

Příspěvek ke stanovení anorganického fosforu v krevním séru skotu

К вопросу определения неорганического фосфора в кровяной сыворотке
крупного рогатого скота

Ein Beitrag zur Bestimmung des anorganischen Phosphors im Blutserum des Rindes

O. KOUTNÝ, V. MADĚROVÁ-JAROŠOVÁ

Z katedry lékařské chemie, fyziky a toxikologie veterinární fakulty VŠZL v Brně,
vedoucí katedry prof. MVDr. Antonín Janeček

Došlo 19. IX. 1958

Úvod

Tato práce vyplynula z potřeby praxe. Jedním z denních úkolů našeho ústavu pro přímou potřebu praxe — klinik, veterinárních nemocnic, veterinárních ošetřoven i terénu — je stanovení fosforu, vápníku a hořčíku v krevním séru zvířat, především skotu.

Stanovení fosforu provádíme proti některým složitějším, pracnějším a zdoluhavějším laboratorním metodám poměrně jednoduchou a rychlou metodou Allenovou, jak ji popisujeme dále.

Přitom docházíme k výsledkům, které, pokud jde o množství anorganického fosforu v krevním séru krav, jsou mnohdy vyšší, než se uvádějí v literatuře domácí i zahraniční.

Vytkli jsme si proto za úkol:

1. Přezkoušet, je-li námi používaná, jednoduchá, pro praxi vhodná metoda spolehlivá a přesná, a vyrovná-li se v tomto směru specifitějším, ale složitějším a déle trvajícím metodám laboratorním.

2. Stanovit hodnoty anorganického fosforu v krevním séru většího počtu krav klinicky zdravých.

3. Zjistit, má-li doba uplynulá od odebrání krve do okamžiku provedení analýzy vliv na množství anorganického fosforu v krevním séru; nezřídka se totiž stává, že při dodávání vzorků krve z terénu uplyne od odebrání krve do chemické analýzy 24 i více hodin.

Popis metod, kterými je anorganický fosfor v biologickém materiálu určován

Metody, kterými lze určovat anorganický fosfor v biologickém materiálu, jsou rozmanité. Neumann (1) srážel fosforečnanové ionty v silně kyselém prostředí při zvýšené teplotě molybdenanem amonným. Vzniklý fosfomolybdenan amonný určoval titračně. Při této metodě je nebezpečí, že dojde při zvýšené teplotě a v silně kyselém prostředí k hydrolýze fosforečných esterů, takže hodnoty anorganického fosforu jsou příliš vysoké. Této jeho metody se dnes při analýze biologického materiálu používá už jen zřídka.

Embden (2) srážel ionty fosforečnanové jako kyselinu strychninfosfomolybdenovou a gravimetricky nebo titračně určoval kyselinu fosforečnou. Poněvadž se nepracuje při zvýšené teplotě, odpadá nebezpečí hydrolýzy esterů fosforečných. Touto metodou lze však zachytit nejvýše 10 μg P, což je poměrně malá citlivost.

Ve většině biochemických laboratorí se dnes určuje anorganický fosfor v krevním séru kolorimetricky. Fosforečnany jsou vysráženy molybdenanem amonným jako fosfomolybdenan amonný $(\text{NH}_4)_2[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6]$, jenž je redukován různými redukčními činidly na molybdenovou modř. Převážná část kolorimetrických metod je založena na tomto principu. Jednotliví autoři použili různých redukovadel. Tak používají Bell (3) a Briggs (4) hydrochinonu. Později se od hydrochinonu upustilo, poněvadž zbarvení záviselo příliš na teplotě a na době. Fiske a Subbarov (5) použili s úspěchem jako redukčního činidla „Eikonogenu“, tj. 1,2,4-amononafthol sulfonové kyseliny. Lohmann a Jendrasik (6) jejich metodu upravili tak, že je dnes všeobecně pokládána za nejvhodnější. Müller (7) nahradil těžko dostupný „Eikonogen“ amidolem, tj. 2,4-diaminofenolem. Jak postupovat s amidolem, popsali se svých pracích Allen (8) a Borei (9).

