitý měl formu jemného krystalického prášku. Byl podáván bez předchozí hladovky v dávce okrouhle 0,25 g na 1 kg ž. v. per os, uhněten s chlebovou střídou do formy vejčitých pilulek. Léčivo bylo aplikováno vždy odpoledne kolem 14.—15. hodiny. První kontrola počtu vypuzených červů provedena příštího dne brzy ráno, t. j. za 16 hodin po podání léčiva. Další počítání červů prováděno vždy za 24 hodin každého dne ráno. Za 88—112 hodin po podání (t. j. za 4—5 dní) adipátu piperazinu byly slepice zabity a spočítány askaridie a heterakidy, které zůstaly ve střevech. Tím byla zjištěna účinnost léku, kterou v tabulkách vyjadřujeme jednak počtem červů vypuzených, jednak počtem červů nalezených při pitvě. Dále pak vyjadřujeme účinnost podle S k r j a b i n a (19) pojmem IE, t. j. intensefektivnost, čímž se rozumí procento

červů lékem vypuzených, ze všech červů, kteří v den léčby byli přítomni v zažívadlech. Dalším způsobem, kterým vyjadřujeme účinnost, je EE, t. j. extensefektivnost, což znamená procento zvířat lékem úplně zbavených červů.

Pokusy, které zde popisujeme, provedli jsme z podnětu Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii v Praze, v němž byl připraven adipát piperazinu, s nímž jsme pracovali. Přípravek byl oddělení odevzdán Dr. H o c h e m. Práci vedl profesor

II. Dávka okrouhle 0,25 g pro 1 kg ž. v.

Slepice poř. číslo	Váha v kg	Dávka v g pro toto	Vypuzeno celkem:		Při pitvě nalezeno:	
			askar.	heter.	askaridií	heterakid
1	0,85	0,25	4	—	0	neurčeno
2	1,01	0,25	14	0	0	0
3	0,84	0,25	1	0	0	0
4	1,19	0,25	1	129*)	0	neurčeno
5	1,37	0,37	3	8*)	0	neurčeno
6	0,85	0,25	6	0	0	neurčeno
7	1,45	0,37	9	0	0	neurčeno
8	1,02	0,25	6	0	1	neurčeno
9	1,—	0,25	3	29*)	0	neurčeno
10	1,05	0,25	1	4*)	0	neurčeno
11	0,78	0,25	5	21	0	0
12♂	1,73	0,37	15	0	0	16
13	1,15	0,25	9	0	0	5
14	1,37	0,37	2	58	1	41
15	1,75	0,37	1	0	0	0
16	1,39	0,37	1	25	0	0
17	1,74	0,37	7	0	0	0
18	1,38	0,37	1	11	0	0
19	1,58	0,37	1	0	0	0
20	1,55	0,37	2	8	0	0
21♂	1,98	0,50	8	0	0	0
22	0,98	0,25	17	0	0	245
23	1,23	0,25	1	0	0	3
24	1,10	0,25	4	6	0	0
25	1,49	0,37	1	0	0	0
26	1,25	0,25	1	18	10	22
27	2,42	0,62	10	5	29	82
28	1,29	0,37	1	25	0	4
29	1,68	0,37	1	0	0	218
30	1,56	0,37	1	0	0	2
31	1,20	0,25	1	0	0	3
32	1,22	0,25	8	0	0	0
33	1,34	0,37	5	1	0	39
34	1,65	0,37	0	58	1	2
35	1,50	0,37	0	0	0	2
36	1,41	0,37	0	0	0	8
37	1,57	0,37	0	0	0	1
38	1,64	0,37	0	0	0	72
39	1,51	0,37	0	0	0	3
40	1,56	0,37	0	0	0	14
Celkem:			151	236	42	782

*) Nezahrnuto do celkového součtu, protože nebyl určen počet heterakid při pitvě.

Dávka okrouhle 0,25 g adipátu piperazinu pro 1 kg ž. v. (pro váhy od 0,78 kg
Slepice pozorovány po dobu 88 až 112

Účinek:	Počet slepic:	Vypuzeno celkem:	
		askaridií	heterakid
Typický	32	140	213
	22		
Atypický	2	11	23
Celkem typický a atypický	34	151	236
	24		

Lebduška. Účelem pokusu bylo ověřiti účinnost tohoto domácího přípravku a vyhledati nejvhodnější dávku. Po prostudování literatury a s ohledem na ekonomii léčby zvolili jsme střední dávku okrouhle 0,25 g na 1 kg ž. v. V době, kdy jsme naše pokusy započali, bylo ve světové literatuře referováno o zkouškách s adipátem piperazinu jen na malých počtech slepic. Proto číselné výsledky -- jak je patrné z oddílu „Literatura“ -- byly kolísavé, do značné míry náhodné a nemohly být spolehlivým vodítkem pro volbu dávky, vyhovující účinkem při použití na velkých počtech drůbeže v praxi. Vcelku však ukazovaly vysokou účinnost přípravku, i když číselná vyjádření účinnosti nemohla býti obecně platná. V době našich pokusů nebyl u nás adipát piperazinu jinde k dispozici a nebyl u nás zkoušen. Jak se ukázalo z publikací vyšlých během našich pokusů, zkoušel ještě před námi *Vodrážka* a sp. (2) jiné soli piperazinu, totiž citrát a hydrochlorid.

Výsledky pokusů

Účinnost adipátu piperazinu na askaridie a heterakidy jsme přezkoušeli celkem u 40 slepic (viz tab. II). Vliv dávky adipátu piperazinu 0,25 g na 1 kg ž. v. na askaridie byl zjišťován u 34 slepic, vliv na invasi heterakid u 24 slepic. Tyto nestejně počty zvířat vznikly jednak tím, že některé slepice byly zamořeny askaridiemi a neměly heterakidy anebo naopak, jednak tím, že u 8 slepic nebyl počet heterakid určen při pitvě následkem technické nehody. Z tabulky II, která je přehledem námi provedených pokusů, je patrné, že i v zamořených chovech, kde několik slepic uhynie následkem těžké invase škrkavek, bývá zpravidla naprostá většina zvířat zamořena askaridiemi jen nepatrně.

Výsledky pokusu byly tyto:

Účinnost adipátu piperazinu při askaridiose: Ze 34 použitých slepic bylo vypuzeno celkem 151 škrkavek, při pitvě nalezeno 42. Účinnost, měřená intenzefektivností IE byla tedy 78,23 %. Zcela bylo odčerveno (EE) 85,29 % zvířat.

Tento konečný výsledek je u celkového počtu zvířat použitých v našem pokuse složen ze dvou jasně odlišných dílčích výsledků (viz tabulku III). U počtu 32 slepic bylo vypuzeno celkem 140 askaridií, při pitvě nalezeny 3, účinnost IE byla tedy vysoká, 97,83 %. Celkem bylo úplně zbaveno škrkavek (EE) 90,62 % slepic. U dvou slepic byl však účinek atypický, vypuzeno bylo jen 11 askaridií, při pitvě zjištěno 39 škrkavek. Účinnost, t. j. intenzefektivnost byla zde tedy velmi nízká, jen 22 %. Žádná z obou slepic nebyla úplně zbavena červů. Tento atypický účinek nebyl způsoben žádným technickým nedostatkem, jako na př. nepožítím celé léčebné dose, špatným propočtením dávky pro 1 kg nebo jiným nedopatřením. Všechny okolnosti provedení pokusu byly zcela normální. Případ ukazuje, že u některých slepic z ne-

tabulka

do 1,25 kg — 0,25 g, pro váhy od 1,29 kg do 1,75 kg — 0,37 g).
hodin, pak provedena pitva.

	Při pitvě nalezeno:		Askaridie:		Heterakidy:	
	askaridii	heterakid	IE v %	EE v %	IE v %	EE v %
3		678	97,83	90,62	23,90	22,72
39		104	22,00	0	18,11	0
42		782	78,23	85,29	23,20	20,83

známých příčin může být účinek mnohem nižší než u naprosté většiny ostatních zvířat. Jeden z těchto výjimečných případů se projevil u slepice mající 39 škrkavek, druhý při počtu 11 škrkavek. První případ byl největším počtem červů v našem pokusu. Druhé selhání bylo u slepice s 11 škrkavkami, ač ve dvou jiných případech se 17 resp. 15 askaridiemi byl účinek 100 %. Nelze tedy prozatím soudit, že by výjimečně nízký účinek dávky 0,25 g na 1 kg ž. v. byl vázán na velký počet červů, ačkoliv tuto možnost nelze zcela vyloučit. V každém případě je však toto pozorování důkazem, že zkoušení anthelmintik je nutno provádět na statisticky počitatelném počtu zvířat, aby byly zachyceny i úchytky, které se v praxi rovněž vyskytnou a byly by příčinou opětného zamoření chovu. Dalším závěrem je, že dávka 0,25 g na 1 kg ž. v. nestačí k vypuzení téměř všech škrkavek u naprosto všech slepic a že bude nutno používat vyšších dávek. Maximální odchod askaridií (138 červů, t. j. 91 %) byl do 16.—17. hodiny po podání léku. Později odcházely jen ojedinělé škrkavky, a to mezi 16. a 40. hodinou 10 askaridií, mezi 40. a 64. hodinou odešly jen z jedné slepice 3 škrkavky.

Vliv adipátu piperazinu na invazi heterakid byl zjišťován u 24 slepic stejnou metodou jako u *A. galli* (viz tab. II a III). Celkem bylo vypuzeno 236 červů, při pitvě nalezeno 782, účinnost (IE) byla tedy 23,20 %. Úplně bylo zbaveno heterakid 20,83 % zvířat. Heterakidy odcházely nepravidelně během celé doby pozorování, až do 88 hodin od podání.

Zajímalo nás, jaké předpoklady pro odchod heterakid a pro působení léčiv ve slepých střevech poskytují normální fyziologické funkce slepého střeva. Vacek (23) k tomu uvádí, že slepá střeva ptáků jsou uložena svým koncem kranálně a jejich plnění je tedy ztíženo. Obsah tenkého střeva se dostává do slepých střev, podle jedné z badatelů, nasávacími červovitými pohyby slepých střev a peristaltikou dále ke hrotu, podle názoru druhých pak tím, že svraček uložený na počátku tlustého střeva u ústí slepých střev se smrští, zamezí tak průchod obsahu do zadního oddílu a přinutí jej, aby proudil do slepých střev. Tento způsob plnění se slepých střev je pravděpodobnější. Obě slepá střeva nebývají vždy stejně naplněna. Ve slepých střevech se obsah zdržuje delší dobu a proto bývá řidší, jemnější a silně páchne po hnilobných zplodinách. Ze slepých střev ptáků odchází obsah peristaltickými pohyby, a to ne plynule, nýbrž čas od času najednou ve větším množství. Odchod obsahu slepých střev bývá zpravidla v době ranní a lze jej dobře zjistit podle povahy výkalů. Ve stejném smyslu vyznívají i citáty, které uvádí Ohmes (26).

Z těchto fyziologických poměrů lze nepochybně vysvětlit těžkou ovlivnitelnost heterakid léčivem při jednorázové dávce. Není záruky, že léčivo se dostane do slepých střev a že během jeho účinku — který je u piperazinu přechodný, narkotický (viz Standen — 24, Goodwin a sp. — 31, Horton-Smith a sp. — 7, Poynter — 30) — dojde k vypuzení obsahu slepých střev i s dočasně narkotizovanými červy. Z toho by vyplývala potřeba, podávat léčivo delší dobu, jestliže by šlo hlavně o vypuzení *Heterakis gallinae*. Ke stejnému závěru došel také Ohmes (26), který

udává, že *caecum* se zřídka plní a vyprazdňuje, takže léky, které rychle projdou střevem, sotva přijdou do slepých střev. Lék by musel být podáván více dní s potravou, aby měl vůbec naději, že pronikne do *caeca* k parazitům.

U piperazinu je dána možnost delší aplikace v potravě nebo v pitné vodě bez obtíží, a proto naše další pokusy zaměříme i tímto směrem. Jinou cestou účinné léčby heterakidosy by mohlo být podávání piperazinu v roztoku *per rectum*. Tento způsob aplikace chloridu uhličitého poskytuje vedle fenothiazinu dosud pravděpodobně nejlepší výsledky a je v literatuře doporučován (Mozgov — 14, Sopikov — 15, Skrjabin — 25, Potěmkina — 16).

U jedné slepice při pitvě nalezena jedna tasemnice druhu *Raillietina echinobothrida*. Odchod tasemnic během pokusu nebyl zjištěn.

V našich pokusech byl odchod červů ve *faeces* sledován po dobu 88—112 hodin při jedné prohlídce denně. Pak byla zvířata zabita a provedena pitva. Při pitvě byly nalezeny u 25 slepic na sliznici střevní ojedinělé petechie v části až v celém průběhu střev. 15 slepic však nemělo žádné petechie. Nelze s určitostí rozhodnouti, zda byly drobné výlevy krevní způsobeny léčivem. I kdyby tomu tak bylo, neměly by zdravotního významu, neboť celkový stav slepic, apetit i zažívání byly po celou dobu pozorování stejné, jako před pokusem.

Diskuse

Dosavadní stav: Z prací dosud uveřejněných vyplývá vcelku vysoká účinnost solí piperazinu. Není z nich však jasno, která dávka je pro praxi nejvhodnější, což je stěžejní ekonomickou otázkou pro obecné používání a zavedení léčiva velmi účinného, aplikovatelného s minimální prací, hromadně použitelného, nejedovatého a bezpečného, ale poměrně dosti drahého. Dosavadní údaje o účinnosti různých dávek se z části značně liší. Tak na př. stejná účinnost 97—98 % byla v jednom zjištěna po dávce 0,15 g pro 1 kg ž. v. (Sloan — 1), jindy až po dávce čtyřnásobné, t. j. 0,6 g pro 1 kg ž. v. (Horton - Smith a sp. — 7). Hospodářsky není však lhostejno, zda se spotřebuje v celostátním měřítku čtyřnásobné množství léčiva za čtyřnásobné náklady. Příčinou těchto rozdílů ve výsledcích je — jak vysvitne z podrobného rozboru a zhodnocení dosavadních prací — nepochybně malý počet zvířat použitých k ověření účinnosti jednotlivých dávek různých sloučenin. V 16 případech byly použité dávky přezkoušeny jen na naprosto nedostatečném počtu 4—6 zvířat, v 5 případech na rovněž ne zcela postačitém počtu 10—20 zvířat, a pouze ve dvou případech (Vodrážka a sp. — 2) na vyhovujícím počtu 31 a 46 zvířat.

Jak uvádějí variačně statistická pravidla (viz na př. Burn — 21, Kocková - Kratochvilová — 20 a j.), musí být použito nejméně 30 zvířat v jedné skupině, ověřující jednu dávku, aby zjištěné výsledky byly spolehlivé, průkazné, platné i pro použití na velkých počtech zvířat v široké praxi. Výsledky nalezené ve skupině 30 zvířat se podstatně nemění, i když jsou ověřovány na velmi početném materiálu — na př. při praktickém používání — ač nepodstatné změny a další zpřesnění jsou pravidlem.

Pro zpravidla malé počty použitých zvířat nelze pokládati účinnost dosud zkoušených dávek za bezpečně ověřenu. Z tabulky I. vyplývá, že prakticky snad ještě přijatelnou účinnost nejméně 90 % IE by měly dávky od 0,2 g do 0,6 g adipátu nebo citrátu piperazinu na 1 kg ž. v. To ovšem je příliš široké rozmezí, než aby bylo možno odpovědně doporučit praxi kteroukoliv dávku v jeho rozsahu bez spolehlivého ověření. Hydrochlorid piperazinu sotva přichází v úvahu pro zavedení do léčby. Podle Leipera (11) ztekucuje, pravděpodobně proto není nikde používán pro účely praxe a Vodrážka (2) zjistil, že jeho 5 % roztok vstříknutý do volete vyvolává rozsáhlé nekrotické změny. Do léčby humánní nebo veterinární je zaveden v zahraničí hlavně adipát nebo citrát piperazinu. Podle Daviese a sp. (29) má adipát tyto hlavní přednosti před hydrátem a jinými lépe rozpustnými solemi (mezi které patří i citrát): Zřetelně vyšší anthelmintická účinnost než u ekvivalentní dávky hydrátu; žádné vedlejší účinky při klinickém použití; stálost při uchovávání; vysoký obsah piperazinu; příjemná nakyslá chuť a žádný zápach. Podle téhož autora je adipát rozpustný ve vodě při teplotě světlice do asi 5 %, a roztoky do 4,6 % mají pH 5,45 při 25° C. Ze všech těchto důvodů jeví se zavedení adipátu nejučinnějším a bylo úkolem naší práce přezkoušet, která nejnižší a tudíž ekonomicky co nejvýhodnější dávka by měla anthelmintickou účinnost vyhovující potřebám praxe. Zvolili jsme dávku 0,25 g na 1 kg ž. v., která u adipátu dosud zkoušena nebyla. U dávek v rozsahu 0,2—0,6 g adipátu pro 1 kg ž. v. byla na nepatrných počtech 4—6

slepíc zjištěna účinnost 92—100 %. U dávky 0,25 g hydrochloridu piperazinu na 1 kg ž. v. zjistil V o d r á ž k a a sp. (2) v pokusech, které jsme v době našich pokusů ještě neznali, na 46 kuřatech účinek 96,8—100 % na askaridie a 12,7—38,3 % na heterakidy. Protože ale hydrochlorid piperazinu obsahuje přibližně dvojnásobně base piperazinu proti adipátu (72 % proti 37 %), dával V o d r á ž k a ve skutečnosti dvakrát větší dávku base piperazinu ve stejné dávce 0,25 g užitě sloučeniny. Tím si lze vysvětliti poměrně silný účinek hydrochloridu v jeho pokusech. Účinnost adipátu piperazinu s obsahem 37 % base piperazinu mohli bychom srovnávat spíše s citrátem, který obsahuje 30,9 % base piperazinu (resp. tripiperazin dicitrát Bayer 40,5 %). Účinnost dávky 0,25 g citrátu pro 1 kg ž. v. nebyla však v literatuře nám dostupné zkoušena. Vyšší dose 0,3 g citrátu piperazinu pro 1 kg ž. v. měla u nepostačitelých skupinek po 4 kuřatech v pokusech S l o a n a (1) a H o r t o n - S m i t h a a sp. (7) účinek stoprocentní.

Rozbor našeho výsledku: Dávka okrouhle 0,25 g adipátu piperazinu po 1 kg ž. v. per os u našich 34 slepic vypudila 78,23 % askaridií. Z toho u 32 slepic byla účinnost 97,83 %, u 2 slepic naproti tomu jen 22 %. H o r t o n - S m i t h a sp. (7) po menší dávce 0,2 g adipátu pro 1 kg ž. v. zjistil stoprocentní účinek, ale měl v pokusu jen 6 kuřat. Po větší dávce 0,3 g pro 1 kg ž. v. pozoroval týž autor u 4 zvířat účinek 92,1 %, u další skupiny 6 kuřat účinek 100 %. Podobně S l o a n a sp. (1) u skupiny 4 kohoutků měl účinek stoprocentní.

V našem pokuse účinnost dávky 0,25 g adipátu piperazinu pro 1 kg ž. v. u 32 slepic odpovídala tedy asi té účinnosti, kterou uvedení autoři zjistili po blízkých dávkách 0,2—0,3 g adipátu na 1 kg ž. v. na skupinkách 4—6 zvířat. U dvou slepic z našich 34 (t. j. přibližně u 6 %) však účinek dávky 0,25 g pro 1 kg byl mnohem nižší než u ostatních a selhání léčiva u těchto dvou zvířat snížilo velmi značně výsledný průměr účinnosti. Technické příčiny selhání, na př. nepožití celé dávky, jsou vyloučeny. S přihlédnutím k tomuto pozorování je nutno soudit, že velmi vysokou účinnost dávek 0,2—0,3 g adipátu piperazinu na 1 kg ž. v. zjistili H o r t o n - S m i t h a sp. (7) a S l o a n a sp. (1) podle všeho jen proto, že pracovali s příliš malými skupinkami zvířat, statisticky nepostačitelemi, v nichž se náhodou nevyskytly silně odchylné případy nízkého účinku. Že ale i v dosavadním písemnictví lze nalézt příklady nápadně sníženého účinku, vysvětluje z rozboru práce H o r t o n - S m i t h a a sp. (7), v níž u skupiny 4 kuřat po velmi vysoké dávce 0,6 g adipátu piperazinu na 1 kg ž. v. bylo vypuzeno jen 98 % askaridií, kdežto v jiném pokuse již třikrát menší dávka 0,2 g na 1 kg ž. v. u 4 kuřat vyhnala 100 % červů.

Závěry z našeho výsledku: Práce poskytla dva hlavní závěry: Pro výzkumníky jasně dokazuje nutnost zkoušení účinnosti každé dávky anthelmintika nejméně na 30 zvířatech. Jinak výsledky nemají platnost pro užití v praxi, neboť se jimi nemusí zachytit případy silně odchylných výsledků ve smyslu značně slabšího účinku, které se při použití v praxi na velkých počtech zvířat určitě vyskytnou a mohou způsobiti nebo velmi urychlití opětne zamoření chovu. Proto je důležitou povinností výzkumníka zjištění, zda a po kterých dávkách zkoumaného anthelmintika se mohou tyto silně vybočující odchylky objeviti, a které dávky jsou potřebny, aby pokud možno nedocházelo k výskytu podobných případů, které jsme v našem pokuse pozorovali u 6 % slepic.

Druhý závěr plyne pro praxi. Dávka 0,25 g adipátu piperazinu na 1 kg ž. v. u drůbeže nestačí pro terenní léčbu. Má sice u téměř všech zvířat účinek blízký 100 %, ale u některých kusů (v naší práci u dvou, t. j. asi u 6 %) účinnost byla nízká, průměrně jen 22 %. Tyto případy staly by se zdrojem reinfekce a opětneho zamoření celého chovu. Úchylkám tohoto druhu sotva by zabránilo zvýšení dávky na 0,3 g na 1 kg ž. v., kterou pro citrát doporučují příbalové letáky Bayerův (3) a Burroughs Wellcome (6), a která by se zdála pro praxi přijatelná, i podle prací S l o a n a a sp. (1), H o r t o n - S m i t h a a sp. (7) a V i a n e l l a a sp. (4). U H o r t o n - S m i t h a však v jednom pokuse tato dose měla účinek jen 92 %, v druhém 100 %.

S přihlédnutím k výsledkům naší práce je nutno předběžně pokládati za vhodnou dávku adipátu nebo citrátu piperazinu pro kuřata a slepice 0,4 g na 1 kg ž. v. V dosavadních pracích (S l o a n a sp. — 1, H o r t o n - S m i t h a sp. — 7) provedených však jen na nedostačujících skupinách po 6—10 kuřatech, měla tato dose účinek stooprocentní a je doporučována i v referátu z Journal Am. Vet. Med. Ass. (5). V dalších našich pokusech budeme proto zkoušet účinnost dávky 0,4 g adipátu piperazinu na větším počtu zvířat než to dosud učinili jiní autoři, abychom tak zjistili spolehlivé a průkazné hodnoty její účinnosti, hodnoty platné velmi přibližně i pro používání na mnohatisících kusech drůbeže v terenní praxi.

Důležitou výhodou adipátu piperazinu je i to, že odchod škrkavek je rychlý, nárazový. Na tuto okolnost bylo v literatuře již opakovaně upozorněno. V našem pokusu odešla naprostá většina (91 %) vypuzených škrkavek do 16.—17. hodiny, t. j. do příštího rána po aplikaci provedené mezi 14.—15. hodinou odpolední. Dalších 6,6 % škrkavek bylo vypuzeno mezi 16.—40. hodinou, t. j. do rána pozítří. Tento rychlý odchod červů umožní provedení desinfekce hned příštího a nejlépe ještě popříštího dne ráno a tím je nebezpečí reinfekce omezeno na minimum. Kromě toho lze očekávat, že při použití větší dávky, která se jeví potřebnou ve světle našich výsledků, se podstatně zvýší procento červů vypuzených do 16.—17.—24. hodiny. Pak snad bude možno vystačiti s jedinou desinfekcí provedenou hned příštího dne po odpoledním podání léku v případech, kde by opakovaná desinfekce byla z provozních důvodů obtížná.

Ekonomické zhodnocení použití adipátu piperazinu určitými čísly nelze zatím podat, protože přípravek není dosud v distribuci a jeho cena není dosud u nás stanovena.

Vzhledem k vysoké účinnosti ve vhodných dávkách, nárazovému odchodu červů z naprosté většiny do 16.—17.—24. hodin, veliké terapeutické šíři, výborné snášenlivosti a nepatrné toxicitě, snadné aplikaci proveditelné bez zaneprázdnění veterinárního lékaře ošetřovateli individuálně nebo hromadně v krmivu či v pitné vodě, v nichž je zvířaty bez obtíží přijímán, stálosti při uchovávání a použitelnosti proti škrkavkám u všech druhů zvířat, je adipát piperazinu (nebo jiná sůl piperazinu podobných vlastností) nepochybně nejlepším ze všech dosavadních antiaskaridních prostředků. Je jisto, že nahradí všechna dosud užívaná léčiva, bude-li jeho cena přiměřená. Ze všech těchto důvodů je možno doporučiti zavedení adipátu piperazinu u nás jako nejvýhodnějšího prostředku proti škrkavkám i jiným některým oblým červům, universálního pro všechny druhy hospodářských zvířat.

Souhrn

1. Dosavadní stav studované otázky: Práce uveřejněné v dostupné literatuře studovaly účinnost různých dávek adipátu piperazinu na malých počtech (4—10) slepic, z nichž nelze zjistit výsledky spolehlivé a platné i pro použití na desetitisících případech v terénní praxi. Proto dosavadní pokusy s dávkami 0,075—0,6 g na kg živé váhy nedaly jednoznačnou odpověď na otázku, která dávka je nejvhodnější a má být v praxi používána.

2. Úkolem naší práce bylo prostudovat účinnost dávky asi 0,25 g adipátu piperazinu na kg živé váhy *per os* proti askaridiose na počtu 34 slepic. Tento počet lze pokládat podle variační statistiky za postačitelý ke zjištění průkazných výsledků, platných pro širokou praxi.

3. Metodika: Prášek adipátu piperazinu byl podáván individuálně v pilulkách. Účinnost byla zjišťována počítáním vypuzených červů a určením počtu nevypuzených červů pitvou, provedenou za 88—112 hodin po podání léčiva.

4. Výsledky: Ze všech 34 slepic bylo vypuzeno celkem 151 askaridií, při pitvě nalezeno 42. Účinnost byla tedy 78,23 %. Tento celkový výsledek je složen ze dvou odlišných dílčích výsledků. U počtu 32 slepic bylo vypuzeno celkem 140 askaridií, při pitvě nalezeny 3, účinnost byla tedy 97,83 %. U 2 slepic byl účinek atypický, vypuzeno 11 askaridií, pitvou zjištěno 39 askaridií, účinnost byla tedy jen 22 %. Z vypuzených škrkavek odešlo 91 % již do 16—17 hodin po podání léčiva.