Jiní autoři redukovali kyselinu fosfomolybdenovou chloridem cínatým. První tak učinil Denigès (10). K redukcí byl navržen též síran železnatý, ba i kyselina askorbová. Okáč (11) popisuje pro potřeby kvalitativní analýzy redukcí fosfomolybdenanu amonného benzidinem. Při této reakci fosfomolybdenan amonný oxyduje benzidin na benzidinovou modř, při čemž se sám redukuje na molybdenovou modř. Reakce s takto zdvojnásobeným zbarvením má značnou citlivost.

Při kterékoli kolorimetrické metodě ruší ty látky, které reagují s molybdenanem amonným podobně jako kyselina fosforečná, a látky, které se kyselinou fosfomolybdenovou srážejí, např. alkaloidy. Jsou-li takovéto látky přítomny, nezbyvá než srazit kyselinu fosforečnou ionty hořečnatými v amoniakálním prostředí jako fosforečnan hořečnato-amonný, sraženinu rozpustit v kyselině a fosfor v tomto roztoku určit kolorimetricky.

Flaschka a Holasek (12) určují komplexometricky hořčík a tedy nepřímo fosfor ve sraženém fosforečnanu hořečnato-amonném.

Pokusná část

Pokusy jsme uspořádali takto: Krev byla sterilně odebrána z *vena jugularis* 265 klinicky zdravým kravám, ustájeným na klinice II. interní, porodnicko-gynekologické a v JZD Tuřany, Modřice, Lískovec a Slatina. Krev, určená pro

přezkoušení námi používané analytické metody, byla odebrána kravám, ustájeným ve zmíněných JZD, a jímána do 100 ml zkumavek, kdežto krev určená pro studium vlivu stárnutí séra na obsah anorganického fosforu musila být odebrána na uvedených klinikách veterinární fakulty, aby nenastalo časové zdržení, způsobené dopravou. Tato krev byla jímána u každé krávy do 24 centrifugačních zkumavek. Zkumavky byly ihned po odběru uloženy při teplotě 4° C.

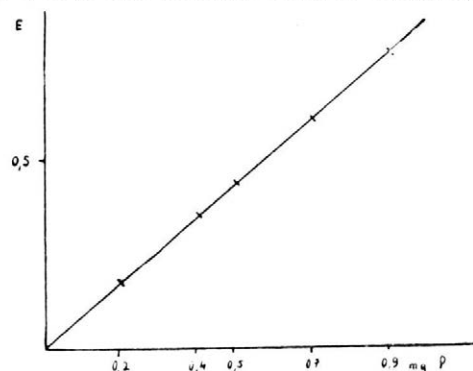
Pro sériové stanovení anorganického fosforu v krevním séru skotu jsme zvolili metodu upravenou Allenem (8).

Do 50 ml odměrné baňky jsme napipetovali 10,0 ml séra a doplnili 5% kyselinou trichloroctovou po značku. Po důkladném protřepání jsme obsah baňky filtrovali suchým filtrem. Z filtrátu jsme odpipetovali 10,0 ml (což odpovídá 2 ml séra) do odměrné baňky o objemu 25 ml, přidali 2 ml 60% kyseliny chloristé, 2 ml roztoku amidolového (40 g siřičitanu sodného kyselého a 2 g amidolu se rozpustí ve 200 ml destilované vody) a 1 ml 8,3% roztoku molybdenanu amonného. Destilovanou vodou jsme doplnili po značku, důkladně protřepali a po 15 minutách, kdy dosáhla modrá barva plné intenzity, jsme modrý roztok kolorimetrali.

Extinkce modře vybarvených roztoků jsme určovali proti vodě, ke které jsme přidali stejné látky jako k roztokům měřeným, tj. k 2 ml destilované vody jsme přidali nejdříve 8 ml 5% kyseliny trichloroctové, potom 2 ml 60% kyseliny chloristé, 2 ml roztoku amidolového, 1 ml roztoku molybdenanu amonného a doplnili destilovanou vodou do 25 ml. Extinkci jsme určovali na kolorimetru L. P. Použili jsme červeného filtru, kterým je tento kolorimetr vybaven.