Vliv na invasi heterakid byl zjišťován u 24 slepic; vypuzeno bylo 236 červů, při pitvě nalezeno 782, účinnost byla tedy 23,20 %. Odchod heterakid probíhal nepravidelně během 4—5 dnů pozorování.

5. Význam výsledků pro praxi a pro výzkum: Dávka adipátu piperazinu 0,25 g na kg živé váhy byla velmi účinná u naprosté většiny slepic, ale ne u všech. Proto nelze pokládat tuto dávku za postačující pro praxi a bude nužno

používat vyšší dávky. Předběžně lze doporučit dávku 0,4 g na kg živé váhy, u níž je možno očekávat vyhovující účinnost, kterou budeme zkoumat v našich dalších pokusech. — Výzkum účinnosti určité dávky anthelmintika musí být proveden nejméně na 30 zvířatech, aby byly zjištěny hodnoty platné i pro použití na velkých počtech případů v praxi.

Literatura

1. Sloan J. E. N., Kingsbury P. A., Jolly D. W.: *J. of Pharm. and Pharmacol.*, 6, s. 718, 1954. — 2. Vodrážka J., Sokol J., Berecký I.: *Folia veterinariae facultatis medicinae veterinariae Cassoviensis*. VF VŠP Košice 1956, Tom. I, Fasc. 1-2, Opusc. 1-31, s. 5. — 3. Návod pro piperazin-citrát ad us. vet. fy Bayer AG., Leverkusen, 1956. — 4. Vianello G., Vicenzoni V.: *Clin. Vet. (Milano)* 78, č. 11, s. 365, 1955; ref. *žurnal-Biologija*, č. 14 a 19, s. 438 a 480, 1956. — 5. Bez autora, ref. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 128, č. 7, s. 354, 1956. — 6. Příbalový leták přípravku „Pipricide“ fy Burroughs Wellcome, London, 1956. — 7. Horton - Smith C., Long P. L.: *Poultry Science*, 35, č. 3, s. 606, 1956. — 8. Bradley R. E.: *Vet. Med.* 50, č. 10, s. 444, 1955. — 9. Shumard R. F., Eveleth D. F.: *Vet. Med.* 51, č. 11, s. 515, 1956. — 10. Enigk K., Markwardt M.: *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.* 69, č. 18, s. 347, 1956. — 11. Leiper J. W. G.: *Vet. Rec.* 66, s. 596, 1954. — 12. Shumard R. F., Eveleth D. F.: *Vet. Med.* 50, č. 5, s. 203, 1955. — 13. Barke A., Gierschik H.: *Deutsch. tierärztl. Wschr.* 64, č. 8, s. 177, 1957. — 14. Mozgov: *Farmakologija*, Moskva 1952. — 15. Sopikov: *Bolezní ptic*, Moskva 1953. — 16. Potěmkina V. A.: *Osnovnyje gelmintozy domašních ptic*, Moskva 1953. — 17. Mönnig H. O.: *Veterinary Helminthology and Entomology*, London 1947. — 18. Kněžík, Fried, Dobšínský, Lopúchovský, Duchaj: *Helmintológia*, SAV Bratislava 1957, s. 306. — 19. Skrjabin K. I.: *Strojitelstvo sovjetskoj gelmintologii*, Moskva 1946, s. 53. — 20. Kocková - Kratochvílová A.: *Praktikum technické mikrobiologie*, Praha 1954, s. 303. — 21. Burn J. H.: *Biologische Auswertungsmethoden*, Berlin 1937, s. 28. — 22. Hutýra F., Marek J.: *Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere*, díl II., Jena 1952, s. 238. — 23. Vacek T.: *Srovnávací fyziologie dom. zvířat*, Brno 1937, s. 68. — 24. Standen O. D.: *Brit. Med. J.*, July 2nd, s. 20, 1955. — 25. Skrjabin: *Kratkij kurs parasitologii domašních životných*, Moskva 1950. — 26. Ohmes H.: *Arch. f. Wiss. u. prakt. Thierheilk.* 64, s. 469, 1932. — 27. Doroško: *Vetěrinarija*, č. 4, s. 27, 1948. — 28. Baudet E. A.: *Traitement des Maladies parasitaires*, separátka, Eleventh International Veterinary Congress, London 1930. — 29. Davies M. T., Forrest J., Hartley F., Petrow V.: *J. of Pharm. and Pharmacol.* 6, s. 707, 1954. — 30. Poynter D.: *Vet. Rec.*, 68, č. 20, s. 291, 1956. — 31. Goodwin L. G., Standen O. D.: *Brit. Med. J.* 2, s. 1332, 1954.

Адипат пиперазина при аскаридозе и гетеракидозе кур

Полученные до сих пор сведения по данному вопросу: Статьи, опубликованные в доступной литературе, сообщают об эффективности адипата пиперазина в разных дозах, исследованной у небольшого числа (4—10) кур. На основе такого незначительного числа подопытных животных, однако, нельзя было получить достоверные результаты, пригодные для широкого практического применения. Следовательно, до сих пор произведенные опыты с дозами 0,075—0,6 г на 1 кг ж. в. не

дали убедительного ответа на вопрос, какую дозу использовать на практике как самую пригодную.

2. Задачей указанной работы было исследовать эффективность адипата пиперазина против аскаридоза в дозе сса 0,25 г на 1 кг ж. в., введенной per os 34 курам. Такое число по вариационной статистике можно считать достаточным для установления данных, соответствующих широкой практике.

3. Методика: Порошок адипата пиперазина применялся индивидуально в пилюлях. Его эффективность определялась путем исчисления вышедших из организма и оставшихся в нем гельминтов, при чем последние были обнаружены при вскрытии, произведенном через 88—112 часов после применения лечебного средства.

4. Результаты: Из общего числа 34 кур было удалено всего 151 нематода *Ascaridia lineata*, путем вскрытия было обнаружено 42. Следовательно, эффективность была 78,23 %. В этом общем итоге заключены два частичных, отличающихся друг от друга. У 32 кур было удалено всего 140 нематод *Ascaridia lineata*, при вскрытии обнаружены 3, эффективность была 97,83 %. У 2 кур результат оказался атипическим, было удалено 11 гельминтов, при вскрытии обнаружено 39, эффективность была лишь 22 %. Из удаленных гельминтов 91 % вышел до истечения 16—17 часов после применения лечебного средства.

Воздействие на инвазию нематод *Heterakis gallinae* было исследовано у 24 кур; 236 гельминтов были удалены, 782 обнаружены при вскрытии, эффективность была 23,20 %. Удаление гельминтов происходило нерегулярно в течение 4—5 дней наблюдения.

5. Значение полученных результатов для практики и исследования: Доза адипата пиперазина 0,25 г на 1 кг ж. в. оказалась весьма эффективной у преобладающего большинства кур, однако, не у всех. Поэтому нельзя считать указанную дозу достаточной для применения в практике, когда придется употреблять большую дозу. Предварительно можно рекомендовать дозу 0,4 г на 1 кг ж. в., так как при ней можно ожидать нужную эффективность, которую мы подвергнем исследованию в дальнейших опытах. Исследование эффективности определенной дозы препарата необходимо вести не менее чем на 30 животных, чтобы полученные данные были пропорционально неизменными на практике даже тогда, когда применяются в большом количестве случаев.

The Treatment of Ascaridosis and Heterakidosis in Hens with Piperazine Adipate

1. The present state of the problem in question is as follows: Studies published in accessible literature are concerned with the efficiency of different doses of piperazine adipate in small numbers (4 to 10) of hens, from which reliable results, valid also for the application on thousands of cases in field practice cannot be obtained. Hitherto experiments with doses of 0,075—0,6 g per kg bodyweight gave no conclusive answer to the questions what optimal dose should be applied in practice.

2. The task of the present study was to test the efficiency against *Ascaridia galli* of a dose of approximately 0,25 g piperazine adipate per kg bodyweight, administered per os in 34 hens. According to the biological statistics this number of hens may be regarded as sufficient to give conclusive results valid also for application in field practice.

3. Methods: The powder of piperazine adipate was administered in pills individually. The efficiency was controlled by counting eliminated worms and deter-

mining the number of those not eliminated at post-mortem examination made 88—112 hours after administration.

4. Results: The total number of ascarids eliminated of all 34 hens was 151; at post-mortem examination 42 were found. The efficiency, therefore, was 78,23 %. This total result is composed of two different partial results: In the number of 32 hens altogether 140 ascarids were expelled, at dissection 3 were found; the efficiency, therefore, was 97,83 %. In 2 hens the effect was atypical; 11 ascarids were eliminated, at post-mortem examination 39 were found. The efficiency, therefore, was only 22 %. 91 % of expelled worms went away in as short time as 16—17 hours after administration of the drug.

The heterakis-invasion-as influenced by piperazine adipate was studied in 24 hens; 236 worms were eliminated, 782 found at dissection, the efficiency, therefore, was 23,20 %. The expulsion of heterakids took place irregularly during the course of 4—5 days of the observation.

5. The importance of this results for practice and research: The dose 0,25 g of piperazine adipate per kg bodyweight was very effective in the absolute majority of hens, however, not in all. For this reason this dose cannot be regarded as sufficient for field practice. For time being a dose of 0,4 g per kg bodyweight may be recommended, in which case a satisfactory effect may be expected; this will be tested in our further experiments. — The efficacy of a certain dose of an anthelmintic must be investigated in at least 30 animals, in order to determine the values conclusive also for application in large numbers of cases in field practice.

Piperazin-Adipat bei Ascaridiosis und Heterakidosis des Geflügels

1. Der bisherige Zustand der studierten Frage: Die Wirksamkeit verschiedener Dosen des Piperazin-Adipats wurde bereits von einigen Forschern geprüft, deren Untersuchungen jedoch, an viel zu kleinen Gruppen (meist nur 4—6 Tiere) durchgeführt wurden. Infolge dessen können die Ergebnisse nicht als quantitativ zuverlässig und für die Verwendung an Hunderttausenden der Tiere in der Praxis als geltend betrachtet werden. Deswegen haben die bisherigen Versuche mit den Dosen von 0,075—0,6 g für 1 Kg Lbgw. keine eindeutige Antwort auf die Frage gegeben, welche Dosis für die Praxis am besten geeignet ist.

2. Die Aufgabe eigener Versuche war, die Wirksamkeit der Einzeldosis von 0,25 g Piperazin-Adipats für Kg Lbgw. per os bei einer Anzahl von mehr als 30 Tieren zu untersuchen. Nach der biologischen Statistik gilt diese Anzahl als ausreichend, um zuverlässige und auf die Praxis übertragbare Ergebnisse zu gewährleisten.

3. Die Methodik: Das Pulver des Piperazin-Adipats wurde in Pillen individuell gereicht. Die Zahl der abgetriebenen und im Darm verbliebenen Würmer wurde ermittelt (Sektion nach 88—112 Stunden).

4. Ergebnisse: Aus allen 34 Hennen wurden zusammen 151 Askaridien abgetrieben, bei der Sektion 42 gefunden. Die Wirksamkeit war also 78,23 %. Dieses Gesamtergebnis ist aus zwei verschiedenen Teilergebnissen zusammengesetzt: Bei der Anzahl von 32 Hennen wurden zusammen 140 Askaridien abgetrieben, bei der Sektion 3 gefunden, was einer Wirksamkeit von 97,83 % entspricht. Bei 2 Hennen war die Wirkung atypisch, es wurden 11 Askaridien abgetrieben, bei der Sektion 39 gefunden, die Wirksamkeit war also nur 22 %. — Aus den abgetriebenen Askaridien gingen 91 % bereits in 16—17 Stunden ab.

Die Wirksamkeit gegen Heterakis gallinae wurde an 24 Hennen geprüft. Die Zahl der abgetriebenen Parasiten betrug 236, die Zahl der bei der Sektion gefundenen

782, die Wirksamkeit war also 23,20 %. Der Abgang der Heterakiden erfolgte unregelmäßig während der ganzen Beobachtungsdauer (4—5 Tage).

5. Die Bedeutung der Ergebnisse für die Praxis: Die Dosis von 0,25 g des Piperazin-Adipats für Kg Lbgw. war sehr wirksam (97,83 %) bei der weit überwiegenden Anzahl der Tiere, aber nicht bei allen. Deswegen kann diese Dosis als nicht ausreichend für die Verwendung in der Praxis betrachtet werden. Vorläufig kann die Dosis von 0,4 g je Kg Lbgw. empfohlen werden, bei welcher eine für die Praxis erforderliche Wirksamkeit erwartet werden kann. Die Wirkung dieser Dosis werden wir in unseren weiteren Versuchen prüfen. — Die Prüfung der Wirksamkeit einer bestimmten Dosis eines Wurmmittels muß an einer Anzahl von wenigstens 30 Tieren durchgeführt werden, um die auf die breite Praxis übertragbare Ergebnisse zu ermitteln.

Aktivní imunisace skotu proti tuberkulóze M vakcinou**Активная иммунизация крупного рогатого скота против туберкулеза М вакциной****Active Immunization of the Cattle against Tuberculosis with the M-Vaccine****Die aktive Immunisation des Rindes gegen Tuberkulose mit der M-Vakzine**

MVDr M. PAVLAS a prom. vet. lék. K. HEJLÍČEK

*Z kliniky infekčních chorob vet. fakulty VŠZ v Brně, přednosta † Akademik
A. Klobouk***Úvod**

Tuberkulóza hospodářských zvířat znamená pro zemědělskou výrobu nejen u nás, ale v celém světě vážný problém. Způsobuje značné národohospodářské škody, nehledě na nebezpečí pro zdraví člověka. Je tedy pochopitelné, že ve veterinární medicíně byla otázce tuberkulózy věnována značná pozornost a hledány úspěšné cesty boje s touto nákazou. Kromě veterinárně ochranných opatření, která jsou základem v boji proti tuberkulóze, vyvíjí se již dlouhou dobu snaha zvýšit odolnost zvířat proti tuberkulóze aktivní imunisací.

Literární přehled

Jednou z nejstarších metod imunisace zvířat proti tuberkulóze bylo použití humáních *tbc* zárodků. K tomuto druhu očkování patřila klasická metoda Behringova, při které se používalo vysušených, skoro úplně virulentních humáních *tbc* zárodků. Tato metoda byla založena na poznatku rozdílné virulence humáních a bovinních tuberkulózních zárodků pro skot.

IX. Mezinárodní zvěrolékařský kongres v Haagu (1909) odmítl všechny další pokusy s živými humáními *tbc* zárodky, poněvadž resistance proti tuberkulóze trvá po očkování jen krátkou dobu, oslabuje se již po půl roce a po 1½–2 letech zaniká. Rovněž skutečnost, že intravenózně vpravené tuberkulózní zárodky jsou vylučovány mlékem vedla k zamítnutí dalších pokusů s živými humáními *tbc* zárodky.

Další etapou pokusů byla vakcinace oslabenými a avirulentními *tbc* zárodky. V tomto směru bylo vypracováno více očkovacích metod. Nejznámější a nejužívanější očkovací látkou v této skupině je BCG vakcína.

Pokusy s BCG vakcinou prováděl u nás v r. 1925 Klobouk (12), který prokázal, že BCG vakcína pro kozy a telata je velmi málo virulentní s minimální tuberkulogenní schopností.

K zhodnocení významu BCG kmene pro možnost specifické profylaxe *tbc* u skotu přispěla i práce Wolnyho (14), který zjistil neškodnost a dobré imunogenní vlastnosti BCG kmene.

Další očkovací látkou proti *tbc* skotu P kmen připravil Gräub, Zschokke a Saxer (2, 4, 5). Uvedení autoři připravili P kmen z *tbc* zárodků bovinního typu,

kteří oslabili 275 pasážemi na bramborovém bouillonu. Na základě pokusů došli autoři k závěru, že reinfekcemi v oblasti stále nových mizních uzlin slabě virulentním P kmenem je možné u skotu po léta udržeti latentní *tbc* ložiska, která zvyšují a prodlužují resistenci proti přirozené infekci.

Další očkovací látkou proti tuberkulóze je Wellsova vakcína připravená z myšího typu *tbc* zárodků. Skutečnost, že všechna pokusná zvířata reagovala na inokulaci myšího typu pozitivně na tuberkulin, vedla podle Suly (6) Wellse a Brooka v r. 1940 k tomu, aby použili zmíněného kmene k imunizačním pokusům.

Pathogenita *tbc* zárodků muriního typu pro jednotlivá zvířata není ještě zcela objasněna. Doposud bylo zjištěno, že *typus murinus* je zcela nepochybně pro člověka, vysoce pathogenní však pro polní hraboše u nichž 10^{-8} – 10^{-7} mg vlhké váhy kmene vyvolává alergickou reakci organismu a specifické onemocnění vedoucí v době 1–2 měsíců za příznaků generalisované tuberkulózy k úhynutí.

Pathogenitu Wellsovy vakcíny (kmen OV 166) zkoumal Šula (7) na běžných laboratorních zvířatech, telatech a holubech a zjistil, že je pro tato zvířata nepochybně pokud jde o možnost vyvolání zhoubné formy tuberkulózy. Laboratorní zvířata, která jsou citlivá na humánní a bovinní typ virulentních mycobakterií *tbc* reagují na inokulaci kmene OV 166 jen tvorbou specifické granulární tkáně s nečetnými obrovskými buňkami a v ojedinělých případech i sýrovitou nekrosou ve specifickém ložisku. Tyto změny nejsou nijak progredientní a jeví velkou tendenci k ohraničení a vazivové přeměně.

Šula (7) srovnáním kmene OV 166 s BCG kmenem po inokulaci dostatečné velkých dávek pokusným laboratorním zvířatům zjistil, že orgánové změny vyvolané myším typem jsou jak co do rozsahu, tak i do kvality menší než změny vyvolané BCG kmenem a to po stejných dávkách.

Zbořil (13) srovnával účinnost BCG vakcíny s M vakcinou u skotu. Z vakcinovaných zvířat, která byla vystavena spontánní infekci byla 2 zvířata za 8 měsíců po vakcinaci poražena. U 1 jalovičky, která byla vakcinována 5 ml M vakcíny byly zjištěny *tbc* změny regresivního charakteru v mizních uzlinách mediastinálních a 1 ložisko velikosti lískového ořechu v parenchymu plic. U jalovice, která byla vakcinována BCG vakcinou byly zjištěny histologickým vyšetřením rozsáhlá tuberkulózní ložiska, částečně zesýratelá a *tbc* ložiska v parenchymu plic s živými *tbc* zárodky bovinního typu.

Wellsovu vakcínu u zvířat zkoušel v SSSR Goldenberg a spol. (9). Jeho úkolem bylo prostudovat pathogenní a imunogenní vlastnosti myšího typu *tbc* zárodků na domácích zvířatech. Při studiu vlastností kmene myšího typu *tbc* zárodků na pokusných zvířatech bylo zjištěno, že tento kmen byl slabě pathogenní pro morčata, bílé myšky a králíky. U těchto zvířat vyvolával uvedený kmen dlouhodobou alergii a bakteriemii. U pokusných zvířat byly po vakcinaci v orgánech a tkáních zjišťovány patologicko-histologické změny fibrinosního charakteru. Kromě těchto pokusů byl proveden i pokus na 5 kusech skotu 10 měsíců starých, z nichž třem bylo podkožně aplikováno po 10 ml kultury. Jedno z vakcinovaných zvířat bylo po 7 měsících po očkování poraženo a další dvě telata za 8 měsíců po vakcinaci s 2 kontrolními nevakinovanými zvířaty byla převedena do stáje, v níž byl ustájen skot s aktivní formou tuberkulózy. Této možnosti spontánní infekce byla zvířata vystavena po dobu 10 měsíců. U vakcinovaných zvířat byly dobré přírůstky. Po porážce u těchto očkovaných zvířat bylo zjištěno neznatelné zvětšení podkožních, bronchiálních a mediastinálních mizních uzlin. Ve vnitřních orgánech nebyly nalezeny viditelné změny. U nevakinovaných zvířat byla zjištěna *tbc* ložiska kaseózního charakteru v mizních uzlinách, v játrech, v plicích a v ledvinách. Z těchto výsledků se autoři neodvažují vyslovit ještě závěr a doporučují provést pokusy na větším počtu zvířat.

Young a Paterson (10) studovali rovněž otázku použití M vakcíny k imunizaci u skotu. Ve svých pracích popisují pokusy, ve kterých byla sledována účinnost Wellsovy vakcíny proti *tbc* u skotu. Z rozličných metod vakcinace se intravenózní inokulace ukázala nejspěšnější. Jedna i. v. injekce 5 mg *tbc* zárodků myšího typu může podle Younga a Patersona zvýšit resistenci skotu proti infekci virulentními bovinními zárodky. Tato odolnost se může projevit tak, že buď vůbec nedojde k onemocnění, nebo dojde jen k mírnému onemocnění podle stupně umělé nebo přirozené infekce. Odolnost se vyvíjí postupně, dosahuje maxima mezi 6–18 měsíci po vakcinaci a potom pomalu mizí. Resistence vyvolaná jen jedním očkováním trvá zpravidla kratší dobu. Revakcinace může zintenzivnit získanou resistenci za předpokladu, že se provede za 4 týdny po první vakcinaci. Autoři sdělují, že provádějí

dlouhodobý pokus, aby zjistili, zda revakcinace kromě zvýšení počáteční resistance může také prodloužit její trvání. Stupeň resistance, který se vyvine, je závislý na virulenci vakcinačního Wellsova kmene pro jeho přirozeného hostitele. Tento poznatek tedy vyžaduje, aby u kmene používaného pro vakcinační účely byla udržována vysoká virulence opakovaným pasážováním přes přirozeného hostitele (hraboše). Při volbě M kmene je nutno však zachovávat opatrnost, poněvadž na př. kmen G 564 může vyvolat smrtelné onemocnění u telat.

Histo-pathologické změny pathogenní pro tuberkulózní infekci, k níž dochází u vakcinovaných zvířat po i. v. očkování myším typem, jsou většinou omezeny na plic a uzliny hrudníku. Dosahují svého maxima 28. dne a zanikají 84. den.

Václavík (11) použil M vakciny u skotu v dávce 2,5 ml jako diagnostického a zároveň imunizačního testu u 16.158 kusů skotu. 90 % zvířat reagovalo na vakcinační test lokální reakcí ve formě ztlustění kožní řasy s reakčním číslem nad 5 mm do 1 týdne po vakcinaci.

Úkolem naší práce bylo přezkoušet neškodnost a imunogenní vlastnosti M vakciny u mladého skotu.

Metodika práce

K pokusům bylo použito 17 zdravých, tuberkulózy prostých kusů mladého skotu ve věze od 80 do 440 kg. Před zařazením do pokusu byla zvířata ustájena 4 měsíce v karantenní staji. Během této doby byla zvířata klinicky vyšetřena a periodicky tuberkulinována boviním a aviárním tuberkulinem.

Neškodnost M vakciny byla přezkoušena u mladého skotu podkožní inokulací 2,5 ml vakciny M-conc. Po vakcinaci, která byla provedena na straně krku 20 cm před mizní uzlinou předlopatkovou, byl sledován zdravotní stav očkováných zvířat. Za 14–90 týdnů po vakcinaci byla zvířata poražena.

K přezkoušení imunogenních vlastností M vakciny bylo použito 10 zvířat, z nichž 8 bylo postupně vakcinováno. Aktivní imunisace byla prováděna vakcinou M-conc, kterou nám zaslal Výzkumný ústav tuberkulózy v Praze. V 1 ml této vakciny byl přibližně 1 mg polosuché váhy tuberkulózních zárodků *typus murinus* - Wells. Vakcína byla aplikována podkožně na straně krku v dávce 2,5 ml bez ohledu na živou váhu zvířete. Po vakcinaci byl sledován celkový zdravotní stav, místní postvakcinační reakce a v určitých časových údobích sledována alergie. Alergické zkoušky byly prováděny intradermální inokulací 0,1–0,2 ml tuberkulinu. Bakteriální test (BT) použitý v pokusech byla bakteriální suspence varem umrtvených zárodků muriniho typu, který byl vstříkovan rovněž intradermálně v množství 0,1–0,2 ml na místě vzdáleném nejméně 20 cm od místa, kde byl aplikován tuberkulin. V 1 ml BT byl 1 mg zárodků muriniho typu. Alergické reakce byly sledovány nejméně 5–6 dnů. Byla snaha zjistit, zda po vakcinaci reakce na intradermální BT budou větší ve srovnání s reakcemi na tuberkulin. Dále byla sledována dynamika alergie, zvláště její vznik a průběh. Alergické zkoušky nebyly opakovány dříve než za 1 měsíc.

Za určitou dobu po vakcinaci (6 týdnů — 3½ měsíce) bylo provedeno umělé infikování pokusného skotu. Vakcinace byly prováděny jedenkrát, kromě jalovice č. u. 5, Č. N. 87/54 (pokus č. 10), která byla po 1 měsíci revakcinována 2,5 ml vakciny M-conc. K infikování vakcinovaných a kontrolních zvířat bylo používáno virulentního kmene *tbc* zárodků boviního typu, který byl izolován z krávy, u níž byla zjištěna tuberkulóza plic s pozitivním nálezem *tbc* zárodků ve sputu. Tento virulentní kmen byl izolován v lednu 1954 a označen ČB 4006.

Na Petragnaního půdě se vyznačoval eugonickým růstem. Ke zjištění virulence a pathogenních vlastností byly provedeny pokusy na morčatech, králících, kryších a mladém skotu.

Bylo zjištěno, že kmen ČB 4006 je pathogenní pro morče, králíka, krysu a skot. U morčat dávka 1 mg i 0,1 mg na kg ž. v. zárodků tohoto kmene vyvolala při podkožní inokulaci generalisovanou tuberkulózu a uhynutí do pěti týdnů. U králíků podkožní dávka 1 mg na kg ž. v. zárodků uvedeného kmene vyvolala generalisovanou tuberkulózu a uhynutí do 9 týdnů po infikování. Dávka 0,001 mg na kg ž. v. *tbc* zárodků uvedeného kmene podaná podkožně nevyvolala však u králíků uhynutí do 4 měsíců. Po usmrcení byla zjištěna v plicích četná *tbc* ložiska, ostře ohraničená bez hepatizovaného lemu. U krys kmen v dávce 10 mg na kg ž. v. při podkožní ino-

kulaci nevyvolal progresivní formu *tbc*. Po usmrcení krys za 3½ měsíce po infikování byla zjištěna pouze ojedinělá ložiska *tbc* v plicích.

U telete, kterému byly inokulovány *tbc* zárodky v dávce 0,002 mg na kg ž. v. intravenosně, došlo za 35 dní k uhynutí. Pitvou byla zjištěna generalisovaná tuberkulóza. U býčka tento kmen při podkožní inokulaci v dávce 0,1 mg na kg ž. v. vyvolal rovněž generalisovanou tuberkulózu.