Kalibrační graf jsme zhotovili na podkladě primárního fosforečnanu draselného p. a. (L. P.). Odvážili jsme 0,2195 g preparátu a rozpustili v 1000 ml roztoku. V 10 ml tohoto roztoku je obsaženo 0,5 mg P. Do 50 ml odměrných baněk jsme odpipetovali: 4,0 ; 8,0 ; 10,0 ; 14,0 ; 18,0 standardního roztoku KH_2PO_4 , což odpovídá 0,2; 0,4; 0,5; 0,7; 0,9 mg P, a doplnili 5% kyselinou trichloroctovou po značku. Dále jsme postupovali stejným způsobem jako při zpracování sér. Získali jsme tyto hodnoty:

mg P	D	E
0,2	67,3	0,172
0,4	45,3	0,344
0,5	37,6	0,425
0,7	25,4	0,595
0,9	17,2	0,765



Výsledky jsou průměrem čtyř měření. Hodnoty z tabulky jsou uvedeny v grafu. Z grafu je patrné, že extinkce je přímo úměrná koncentraci fosforu, že platí zákon Lambert-Beerův.

Výsledky stanovení anorganického fosforu v séru skotu získané touto metodou jsme srovnali s výsledky, získanými metodou Lohmannovou (13), založenou na vysrážení fosforečnatových iontů ionty hořečnatými v amoniakálním prostředí. Tato metoda tím, že sráží nejprve ionty fosforečnanové jako nerozpustný fosforečnan hořečnat-amonný, odstraňuje rušivý vliv těch látek, které reagují při stanovení kolorimetrickém s molybdenanem amonným stejně jako ionty fosforečnanové a tím zvyšují hodnoty anorganického fosforu. Metoda Lohmannova

je pro stanovení anorganického fosforu sice specifitější, ale pro sériová stanovení méně vhodná, poněvadž je zdouhavější a pracnější než metoda Allenova.

Podle metody Lohmannovy jsme postupovali takto: Do 50 ml odměrné baňky jsme napipetovali 10,0 ml séra a doplnili 5 % kyselinou trichloroctovou po značce. Po důkladném protřepání jsme obsah baňky filtrovali suchým filtrem. Do centrifugačních zkumavek jsme napipetovali nejprve 1 ml 10 % roztoku amoniaku, 2 ml činidla citraňu hořečnatého (40 g kyseliny citronové se rozpustí za tepla v 500 ml destilované vody, do teplého roztoku se vpraví 20 g MgO, nechá se vychladnout a pak se přidá 400 ml koncentrovaného amoniaku; doplní se do 1500 ml destilovanou vodou) a pak jsme přidali 10,0 ml filtrátu. Skleněnou tyčinkou jsme třeli stěny zkumavek tak dlouho, až se objevily první krystaly NH_4MgPO_4 . Sraženinu jsme nechali přes noc stát v lednici. Fosforečnan hořečnat-amonný jsme oddělili (odstředili) od roztoku matečného, promyli několikrát 1 % roztokem čpavku, vždy po promytí odstředili a fosfor pak stanovili ve fosforečnanu hořečnat-amonném přímo už popsanou metodou kolorimetrickou; tj. sraženinu jsme nejprve rozpustili ve 2 ml kyseliny chloritě, přidali 2 ml amidolového roztoku, 1 ml roztoku molybdenanu amonného, doplnili do 25 ml destilovanou vodu a kolorimetrovali.

Výsledky získané oběma popsanými metodami jsou uvedeny v tabulce I.

I.

Kráva	A		B		Rozdíl	
	E	mg %	E	mg %	v mg	v %
I O	0,463	5,51	0,449	5,38	0,13	2,36
M I	0,575	6,75	0,559	6,61	0,14	2,12
B I	0,403	4,72	0,396	4,64	0,08	1,50
Č I	0,548	6,44	0,536	6,32	0,12	1,86
6 T	0,390	4,58	0,377	4,47	0,11	2,46
32 T	0,560	6,61	0,547	6,48	0,13	1,95
149 T	0,367	4,32	0,356	4,24	0,08	1,85
15 T	0,380	4,45	0,368	4,34	0,11	2,47
260 T	0,450	5,28	0,438	5,18	0,10	1,90
2 T	0,540	6,37	0,526	6,26	0,11	1,73
148 T	0,428	5,04	0,418	4,96	0,08	1,59
395 T	0,466	5,45	0,452	5,33	0,12	2,20
S P	0,563	6,63	0,553	6,58	0,05	1,20

A — metoda Allenova,

B — metoda Lohmannova.