K přezkoušení imunogenních vlastností M vakciny bylo 5 zvířat infikováno kmenem CB 4006 podkožně (4 vakcinovaná a 1 kontrolní) a 5 zvířat intravenosně (4 vakcinovaná a 1 kontrolní).

Před poražením bylo každé zvíře vyšetřeno. Zvláštní pozornost při vyšetřování byla věnována dýchacímu aparátu. U každého zvířete bylo během pokusů odebráno sputum a krev k vyšetření na přítomnost *tbc* zárodků.

Pitva orgánů a masových mizních uzlin byla prováděna velmi důkladně, změny tuberkulózního charakteru ověřovány bakterioskopicky a kultivací. V případě potřeby provedeno histologické vyšetření.

Studium neškodnosti M vakciny u skotu

Neškodnost M vakciny byla přezkoušena na 7 kusech mladého skotu, kterému bylo na krku podkožně inokulováno po 2,5 ml vakciny M-conc. Po vakcinaci byl sledován zdravotní stav očkováných zvířat. U žádného vakcinovaného zvířete nebylo zaznamenáno zvýšení teploty nad 39,5° C. Za 14–90 týdnů po vakcinaci byla zvířata poražena a po porážce důkladně vyšetřena. Při pitvě u žádného zvířete nebyly zjištěny makroskopicky tuberkulózní změny včetně příslušné mizní uzliny předlopatkové na straně vakcinace. Výsledky pokusů jsou uvedeny v tabulce „Výsledky vakcinace“.

Studium imunogenních vlastností vakciny M-conc.

Ke zjištění imunogenních vlastností vakciny M-conc. (Wellsovy vakciny) v období 46 až 96 dní po vakcinaci bylo zařazeno do pokusů 10 kusů skotu, z nichž 2 zvířata byla kontrolní — nevakcinovaná.

Přehled o postupu pokusů je uveden v tabulce „Postup pokusů s Wellsovou vakcinou“.

V pokusech byly sledovány:

1. Místní reakce po podkožní vakcinaci a infikování.
2. Alergie na tuberkulin a bakteriální test
 - a) po vakcinaci,
 - b) po infikování.
3. Klinický průběh a pitevní změny u vakcinovaných a infikovaných zvířat.

1. Místní reakce po podkožní vakcinaci a infikování

Místní reakce ve formě zduření podkožního vaziva i kůže se dostavily u všech 8 zvířat vakcinovaných 2,5 ml vakciny M-conc. Toto zduření bylo tuhé konsistence, ostře ohraničené od okolí, na pohmat slabě bolestivé.

Zduření dosáhlo maxima u sedmi zvířat za 5 až 11 dní, u jalovice ČN 131/54 za 20 dní po vakcinaci. Maximální reakční číslo bylo 18 až 33 mm (graf 1, 2).

Místní reakce po podkožním infikování virulentními *tbc* zárodky boviního typu v dávce 0,1 mg na kg ž. v. u vakcinovaných zvířat dosáhly maxima za 4 až 12 dní po infikování s reakčním číslem 15 až 24 mm. U nevakcinovaného zvířete došlo po podkožní infekci k bolestivému zduření, které značně převládalo nad lokálními reakcemi u zvířat vakcinovaných. Toto zduření bylo z počátku tuhé konsistence, později došlo k abscedaci. (Graf 3.)

Z těchto výsledků vyplývá, že velikost lokální reakce po infekci virulentními *tbc* zárodky boviního typu je nepřímo úměrně závislá na resistenci infikovaného zvířete proti tuberkulóze.

Výsledky vakcinace

Nationale	Tuberkulinace před vakcinací		Vakcinace provedena	Reakční čísla za 6 týdnů po vakcinaci		Podkožní dávka vacciny	Poraženo		Pit. nález na <i>tbc</i>
	provedena	r. č. za 72 hod. v mm		BT v mm	tuberkulin v mm		dne	po vakcinaci za	
Jalovice červe- nostr., č. uš. 21	26. 11. 54	0	5. 1. 55	5,7	3,6	2,5 ml M-c.	25. 9. 56	90 týdnů	negativní
Jalovice červe- nostr., č. uš. 24	26. 11. 54	0,2	5. 1. 55 8. 2. 56	7,4 8,2	3,9 4,2	2,5 ml M-c. 2,5 ml M-c.	25. 9. 56	90 týdnů 33 týdnů	negativní
Býk červenost. č. uš. 33	26. 11. 54	0,3	5. 1. 55	6,4	3,8	2,5 ml M-c.	7. 11. 55	44 týdnů	negativní
Jalovice červe- nostr. č. uš. 40	8. 6. 56	0,4	18. 6. 56	7,3	3,7	2,5 ml M-c.	25. 9. 56	14 týdnů	negativní
Jalovice červe- nostr. č. uš. 47	11. 1. 56	0,8	8. 2. 56	3,0	4,1	2,5 ml M-c.	25. 9. 56	33 týdnů	negativní
Jalovice červe- nostr. č. uš. 49	11. 1. 56	1,0	8. 2. 56	6,1	7,5	2,5 ml M-c.	25. 9. 56	33 týdnů	negativní
Jalovice červe- nostr. č. uš. 25	26. 11. 56	0,2	5. 1. 55	6,7	4,7	2,5 ml M-c.	25. 9. 56	90 týdnů	negativní

Postup pokusů s Wellsovou vakcinou

Pokus čís.	Nationale:	Vakcinace 2,5 ml M-c dne:	Způ- sob infek- ce:	Infik. po vacc. za dni:	Váha před infik. v kg:	Inokulováno <i>tbc</i> zárodků		Maxim. tepl. po inf.		Po infikování poraženo		Váha v den poražení v kg	Průměrný váhový při- růstek po infikování na 1 den v kg
						celkem v mg	na 1 kg ž. v. v mg	ve °C	za dni	dne	za dni		
1	Jalovička ČN 129/54	nevakcino- vána-kontr.	i. v.	—	80	0,16	0,002	41	14	uhynulo 29. 3. 55	35	75	—0,14
2	Jalovice ČN 102/54	18. 11. 54	i. v.	96	215	0,43	0,002	39,8	26	21. 4. 55	61	225	0,16
3	Býček ČN 38/54	3. 12. 54	i. v.	80	180	0,36	0,002	39,6	65	25. 6. 55	122	275	0,78
4	Jalovice ČN 131/54	3. 12. 54	i. v.	80	129	0,258	0,002	39,5	67	9. 1. 56	402	325	0,49
5	Býček ČN 39/54	3. 12. 54	i. v.	80	210	0,42	0,002	39,8	22	13. 5. 55	79	235	0,32
6	Býček ČN 135/54	nevacc. kontrolní	s. c.	—	230	23	0,1	40,4	23	6. 5. 55	73	249	0,26
7	Jalovice ČN 134/54	7. 1. 55	s. c.	46	255	25,5	0,1	39,8	15	12. 5. 55	78	289	0,43
8	Jalovice ČN 88/54	3. 12. 54	s. c.	80	420	42	0,1	39,5	62	16. 1. 56	409	450	0,073
9	Jalovice ČN 133/54	7. 1. 55	s. c.	46	286	28,6	0,1	39,4	15	18. 5. 55	84	328	0,5
10	Jalovice ČN 87/54	29. 10. 54 7. 1. 55	s. c.	116 46 reakc.	441	44,1	0,1	39,4	43	14. 6. 55	111	452	0,1

2a) Alergie na tuberkulin a bakteriální test za 14–80 dní po vakcinaci

Za 14 dní po vakcinaci byla zjištěna pozitivní reakce na bakteriální test, která dosáhla maxima za 48 hodin po inokulaci testu (průměrné reakční číslo 3,7 mm). Reakce na tuberkulin za 14 dní po vakcinaci byla pouze dubiosní (r. č. 1,7 mm).

Za 4 týdny po vakcinaci byla reakce na tuberkulin i BT pozitivní. Reakce na tuberkulin dosáhla maxima za 24 hodin (r. č. 5,6 mm), na BT za 48 hodin (r. č. 5,2 mm).

Při dalších alergických testech bylo zjištěno, že maximální reakce na tuberkulin se dostavuje za delší dobu po inokulaci alergenu. Zatím co reakce na tuberkulin za 4 týdny po vakcinaci dosáhla maxima za 24 hodin po intradermální inokulaci tuberkulinu, za 45 dní dosáhla reakce na tuberkulin maxima za 48 hodin a za 80 dní za 72 hodin po inokulaci tuberkulinu.

Srovnáním maximálních reakcí na BT a na tuberkulin do 80 dnů po vakcinaci nebylo zjištěno mezi oběma reakcemi výrazných rozdílů.

I. Přehled postinfekční alergie na tuberkulin a bakteriální test za 30–294 dní po infekci (u vakcinovaných zvířat)

Druh použitého alergenu	Inokulace alergenu po infekci za dní	Průměrné reakční číslo v mm po inokulaci alergenu za								Pokus číslo
		1 den	2 dny	3 dny	4 dny	5 dní	6 dní	7 dní	8 dní	
tuberkulin	30	4,9	3,6	2,4	6,1	3,8	3,0	1,9		2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10
bakt. test	30	6,8	6,7	6,1	5,1	3,4		2,8		
tuberkulin	63	4,7	5,2	3,7	2,9	1,8	1,7	1,6	1,6	3, 4, 5, 7, 8, 9, 10
bakt. test	63	4,3	6,9	7,2	5,6			3,3	3,1	
tuberkulin	93	3,1	2,5	2,2	5,1	3,2	2,6	1,5		3, 4, 8, 10
bakt. test	93	4,0	3,5	3,1	2,5	2,5	2,3			
tuberkulin	118	4,3	3,9	3,1	5,0	3,5				3, 4, 8
bakt. test	118	7,7	8,3	10,0	8,0	6,2				
tuberkulin	182	4,1	5,0	2,7	5,3	3,4	2,5	1,8		4, 8
bakt. test	182	4,4	5,7	5,7	4,4	3,7	3,3			
tuberkulin	294	3,3	3,2	3,2	5,1	3,7	2,5	1,6		4, 8
bakt. test	294	6,3	7,2	8,2	7,0	4,7	3,7			

Reakční čísla podtržená jsou r. čísla po doubletestu.

2b) Alergie na tuberkulin a bakteriální test za 30–294 dní po infekci

Po infekci vakcinovaných zvířat byla sledována alergie na tuberkulin a BT od 30 do 294 dnů po infekci.

Maximální reakce na tuberkulin byla zjištěna za 24 nebo 48 hodin po inokulaci tuberkulinu a dosáhla ve většině případů pozitivní hodnoty (r. č. nad 3,5 mm). Za 72 hodin po inokulaci tuberkulinu však byla zjištěna pozitivní reakce pouze za 63 dnů po infekci. Ve všech ostatních případech dosáhla reakce na tuberkulin u pokusných zvířat pouze hodnoty dubiosní reakce. Za 24 hodin po provedeném doubletestu však při všech tuberkulinacích průměrné reakční číslo bylo větší než 5 mm.

Při srovnání alergie na tuberkulin a BT za 30 až 294 dnů po infekci převládaly výrazně reakce BT nad tuberkulinovými reakcemi.

II. Přehled postvakační alergie na tuberkulin a bakteriální test za 14–80 dní po vakcinaci

Druh použitého alergenu	Inokulace alergenu po vakcinaci za dní	Průměrné reakční číslo v mm po inokulaci alergenu za								Pokus číslo
		1 den	2 dny	3 dny	4 dny	5 dní	6 dní	7 dní	8 dní	
tuberkulin	14	1,7	1,3	1,6	1,4	1,0	1,0	1,0	0,8	3, 5
bakt. test	14	3,5	3,7	3,3	3,0	2,8	2,3	1,9	1,7	
tuberkulin	29	5,6	4,7	2,8	2,7	2,6	2,5	0,8	0,8	2, 7, 9
bakt. test	29	4,7	5,2	4,0	3,4	2,8	2,7	2,0		
tuberkulin	45	2,3	4,4	4,1	3,8	2,8	1,9			3, 4, 5, 8
bakt. test	45	2,1	4,4	5,2	3,9	2,6	2,2			
tuberkulin	80	4,7	7,7	8,2	7,1	4,2	3,6			10
bakt. test	80	4,4	7,1	6,0	4,7	3,1	2,4			

3. Klinický průběh a pitevni změny

Pokus č. 1 — kontrola: Tele č. u. 324, ČN 129/54.

Klinický obraz po infekci odpovídal průběhu teploty (teplotní graf 8). S prvním zvýšením teploty se dostavila celková malátnost, která se stále stupňovala. Tele stále hůře vstávalo a několik dní před uhynutím jen leželo. Změny na dýchacím ústrojí byly stále výraznější. Kašel byl spontánní, spíše suchý, namáhavý. Frekvence dechová zrychlená, dech nepravidelný. Auskultací bylo zjištěno drsné vesikulární dýchání, bronchiální dýchání v horních částech plic s pískoty a vrzoty.

Chuť ke žrádlu byla asi po 14 až 18 dní po infekci dobrá, postupně se zmenšovala, dostavil se průjem a zvíře rychle hublo.

V prvních dnech objevení se vyšších teplot byla odebrána krev a zpracována metodou Löwensteinovou (15) s negativním výsledkem mikroskopickým i kulturačním. Sputum vyšetřené 2 dny před uhynutím bylo rovněž negativní na *tbc* zárodky.

29. III. 1955, t. j. 35 dnů po infikování, zvíře uhynulo.

Pitevni nález: váha 75 kg, celková vyhublost.

Plíce: V celém parenchymu plic rozsety uzlíky velikosti prosa i o něco větší, obklopené úzkým hepatizovaným lemlem. Mízní uzliny zvětšené, částečně zesýrovatělé.

Játra: v parenchymu nalezeno několik *tbc* uzlíků velikosti prosa. Jaterní mízní uzliny na řezu zesýrovatělé.

Rovněž v ostatních parenchymatosech orgánech a příslušných mízních uzlinách byla zjištěna *tbc* ložiska velikosti prosa i něco větší. Sliznice střevní po celé délce vykazovala katarální zánětlivé změny.

Pokus č. 2: Jalovička u. č. 3, ČN 102/54.

Po celou dobu až do porážení byla jalovička čilá, dobře žrala a nebyly pozorovány poruchy zdravotního stavu. Den před porážkou bylo zvířeti odebráno sputum a krev k vyšetření na přítomnost *tbc* zárodků, které bylo negativní.

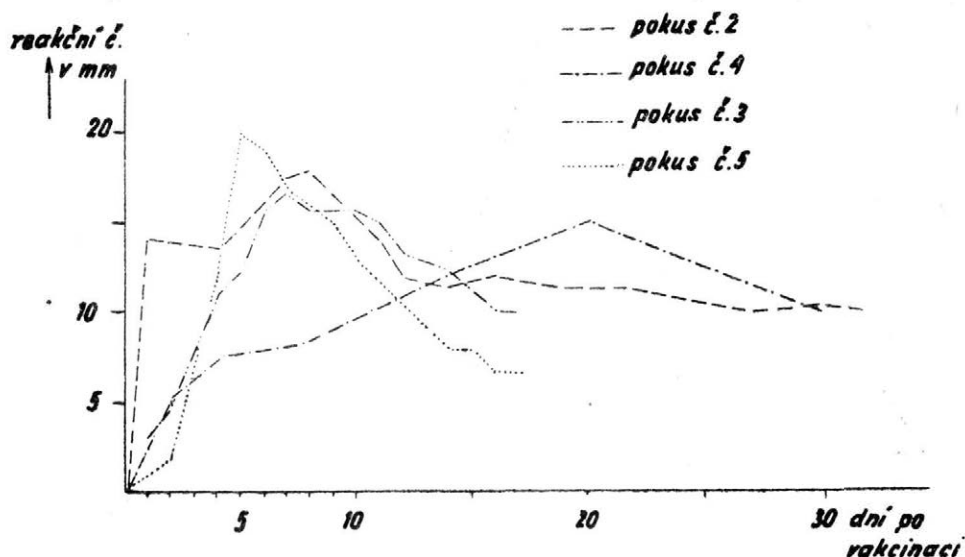
Od infekce až do porážení byla nejvyšší teplota naměřena 26 dní po infikování — 39,8° C (viz teplotní graf 8).

Klinický nález den před porážením:

Trias: D 26, P 75, T 38,5° C. Výživný stav dobrý. Auskultací zjištěno zostřené vesikulární dýchání doprovázené v dolních a středních partiích plic dýcháním bronchiálním. Ucpáním nozder zvíře vydrážděno ke kašli, kašel suchý, bez výhozu. Předlopatkové mízní uzliny slabě zvětšené, ostatní mízní uzliny symetrické.

Dne 21. IV. 55, t. j. 61 dní po umělé infekci, byla jalovička poražena ve váze 225 kg.

Pitevni nález: Plíce: na povrchu všech laloků roztroušeny ojedinelé uzlíky šedobílé barvy, velikosti zrčka rýže i něco menší. Na 3—4 lobuly připadal asi 1 tuberkul, který byl uložen v parenchymu plic těsně pod pleurou pulmonální. Při palpaci plicní tkáň bylo možno zjistit v celém parenchymu uzlíky velikosti rýže asi v pětinašobném množství než bylo vidět na povrchu plic. Uzlíky byly ostře ohraničené od plicní



Graf 1. Místní reakce po podkožní vakcinaci

tkáně. Mízní uzliny mediastinální silné jako dětský palec, na řezu zesýrovatělé. Ostatní mízní uzliny rovněž o něco zvětšené, na řezu zesýrovatělé.

Játra: v mízních uzlinách jaterních zjištěn 1 tuberkul velikosti prosa.

V ostatních parenchymatosech orgánech nezjištěny tuberkulosní změny.

Histologickým vyšetřením plic zjištěna zcela drobná, ojediněle se tvořící *tbc* ložiska sestavená ze sklerotické granulační tkáně tuberkulosní.

Pokus č. 3: Býček u. č. 2, ČN 38/54.

Po celou dobu až do poražení bylo zvíře čilé, dobře žralo a nebyly pozorovány poruchy zdravotního stavu.

Den před poražením bylo klinickým vyšetřením zjištěno:

Trias: P 72, D 23, T 38,5° C. Výživný stav méně dobrý. Drážditelnost ke kašli po ucpání nosu byla pozitivní. Kašel ne příliš intenzivní, suchý. Auskultací na pravé i levé straně ve střední a dolní části hrudníku blízko lopatky slyšitelné zostřené vesikulární dýchání se slabým dýcháním bronchiálním.

Dne 25. VI. 55, t. j. za 122 dnů po infekci, byl býček poražen ve váze 275 kg.

Pitevni nález: Mízní uzliny — pravá předlopatková uzlina tuhé konsistence, flouštky dvou prstů, na řezu bez makroskopicky zjištěných tuberkulosních změn. Levá předlopatková uzlina o něco slabší, rovněž bez makroskopicky zjištěných tuberkulosních změn.

Plice: na celém povrchu plic prosvítaly pod pleurou tuberkuly velikosti vikve až hrachu. Asi na 4 lobuly připadal 1 tuberkul. V diafragmatickém laloku, hlavně v jeho kaudální části, byl počet tuberkulů větší — na 1 lobulus připadal 1 tuberkul uložený těsně pod pleurou. Při palpaci bylo možno v parenchymu plic zjistit větší množství tuberkulů velikosti hrachu i něco menších. Mízní uzliny bronchiální silně zvětšené, prostoupené v celém rozsahu tuberkuly velikosti prosa i většími, slabě inkrustovanými. Na řezu mízními uzlinami připadalo na řeznou plochu v rozsahu 1 cm² asi 20 tuberkulů. Mediastinální uzliny rovněž silně zvětšené, změny podobné jako u mízních uzlin bronchiálních.

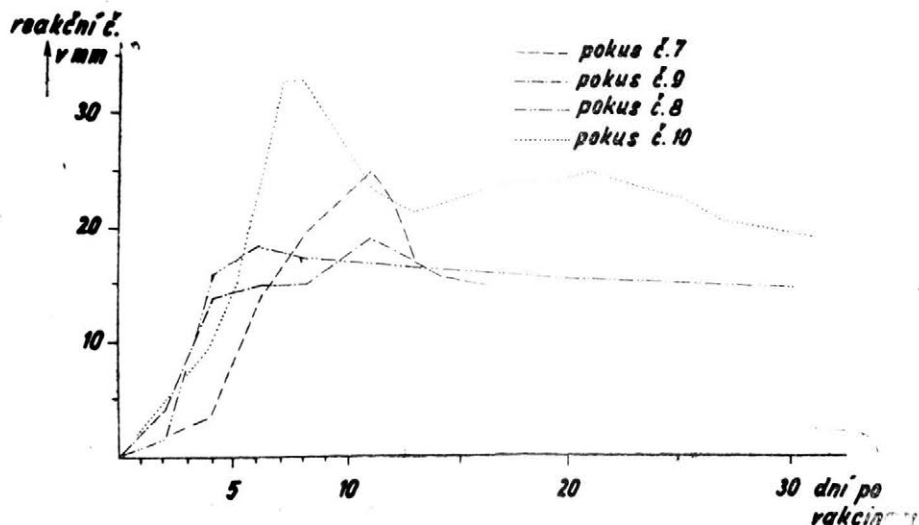
Játra: v parenchymu jater a mízních uzlinách zjištěno několik *tbc* ložisek velikosti hrachu i menší.

Ledviny: v mízních uzlinách a parenchymu zjištěno několik tuberkulů velikosti prosa.

Zažívací ústrojí: v mesenterálních uzlinách nalezeno 1 *tbc* ložisko velikosti prosa.

Pokus č. 4: Jalovice u. č. 4, ČN 131/54.

Jalovice po celou dobu pokusu až do poražení měla zachovanou chuť ke žrádlu a teplota nepřekročila horní fyziologickou hranici (39,5° C). Zvíře občas spontánně



Graf 2. Místní reakce po podkožní vakcinaci

kašlalo. Ke kašli se dalo rovněž poměrně snadno vydráždit ucpáním nozder. Kašel byl převážně suchý. Mikroskopickým vyšetřením sputa a kultivací nebyly tuberkulosní zárodky prokázány.

V den poražení, t. j. 9. I. 1956, bylo klinickým vyšetřením zjištěno:

Trias: P 88, D 24, T 39,2° C. Dýchací ústrojí: auskultací zjištěno zostřené vesikulární dýchání v celém rozsahu plic a slabě bronchiální dýchání v dolních i ve středních částech plicního pole.

Mízní uzliny regionální klinicky nezměněné. Ostatní orgány rovněž klinicky beze změn.

Dne 9. I. byla jalovice poražena.

Pitevni nález: výživný stav průměrný. Svalové mízní uzliny — na straně inokulace vakciny levá předlopatková uzlina slabě zvětšená, pravá předlopatková uzlina rovněž zvětšená, tloušťky 1,5 prstu. V pravé předlopatkové uzlině zjištěn 1 tuberkul velikosti čočky. Ostatní svalové mízní uzliny makroskopicky beze změn.

Plíce: pod pleurou prosvítají četné tuberkuly převážně v kaudální části diafragmatických laloků velikosti čočky i menší, tuhé konsistence, na řezu zesýrovatělé. Při palpaci parenchymu plic zjištěn i v hloubce plicní tkáně větší počet tuberkulů (na 1 lobulus připadalo asi 10 tuberkulů). Pleura pulmonální zesílená, slabě zkalena. V průdušnici a velkých bronších malé množství šedě bílého hlenu. V roztěru hlenu z bronchu nezjištěny mikroskopicky *tbc* zárodky. Mediastinální uzliny zvětšené, na řezu četné tuberkuly velikosti zrnka rýže i menší. Rovněž v bronchiálních mízních uzlinách byly zjištěny na řezu četné tuberkuly.

Játra: v mízních uzlinách jater bylo zjištěno několik tuberkulů velikosti zrnka rýže i menší.

Ledviny: v mízních uzlinách zjištěno několik tuberkulů velikosti zrnka rýže. V mesenterálních uzlinách zjištěno rovněž několik tuberkulů velikosti zrnka rýže. Ostatní parenchymatósní orgány makroskopicky bez *tbc* změn.

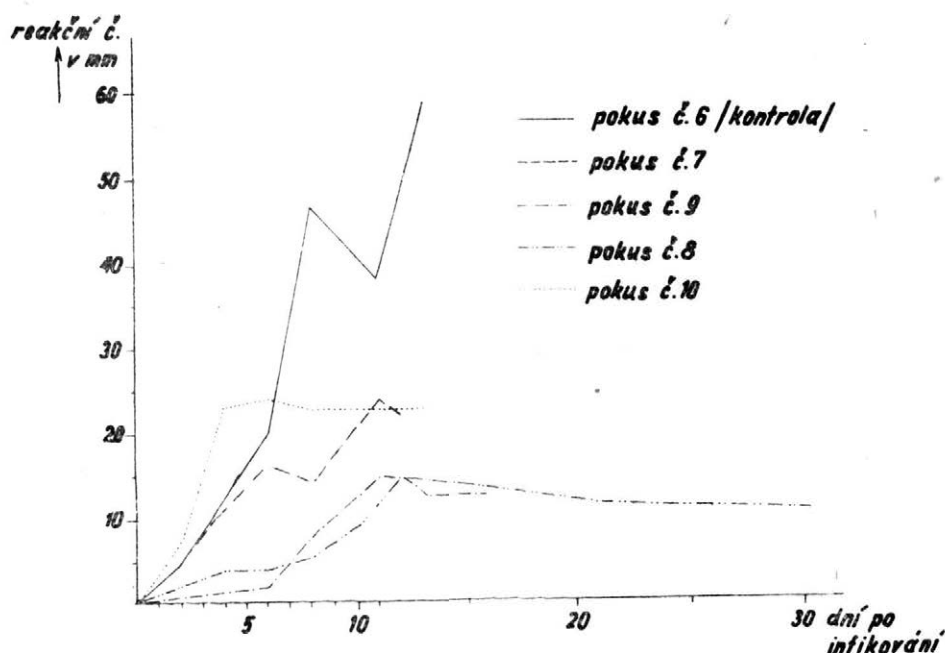
Pokus č. 5: Býček u. č. 1, ČN 39/54.

Býček po celou dobu pokusu až do poražení měl zachovanou chuť ke žrádlu. Den před poražením bylo klinickým vyšetřením zjištěno:

Trias: P 72, D 24, T 38,1° C. Celkový výživný stav méně dobrý. Auskultací bylo zjištěno zdrsňelé vesikulární dýchání a slabě dýchání bronchiální i ve středních částech plic. Drážditelnost ke kašli slabá, kašel krátký, suchý. Mízní uzliny nezvětšené, symetrické.

Dne 13. V. 55 byl býček poražen ve váze 235 kg.

Pitevni nález: svalové mízní uzliny makroskopicky bez *tbc* změn.



Graf 3. Místní reakce po podkožním infikování *tbc* zárodky bov. typu

Pľíce: slabě zvětšené, na povrchu pľic prosvítá pod pleurou velké množství *tbc* uzlíků velikosti prosa, místy splývající ve větší útvary ohraničené zánětlivým lemem. Interlobulární tkáň zmnožená. Na řezu parenchymu pľic zjištěno rovněž velké množství tuberkulů velikosti prosa. Bronchiální mizní uzliny obsahují na řezu větší množství drobných inkrustovaných *tbc* uzlíků. Mediastinální mizní uzliny zvětšené, na řezu tuberkulosní změny stejného charakteru jako v bronchiálních mizních uzlinách.

Ledviny: v mizní uzlině zjištěno 1 *tbc* ložisko velikosti vikve.

Ostatní orgány makroskopicky bez *tbc* změn.

Pokus č. 6 — kontrola: Býček č. u. 10, ČN 135/54.

V průběhu onemocnění býček nejevil z počátku chorobných příznaků. Později se začal zdravotní stav zhoršovat, chuť ke žrádлу se zmenšovala a objevil se spontánní kašel. Dva dny před poražením bylo klinickým vyšetřením zjištěno:

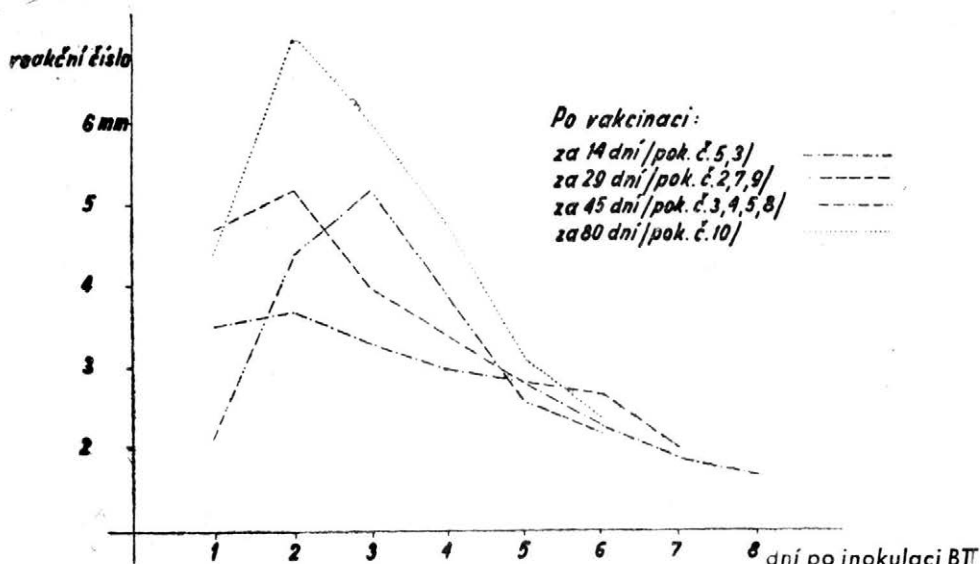
Trias: P 83, D 60, T 39 °C. Výživný stav špatný. Po levé straně krku v místě inokulace *tbc* zárodků zduření velikosti mužské pěsti, ostře prominující. Levá předlopatková mizní uzlina zduřená, velikosti husího vejce. Ostatní mizní uzliny nezměněné. Dech zrychlený, namahavý. Auskultací zjištěno zhrsnělé vesikulární dýchání a bronchiální dýchání ve středních částech pľic. Zvíře se dalo snadno vydráždit ke kašli, kašel byl suchý, namahavý. Odebrané sputum mikroskopickým vyšetřením na *tbc* zárodky bylo negativní.

Dne 6. V. 55, t. j. za 73 dní po infikování, byl býček ve váze 249 kg poražen.

Pitevni nález: na levé straně krku v místě infekce v podkoží zduření velikosti dětské pěsti, obsahující žlutobílý hnis. V roztěru z tohoto abscesu zjištěno větší množství *tbc* zárodků.

Mizní uzliny: levá předlopatková mizní uzlina na straně infekce zvětšená, tuhá, velikosti dětské pěsti, na řezu zesýratelá. Pravá předlopatková uzlina slabě zvětšená, na řezu několik tuberkulů velikosti rýže s nažloutlým centrem. V ostatních svalových mizních uzlinách zjištěny ojedinělé tuberkly velikosti prosa až rýže.

Pľíce: v celém parenchymu pľic roztroušena *tbc* ložiska velikosti zrnka rýže až čočky, ohraničená úzkým hepatizovaným lemem. Na ploše velikosti 10haléře prosvítalo pod pleurou průměrně asi 20 tuberkulů. Mediastinální a bronchiální mizní uzliny zvětšené, na řezu téměř v celém rozsahu zesýratelé.



Graf 4. Přehled postvakuinační alergie na bakteriální test za 14–18 dní po vakcinaci

Játra: v parenchymu nalezeno pod kapsulou několik tuberkul velikosti rýže. V mízních uzlinách větší množství tuberkul velikosti vikve.

Ve slezině, ledvinách bylo zjištěno několik tuberkul velikosti prosa.

Střeva: mesenterální uzliny prostoupeny rovněž tuberkly velikosti rýže.

Pokus č. 7: Jalovice ušní č. 9, ČN 134/54.

Den před poražením bylo klinickým vyšetřením zjištěno:

Trias: P 80, D 24, T 38,3° C. Chuť ke žrádlu dobrá.

Dýchací ústrojí: auskultací zjištěno zesílené vesikulární dýchání a slabé dýchání bronchiální v rozsahu celého plicního pole. Drážditelnost ke kašli pozitivní. Mikroskopické vyšetření sputa bylo na tbc zárodky negativní.

Mízní uzliny předlopatkové: levá tloušťky 1½ prstu, pravá (na straně infekce) jako mužská pěst, nebolestivá, tuhé konsistence. Ostatní mízní uzliny beze změn.

Dne 12. V. 55, t. j. za 78 dní po infikování, byla jalovice poražena ve váze 289 kg.

Pitevní nález: Mízní uzliny: pravá předlopatková mízní uzlina velikosti mužské pěsti, tuhá, na řezu zesýratelá, obsahující ojedinělá abscedující ložiska velikosti hrachu. Levá předlopatková uzlina slabě zvětšená, na řezu nezjištěny makroskopicky žádné tbc změny. V ostatních svalových mízních uzlinách nezjištěny rovněž makroskopicky změny tbc charakteru.

Plice: na celém povrchu plic prosvítají pod pleurou celkem dva tuberkly velikosti vikve bez zánětlivého hepatizovaného lemu. Bronchiální mízní uzliny mírně zvětšené, na řezu zjištěno několik tuberkul velikosti prosa, slabě inkrustované. V mediastinálních uzlinách rovněž několik tuberkul velikosti prosa.

Ostatní orgány makroskopicky bez tbc změn.

Pokus č. 8: Jalovice č. u. 6, ČN 88/54.

Jalovice po celou dobu pokusů až do poražení měla zachovanou chuť ke žrádlu a teplota nepřekročila horní fyziologickou hranici. Spontánní kašel nebyl u jalovice pozorován.

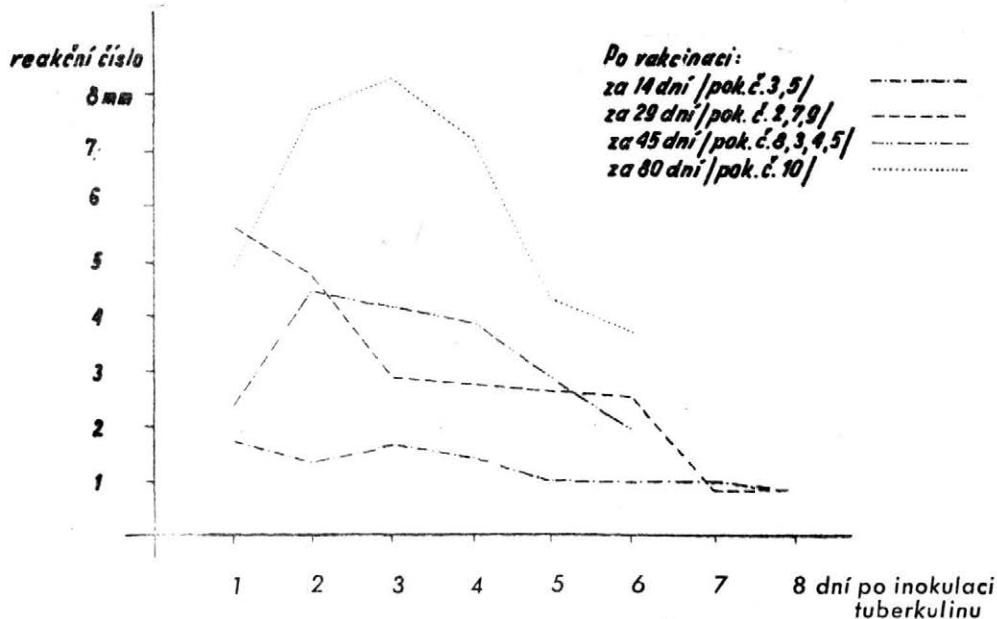
V den poražení, t. j. 16. I. 56, bylo klinickým vyšetřením zjištěno:

Trias: P 84, D 22, T 38,9° C.

Dýchací ústrojí: ucpaním nosder je možno velmi nesnadno vydráždit zvíře ke kašli. Kašel je suchý. Vyšetření sputa mikroskopicky, kultivací a biologickým pokusem bylo negativní. Auskultací plic bylo zjištěno slabě zostřené vesikulární dýchání v krajně pravého apikálního laloku a výraznější dýchání bronchiální.

Mízní uzlina předlopatková na straně infekce byla zvětšená velikosti pěsti, tuhé konsistence, slabě bolestivá. Ostatní mízní uzliny bez nálezu.

16. I. 56, t. j. za 43 týdnů po umělé infekci, byla jalovice poražena.



Graf 5. Přehled postvakační alergie na tuberkulin za 14–18 dní po vakcinaci

Pitevní nález: svalové uzliny — pravá předlopatková mizní uzlina zvětšená, na řezu zjištěny tuberkly velikosti až hrachu. V ostatních mizních uzlinách makroskopicky nezjištěny *tbc* změny.

Plicе: na pravém apikálním a středním laloku několik perlovinných útvarů velikosti až lískového ořechu stopkatě nasedající na pleuru pulmonální. V parenchymu plic tuberkulosní změny makroskopicky nezjištěny. Mizní uzliny mediastinální a bronchiální slabě zvětšené, na řezu bylo zjištěno několik tuberkulů velikosti zrnka rýže v centru zesýrovatělé. Na pleure parietální, na pravé straně hrudníku v kranální části u *apertura thoracis cranialis* několik perlovinných útvarů plošného tvaru, tloušťky až 1 cm pokrývající pleuru v rozsahu dlaně.

Játra: v mizních uzlinách jater zjištěno několik tuberkulů velikosti rýže.

Pokus č. 9: Jalovice u. č. 7, ČN 133/54.

Po infekci nepřekročila teplota u jalovice horní fyziologickou hranici (teplotní graf 9).

V den poražení, t. j. za 84 dní po infikování, bylo klinickým vyšetřením zjištěno:

Trias: P 70, D 20, T 38,9° C. Výživný stav dobrý. Pravá předlopatková mizní uzlina na straně infekce velikosti husiho vejce. Ostatní mizní uzliny bez nálezu. Na pravé straně krku v místě infekce zduření velikosti dětské pěsti. Auskultací plic bylo zjištěno za lopatkou nepatrně zesílené vesikulární dýchání.

Dne 18. V. 55, t. j. 84 dní po infikování, byla jalovice poražena ve váze 328 kg.

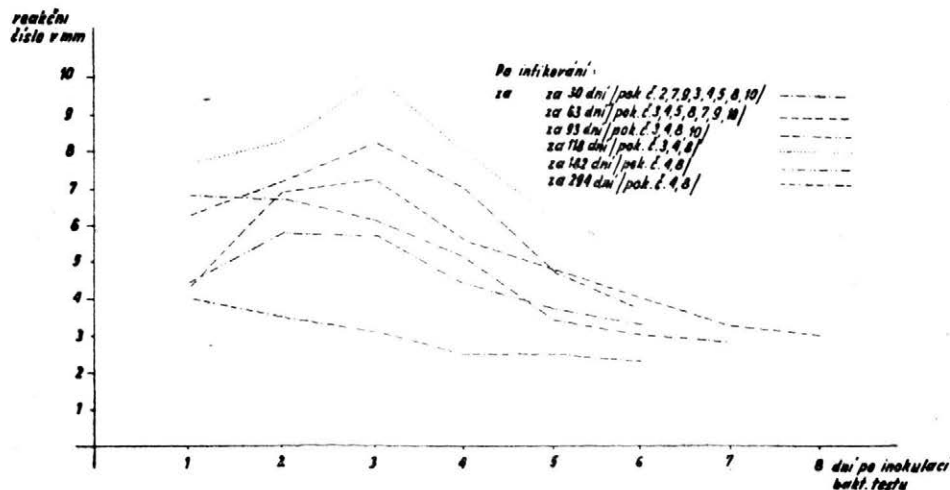
Pitevní nález: Mizní uzliny — pravá předlopatková mizní uzlina obsahovala na řezu četné tuberkly velikosti prosa až hrachu, zvláště hojně nahloučené v korové části uzliny, mírně inkrustované. Ostatní svalové mizní uzliny bez *tbc* změn.

Plicе: v parenchymu nezjištěny *tbc* změny. V mediastinálních uzlinách nalezeny 2 tuberkly velikosti vikve, mírně inkrustované. V bronchiálních uzlinách nalezeno 1 *tbc* ložisko velikosti prosa.

Pokus č. 10: Jalovice u. č. 5, ČN 87/54.

Den před poražením, t. j. za 111 dní po infikování, bylo klinickým vyšetřením zjištěno:

Trias: P 65, D 22, T 38,4° C. Celkový výživný stav dobrý. V místě infekce na pravé straně krku zduření velikosti dětské pěsti. Pravá předlopatková mizní uzlina zvětšená. Jalovice byla snadno drážditelná ke kašli. Auskultací na pravé straně ve střední části plicního pole zjištěno slabé vesikulární dýchání a nepatrné dýchání bronchiální.



Graf 6. Přehled postinfekční alergie na bakteriální test za 30—294 dní po infekci (u vakcinovaných zvířat)

Dne 14. VI. 55, t. j. za 112 dnů po infikování, byla jalovice poražena ve váze 452 kg.

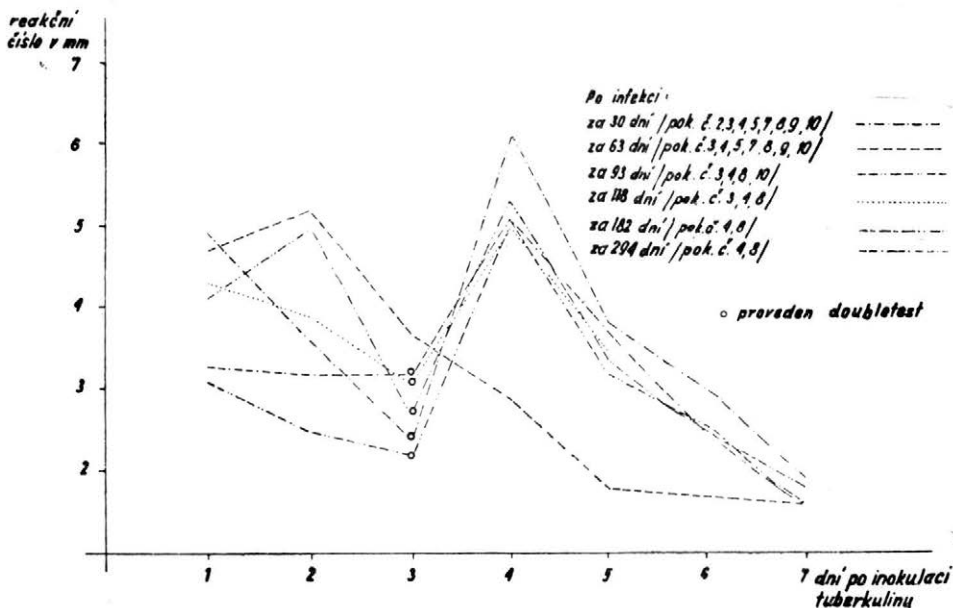
Pitevni nález: Mízní uzliny — pravá předlopatková uzlina (na straně infekce) velikosti husího vejce, na řezu zesýratelá. Ostatní svalové mízní uzliny beze změn.

Plic: v parenchymu nezjištěny makroskopicky žádné tub. změny. V mediastinálních uzlinách zjištěny 2 tuberkly velikosti rýže, v lymf. bifurcat. sin. 2 tub. ložiska velikosti vikve.

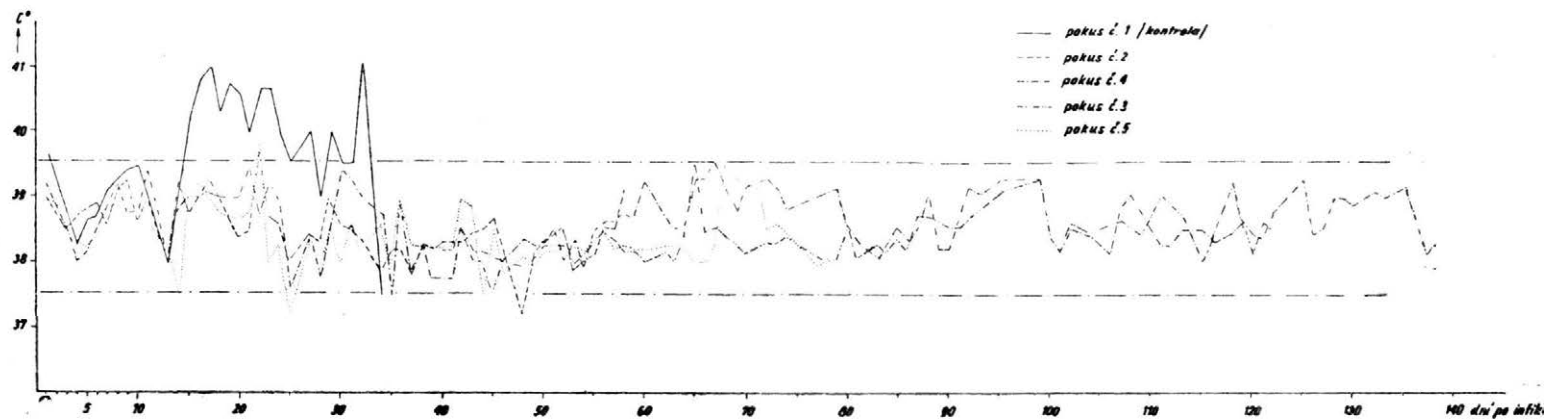
Ledviny: v mízních uzlinách několik tuberkulů velikosti vikve.

Játra: v mízních uzlinách rovněž několik tub. ložisek velikosti rýže.

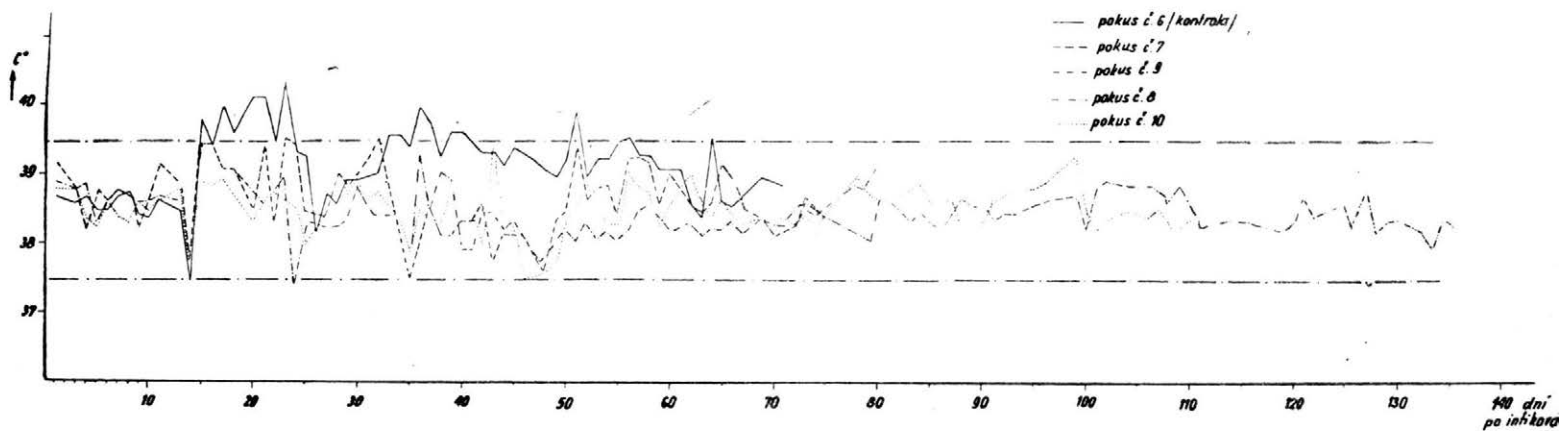
Ostatní orgány makroskopicky bez tub. změn.



Graf 7. Přehled postinfekční alergie na tuberkulin za 30—294 dní po infekci (u vakcinovaných zvířat)



Graf 8. Teplotní graf zvířat po intravertorní infekci



Graf 9. Teplotní graf zvířat po podkožní infekci

V této práci byla přezkoušena na 7 zvířatech neškodnost a na 8 zvířatech imunogenní účinek M vakciny u skotu.

Neškodnost M vakciny byla přezkoušena na mladém skotu prostém tuberkulose, kterému bylo na krku podkožně inokulováno po 2,5 ml vakciny M-conc. Po vakcinaci byl sledován zdravotní stav očkováných zvířat. U žádného vakcinovaného zvířete nebylo zaznamenáno zvýšení teploty nad 39,5° C. Za 14—91 týdnů po vakcinaci byla zvířata poražena. Všechna vakcinovaná zvířata vykazovala při pitvě negativní makroskopický nálezy na *tbc*, včetně příslušné mízní uzliny předlopatkové na straně vakcinace. Z tohoto orientačního pokusu vyplynulo, že M vakcína v dávce použité v našich pokusech neovlivnila nepříznivě zdravotní stav zvířat a neměla žádné tuberkulogenní vlastnosti.

U všech vakcinovaných zvířat byla zjištěna před infikováním, t. j. za 46—117 dní po vakcinaci, výrazná reakce na BT, která dosáhla maxima za 48—72 hod. (max. reakč. číslo 3,3—8,5 mm).

Intradermální tuberkulinace byla u 7 vakcinovaných zvířat před infikováním pozitivní, dosáhla maxima za 24—96 hod. po inokulaci tuberkulinu. U 1 býčka č. uš. 1 (pokus č. 5) však byla tuberkulinová reakce před infikováním negativní s maximálním reakč. číslem 1 mm za 96 hod. Double-test však nebyl u tohoto zvířete proveden.

Za 1 měsíc po infikování byla zjištěna u pokusných zvířat zvýšená reaktivita (sensibilita) na tuberkulin i bakteriální test ve smyslu rychlejšího nastoupení maximální reakce. Tato maximální reakce byla zjištěna již za 24 hod. na tuberkulin u 8 zvířat (reakč. číslo 3,2—7,3 mm), na BT u 5 zvířat (reakč. č. 5,1—7 mm) z celkového počtu 10 zvířat. Za 72 hod. po inokulaci testů však byla zjištěna pozitivní reakce na tuberkulin pouze u 1 zvířete (jalovice č. uš. 5, pokus č. 10, reakč. č. 4,3 mm). Po doubletestu však byla u všech zvířat reakce na tuberkulin pozitivní.

Z těchto výsledků vyplývá, že při intradermální tuberkulinaci za krátkou dobu po infikování (1 měsíc) byl průběh alergické reakce urychlen tak, že maximální reakce se objevila u většiny zvířat již za 24 hod. po inokulaci tuberkulinu. S podobným průběhem alergické reakce se setkáváme u zvířat sensibilizovaných, na př. při doubletestu.

Srovnáme-li maximální reakce na tuberkulin (po doubletestu) s maximálními reakcemi na BT u pokusných zvířat za 1 měsíc po infikování zjišťujeme, že u 6 z 10 zvířat převládala reakce na BT nad reakcí tuberkulinovou. Pouze u 4 zvířat byla větší reakce na tuberkulin ve srovnání s reakcí na bakteriální test.

Z celkového počtu 29 provedených alergických zkoušek u 10 zvířat v období 35—301 dní po infikování virulentními *tbc* zárodky boviního typu převládala u 20 zkoušek reakce na BT nad tuberkulinovou reakcí. Průměrné maximální reakční číslo na BT bylo 6,67 mm, na tuberkulin 5,72 mm.

Je však nutno poznamenat, že větší reakce na bakteriální test mohly do jisté míry souviset s poměrně vysokou koncentrací *tbc* zárodků v použitém BT (1 mg zárodku muriního typu/1 ml fysiolog. roztoku).

Použití M vakciny v podkožní dávce 2,5 ml k diagnostickému testu, jak doporučoval doc. dr. Šula, nelze na základě našich výsledků doporučit, poněvadž 7 z 8 *tbc* prostých zvířat reagovalo na podkožní inokulaci 2,5 ml vakciny M-conc. zduřením, které dosáhlo do 5 dnů reakč. čísla nad 5 mm. Rovněž skutečnost, že zvířata po tomto testu získávají postvakcinační alergii, znemožňuje použití M vakciny s živými *tbc* zárodky jako diagnostického testu.

U všech vakcinovaných zvířat po infekci nebylo zjišťováno při klinickém vyšetřování výrazných změn ve zdravotním stavu. Teplota u vakcinovaných zvířat většinou nepřekročila po infekci horní fyziologickou hranici, zatím co u zvířat kontrolních byly zaznamenány výstupy teploty až na 41° C.

Za 3 týdny po infikování byl u kontrolních zvířat občas zjišťován spontánní kašel, který byl stále častější. Vyšetřováním sputa však nebyly prokázány *tbc* zárodky u žádného kontrolního zvířete ani u zvířat vakcinovaných.

Zvýšená resistance proti tuberkulose u vakcinovaných zvířat se projevila rovněž ve váhových přírůstcích, které byly u všech vakcinovaných zvířat větší ve srovnání se zvířaty kontrolními.

Ve skupině vakcinovaných zvířat infikovaných intravenosně byly zaznamenány po infikování do porážení průměrné denní přírůstky 0,16—0,77 kg. Naproti tomu u kontrolního nevakcinovaného zvířete byl po infikování zaznamenán denní úbytek na váze 0,143 kg.

Ve skupině podkožně infikovaných zvířat byl zaznamenán po infekci denní přírůstek až 0,5 kg, zatím co u zvířete kontrolního v této skupině byl váhový přírůstek pouze 0,01 kg.

Vliv tuberkulosního procesu na váhové přírůstky zvířat infikovaných podkožně nelze srovnat s přírůstky zvířat infikovaných intravenosně, poněvadž v obou skupinách byla zvířata různého stáří.

Srovnáním pitevních nálezů zvířat kontrolních-nevakcinovaných se zvířaty vakcinovanými, které je pro zhodnocení imunogenní účinnosti M vakciny nejspolehlivější, zjišťujeme nejvýraznější rozdíl mezi zvířaty vakcinovanými a zvířetem kontrolním ve skupině zvířat podkožně infikovaných.

V parenchymu plic kontrolního-nevakcinovaného býka, který byl infikován podkožně dávkou 0,1 mg *tbc* zárodků kmene 4006 na 1 kg ž. v. bylo zjištěno při pitvě na povrchu plic průměrně 20 tuberkulů na ploše v rozsahu 1 lobulu. V parenchymu jater, sleziny a ledvin tohoto kontrolního zvířete byly zjištěny rovněž ojedinělé tuberkly.

Naproti tomu pouze u jednoho ze 4 vakcinovaných a po vakcinaci podkožně infikovaných zvířat byly zjištěny v parenchymu plic 2 tuberkly velikosti vikve bez zánětlivého hepatizovaného lemu. Rovněž v parenchymu jater, sleziny a ledvin nebyly zjištěny u těchto 4 vakcinovaných zvířat žádné změny *tbc* charakteru.

Tuberkulosní změny zjištěné u zvířete podkožně infikovaného za 117 dní po vakcinaci se v podstatě nelišily od tuberkulosních změn u zvířat, která byla infikována již za 46 dní po vakcinaci.

Ve skupině zvířat infikovaných intravenosně byly zjištěny u všech vakcinovaných a po vakcinaci infikovaných zvířat *tbc* ložiska i v parenchymu plic. Počet tuberkulů v plicích ve srovnání se zvířetem kontrolním však byl u všech vakcinovaných zvířat menší. V parenchymu jater a ledvin bylo zjištěno několik tuberkulů pouze u jednoho ze 4 vakcinovaných zvířat, kdežto u kontrolního zvířete byla i v těchto orgánech zjištěna tuberkulosní ložiska ve větším rozsahu než u zvířete vakcinovaného.

Srovnáme-li pitevní nálezy vakcinovaných zvířat infikovaných podkožně se zvířaty infikovanými intravenosně zjišťujeme u skupiny zvířat, která byla infikována podkožně, značně menší tuberkulosní změny přesto, že tato zvířata infikovaná podkožně obdržela 50krát větší dávku *tbc* zárodků na 1 kg ž. v.

Z těchto dosažených výsledků by mohl vyplynout závěr, že použitá dávka *tbc* zárodků při intravenosní infekci pokusných zvířat byla příliš velká. Je nutno však podotknout, že na př. Guérin použil při intravenosním infikování zvířat vakcinovaných BCG vakcinou dávku piné virulentních *tbc* zárodků 10krát větší ve srovnání s dávkou použitou v našich pokusech. Guérin uvádí, že intravenosně inokuloval vakcinovaným zvířatům 5 mg virulentní kultury tuberkulosní, která usmrtila kontrolní zvířata v 30—50 dnech za příznaků miliární tuberkulózy. Přesto, že vakcinovaná zvířata byla infikována 5 mg piné virulentní *tbc* kultury, snášela tuto infekci podle uvedeno autora bez následků. K vakcinaci však bylo použito 20krát větší dávky BCG vakciny — t. j. 50 mg — ve srovnání s dávkou M vakciny, která byla použita v našich pokusech.

Ačkoliv intravenosní nebo subkutánní infekci nelze považovat za přirozený způsob infekce, rozhodli jsme se použít parenterálního způsobu infikování pokusných zvířat z toho důvodu, že při tomto způsobu infekce velmi přesně určujeme množství infekčního agens, které přijde do bezprostředního styku s obrannými složkami organismu a lze tudíž zcela objektivně zjišťovat stupeň resistance vakcinovaných zvířat.

Na př. při perorálním způsobu infekce, kterého použil Young a Paterson (7,5 mg virulentních *tbc* zárodků boviního typu podaných *per os*), závisí množství vstřebaných zárodků na stavu sliznice zažívacího ústrojí, jakož i na množství a jakosti přijatého krmiva. Krmivem odchází při perorálním způsobu infekce ze zažívacího ústrojí nekontrolovatelné množství *tbc* zárodků, takže výsledky pokusů při malém počtu pokusných zvířat jsou při tomto způsobu infekce málo průkazné. Rovněž při intratracheální infekci může dojít bezprostředně po inokulaci *tbc* zárodků k expektoraci, což může značně ovlivnit výsledky pokusů.

Na 17 kusech mladého skotu byla přezkoušena neškodnost a imunogenní vlastnosti M vakciny (MP kmen).

1. Na 7 kusech skotu, jemuž byla podkožně inokulována M vakcína v množství 2,5 mg zárodků bylo zjištěno, že uvedený myší kmen v použitých dávkách neovlivňuje zdravotní stav očkováných zvířat a nemá tuberkulogenní vlastnosti.

2. Po podkožní vakcinaci zvířat prostých tuberkulózy došlo ve všech případech k výrazné lokální reakci, která dosahovala maxima 5.—20. dne po vakcinaci.

3. Po vakcinaci zdravého mladého skotu nebyly pozorovány celkové postvakcinační reakce.

4. Do 45 dnů po vakcinaci byla zjištěna u 93,3 % zvířat pozitivní alergie na tuberkulin, zatím co reakce na bakteriální test byla u všech vakcinovaných zvířat pozitivní.

5. Srovnáním maximálních reakcí na bakteriální test a na tuberkulin do 80 dnů po vakcinaci nebylo zjištěno mezi oběma reakcemi výrazných rozdílů.

6. U všech vakcinovaných zvířat za 30—294 dnů po infekci mírně převládaly alergické reakce na bakteriální test ve srovnání s reakcemi na tuberkulin.

7. U 8 vakcinovaných zvířat infikovaných virulentními *tbc* zárodky boviniho typu v době 46—116 dní po vakcinaci nepřekročila teplota po infikování ve většině případů horní fyziologickou hranici, zatím co u zvířat kontrolních byly zaznamenány výstupy teploty až na 41° C.

8. Průměrné váhové přírůstky u všech vakcinovaných zvířat převyšovaly váhové přírůstky zvířat kontrolních.

9. Mezi resistencí za 46—116 dní po vakcinaci nebylo zjištěno srovnáním pathologicko-anatomických nálezů podstatných rozdílů.

10. V období 46—116 dní po vakcinaci byla zjištěna u všech podkožně vakcinovaných zvířat pouze zvýšená odolnost proti tuberkulóze, která se projevila tím, že *tbc* změny u vakcinovaných zvířat ve srovnání se zvířaty nevakcinovanými-kontrolními byly menšího rozsahu. U žádného zvířete nezabránila M vakcína při umělé infekci vytvoření *tbc* změn, které byly zvláště rozsáhlé při intravenózní infekci, při infekci podkožní se *tbc* změny lokalisovaly převážně v mizních uzlinách.

Literatura

1. Hutýra, Marek: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere (Erster Band, Infektionskrankheiten, bearbeitet von Manninger, 1944, str. 536-540). — 2. Gräub, Zschokke, Saxer: Über tuberkulöse Reinfektion beim Rinde (Zeitschrift für Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere, Berlin, 1943, str. 268-310). — 3. Guérin: Ochranné očkování skotu vakcinou BCG proti infekci tuberkulózní. (Přednáška, přel. prof. Harnach. Zvěrolékařské rozpravy, ročník XII, rok 1938, str. 119-132). — 4. Saxer: Weitere Untersuchungen über die tuberkulöse Reinfektion beim Rind und ihren Einfluß auf die Resistenz (Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 1952, str. 741-760). — 5. Gräub: Schweizer Archiv für Tierheilkunde, B 96, J 1954, str. 446. — 6. Šula, Kombercová: Nová očkovací látka proti tuberkulóze (1. sdělení. Čas. lék. českých 1951, str. 1150). — 7. Šula, Zavadilová, Medulánová, Pokorný: Nová očkovací látka proti tuberkulóze (2. sdělení. Čas. lék. českých 1952, str. 161). — 8. Trojanová, Hromádková: Nová očkovací látka proti tuberkulóze (Čas. lék. českých 1952, str. 761). — 9. Goldenberg, Lukašov, Karut, Ivanova, Kandyba, Michajličenko: Patogenные свойства культуры туберкулезной палочки, выделенной от полёвки (Ветеринария 1953, 11, str. 20-23). — 10. Young and Paterson: Studies on the vaccination of cattle as a measure against infection with tuberculosis with the living

vole acidfast bacillus. (Journal of Hygiene, 1949, str. 39-79.) — 11. V á c l a v í k : Zkušnosti s hromadným očkováním skotu proti tuberkulóze v litovelském okrese. (Veterinářství 1953, str. 182-184.) — 12. K l o b o u k : Pokusy s Calmettovou vakcínou BCG. (Zvěrolékařský obzor 1929, roč. XXII, str. 149, 169, 186, 204.) — 13. Z b o ř í l : Aktivní imunizace telic proti tuberkulóze (Veterinářství roč. III-1953, str. 27). — 14. W o l n y : Studie o protituberkulózní imunizaci a pokusná kalmetisace telat (Dis. práce-Brno, 1949). — 15. H a u d o r o y : Technique Bacteriologique élémentaire, Lausanne 1941, str. 182.

Активная иммунизация крупного рогатого скота против туберкулеза М вакциной

На 17 головах молодого кр. рог. скота авторы испытали безвредность и иммунные свойства М вакцины (штамм МР).

1. У 7 голов кр. рог. скота, которым была подкожно привита М вакцина в дозе 2,5 мг зародышей, было определено, что мыший штамм в примененных дозах не влияет на состояние здоровья привитых животных и не имеет туберкулогенных свойств,

2. после подкожной вакцинации нетуберкулезных животных во всех случаях наступила явная локальная реакция, которая достигла максимума на 5-ый — 20-ый дней после вакцинации,

3. после вакцинации здорового молодого кр. рог. скота поствакцинационная реакция не замечалась,

4. до 45 дней после вакцинации у 93,3 % животных была определена позитивная аллергия на туберкулин, в то время как реакция на бактериальную пробу была позитивна у всех вакцинированных животных,

5. сравнением максимальных реакций на бактериальную пробу и на туберкулин до истечения 80 дней после вакцинации не были установлены значительные различия между обеими реакциями,

6. у всех вакцинированных животных через 30—294 дня после инфекции аллергические реакции на бактериальную пробу слабо преобладали по сравнению с реакциями на туберкулин,

7. у 8 вакцинированных животных, инфицированных вирулентными зародышами туберкулеза бычьего типа в течение 46—116 дней после вакцинации, температура после инфицирования в большинстве случаев не превышала физиологического предела, тогда как у контрольных животных отмечалось повышение температуры даже до 41°С,

8. средний привес у всех вакцинированных животных превышал привес контрольных животных,

9. сравнением патологическо-анатомических изменений через 46—116 дней после вакцинации в устойчивости не были обнаружены существенные различия,

10. в промежутке времени от 46—116-го дня после вакцинации у всех подкожно вакцинированных животных была установлена только повышенная устойчивость против туберкулеза, проявляющаяся в том, что туберкулезные изменения у вакцинированных животных по сравнению с невакцинированными (контрольными) животными были меньших размеров. Ни у одного животного М вакцина при искусственно вызванной инфекции не препятствовала образованию туберкулезных изменений, которые были в особенности значительны при интравенозной инфекции; при подкожной инфекции туберкулезные изменения сосредоточились преимущественно в лимфатических узлах.

Active Immunization of the Cattle against Tuberculosis with the M-Vaccine

On 17 pieces of young cattle the harmlessness and immunogenic properties of the M-vaccine were tested (MP-Strain).

1. In 7 pieces of cattle subcutaneously inoculated with the M-vaccine in the dose of 2,5 mg of germs it has been found that this mouse strain in the doses applied does not influence the state of health of the inoculated animals nor has any tuberculo-genic properties.

2. After the tuberculosis-free animals had been vaccinated subcutaneously there was — in all cases — a marked local reaction reaching its maximum on the 5th to 20th days after the application.

3. No general post-vaccinal reactions were observed after the healthy young cattle had been vaccinated.

4. Within 45 days after vaccination the positive allergy to tuberculin was ascertained in 93,3 % of animals, while the reaction to bacterial test was positive in all animals vaccinated.

5. On comparing the maximal reactions to the bacterial and the tuberculine test within 80 days after vaccination no marked differences were found.

6. In all animals vaccinated allergic reactions to the bacterial test were slightly predominant within 30 to 294 days after infection as compared with the reactions to tuberculine.

7. In 8 vaccinated animals, infected with virulent Tbc germs of the bovine type within 46 to 116 days after the vaccination, the temperature after the infection in most cases did not surpass the upper physiological limit, whereas in controls the rise of temperature as high as 41° C was recorded.

8. Average weight increase in all vaccinated animals exceeded that of controls.

9. By comparison of pathologic-anatomic findings no essential differences were found between the resistance acquired after 46 days and that acquired after 116 days.

10. In the period of 46 to 116 days after vaccination in all animals vaccinated subcutaneously only increased, resistance against tuberculosis was ascertained, which was manifested by smaller extent of tuberculous lesions as compared with unvaccinated controls. In artificial infection the development of tuberculous lesions that were extensive especially after the intravenous infection, was not prevented by the M-vaccine in any animal; had the infection been performed subcutaneously, the localization of lesions in lymphatic nodes was predominant.

Die aktive Immunisation des Rindes gegen Tuberkulose mit der M-Vakzine

An 17 jungen Rindern wurden die Unschädlichkeit und die immunogenen Eigenschaften der M-Vakzine (MP-Stamm) überprüft.

1. An 7 Stück Rinder, denen die M-Vakzine in der Menge von 2,5 mg der Keime subkutan inokuliert worden war, wurde festgestellt, daß dieser Mausstamm in angewandten Dosen den Gesundheitszustand der geimpften Tiere nicht beeinflusst, und keine antituberkulösen Eigenschaften besitzt.

2. Nach der subkutanen Vakzination der tuberkulosefreien Tiere kam es in allen Fällen zu einer deutlich lokalen Reaktion, welche am 5.—20. Tage nach der Vakzination ihr Maximum erreichte.

3. Nach der Vakzination der gesunden Jungrinder wurden keine gänzlichen Postvakzinationsreaktionen beobachtet.

4. Binnen 45 Tagen nach der Vakzination wurde bei 93,3 % der Tiere die positive Allergie gegenüber Tuberkulin festgestellt, während die Reaktion gegenüber der Bakterialprobe bei allen geimpften Tieren positiv war.

5. Durch die Vergleichung der Maximalreaktionen gegenüber der Bakterialprobe und dem Tuberkulin binnen 80 Tagen wurden keine deutlichen Unterschiede zwischen beiden Reaktionen festgestellt.

6. Im Vergleich mit den Reaktionen auf Tuberkulin waren bei allen geimpften Tieren binnen 30 bis 294 Tagen nach der Infektion allergische Reaktionen auf die Bakterialprobe mäßig überwiegend.

7. Bei 8 geimpften, in der Frist von 46 bis 116 Tagen mit den virulenten Tbc-Keimen infizierten Tieren hat die Temperatur nach der Infektion in meisten Fällen die obere physiologische Grenze nicht überschritten, während bei den Kontrollen Aufstiege bis auf 41° C verzeichnet wurden.

8. Durchschnittliche Gewichtszunahmen bei allen geimpften Tieren übertrafen diejenigen der Kontrolltiere.

9. Durch den Vergleich der pathologisch-anatomischen Befunde sind zwischen der Resistenz 46 Tage nach der Vakzination und 116 Tage nach der Vakzination keine wesentlichen Unterschiede festgestellt worden.

10. In dem Zeitabschnitt von 46 bis 116 Tagen nach der Vakzination wurde bei allen, subkutan geimpften Tieren bloß eine erhöhte Resistenz gegen die Tuberkulose festgestellt, die sich dadurch bemerkbar machte, daß die Tbc-Veränderungen bei den geimpften Tieren im Vergleich mit den nicht geimpften Kontrolltieren von einem kleineren Umfang waren. Bei keinem Tiere hat die M-Vakzine bei experimenteller Infektion die Entwicklung der tuberkulösen Veränderungen verhindert, welche besonders bei der intravenösen Infektion umfangreich waren; bei der subkutanen Infektion waren die Tbc-Veränderungen überwiegend in den Lymphknoten lokalisiert.

Účinek chloridu kademnatého na samčí pohlavní orgány krys

Действие хлористого кадмия на мужские половые органы крыс

The Effect of Cadmium Chloride upon the Reproductive Organs of Male Rats

Die Wirkung von Kadmiumchlorid auf die Geschlechtsorgane der männlichen Ratten

A. JANEČEK, V. NEUMAN, M. ZENDULKA

Z katedry lékařské chemie, fyziky a toxikologie, vedoucí katedry prof. MVDr. A. Janeček a z katedry patologické morfologie a fyziologie veterinární fakulty VSZL, vedoucí katedry dopisující člen CSAZV, doktor veterinárních věd prof. MVDr. V. Jelínek

Došlo dne 28. V. 1957

Úvod

Otázku účinku malých dávek některých sloučenin kadmia na varlata krys studovali Pařízek a Záhoř (1) a jejich práce vzbudila mimořádnou pozornost v domácí i světové literatuře. V naší práci pokusně dokládáme údaje Pařízkovy dalším materiálem. V běhu jsou pokusy, jimiž je sledován účinek kadmia na varlata jiných zvířat se zřetelem k praktickému využití získaných poznatků ve veterinárním lékařství.

Přehled literatury

Biologický účinek sloučenin kadmia byl studován mnoha autory. Byl sledován fyziologický účinek malých dávek kademnatých sloučenin a zejména pak jejich účinek toxický. Četné práce řeší dále otázku mechanismu toxického působení sloučenin kadmia (2—18).

Z výsledků některých starších prací bylo možno soudit, že sloučeniny kadmia mají afinitu nejen k játrům, ledvinám a plicím, v nichž dochází při otravách kadmíem k morfologickým změnám, ale rovněž i k orgánům pohlavním. Johns a spol. (19) zjistili při studiu vlivu malých dávek solí kadmia na růst mladých krys, že při koncentraci 0,0125 % kadmia v krmivu uhynuli samečci po 50 dnech, naproti tomu část samic uhynula teprve po 190 dnech a jiná přežila i 280 krmných dnů. Při akutní otravě kadmíem u myší, králíků (20) a krys (21), a to u samců i u samic byly konečně popsány mimo jiné, morfologické změny i na pohlavních orgánech pokusných zvířat. U krys, u nichž byla vyvolána otrava kademnatými solemi a které byly utráceny nebo uhy-

nuly, bylo popsáno fialové zabarvení varlat jako důsledek působení kadmia. Z novějších pramenů zasluhuje pozornost v této souvislosti práce T. J. Vellarda (22), v níž autor dokázal, že kademnaté soli snižují biologickou účinnost estradiolu.

Popisované morfologické změny na pohlavních orgánech pokusných zvířat byly posuzovány v souvislosti s celkovým průběhem toxikosity a zřejmě proto nebyly tyto jevy podrobněji zkoumány. Teprve v poslední době byly získány Pařízkem a Záhořem (1, 23) zajímavé a cenné poznatky o účinku některých kademnatých sloučenin na pohlavní orgány krys. Autoři zjistili, že subkutánní aplikace malých dávek chloridu nebo laktátu kademnatého vyvolává u dospělých krysích a myších samců úplnou destrukci varlat, při čemž změny na jiných orgánech jsou jen zcela nepatrné. Již do dvou dnů po aplikaci látky byl destruován spermiogenní epithel celého varlete a do 10 dnů po aplikaci kademnatých sloučenin byla celá tkáň varlete nahrazena nekrotickými eosinofilními hmotami. V prvních dnech po aplikaci kadmia rovněž došlo k prudkému rozvoji kastrčních jevů (poklesu váhy semenných vajíček a prostaty).

J. Pařízek (24) učinil i další závažný objev. Dokázal, že současná aplikace mnohonásobného množství zinku ochrání plně krysí varlata před účinkem kadmia.

Tyto nové poznatky o kadmiové nekrose varlat mohou mít zásadní význam s praktickými závěry i pro veterinární medicínu. To nás vedlo k tomu, abychom nejdříve ověřili výsledky práce Pařízka a Záhoře a pak se pokusili o jejich praktické využití. Pro první etapu naší práce uvažujeme o možnosti případného využití těchto poznatků k pokusu o „biochemickou kastraci“ některých hospodářských zvířat.

Metodická a experimentální část

K pokusům byla vybrána skupina 20 dospělých samců krys z vlastního chovu, chována a krmena za stejných podmínek. 15 krysám byla injikována subkutánně v krajině bederní dávka 4×10^{-5} molu*) chloridu kademnatého na 1 kg váhy krys v 0,1% koncentraci; 5 kontrolním krysám byl subkutánně aplikován odpovídající objem fyziologického roztoku. Krysy byly postupně utráceny, a to kontrolní krysy po 1, 2, 4 a 83 dnech, pokusné krysy vždy po dvou po 1, 2, 4, 6, 8, 10, 31 a 83 dnech po aplikaci. Po utrácení byly u všech krys posouzeny morfologické (pathologicko-anatomické a histologické) změny na všech orgánech a zvláště pozorně pak na orgánech pohlavních. Histologické preparáty byly zhotovovány jednak parařinovou zalévací metodou, jednak zmrazovací metodou a byly barveny haemalaun-eosinem, Sudanem III a metodou van Giesonovou. V nativním preparátu byla pozorována pohyblivost spermií. Kromě toho varlata, nadvarlata, semenné vajíčky a prostaty byly váženy. Pokus byl proveden v době od 2. 7. do 24. 9.

Ve stejném rozsahu bylo provedeno pozorování i u dalších 10 pokusných a 3 kontrolních samců krys, které nám dala laskavě k dispozici katedra farmakologie a toxikologie léčiv, na nichž zkoumala toxicitu chloridu kademnatého. Pěti pokusným krysám bylo subkutánně injikováno denně po 3 dny po 5 mg CdCl_2 na 1 kg ž. v. v 0,5% roztoku. Zbývajících 5 pokusných krys dostávalo denně po 3 dny stoupající dávky CdCl_2 subkutánně, a to první den 5 mg, druhý den 10 mg a třetí den 20 mg CdCl_2 na 1 kg ž. v. v 0,5% roztoku. Krysy byly utráceny 3., 5., 17. a 22. den po první dávce. S dvojicí pokusných krys byla utrácena jedna krysa kontrolní. Pokus byl proveden v době od 16. 1. do 7. 2.

*) 4×10^{-5} molu = 0.007332 g chloridu kademnatého.

Výsledky a diskuse

Morfologické změny na pohlavních orgánech pokusných krys byly zjištěny již za 24 hodin po aplikaci $CdCl_2$. Varlata byla silně zarudlá, *tunica albuginea* napjatá, cévy v ní probíhající dilatované. V intervalu po 48 hodinách po aplikaci kadmia změnila se jasně červená barva varlat v barvu červeněfialovou a zarudnutí přešlo z varlete i na hlavu nadvarlete. Nadvarle bylo mírně edematosní. Po 4 dnech bylo varle zmenšeno, *tunica albuginea* žlutočervená a na svém povrchu difusně zarudlá, krevní cévy povrchové silně rozšířeny. V průběhu dalších dnů přešlo zabarvení varlat ve špinavě růžové a po 8 dnech bylo zmenšení varlete a sraštění jeho povrchu již makroskopicky nápadné. Nadvarle bylo edematosní v celém rozsahu. U krys, utracených po 31 a 83 dnech po aplikaci byla varlata zřetelně atrofická, břidlicově šedě-růžové barvy, se stran oploštělá, v *tunica albuginea* a *plexus panpiniformis* jen něco málo zřetelných, krví naplněných cév. V nadvarleti bylo možno ojediněle zjistit šedavá prosvítající ložiska. Počínaje čtvrtým dnem rovněž došlo k nápadnému oploštění semenných váčků v důsledku zmenšení obsahu hlenu. Tyto změny se staly postupně výraznější, takže po 31 a 83 dnech po aplikaci $CdCl_2$ byly semenné váčky velmi podstatně zmenšené, ochablé a oploštělé a téměř bez obsahu.

Velmi výrazné a charakteristické byly změny v mikroskopické stavbě varlat, a to jak ve vlastním zárodečném epithelu, tak i ve tkáni vmezežené. Ve fázi 24 hodin po aplikaci kadmia vynikají změny ve tkáni vmezežené. Intersticiu, které normálně tvoří jen nepatrnou vrstvu řídkého pojiva, poutající navzájem zprohýbané semennotvorné kanálky a jevíci se jako málo výrazné pruhy, je v těchto případech rozšířeno a zřetelně vystupuje mezi jednotlivými kanálky. Rozšíření je podmíněno edematosním prosáknutím, při kterém dochází k rozvláknění kolagenních snopců v jemná kolagenní vlákna, vytvářející jen řídkou síť. Tato vlákna jsou proplétána hrubšími vlákny vysráženého fibrinu. V takto vzniklých okách nacházíme značné množství erytrocytů. V průběhu krevních cév nacházíme místy značný počet emigrovaných neutrofilních leukocytů. Krevní cévy jsou rozšířeny, naplněny erytrocyty. Výstelka semenoplodného epithelu nevykazuje podstatných změn. Spermiogeneze probíhá v nezměněné formě jako u kontrolní krysy. Též barvitelnost je ještě shodná s tinkci výstelky v preparátech krysy kontrolní. Nápadný je pouze intrakanalikulární edém, který vede místy k značnému odchlípení semenotvorného epithelu od membrány basální. Na basální membráně zůstávají jen místy uchyceny ojedinělé buňky spermatogonií, případně buňky Sertoliho. Odchlípení epithelu vede k úplnému jeho uvolnění, takže v preparátech zhotovených zmrazovací metodou dochází vesměs k vy-padávání parenchymu a zůstává prakticky jen síť tkáně vmezežené.

Na vývodných extratestikulárních cestách a přídatných žlázách pohlavních nebyly zjištěny ještě zásadní změny.

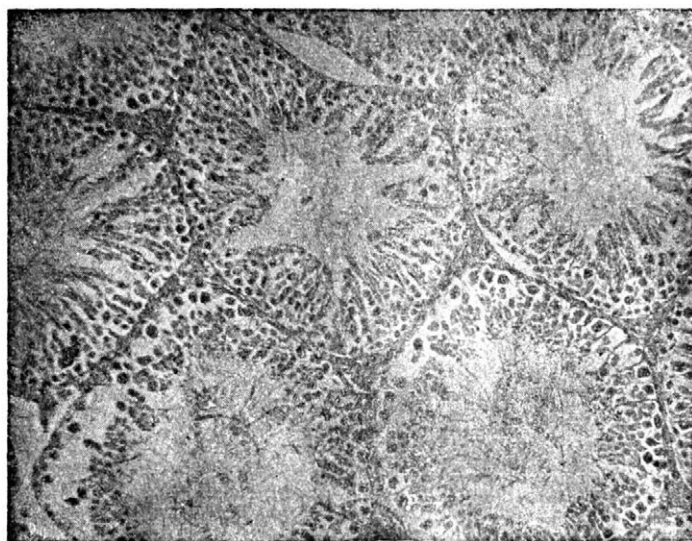
V časovém odstupu dvou dnů je nejnápadnější změna barevné tince preparátů, a to jak podpůrné tkáně, tak i parenchymu. Do popředí vystupuje šedě-růžová barva; buněčná jádra ztrácejí též svou barvitelnost.

Intersticiu je ještě rozšířenější a je zde již naznačena homogenisace tkáně. Došlo k rozplavení erythrocytů, vláken kolagenních i vláken fibrinu a nacházíme zde jen zbytky jader leukocytárního emigrátu. Stejně jsou postiženy i krevní cévy, jejichž stěna podléhá též nekrobiotickým pochodům. Stěna arteriol je ztlustěna, dochází k jejímu prostoupení šedě-růžovými vlákny fibrinu, endotel se odchlípuje a jádra výstelky jsou v různých stádiích nekrobiosy. Pouze při povrchu varlete pod *tunica albuginea* nacházíme proužek tkáně, která nevykazuje tak těžké porušení.

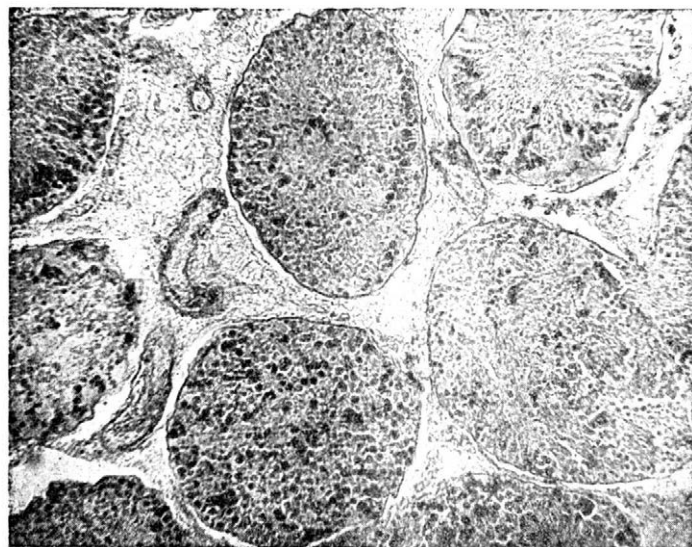
Podstatné změny vykazují též buňky semenoplodného epithelu a přímých kanálků, zejména v hloubce varlete. Většina jader je světlejší barvy a mnohde došlo k úplné karyolyse. Hyperchromatosa, vedoucí až k t. zv. dystrofické kalcifikaci jádra, je pozorována ve vrstvách buněk při *membrana basalis*. Ve vrstvách spermatocytů I. a II. řádu nacházíme v místech zachovalých buněk četnější stadia mitotického dělení. Jen vzácně při periferii varlete jsou okrsry epithelu uvnitř kanálků, které nevykazují tak závažných strukturálních změn. Hlavičky spermií ztrácejí svoji barvitelnost a srašňují se. Nacházíme je však ve shlucích, odpovídajících místům původních Sertoliho buněk.

Obsah i výstelka nadvarlete nevykazuje ještě podstatných změn, v intersticiu dochází již k edematosnímu prosáknutí.

Nekrobiosa semenoplodného epithelu je ještě výraznější čtvrtý den po aplikaci $CdCl_2$, kdy většina buněk zárodečného epithelu je přeměněna na amorfní eosinofilní masu, ve které nacházíme jen stíny již basicicky se nebarvících jader. Zejména na pe-



1. Řez normálním varletem — kontrolní krysa (Lumipan[®] obj. 10, ok. Fo 9×). Foto: Dr Meszáros

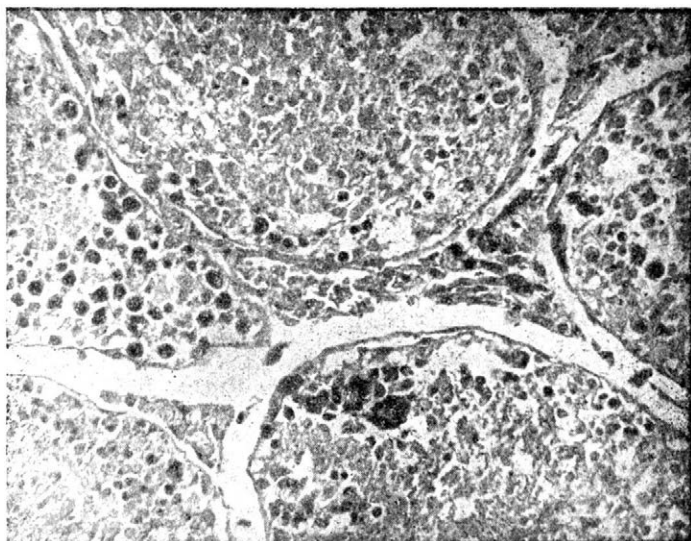


2. Řez varletem krysy po 2 dnech od aplikace $CdCl_2$ — rozšíření interstitia a nekrobiotické pochody výstelky semennoplovných kanálků (Lumipan[®] obj. 10, ok. Fo 9×). Foto: Dr Meszáros

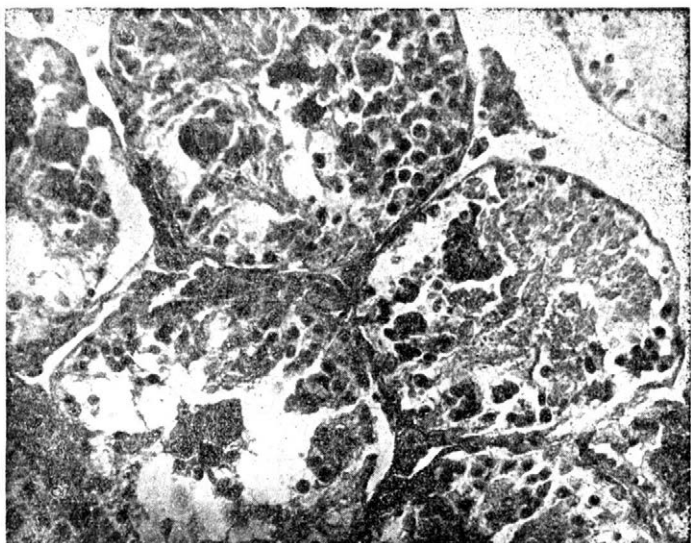
riferii varlete zjišťujeme v četných kanálcích jen chromotofinní prach. Homogenizace intersticia je zde ještě výraznější, v odumřelých cévách nejsou již jádra endotelií zjištělná. Strukturální změny jsou takového rozsahu, že již nelze přesně rozlišit, o jakou cévu se jedná.

V detritu eosinofilních mas uvnitř kanálků nacházíme zbytky hlaviček spermií v chomáčcích radiálně uspořádaných. Ojedinele pozorujeme známky reaktivních pochodů tkáňových. V místech, kde probíhají v intersticiu neporušené krevní cévy, dochází od neporušené basální membrány k metamorfóze buněk; tyto se zvětšují a přeměňují na obrovské mnohojaderné buňky — makrofagy. Tato gigantocelulární reakce je někde tak výrazná, že nacházíme vedle sebe buňky se značným počtem jader, dosahujících místy až 100 jader. I na těchto buňkách zjišťujeme degenerativní a nekrobiotické pochody.

3. Řez varletem krysy po 4 dnech od aplikace $CdCl_2$ — obrovské mnohojaderné buňky v nekrotické masě epithelií kanálků (Lumipan, obj. 10, ok. Fo 9×). Foto: Dr Meszáros



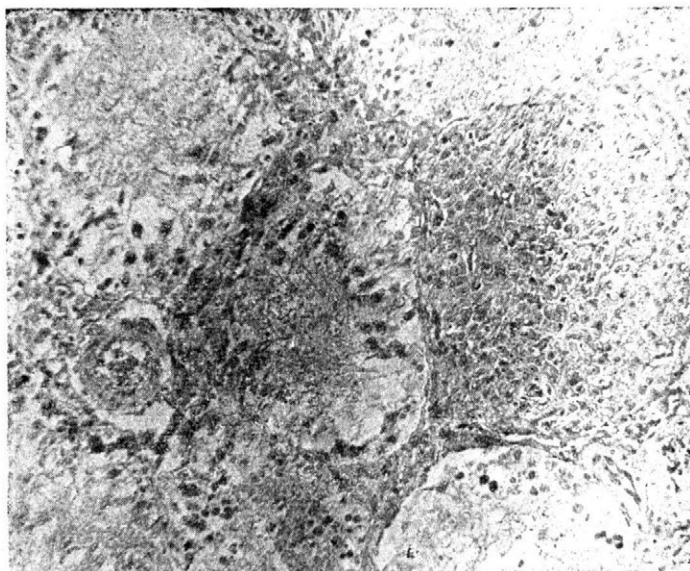
4. Detailní záběr řezu varletem těže krysy jako na obr. 3 (Lumipan, obj. 20, ok. Fo 9×). Foto: Dr Meszáros



Nadvarle je jen chabě vyplněno obsahem rozpadávajících se spermií. Výstelka je na některých místech atrofována, oploštělá, deskvamuje, jinde naopak dochází k její proliferaci. Vedle edematosního prosáknutí podpůrné tkáně nacházíme zde i leukocytární infiltraci. Ojediněle ložiskově dochází k leukocytárnímu rozplavení přepážky mezi jednotlivými kanálky a k proniknutí leukocytů do obsahu kanálků. Zde vykazují leukocyty převážně již degenerativní formy.

Atrofie sliznice, deskvamace epithelií, zmenšení obsahu hleny je charakteristickým nálezem v semenných vácích i v prostatě.

Nekrobiosa a homogenisace tkáně varlete pokračuje i po šestém dni po aplikaci. V šeděružové masě intersticia i výplně kanálků nacházíme okrsky shluků basofilního prachu. Jen v úsecích, kde nedošlo ještě k naprostému rozrušení a nekrose varlete, dochází v okolí krevních cév a v intersticiu k počínajícímu bujení granu-



5. Řez varletem krysy po 6 dnech od aplikace $CdCl_2$ — tvorba granulární tkáně, vycházející z interstitia (Lumipan, obj. 20, ok. Fo 9×). Foto: Dr Meszáros

lační tkáně. V těchto místech uvnitř kanálků se vyskytují opět obrovské mnohojaderné makrofagy.

Nadvarle se podstatně neliší od předchozích preparátů, jen degenerativní změny na sliznici jsou rozsáhlejší a obsah rozpadajících se spermií menší. Váčky semenné a prostata obsahují jen méně hieny. Sliznice je místy proliferující.

Po osmi dnech je struktura varlete jen těžko rozeznatelná, nekrosa parenchymu a intersticia vede k homogenisaci tkáně. Jen v některých kanálcích není destrukce tak pokročilá a zde nacházíme i sytě modré hlavičky spermií. Jinak v rozrušeném epitelu semenotvorném nacházíme buď jen stín jader, případně jen hrudky chromatofinního prachu. Místy i v úplně rozrušeném kanálku nacházíme věncovitě uspořádané stíny hlaviček spermií. V podpurné tkáni, hlavně pod *tunica albuginea*, nacházíme v intersticiu i hrudky tmavohnědého pigmentu — hemosiderinu. Velké cévy zde probíhající jsou rozšířeny a trombotisovány. Výskyt obrovských mnohojaderných buněk je vzácný.

V nadvarletí nacházíme proliferaci podpurné tkáně, v místech leukocytární infiltrace dochází k rozrušení výstelky kanálků, takže jednotlivé hlavičky spermií pronikly i do vzdálenějších míst intersticia. Kanálky obsahují vedle nepatrného počtu hlaviček spermií neutrofilní granulocyty.

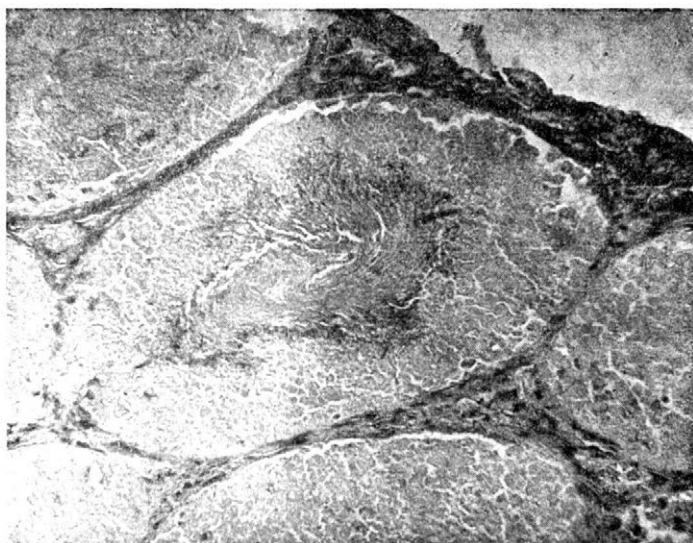
Morfologické změny prostaty i váčků semenných nejsou v podstatě odchýlné od změn, popsanych výše.

Po deseti dnech od aplikace $CdCl_2$ nejsou histologické změny varlat v podstatě odchýlné od případů předcházejících. Granulární tkáň vychází z pojivové tkáně pod *tunica albuginea*. Proliferace podpurné tkáně v nadvarletí je difusního charakteru, obsah kanálků je tvořen jen nepatrným množstvím spermií; z buněčných elementů jsou zde zastoupeny leukocyty a deskvamované, rozrušené epitheliální buňky.

Ve fázi 31 dnů po aplikaci $CdCl_2$ je možno rozlišovat ve tkáni varlete dvě vrstvy — centrální, ve které došlo k homogenisaci, takže již nerozlišíme kanálky od podpurné tkáně. Zde nacházíme jen zcela ojedinělé hrudky chromatofinního prachu ve formě stínů jader buněk, nebo naopak protáhlé deformované stíny hlaviček spermií. V zóně přivrácené k *tunica albuginea* je naopak výraznější struktura. Intersticiu je zde tvořeno vazivovými buňkami, někde i silnějším proužkem granulární tkáně. Obsah kanálků je zcela homogenisován a postrádá téměř zcela zbytky chromatinu jaderného. Jen tu a tam lze zjistit stíny hlaviček spermií, mnohde věncovitě uspořádaných.

Rozrušení stavby nadvarlete je podmíněno jednak difusním prorůstáním vaziva a jednak vytvořenými drobnými abscesy, které jsou lokalizovány roztroušeně v podpurné tkáni. Mnohé z nich vykazují zřetelnou vazivovou demarkaci. Četné kanálky jsou vyplněny hnisem nebo leukocyty s různým stadiem nekrobiotického roz-

6. Rez varletem krysy po 83 dnech od aplikace $CdCl_2$ — úplná homogenisace nekrotické výstelky kanálků, stíny hlaviček spermií věncovitě uspořádaných (Lumipan, obj. 20, ok. Fo 9X). Foto: Dr. Meszáros



padu. Dochází zde k rozrušování výstelky, což mnohde budí dojem stavby vlastního abscesu.

Prostata vykazuje hyperplasií vazivové stěny, proliferaci výstelky do lumina; obsah hlenu je zcela nepatrný.

Změny v preparátu po 83 dnech se podstatně neliší od změn popisovaných v preparátech předcházejících, pouze místy dochází k dystrofické kalcifikaci nekrotického obsahu některých kanálků, většinou vždy několika vedle sebe. Při periferii varlete dochází zcela ojediněle k prorůstání granulační tkáně do některých kanálků. Organizační pochody nejsou však podstatně o nic více vyjádřeny než v preparátech skupiny předcházející. Granulační tkáň je chudší na elementy buněčné. V naprosto bezstrukturním obsahu semenoplodných kanálků nacházíme i zde zbytky hlaviček spermií.

V nadvarletí je difusní proliferace podpůrné tkáně, v obsahu kanálků amorfni, místy síťová hmota s četnými neutrofilními leukocyty v různém stadiu nekrobiosy.

V semenných váčcích zjišťujeme proliferaci podpůrné tkáně, degenerativní změny výstelky se značnou deskvamací. Tyto rozrušené a deskvamované epithelie tvoří spolu s leukocyty a nepatrným množstvím hlenu obsahu lumina žlázy.

Na ostatních orgánech pokusných krys nebyly zaznamenány podstatnější změny makro- nebo mikroskopické, pouze venostase v játrech a slabé překrvení ledvin.

Zcela shodné změny makroskopické a mikroskopické byly zjišťovány i u druhé skupiny pokusných krys, kterým byly opakovaně aplikovány buď stejné nebo vzestupné dávky $CdCl_2$. U těchto krys byly však výraznější lokální reakce a často se vyskytovaly nekrozy kůže v místě vpichu, což lze vysvětlit použitím koncentrovanějšího roztoku $CdCl_2$.

Pohyblivost spermií z chámovodu byla v prvních dnech zachována, ba dokonce ještě 8. den po aplikaci $CdCl_2$ byla zjištěna pohyblivost spermií středního stupně.

Souběžně a v souladu s rozvojem morfologických změn vyvíjely se i kastrální fenomény, které se projevují zejména poklesem váhy varlat a přidatných žláz pohlavních. Absolutní váha varlat, nadvarlat, semenných váčků a prostaty pokusných krys, jakož i relativní váha jednotlivých těchto orgánů vyjádřená v mg na 100 g celkové váhy těla je uvedena v tab. I.

Zřetelná atrofie varlat začíná mezi 2.—4. dnem po aplikaci $CdCl_2$, kdy na 100 g celkové váhy těla připadá z váhy varlat průměrně 535 mg. Ve srovnání s kontrolními krysami jde v podstatě o snížení podílu váhy varlat na celkové váze těla o 39,5 %. Atrfie (absolutní a relativní pokles váhy) varlat v tomto rozsahu se udržuje prakticky do 10. dne po aplikaci $CdCl_2$ a pak má progresivní charakter. 31. dne po aplikaci je průměrná relativní váha varlat vyjádřená v mg na 100 g celkové váhy těla 421 mg/100 g (ve srovnání s kontrolními krysami snížení o 53,5 %) a 83. den po aplikaci pouze 227 mg na 100 g (snížení o 74,3 %).

I. Absolutní a relativní váha varlat a přídatných žláz pohlavních krys

Čís. krysy	Trvání pokusu ve dnech	Váha krysy v g	Absolutní				
			varlat		nadvarlat		
			v mg				
			jednotlivě	celkem	jednotlivě	celkem	
2	1	245	1289 575	1864	375 302	677	
8	1	302	1633 1508	3141	685 613	1293	
10	2	330	1271 1294	2565	422 499	921	
11	2	342	1208 1308	2516	468 422	890	
9	4	294	810 821	1631	302 531	833	
3	4	258	696 638	1334	273 218	491	
5	6	274	697 788	1485	423 453	876	
14	6	240	873 852	1725	357 275	632	
13	8	298	886 957	1843	271 315	586	
4	8	278	620 603	1223	285 192	477	
7	10	290	778 723	1495	280 271	551	
16	10	330	1076 875	1951	323 393	721	
6	31	322	570 597	1167	188 806	986	
12	31	192	475 447	922	184 180	364	
1	83	330	384 367	751	199 247	446	
Průměr kontrolních krys			—	—	—	—	

Méně prudký je pokles váhy nadvarlat. Od 4.—10. dne po aplikaci CdCl_2 činí relativní váha nadvarlat na 100 g celkové váhy těla v průměru 223 mg/100 g; ve srovnání s průměrnou hodnotou kontrolních krys je to pokles o 24,6 %. Po ukončení pokusů 83. dne činil tento poměr 135 mg/100 g, což je snížení proti kontrolám o 55,3 %.

Velmi výrazný a rychlý je úbytek váhy semenných váčků. Signifikantní rozdíly jsou patrný již od 4. dne po aplikaci CdCl_2 . Od 4. do 10. dne po aplikaci připadá na 100 g váhy těla 203 mg váhy semenných váčků. Ve srovnání s kontrolními krysami

po jednorázové subkutanní aplikaci chloridu kadmnatého

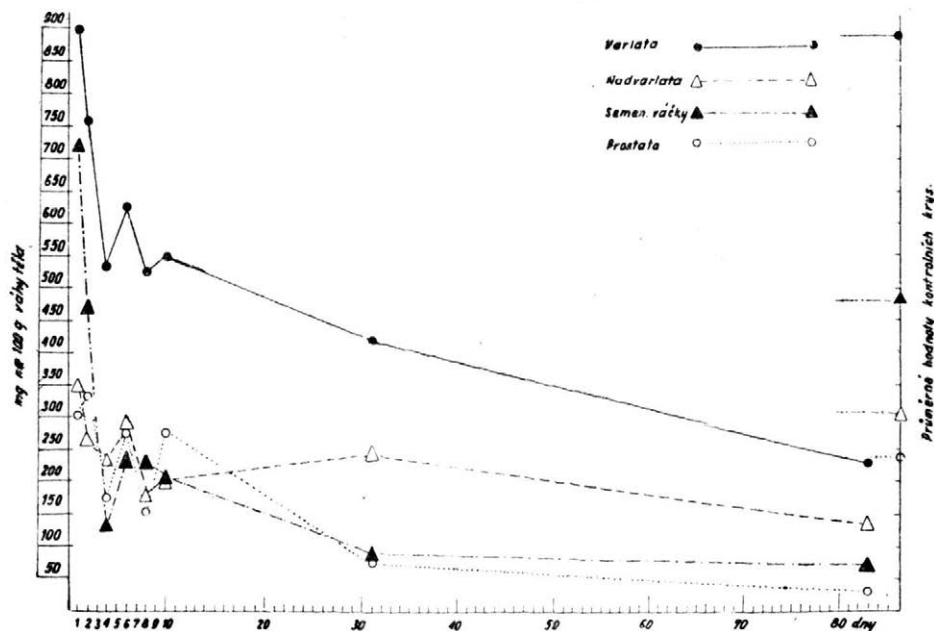
váha			Relativní váha			
	semenných váčků	prostaty	varlat	nadvarlat	semenných váčků	prostaty
	v mg		v mg na 100 g váhy těla			
	1370	615	760	276	559	251
	2673	1106	1040	429	885	366
	1450	1111	777	279	439	336
	1730	1155	735	260	505	337
	531	525	554	283	180	178
	228	466	517	190	88	180
	795	767	541	319	290	279
	442	661	718	263	184	275
	760	496	618	196	255	168
	600	403	439	171	215	144
	476	578	515	190	164	199
	825	918	591	218	250	278
	349	313	362	306	108	97
	146	112	480	189	76	58
	236	100	227	135	71	30
	—	—	883 (772 až 1154)	302 (262 až 358)	477 (272 až 580)	234 (138 až 306)

představuje to snížení o 57,5 %. Od 31. dne do ukončení pokusu 83. den po aplikaci CdCl_2 činí však tentýž podíl průměrně již jen 85 mg/100 g, což je snížení proti kontrolním krysám o 82,2 %.

Atrofie prostaty má rovněž progresivní charakter. Je zřetelná již od 4. dne po aplikaci CdCl_2 ; signifikantní rozdíly ve srovnání s kontrolními krysy jsou však patrné zejména později než po 10 dnech. Od 31. do 83. dne po aplikaci připadá na 100 g váhy těla 61 mg váhy prostaty, což představuje ve srovnání s kontrolními krysy snížení o 74 %.

Průběh váhových změn, vyjádřený relativní váhou varlat, nadvarlat, semenných váčků a prostaty v mg na 100 g celkové váhy těla, je graficky znázorněn na grafu 1. Jednotlivé hodnoty vyznačené v tomto grafu jsou průměrem dvou hodnot, které odpovídají poměrům u dvou současně utracených pokusných krys.

Podobným způsobem, avšak nepoměrně rychleji, se vyvíjely kastrací jevy i u krys druhé skupiny, jimž byly dávky $CdCl_2$ opakovaně injikovány (viz tab. II). Úbytek váhy varlat a nadvarlat u této skupiny krys dosáhl již 22. den pokusu téměř stejných rozměrů jako u krys první skupiny po 83 dnech. Ještě výraznější je pokles váhy váčků semenných a prostaty, který je signifikantní již po 3. až 4. dni po první aplikaci $CdCl_2$. Tento prudký rozvoj kastracních jevů je možno vysvětlit opakovaným podáváním chloridu kadmického, jehož úhrnná dávka převyšuje 2–5krát dávku $CdCl_2$, aplikovanou krysám první skupiny.



Graf 1. Časový průběh váhových změn varlat a přídatných žláz pohlavních krys po jednorázové subkutánní aplikaci $CdCl_2$.

Morfologické a zejména mikroskopické změny, jakož i pokles váhy varlat, nadvarlat, semenných váčků a prostaty svědčí o rychlém účinku subkutánně aplikovaného $CdCl_2$ na pohlavní orgány krys samčího pohlaví. Jelikož v ostatních orgánech nebyly pozorovány podstatné patologické změny, je možno souditi, že použité dávky $CdCl_2$ působí selektivně na tkáň kryších varlat. Dochází v nich k nekrobiotickým změnám jak semenoplodného epithelu, tak i tkáně podpůrné, což je v souladu i s údaji Pařížkovými. Nekrobiotické pochody jsou již jasně vyznačeny po 48 hodinách od aplikace látky. Nápadně slabé jsou vyznačeny reaktivní a regenerativní pochody. Tvorba granulační tkáně je nepatrná a i u krys utracených po 31 resp. 83 dnech nacházíme jen slabě vyznačenou granulační tkáň, v zóně, přiléhající k *tunica albuginea*. Rychlost dystrofických změn a slabě vyznačené reaktivní pochody jsou zřejmě podmíněny rozrušením krevních cév v hloubce tkáně varlat. Pozoruhodným zjištěním je nález zbytků chromatinu hlaviček spermií. Tyto nacházíme v detritu kanálků i tehdy, došlo-li již k úplnému vymizení buněčné struktury tkáně varlat.

Dávky $CdCl_2$ v 0,1% koncentraci byly pokusnými krysy dobře snášeny a nedošlo k odchylkám od normálního zdravotního stavu. Po utracení krys v prvních dnech po aplikaci bylo zjišťováno v místě vpichu edematózní prosáknutí podkožní tkáně.

II. Absolutní a relativní váha varlat a přídatných žláz pohlavních krys po opakované subkutanní aplikaci stejných nebo vzestupných dávek chloridu kadmnatého

Číslo krysy	Váha krysy v g	Ve 3 dnech aplikováno celkem $CdCl_2$ v mg/kg	Trvání pokusu ve dnech	Absolutní váha				Relativní váha				Poznámka
				varlat	nad-varlat	semen-ných váček	prostaty	varlat	nad-varlat	semen-ných váček	prostaty	
				v mg				v mg na 100 g váhy těla				
3F	162	35	3	957	619	52	53	590	382	32	32	
2F	217	35	3	1589	689	91	341	732	317	41	157	
6F	232	35	5	—	—	—	—	—	—	—	—	orgány byly ihned fixovány k histol. zpracování
9F	200	35	17	864	375	61	85	432	187	31	42	
11F	158	35	22	273	268	52	42	172	169	33	26	
1F	208	15	3	1716	1064	99	191	825	511	47	91	
4F	208	15	3	1687	1125	249	39	811	540	119	187	
7F	200	15	5	—	—	—	—	—	—	—	—	orgány byly ihned fixovány k histol. zpracování
8F	220	15	17	809	587	126	19	367	266	57	8	
10F	240	15	22	687	284	93	48	286	118	38	20	

Subkutánní aplikace chloridu kadmnatého v dávce 4×10^{-5} molu na kg ž. v. vyvolává u krys samčího pohlaví nekrobiotické změny ve tkáni varlat pozorované již při vyšetření po 48 hodinách od aplikace látky. Nekrobiotické pochody postihují jak intersticiu, tak i semenoplodný epitel. Regenerační pochody jsou i po době 31 i 83 dnů slabě vyznačeny a projevují se tvorbou granulační tkáně a regenerací intersticia jen ve vrstvě přiléhající k *tunica albuginea*. Zbytky hlaviček spermií lze ojediněle zjistit v tomto časovém odstupu.

Souběžně a v souladu s rozvojem morfologických změn na pohlavních orgánech pokusných krys vyvíjejí se i kastrací jevy, a to již od 4. dne po aplikaci $CdCl_2$. Ve srovnání s kontrolními krysami se snižuje absolutní a relativní váha varlat a přídatných žláz pohlavních. Velmi výrazný je pokles váhy zejména varlat a semenných váčků. Atrofie prostaty je patrná zejména v období po 10 dnech. Relativní váha jednotlivých orgánů vyjádřená v mg na 100 g těla se snižuje ke konci pokusu, po 83 dnech, ve srovnání s kontrolními krysami, u varlat o 73 %, u nadvarlat o 55,3 %, u semenných váčků o 82,2 % a u prostaty o 74,0 %. Po opakovaných dávkách $CdCl_2$ se rozvoj kastracích jevů urychluje.

Morfologické změny na ostatních orgánech utrácených krys nebyly podstatné. Přicházejí v úvahu jen lokální reakce v místě vpichu, které byly patrné zejména po opakované aplikaci $CdCl_2$, nebo po aplikaci 0,5–1,0 % roztoku. Lze proto soudit, že použité dávky $CdCl_2$ působí selektivně na tkáň krysích varlat. Dávky $CdCl_2$ v 0,1 % koncentraci byly pokusnými krysami naopak dobře snášeny.

V tomto našem prvním sdělení můžeme již plně potvrdit výsledky Pařízkovy a Záhořovy o účinku kadmia na zárodečnou tkáň varlat a přídatné žlázy pohlavní krys (1, 23, 24) a doplnit je o některé podrobnější údaje (podrobnější popis histologických nálezů a průběh váhových poměrů varlat a přídatných žláz pohlavních v různých časových odstupech), pokud jimi sledujeme praktické využití aplikace kadmia ve veterinární lékařství.* V tomto směru jsou pokusy již v běhu a bude o nich referováno ve zvláštním sdělení.

*

Děkujeme s. Dr. Meszárosovi za zhotovení mikrosnímků.

Literatura

1. Pařízek J., Záhoř Z.: Nature 177 (1956) 1036. — 2. Heffter A.: Handbuch der exper. Pharmakologie III/3, Berlin 1934. — 3. Albert A.: Biochem. J. 47 (1950) 531. — 4. Belgova I. N.: Bjull. eksper. biol. med. 39 (1955) 52. — 5. Castillo J. D., Nicolau, Hufschmidt H. J.: Nature 167 (1951) 146. — 6. Friberg L.: Acta pharmacol. et toxicol. 11 (1955) 168. — 7. Gorodyskij V. I., Veselaja I. V., Rostočeva O. N.: Voprosy med. chimii 2 (1956) 17. — 8. Green M. M., Neurath H.: J. Biol. Chem. 204 (1953) 379. — 9. Holt C., Holt L.: Z. Naturforsch. 9b (1954) 319. — 10. Junkichiho H.: Chem. Abs. 46 (1952) 9141. — 11. Junkichiho H., Tetsuo H.: Chem. Abs. 48 (1954) 2129. — 12. Kačena V.: Chem. listy 47 (1953) 1299. — 13. Koštojanc J. S., Bucnikov G. A.: Dokl. Akad. Nauk SSSR 93 (1953) 937. — 14. Mačák V., Černoch M., Bartek J., Wiedermann D., Šantavý F.: Lékař. listy 9 (1954) 27. — 15. Šapiro F. B.: Dokl. Akad. Nauk SSSR 93 (1954) 213. — 16. Ušakov B. P.: Dokl. Akad. Nauk SSSR 92 (1953) 193. — 17. Vojnar A. O.: Biochimija 18 (1953) 29. —

* Mezitím vyšla tiskem další práce J. Pařízky (J. Endocrin. 15/1957/56), v níž autor podrobně rozebírá výsledky svých prací citovaných již v tomto sdělení.

18. Zlatarov As.: Biochem. Ztschr. 284 (1936) 448. — 19. Johns C. O., Finks A. J., Alsberg C. L.: J. of Pharmacol. 21 (1923) 59. — 20. Kochmann M.: Deutsche med. Wschr. (1925) 427. — 21. Alsberg C. L., Schwartz E. W.: J. of Pharmacol. 13 (1919) 504. — 22. Velard J. T.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78 (1951) 872. — 23. Pařízek J.: Přednesené referáty na IV. celostát. sjezdu čs. fyziologů, farmakologů a biochemiků, St. Smokovec 1956, str. 54. — 24. Pařízek J.: Nature 177 (1956) 1037.

Действие хлористого кадмия на мужские половые органы крыс

Подкожное применение хлористого кадмия в дозе 4×10^{-5} моля на кг живого веса вызывает у крыс мужского пола некробиотические изменения ткани семенников, наблюдаемые уже во время исследования через 48 часов после применения вещества. Некробиотические процессы нарушают как интерстициум, так и спермообразующий эпителий. Восстанавливающие процессы даже после 31 и 83 дней слабо выражены и обозначаются как образование гранулярной ткани, а регенерация интерстициума происходит только в слое, прилежащем к tunica albuginea. Остатки головок сперматозоидов можно в одиночных случаях определить и в этом промежутке времени.

Одновременно и в согласии с развитием морфологических изменений на половых органах подопытных крыс развиваются и кастрационные феномены, а именно, уже с 4-го дня после применения хлористого кадмия. По сравнению с контрольными крысами понижается абсолютный и относительный вес семенников и придаточных половых желез. Весьма характерным является понижение веса, в особенности семенников и пузырьковидных желез. Атрофия предстательной железы замечается в период времени после 10 дней. Относительный вес отдельных органов, выраженный в мг на 100 г тела, понижается в конце опыта по сравнению с контрольными крысами, у семенников на 74,3 %, у придатков семенника на 55,3 %, у пузырьковидных желез на 82,2 % а у предстательных желез на 74,0 %. После повторения доз хлористого кадмия развитие кастрационных феноменов ускорится.

Морфологические изменения на остальных органах умерщвленных крыс не были существенны. Во внимание приходят только локальные реакции на месте укола, которые замечались после повторного применения хлористого кадмия или после применения 0,5—1,0%-ного раствора. Можно заключить, что примененные дозы CdCl_2 эффективно действуют на ткань семенников крыс. Наоборот, подопытные крысы хорошо переносили дозы CdCl_2 в концентрации 0,1 %.

В этом нашем первом сообщении мы можем полностью подтвердить результаты исследования Паржизека и Загоржа о действии кадмия на зародышевую ткань семенников и предстательной железы крыс (1, 23, 24). Мы можем также дополнить их некоторыми более подробными данными (более подробное описание гистологических изменений и отношения весов семенников и предстательных желез в разных промежутках времени), поскольку эти данные ведут к практическому использованию применения кадмия в ветеринарной медицине. В настоящее время мы ставим уже опыты, касающиеся этой проблемы, и опубликуем полученные результаты.

The Effect of Cadmium Chloride upon the Reproductive Organs of Male Rats

By subcutaneous application of cadmium chloride in the dose of 4×10^{-5} mol per 1 kg w. to male rats necrobiotic changes in the testicular tissue were caused, noticed as soon as 48 hours after the matter had been applied. By necrobiotic changes the interstitium as well as the seminiferous epithelium are affected. Regenerative processes are weakly marked even after 31 and 83 days and are characterized by the formation of the granulation tissue and regeneration-interstitium only in the layer, adjoining the tunica albuginea. The remainders of isolated sperm heads can be found even after this lapse of time.

Parallely and in harmony with the development of morphological changes in the reproductive organs of the test rats also the castration phenomena develop as soon as the 4th day after the administration of CdCl_2 . In comparison with the con-

trols, the absolute and the relative weights of the testicles and the accessory reproductive glands are reduced. There is especially a marked reduction of the weight of testicles and seminiferous vesicles. The atrophy of the prostate is visible especially in the period after 10 days. The relative weight of individual organs, expressed in mg for 100 g of body weight, is being reduced towards the end of the experiment as compared with the controls: The weight of testicles by 74,3 %, that of epididymes by 55,3 %, that of seminiferous vesicles by 82,2 % and that of prostates by 74,0 %.

After repeated doses of CdCl_2 the castration phenomena were accelerated.

There were no substantial changes in other organs of the rats killed. Only local reactions in the site of injections may be taken in account, which were visible after repeated application of CdCl_2 or after that of 0,5 to 1,0 % solution. Thus it may be concluded that the doses applied affect the testicular tissue in rats. On the other hand the doses of CdCl_2 in 0,1 % concentration were tolerated by the test rats quite well.

In this first report of ours we may already fully confirm the results obtained by Pařízek and Záhoř concerning the effect of cadmium upon the germinal tissue of the testicles and accessory reproductive glands (1,23,4) and we may complete them by some more detailed data (a more detailed description of histological findings and the course of weight relations) in as much we follow by them the practical utilization of cadmium application in veterinary medicine. Experiments of this kind are being made and will be reported on separately.

Die Wirkung von Kadmiumchlorid auf die Geschlechtsorgane der männlichen Ratten

Durch die subkutane Applikation von Kadmium-chlorid in der Dosis von 4×10^{-5} mol/Kg l. G. werden bei den männlichen Ratten nekrobiotische Veränderungen in dem Gewebe der Hoden verursacht, die schon bei der Untersuchung nach 48 Stunden nach der Applikation des Materials bemerkbar sind.

Die nekrobiotischen Vorgänge betreffen sowohl das Interstitium, als auch das samenerzeugende Epithelium. Die Regenerationsvorgänge sind auch nach Ablauf von 31 und 83 Tagen schwach bezeichnet und machen sich durch die Gestaltung des Granulationsgewebes und des Regenerationsinterstitiums nur in der tunica albuginea anliegenden Schicht bemerkbar. Die Reste der Spermienköpfe können auch in diesem Zeitabstand vereinzelt festgestellt werden.

Gleichlaufend und im Einklang mit der Entwicklung der morphologischen Veränderungen in den Geschlechtsorganen der Versuchsratten entwickeln sich auch die Kastrationsphänomene, und zwar schon seit dem 4. Tage nach der Applikation von CdCl_2 . Im Vergleich mit den Kontroll-Ratten wird das absolute und das relative Gewicht der Hoden und der accessorischen Geschlechtsdrüsen herabgesetzt. Sehr auffallend ist das Herabsinken des Gewichtes besonders bei den Hoden und dem Samenblasen. Die Atrophie der Prostata ist besonders im Zeitabschnitt nach 10 Tagen bemerkbar. Das relative Gewicht der einzelnen Organe, in mg auf 100 g des Körpergewichts ausgedrückt, sinkt — im Vergleich mit den Kontroll-Ratten — bei Hoden um 74,3 %, bei den Nebenhoden um 55,3 %, bei den Samenblasen um 82,2 % und bei der Prostata um 74,0 %. Nach wiederholten Dosen von CdCl_2 wird die Entwicklung der Kastrationsphänomene beschleunigt.

Die morphologischen Veränderungen an anderen Organen der abgetöteten Ratten waren nicht wesentlich. Nur lokale Reaktionen an der Stelle der Injektion, welche besonders nach der wiederholten Applikation von CdCl_2 oder von 0,5—1,0 % Lösung bemerkbar waren, kommen in Betrachtung. Man kann daher schließen, daß die gebrauchten Dosen von CdCl_2 auf das Gewebe der Rattenhoden effektiv wirken. Dagegen wurden die Dosen von CdCl_2 in der 0,1 %-igen Konzentration von den Versuchsratten gut vertragen.

In dieser unseren ersten Mitteilung können wir schon die von Pařízek und Záhoř erreichten Ergebnisse über die Wirkung von Kadmium auf das Keimgewebe der Hoden und der accessorischen Geschlechtsdrüsen der Ratten bestätigen (1, 23, 24) und diese mit einigen, mehr ausführlichen Angaben ergänzen (mit einer mehr eingehenden Beschreibung der histologischen Befunde und dem Verlauf der Gewichtsverhältnisse der Hoden und der accessorischen Geschlechtsdrüsen in verschiedenen Zeitabständen) inwieweit wir mit diesen Angaben eine praktische Ausnützung der Applikation von Kadmium in der Veterinärmedizin befolgen. Die Versuche in dieser Richtung sind schon im Gange und es wird über sie ein separater Bericht erstattet werden.

Účinek některých kadmnatých sloučenin na varlata kohoutů

Действие некоторых соединений кадмия на семенники петухов

The Effect of Some Cadmium Compounds upon the Testicles in Roosters

Die Wirkung einiger Kadmium-Verbindungen auf die Hoden der Hähne

A. JANEČEK, V. NEUMAN, M. ZENDULKA.

ZZ katedry lékařské chemie, fyziky a toxikologie veterinární fakulty, vedoucí katedry prof. MVDr. A. Janeček a z katedry patologické morfologie a fyziologie veterinární fakulty VŠZL v Brně, vedoucí katedry dopisující člen CSAZV, doktor veterinárních věd prof. MVDr V. Jelínek.

Došlo dne 28. V. 1957

Literární přehled

V předchozí naší práci (1) byl popsán účinek malých dávek chloridu kadmnatého na samčí pohlavní orgány krys. V souhlase s výsledky dosaženými již dříve Pařížkem a Záhořem (2, 3, 4) bylo námi potvrzeno, že již jednorázovou subkutánní aplikací $CdCl_2$ v dávce 4×10^{-5} molu*) na kg živé váhy je možno vyvolat u krys samčího pohlaví nekrobiotické změny ve varlatech, které postihují jak intersticiu, tak i semenoplodný epithel. Paralelně se stupněm rozvoje morfologických změn na varlatech a přídatných žlázách pohlavních vyvíjejí se u pokusných krys i kastroční fenomény; jejich vývoj a rozsah byl námi podrobněji rovněž studován. Poměrně rychle se dostavuje výrazný pokles váhy varlat, semenných váčků a prostat, při čemž morfologické změny na ostatních orgánech pokusných krys nebyly podstatné. Byla proto vyslovena domněnka, že použité dávky chloridu kadmnatého působí selektivně na tkáň krysích varlat.

Vycházejíce z uvedených poznatků a s přihlédnutím k možnosti jejich použití ve veterinárním lékařství, sledujeme nyní účinek kadmnatých sloučenin na pohlavní orgány některých hospodářských zvířat. V tomto předběžném sdělení podáváme zprávu o výsledcích, získaných v orientačním pokuse s kohouty s tím, že tyto výsledky jsou již ověřovány na odpovídajícím počtu pokusných zvířat.

*) 4×10^{-5} molu = 0,007332 g chloridu kadmnatého, 0,009 g octanu kadmnatého a 0,01088 g bromidu kadmnatého.

Do orientačního pokusu bylo zařazeno celkem 13 kohoutů-leghorn, z nichž 11 kusů bylo ve stáří 5–6 měsíců a 2 kohouti byli 15měsíční. Kohouti byli rozděleni do čtyř skupin; v první skupině byli 3 kohouti kontrolní, ve druhé skupině bylo celkem 6 kohoutů, jimž byl subkutánně injikován chlorid kademnatý, a to 2 kohoutům v dávce 2×10^{-5} molu/kg ž. v. v 0,5 % roztoku, 2 v dávce 4×10^{-5} molu/kg v 1 % roztoku a konečně 2 v dávce 4×10^{-5} molu/kg v 0,1 % roztoku; ve třetí skupině byli 2 kohouti, jimž byl aplikován subkutánně bromid kademnatý v dávce 4×10^{-5} molu/kg v 0,33 % roztoku a konečně ve čtvrté skupině byli rovněž 2 kohouti, jimž byl subkutánně injikován octan kademnatý v dávce 4×10^{-5} molu/kg v 0,33 % roztoku. Kohouti druhé skupiny byli utraceni po 3, 69 a 77 dnech od aplikace chloridu kademnatého, kohouti třetí skupiny po 71 dnech od aplikace bromidu kademnatého a kohouti čtvrté skupiny po 64 dnech od aplikace octanu kademnatého; pokusní kohouti byli utraceni vždy po dvou. U utracených kohoutů byly posuzovány morfologické (pathologicko-anatomické a histologické) změny na všech orgánech a zvláště pozorně pak na varlatech, u nichž byla rovněž zaznamenávána jejich váha a rozměry. Histologické řezy byly zhotovovány jednak parafinovou zalévací metodou, jednak metodou zmrazovací; preparáty byly barveny haemalaun-eosinem, Sudanem III. a metodou van Giesonovou. Tento předběžný pokus byl proveden v době od 3. VIII. do 19. X. 1956.

Výsledky a diskuse

U 2 kohoutů utracených po 3 dnech od aplikace chloridu kademnatého byly již v této době patrný morfologické změny na varlatech, a to rozšíření cév, případně i krváceniny pod *tunica albuginea*. V obou případech byly rovněž patologicko-anatomické změny v podkoží. U kohouta č. 2 (viz tab. I) byly zjištěny krváceniny v povrchových částech svalů, u kohouta č. 4 byl rosolovitý infiltrát v podkoží celé pravé strany, krváceniny v povázkách svalstva, na levé straně i v hlubších částech svalů. Změny na ostatních orgánech byly méně podstatné a projevovaly se mírným překrvením tenkého střeva, krváceninami ve funkčním tuku srdečním, u kohouta č. 4 rovněž mírnou hyperemií ledvin. Mikroskopickým vyšetřením sliznice tenkého střeva byla zjištěna *Davainea proglotina*.

U 2 kohoutů utracených po 69 dnech a 1 kohouta (č. 1) utraceného po 77 dnech od aplikace CdCl_2 byla varlata šedožluté barvy, ochablá a silně zmenšená. Varlata 15měsíčního kohouta (č. 5), utraceného rovněž po 77 dnech od aplikace CdCl_2 byla šeděbílá barvy, šťavnatá a nezmenšená. Morfologické změny v podkoží, v místě vpichu a rovněž na ostatních orgánech utracených kohoutů nebyly již po této době zjištěny. Výživný stav kohoutů byl vesměs dobrý.

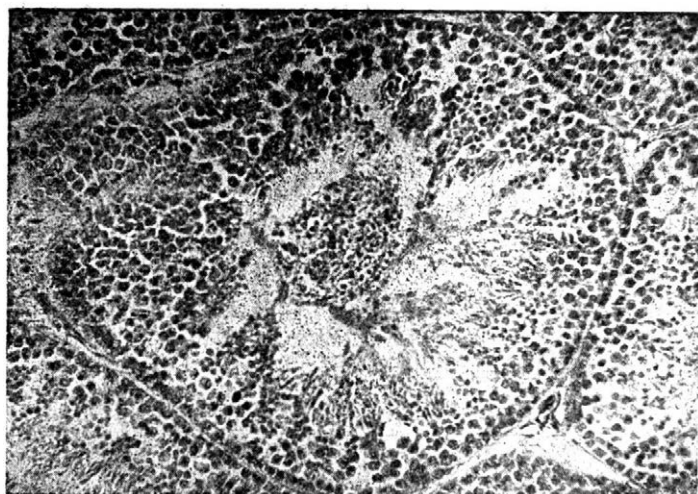
Po použití bromidu kademnatého byla varlata pokusných kohoutů, po ukončení pokusu 71. den od aplikace látky podstatně zmenšena, šeděbílá až šedožluté barvy a málo šťavnatá. V místě vpichu ani na ostatních orgánech nebyly zjištěny patologicko-anatomické změny. Výživný stav kohoutů byl dobrý, s nepatrnou vrstvou podkožního tuku, obdobně jako u kohouta kontrolního.

Kohouti, jimž byl aplikován octan kademnatý, byli utraceni po 64 dnech od aplikace látky. Varlata byla žlutavě zabarvena, nápadně zmenšena a málo šťavnatá. Kůže i podkoží v místě vpichu beze změn. V jednom případě byla játra mírně zvětšena, v obou případech byly na játrech ojedinelé šedavé uzlíčky, velikosti špendlíkové hlavičky. V jednom případě byly v submukose střev krváceniny, v obsahu tenkého střeva škrkavky. Ostatní orgány byly bez patologicko-anatomického nálezu. Výživný stav kohoutů byl velmi dobrý. Na rozdíl od kontrolních kohoutů, jejichž kůže byla šeděžlutě zabarvena a v podkoží byla jen slabší vrstva tukové tkáně, byla kůže pokusných kohoutů žlutavě zabarvena se střední vrstvou podkožního tuku.

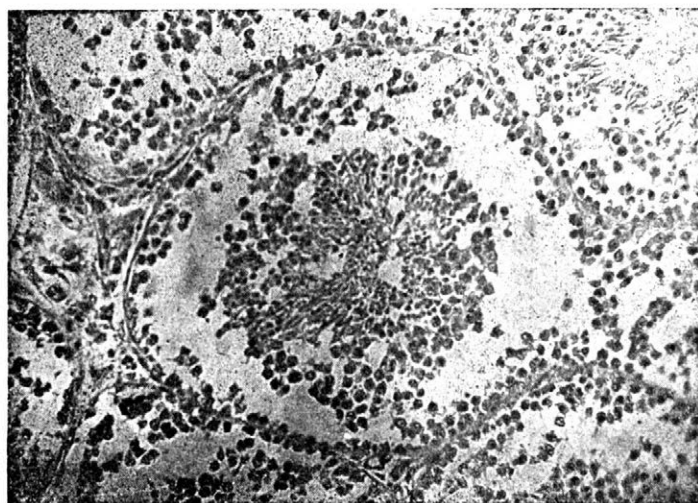
Subkutánní aplikací chloridu kademnatého byly rovněž vyvolány změny v histologické struktuře varlat, které byly patrný již po 3 dnech od aplikace

I. Absolutní a relativní váha varlat a jejich rozměry u kohoutů po subkutánní aplikaci některých kadmnatých solí.

Číslo ko- houta	Stáří před po- kusem	Trvání pokusu ve dnech	Subkutánně injikováno			Koncen- trace roztoku	Váha		Přírůstek na váze		Rozměry varlat			Váha varlat	
			CdCl ₂	CdBr ₂	Cd (CH ₃ COO) ₂		před poku- sem	po pokuse			délka	šířka	výška	abso- lutní	rela- tivní
	v měs.		v mol/kg			v %	v g		v g	v %	v mm			v g	v mg/ 100 g
2	5	3	2×10^{-5}	—	—	0,5	1200	1240	40	3,3	32	15	12	7,442	600
4	15	3	4×10^{-5}	—	—	1,0	2100	2040	—60	—2,8	—	—	—	17,861	879
5	15	77	4×10^{-5}	—	—	1,0	2500	2500	—	—	46	22	17	20,502	820
1	5	77	2×10^{-5}	—	—	0,5	1400	1700	300	21,4	15	6	4	0,743	43
6	6	69	4×10^{-5}	—	—	0,1	1400	1820	420	30	20	10	8	1,832	100
8	6	69	4×10^{-5}	—	—	0,1	1350	2100	750	55	15	8	5	0,899	42
7	6	71	—	4×10^{-5}	—	0,33	1100	1600	500	45,4	16	9	7	1,580	98
9	6	71	—	4×10^{-5}	—	0,33	1200	1550	350	29,1	18	8	6	1,696	109
10	6	64	—	—	4×10^{-5}	0,33	1480	2100	620	41,8	15	7	6	1,026	48
12	6	64	—	—	4×10^{-5}	0,33	850	1300	450	52,9	14	6	5	0,691	53
Průměrné hodnoty kontrolních kohoutů							1216	1703	487	40	26	16	11	7,382	430



1. Řez normálním varletem — kontrolní kohout (Lumipan, obj. 20, ok. Fo 9×)

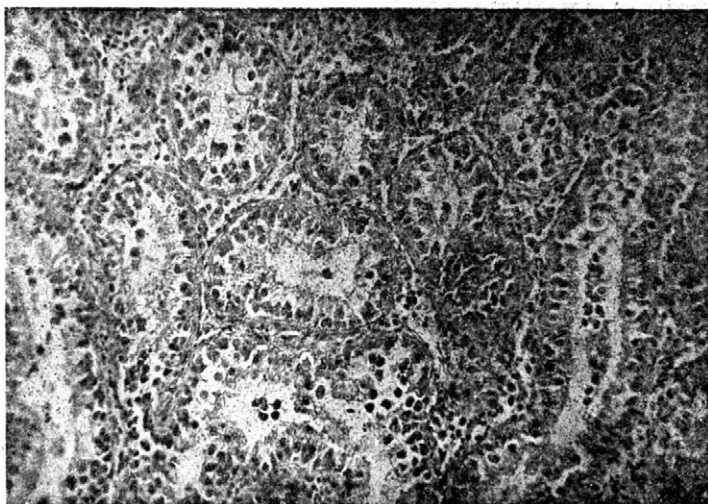


2. Řez varletem kohouta po 3 dnech od aplikace $CdCl_2$ — intrakanalikulární edém (Lumipan, obj. 20, ok. Fo 9×)

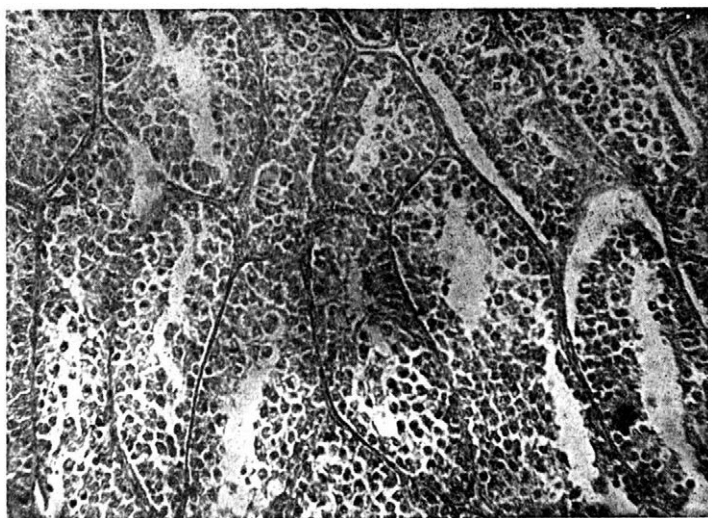
látky. U kohoutů (č. 2 a 4), utracených v této době, jsou změny celkem shodné a spočívají převážně v edematosním prosáknutí tkáně varlat, při čemž edém je daleko výraznější v semenopodných kanálcích, než v podpůrné tkáni. Podpurná vmezeřená tkáň není zbytnělá, mnohde vytváří jen velmi tenká septa mezi jednotlivými kanálky, takže *lamina basalis* dvou sousedních kanálků jako by na sebe naléhaly. Leydigovy buňky nacházíme zcela ojediněle. Edematosní prosáknutí lze zjistit hlavně intrakanalikulárně. Mezi vrstvou basálních kubických buněk a dalšími vrstvami buněk je volný prostor, ve kterém jsou roztroušeny spermatocyty prvního a druhého řádu. Ve většině kanálků dochází k odtržení buněk od basální membrány ve velkém rozsahu, případně zde zůstávají lpět jen některé, zatím co jiné v široké frontě se odchlípily a jsou volně v prostoru mezi basální membránou a středem semenoploдного kanálku. Barvitelnost tkáně se nijak podstatně neliší od preparátů, zhotovených z kontrolních kohoutů. Spermatogenese i spermiogenese je téměř zachovalá, vyzrávající spermie nacházíme v chomáčcích v Sertoliho buňkách.

U kohoutů utracených po 69 dnech od aplikace $CdCl_2$ nejsou histologické nálezy zcela shodné. U kohouta č. 6 zjišťujeme atrofii kanálků, v některých z nich

3. Řez varletem kohouta po 69 dnech od aplikace $CdCl_2$ — atrofie kanálků, metaplasie semenoplodné výstelky (Lumipan, obj. 20, ok. Fo 9×)



4. Řez varletem kohouta po 77 dnech od aplikace $CdCl_2$ — atrofie výstelky semenoplodných kanálků (Lumipan, obj. 20, ok. Fo 9×)



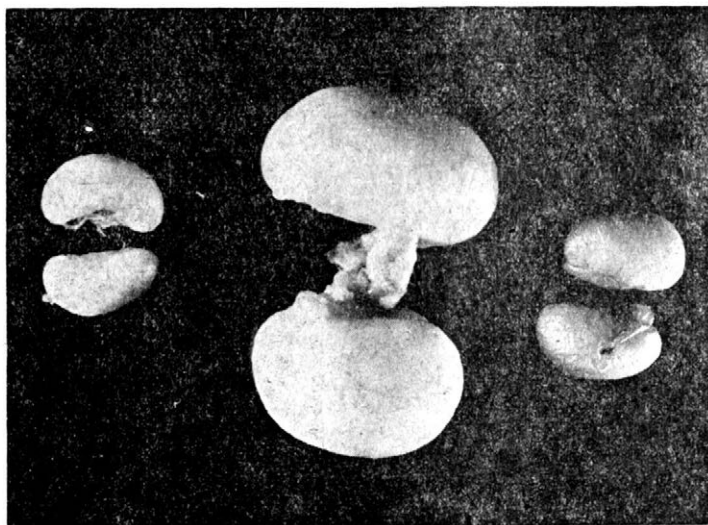
lze však zachytit všechny fáze spermatogenese, někde i spermiogenesu, spermie jsou však ve zcela omezeném počtu. Semenoplodná výstelka kanálků, v nichž nedochází ke tvorbě spermií, vykazuje určitý stupeň atrofie a mnohde je zjevná i metaplasie výstelky v jednovrstevný cylindrický epithel. V luminu kanálku se nacházejí též vícejaderné elementy buněčné.

U kohouta č. 8 je nápadná atrofie kanálků a výstelka vykazuje zjevnou uniformitu buněk. Ve výstelce převládají buňky se světlým jádrem, které odpovídají spermatogoniím a které vyplňují téměř celý kanálek. Jen v daleko menším počtu jsou zde buňky s jádrem tmavším, které odpovídají spermatocytům prvního a druhého řádu. Některé z nich jsou ve stadiu mitotického dělení.

Naprosto rozdílné jsou histologické nálezy u kohoutů, utracených po 77 dnech od aplikace $CdCl_2$. U kohouta č. 1, jenž byl na počátku pokusu 5měsíční, je nápadná, již v přehledném zvětšení, atrofie semenoplodných točitých kanálků. Výrazné změny jsou na zárodečném epithelu. Vrstva spermatocytů prvního řádu, navazující na vrstvu spermatogonií je zřejmě rozšířena tak, že spermatocyty prvního řádu tvoří podstatnou vyplň kanálků. V zárodečném epithelu lze zjistit ještě spermatocyty dru-



5. Řez varletem kohouta po 64 dnech od aplikace octanu kademnatého — atrofie kanálků — zmenšení vrstev semenoplodného epithelu (Lumipan, obj. 20, ok. Fo 9X)
Mikrofoto: Dr Groch,
Dr Meszáros



6. Srovnání velikosti varlat pokusných kohoutů po 64 dnech od aplikace octanu kademnatého (po stranách) s varlaty kohouta kontrolního stejného stáří (uprostřed)
Foto: Ing. S. Dyková

hého řádu, podle výraznějších, na chromatin bohatších jader. V této vrstvě nacházíme četné buňky ve fázi mitotického dělení. V mnohých buňkách zde dochází k degenerativnímu rozpadu. Mimo tyto buňky zjišťujeme uvnitř kanálků i buňky zcela odlišné, které nelze zařadit mezi buňky cyklu spermatogenese. Jsou to buňky se sytým kulatým jádrem a poměrně značným množstvím protoplasmu slabě eosinofilní. Dále zde nacházíme buňky s různě formovaným jádrem, ledvinovitým, případně též buňky mnohojaderné s 3—5 malými kulovitými jádry. Jejich histogenese není zcela jasná, zdá se, že vznikají jako abnormální buňky z fáze množení spermatocytů druhého řádu. Leydigovy buňky jsou zastoupeny v malém počtu. V podpurné tkáni nejsou zjišťovány změny.

U kohouta č. 5 (na počátku pokusu byl 15měsíční) je podpurná tkáň, po 77 dnech od aplikace látky nepatrně zbytnělá, v kanálkách zjišťujeme semenoplodný epithel s buňkami v různém stadiu spermatogenese. Bohatý je nález vyzrávajících spermií v chomáčcích. V luminu kanálků jsou četné spermie vírovitě uspořádané.

Pathologicko-histologické změny ve stavbě varlat po aplikaci bromidu kademnatého, po 71 dnech od aplikace látky, se projevují u kohouta č. 7 atrofii

semenoplných kanálků ve valné části preparátů. V některých okrcích je spermatogenese částečně zachována a nacházíme zde i vyzralé spermie.

U kohouta č. 9, rovněž po 71 dnech od aplikace $CdBr_2$ jsou zastoupeny v zárodečném epitelu semenoplných kanálků převážně spermatocyty prvního a druhého řádu, mitotické dělení je časté, roztroušené v kanálcích zjišťujeme ojediněle tvorbu spermií. Četné jsou mikrocyty s kulatým sytým jádrem. Podpurná tkáň nevykazuje podstatných změn.

Velmi výrazné jsou změny v histologické stavbě varlat u kohoutů (č. 10 a 12), jimž byl injikován octan kademnatý a kteří byli utraceni po 64 dnech od aplikace látky. U kohouta č. 10 je atrofie kanálků zjevná ve zmenšení vrstev semenoplného epitelu. Dochází k jeho oploštění a podstatná část buněk výplně kanálků je tvořena spermatocyty prvního řádu. Většinou nacházíme jen 2–5 vrstev poměrně uniformních buněk. Mitosy téměř nezjišťujeme. V podpurné tkáni jsou zcela nepatrná ložiska buněčného lymfocytárního infiltrátu.

Histologický nále z na varlatech kohouta č. 12 rovněž svědčí pro hluboký zásah octanu kademnatého do látkové výměny varlat, která se projevuje změnou mikrostruktury zárodečné tkáně. Podpurná tkáň varlete je zbytnělá, difusně prostoupena ojedinělými elementy buněčnými. Ložiskově se vytvářejí v podpurné tkáni granulomy, dosahující velikosti asi 10 tubulů. Semenoplný epitel je silně pozmeněn. Zjišťujeme nápadnou jeho atrofii, vrstvy buněk jsou zmenšeny na 2–3, mitosy nacházíme jen zcela ojediněle, kanálky jsou téměř bez lumina. Metaplasie epitelu je tak značná, že na mnoha úsecích připomíná jedno až dvojevrstevný epitel kubických až cylindrických buněk.

Stupni rozvoje morfologických změn na varlatech pokusných kohoutů zcela odpovídají a jsou úměrné rozměry varlat, jakož i jejich absolutní a relativní váha. Tyto údaje jsou sestaveny do přehledné tabulky I. Z tabulky je patrné, že po jednorázové subkutánní aplikaci použitých kademnatých sloučenin dochází u pokusných kohoutů k podstatnému zmenšení varlat v jednotlivých rozměrech a k nápadnému snížení jejich absolutní a relativní váhy. Kromě kohoutů utracených již po 3 dnech od aplikace látky, u nichž nebyly ještě patřičně vyvinuty ani změny morfologické, byla zřetelná atrofie varlat zaznamenána u všech kohoutů s výjimkou 15 měsíčního kohouta (č. 5). Relativní váha varlat, vyjádřená v mg na $100 g$ váhy těla, která činí u kontrolních kohoutů průměrně $430 mg/100 g$, je u stejně starých kohoutů po aplikaci $CdCl_2$ vyjádřena poměrem $42–100 mg/100 g$ váhy těla, což představuje snížení o $90,3–76,8 \%$. Po aplikaci bromidu kademnatého je relativní váha varlat vyjádřena poměrem 90 a $100 mg/100 g$, což je snížení průměrně o 77% . Tentýž poměr po aplikaci octanu kademnatého činí $43–53 mg/100 g$. Ve srovnání s průměrnou relativní váhou varlat kontrolních kohoutů znamená to snížení průměrně o $83,3 \%$.

Všechny zde popsané nálezy dokazují, že subkutánně aplikovaný chlorid, bromid nebo octan kademnatý vyvolává makroskopické i mikroskopické změny varlat kohoutů. Charakter mikroskopických změn je však zcela odlišný od nálezů na varlatech krys po subkutánní aplikaci chloridu kademnatého, které byly popsány Pařízkem a Záhořem (2, 3, 4) a které byly námi ověřeny a doloženy dalším materiálem (1). U krys se účinek $CdCl_2$ projevovat nekrobiotickými pochody, které postihovaly jak intersticiu, tak i semenoplný epitel. Účinek použitých kademnatých sloučenin na varlata kohoutů se naproti tomu projevuje zejména atrofií kanálků a semenoplného epitelu a zřejmou metaplasii výstelky mnohdy dokonce takového rozsahu, že výstelka připomíná jedno až dvojevrstevný epitel kubických až cylindrických buněk. Takový nále z byl zjištěn na varlatech všech pokusných kohoutů, utracených po 64–77 dnech od aplikace látky s výjimkou 15 měsíčního kohouta č. 5, jehož varlata nevykazují podstatnějších morfologických změn.

Ve varlatech kohouta č. 6, jemuž byl aplikován chlorid kademnatý a který byl utracen po 69 dnech od aplikace látky, zjišťujeme sice atrofií kanálků, přesto však v některých kanálcích lze zachytit všechny fáze spermatogenese, někde i spermiogenesu a nepatrné množství spermií. Podobný je nále z ve varlatech i u kohoutů, utracených po 71 dnech od aplikace bromidu kademnatého. Takový stav nebyl naproti tomu zjištěn po 64 dnech od aplikace octanu kademnatého a v některých případech i po aplikaci chloridu kademnatého. Tyto jevy je možno vysvětlit dvojí způsobem. Buď tím, že přes účinek chloridu nebo bromidu kademnatého určité okrcy varlat některých zvířat zřejmě nejsou tak hluboce poškozeny a vykonávají i nadále svou fyziologickou funkci, nebo i tím, a toto vysvětlení se nám zdá přijatelnější, že v uvedeném časovém intervalu došlo u některých zvířat k částečné obnově fyziologické funkce varlat. Poslední zdůvodnění se opírá o komplexní hodnocení histologických nálezů a váhových a rozměrových změn varlat. Ve všech těchto případech zjišťujeme

totiž nápadnou atrofii varlat, takže jejich relativní váha, ve srovnání s kontrolními zvířaty je snížena v průměru o 76,9 %, při tom je však přibližně dvakrát větší než je relativní váha varlat, která v téže časovém intervalu jsou ještě natolik poškozena, že je zcela narušena i jejich fyziologická funkce. Naproti tomu histologický náález, rozměry a absolutní a relativní váha varlat 15měsíčního pokusného kohouta č. 5 by nasvědčovaly tomu, že u tohoto kohouta, již staršího, se nedostavil očekávaný efekt. Z dosažených výsledků je rovněž možno souditi, že vedle vlastního účinku kadmia se uplatňuje též příslušný anion.

Je pozoruhodné, že účinek chloridu, bromidu a octanu kademnatého na pohlavní žlázy kohoutů je vcelku shodný s účinkem stilbenových přípravků na tyto žlázy, jak jej popsali Kudláč a Pivník (5). Použitými kademnatými solemi byly vyvolány téměř stejné změny v mikroskopické stavbě varlat, jaké zaznamenali posledně uvedení autoři v případech zdařilého hormonálního kapounování stilbenovými přípravky Westikret a Agostilben fortissimum. Rovněž rozsah atrofie varlat je v obou případech téměř stejný, jak to vyplývá ze srovnání našich výsledků, uvedených v tabulce I. s výsledky Kudláče a Pivníka. Z údajů, které autoři ve své práci uvádějí, jsme vypočetli relativní váhu varlat vyjádřenou v mg na 100 g váhy těla. Tímto propočtem v jednotlivých skupinách kontrolních zvířat různého stáří jsme došli k průměrnému poměru 429 mg/100 g (v jednotlivých skupinách 300–644 mg/100 g), což plně souhlasí s našimi předběžnými údaji. Relativní váha varlat pokusných kohoutů v těch skupinách, v nichž bylo dosaženo dobrých výsledků, činila po aplikaci Westinkretu 33 mg na 100 g váhy těla, po aplikaci Agostilben fortissimum 41 mg na 100 g. I tyto výsledky dobře souhlasí s našimi orientačními údaji, uvedenými v přehledné tabulce I po aplikaci octanu kademnatého a v některých případech i po aplikaci chloridu kademnatého. K podobné shodě dospíváme i při srovnání jednotlivých rozměrů varlat kontrolních a pokusných zvířat.

Změnám v intersexu nebyla zatím věnována pozornost a při běžném pozorování nebyly shledány nápadné změny na hřebínku.

Morfologické změny v podkoží, zjištěné po 3 dnech od aplikace chloridu kademnatého v 0,5–1,0% koncentraci jsou zřejmě jen přechodné. U kohoutů utracených po 77 dnech od aplikace $CdCl_2$ v téže koncentraci nebyly tyto změny v podkoží nebo v místě vpichu zjištěny. Přesto v dalších pokusech byla koncentrace účinné látky snížena na 0,1–0,33 %. Aplikované množství kademnatých solí snášeli pokusní kohouti dobře a nevykazovali zřejmých odchylek od normálního zdravotního stavu, chuť k přijímání potravy zůstala zachována.

Souhrn

Subkutánní aplikací chloridu, bromidu a octanu kademnatého v dávce 4×10^{-5} molu na kg živé váhy byly vyvolány makroskopické a mikroskopické změny varlat pokusných kohoutů-leghorn ve stáří 5–6 měsíců. Účinek použitých kademnatých solí se projevil nápadným zmenšením varlat, atrofií kanálků a semenoplodného epithelu a metaplasii výstelky, někdy dokonce v jedno až dvouvrstevný epithel kubických až cylindrických buněk. Charakter mikroskopických změn se tedy zásadně liší od změn již dříve popsaných ve varlatech kdys po subkutánní aplikaci $CdCl_2$ (1, 2, 3, 4).

Varlata pokusných kohoutů byla zmenšena v jednotlivých rozměrech a rovněž byl zaznamenán pokles jejich absolutní a relativní váhy. Relativní váha varlat vyjádřená v mg na 100 g váhy těla se snížila ve srovnání s kontrolními zvířaty o 74,7–90,3 %.

Účinek použitých dávek kademnatých solí na varlata kohoutů je velmi podobný účinku stilbenových přípravků Westinkret a Agostilben fortissimum. V tomto orientačním pokuse se nejvýrazněji projevil účinek octanu kademnatého.

Všechny závěry, vyplývající z těchto orientačních pokusů, o které byly naznačeny v tomto předběžném sdělení, jsou již ověřovány na odpovídajícím počtu pokusných zvířat a bude o nich v nejbližší době podrobně referováno.

1. Janeček A., Neuman V., Zendulka M.: Účinek chloridu kademnatého na samčí pohlavní orgány krys, Sborník ČSAZV - Veterinární medicína 1957 (předcházející články). — 2. Pařízek J., Záhoř Z.: Nature 177 (1956), 1036. — 3. Pařízek J.: Přednesené referáty na IV. celostátním sjezdu čs. fyziologů, farmakologů a biochemiků, St. Smokovec, 1956, str. 54. — 4. Pařízek J.: J. Endocrin. 15 (1957), 36. — 5. Kudláč E., Pivník L.: Sborník ČSAZV - Veterinární medicína 29 (1956), 393.

Действие некоторых соединений кадмия на семенники петухов

Подкожное применение хлористого, бромистого и уксуснокислого кадмия в дозе 4×10^{-5} моля на кг. жив. веса вызывало макроскопические и микроскопические изменения семенников подопытных петухов в возрасте 5—6 месяцев. Под воздействием применяемых солей кадмия резко уменьшились семенники, произошла атрофия канальцев и спермообразующего эпителия и метаплазия эпителия, который иногда преобразовался в одно- двухслойный эпителий кубических, даже цилиндрических клеток. Следовательно, характер микроскопических изменений в основном отличается от раньше уже описанных изменений в семенниках крыс после подкожного применения $CdCl_2$ (1, 2, 3, 4).

Семенники подопытных петухов были уменьшены по отдельным величинам, замечалось также понижение их абсолютного и относительного веса. Относительный вес семенников, выраженный в мг на 100 г веса тела, понизился по сравнению с контрольными животными на 74,7—90,3 %.

Действие примененных доз солей кадмия на семенники петухов весьма сходно с действием стильбеновых препаратов Westinkret и Agostilben fortissimum. При этом ориентировочном опыте наиболее выразительно проявилось действие уксуснокислого кадмия.

Все выводы, вытекающие из этих ориентировочных опытов, о которых упоминается в этом предварительном сообщении, в настоящее время проверяются на определенном количестве подопытных животных и в ближайшее время будут опубликованы.

The Effect of Some Cadmium Compounds upon the testicles in roosters

Subcutaneous application of chloride, bromide and cadmium acetate in the dosis of 4×10^{-5} mol per 1 kg w. resulted in macroscopic and microscopic changes in the testicles of test-roosters, 5 to 6 months of age. The effect of cadmium salts was manifested in striking diminishing of the testicles, atrophy of seminiferous epithelium and canals, and in metaplasia of the epithelium, in some cases even changed into one or two-layered epithelium of cubic and cylindric cells. The character of microscopic lesions differs principally from the lesions formerly described as occurring in the testicles of rats after the subcutaneous application of $CdCl_2$ (1, 2, 3, 4).

The dimensions of the testicles in test roosters were reduced and a decline of their absolute and relative weight was noticed as well. The relative weight of the testicles, expressed in mg for 100 g of body weight, was reduced by 74,7-to 90,3 % as compared with the controls.

The effect upon the testicles of the roosters of the doses of cadmium salts applied resembles greatly to that of Stilben preparations Westinkret and Agostilben fortissimum. In this orientation experiment the effect of cadmium acetate proved as most conspicuous.

All conclusions resulting from these orientation experiments and those sketched in this preliminary report are being checked on an adequate number of test animals and a detailed account will be given in next future.

Die Wirkung einiger Kadmium-Verbindungen auf die Hoden der Hähne

Durch die subkutane Applikation von Chlorid, Bromid und Kadmiumacetat in der Dosis von 4×10^{-5} / 1 Kg G. wurden makro- und mikroskopische Veränderungen in den Hoden der Versuchshähne im Alter von 5 bis 6 Monaten hervorgerufen. Die Wirkung der angewandten Kadmiumsälze hat sich durch folgende Veränderungen bemerkbar gemacht: eine auffallende Verminderung der Hoden, die Atrophie der Kanälchen und des samenerzeugenden Epithels, und die Metaplasie der Schleimhaut bis zu einem ein- bis zweischichtigen Epithelium, das von kubischen und zylindrischen Zellen bestand. Der Charakter der mikroskopischen Veränderungen weicht also grundsätzlich von den schon vorher beschriebenen Veränderungen in den Hoden der Ratten nach der subkutanen Applikation von CdCl_2 (1, 2, 3, 4), ab.

Die einzelnen Dimensionen der Hoden bei den Versuchshähnen waren vermindert, ebenso wurde das Herabsinken ihres absoluten und relativen Gewichtes verzeichnet. Das relative Gewicht der Hoden, in mg auf 100 g des Körpergewichtes ausgedrückt, ist im Vergleich mit den Kontrolltieren um 74,7-90,3 % herabgesetzt worden.

Die Wirkung der gebrauchten Dosen von Kadmiumsälzen auf die Hoden der Hähne ist derjenigen von Stilbenpräparaten Westinkret und Agostilben fortissimum sehr ähnlich. In diesem Orientationsversuch hat sich die Wirkung von Kadmiumacetat als ausdrückvollste gezeigt.

Alle Schlußfolgerungen, die sich aus diesen Orientationsversuchen ergeben und die in dieser vorläufigen Mitteilung angedeutet wurden, werden derzeit an einer entsprechenden Zahl von Versuchstieren überprüft und in der nächsten Zukunft wird man über sie ausführlich berichten.

Zícha B. - Kalousová V. - Neuman V. - Piskač A. - Hruška K.: Bílkovinné spektrum některých hospodářských laboratorních zvířat Спектр белка некоторых хозяйственных и лабораторных животных Albumen Spectrum of Some Farm and Laboratory Animals Das Eiweißspektrum einiger Nutz- und Laboratoriumstiere	835
Krajša V.: Zhodnocení klinického vyšetření čepce u skotu, prováděného základními fyzikálními metodami Оценка клинического исследования сетки у крупного рогатого скота, проводимого основными физическими методами Evaluation of the clinical Examination of Reticulum in Cattle performed by fundamental physical Methods Bewertung der mittels physikalischer Grundmethoden durchgeführten kli- nischen Untersuchung der Haube beim Rind	855
Poláková M.: Adipát piperazinu při askaridose a heterakidose slepic Адепат пиперазина при аскаридиозе и гетеракидозе кур The Treatment of Ascaridosis and Heterakidosis in Hens with Piperazine Adipate Piperazin-Adipat bei Ascaridiosis und Heterakidosis des Geflügels	865
Pavlas M. - Hejlíček K.: Aktivní imunisace skotu proti tuberkulose M vakcinou Активная иммунизация крупного рогатого скота против туберкулеза М вакциной Active Immunization of the Cattle against Tuberculosis with the M-Vaccine Die aktive Immunisation des Rindes gegen Tuberkulose mit der M-Vakzine	881
Janeček A. - Neuman V. - Zendulka M.: Účinek chloridu kademnatého na samčí pohlavní orgány krys Действие хлористого кадмия на мужские половые органы крыс The Effect of Cadmium Chloride upon the Reproductive Organs of Male Rats Die Wirkung von Kadmiumchlorid auf die Geschlechtsorgane der männlichen Ratten	901
Janeček A. - Neuman V. - Zendulka M.: Účinek některých kademna- tých sloučenin na varlata kohoutů Действие некоторых соединений кадмия на семенники петухов The Effect of Some Cadmium Compounds upon the Testicles in Roosters Die Wirkung einiger Kadmium-Verbindungen auf die Hoden der Hähne	915



Ceskoslovenská akademie zemědělských věd seznámí v příštím roce širší veřejnost se svou prací v těchto Sbornících, odborných a referátových časopisech:

Sborníky ČSAZV

Rostlinná výroba

měsíčník, rozsah 144 stran, roční předplatné Kčs 216,—

Zivočišná výroba

měsíčník, rozsah 80 stran, roční předplatné Kčs 120,—

Veterinární medicína

měsíčník, rozsah 80 stran, roční předplatné Kčs 120,—

Lesnictví

měsíčník, rozsah 96 stran, roční předplatné Kčs 144,—

Zemědělská ekonomika

měsíčník, rozsah 80 stran, roční předplatné Kčs 120,—

Mechanisace a elektrifikace zemědělství
 dvoměsíčník, rozsah 80 stran, roční předplatné Kčs 60,—

Historie a musejnictví

čtvrtletník, rozsah 80 stran, roční předplatné Kčs 40,—

Časopisy

Věstník ČSAZV

měsíčník, rozsah 56 stran, roční předplatné Kčs 96,—

Zemědělství v zahraničí

dvoměsíčník, rozsah 120 stran, roční předplatné Kčs 30,—

Za socialistické zemědělství

měsíčník, rozsah 96 stran, roční předplatné Kčs 42,—

Dokumentační časopisy

Přehled československé zemědělské literatury

měsíčník, rozsah 32 stran, roční předplatné Kčs 60,—

Přehled zahraniční zemědělské literatury

měsíčník, rozsah 144 stran, roční předplatné Kčs 240,—

Přehled lesnické a myslivecké literatury

měsíčník, rozsah 32 stran, roční předplatné Kčs 60,—

Nové knihy zemědělských knihoven

měsíčník, rozsah 16 stran, roční předplatné Kčs 24,—

Prameny zemědělské literatury

čtvrtletník, rozsah 72 stran, roční předplatné Kčs 40,—

Cizojazyčné časopisy

**Za socialističeskiju sel'skochoz'jajstvennuju nauku
řada A**

čtvrtletník, rozsah 112 stran, roční předplatné Kčs 40,—

**Za socialističeskiju sel'skochoz'jajstvennuju nauku
řada B**

vychází dvakrát ročně, rozsah 112 stran, roční předplatné Kčs 20,—

**Landwirtschaftliche Literatur
der Tschechoslowakei**

čtvrtletník, rozsah 24 stran, roční předplatné Kčs 20,—

Objednávky přijímá administrace časopisů

ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Praha XII, Slezská 7

*Dosavadní odběratelé, pokud si nepřejí změnit počet odebíraných vý-
tisků, nemusí posílat pro příští rok nové objednávky.*