Z tabulky je patrné, že hodnoty anorganického fosforu, získané metodou Allenovou, se liší od výsledků, získaných metodou Lohmannovou, jen zcela nepatrně. Metoda Lohmanova dává výsledky pravidelně asi o 2 % nižší (průměrně o 2,02 %). Tento rozdíl si lze vysvětlit částečnou rozpustností fosforečnanu hořečnat-amonného ve vodě.

Reprodukovatelnost stanovení obsahu anorganického fosforu v krevním séru oběma metodami ukazuje tabulka II, v níž jsou vyznačeny výsledky jednotlivých měření téhož séra.

O tom, že takto získané hodnoty jsou skutečné hodnoty anorganického fosforu v séru, jsme se přesvědčili takto: Do 50 ml odměrné baňky jsme odpipetovali 5,0 ml séra, přidali 5 ml standardního roztoku KH_2PO_4 (5 ml odpovídá 0,25 mg

II.

A		B	
E	mg %	E	mg %
0,563	6,63	0,553	6,58
0,563	6,63	0,553	6,58
0,565	6,65	0,555	6,60
0,565	6,65	0,555	6,60
0,563	6,63	0,555	6,60

P), doplnili 5% kyselinou trichloroctovou po značku a určovali oběma popsanými metodami anorganický fosfor. Výsledky jsou uvedeny v tabulce III.

III.

	A		B	
	E	mg %	E	mg %
10 ml séra	0,463	5,52	0,449	5,38
5 ml séra + 5 ml stand.	0,444	5,25	0,438	5,21
Předpokládané množství P		5,26		5,19
Nalezené množství P		5,25		5,21

Výsledky jsou průměry tří měření.

Množství anorganického fosforu v séru krevním jsme se pokusili stanovit také nepřímou, komplexometrickou titrací, jak ji doporučují *F l a s c h k a* a *H o l a s e k* (12). Při této metodě jde v podstatě o stanovení hořčíku a tedy nepřímou fosforu ve sráženém fosforečnanu hořečnato-amonném. Nejprve jsme srazili fosforečnanové ionty jako fosforečnan hořečnato-amonný. Při tom jsme použili stejného pracovního postupu jako u metody předcházející. Vzniklý fosforečnan hořečnato-amonný jsme důkladně několikrát promyli 1% roztokem amoniaku a po každém promytí odstředili. Potom jsme sraženinu fosforečnanu hořečnato-amonného rozpustili v nejmenším množství 1 N kyseliny chloristé, k dosud kyselému reagujícímu roztoku jsme přidali 1,0 ml 0,01 M komplexonu III, upravili pH tlumičem NH_4Cl + NH_4OH , přidali eriochromovou čerň a titrovali zpět nadbytek komplexonu roztokem 0,01 M Mg^{2+} . Hodnoty získané při komplexometrické

IV.

Kráva	Komplex. titr.	Kolor. met.	Rozdíl	
	mg %	mg %	v mg	v %
I.	5,50	5,38	0,12	2,23
II.	6,25	6,19	0,06	0,97
III.	4,32	4,22	0,10	2,37
IV.	5,94	5,85	0,09	1,88
V.	6,47	6,37	0,10	1,54
VI.	4,35	4,29	0,06	1,39

titraci jsme srovnali s hodnotami anorganického fosforu v krevním séru nalezenými při přímé metodě kolorimetrické. Výsledky jsou uvedeny v tabulce IV.

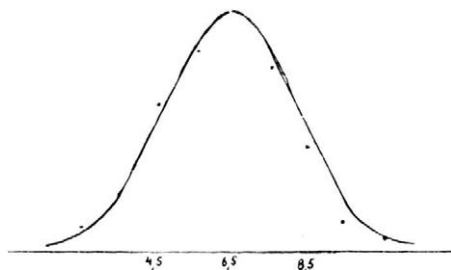
Hodnoty anorganického fosforu nalezené v krevním séru při nepřímé komplexometrické titraci jsou v průměru o 1,73 % vyšší než hodnoty přímo kolorimetricky naměřené. Snad nebyla sraženina fosforečnanu hořečnatu-amonného dostatečně promyta a zbyl na ní adsorbovaný citran hořečnatý.

Druhým úkolem naší práce bylo stanovit hodnoty anorganického fosforu v krevním séru většího počtu krav klinicky zdravých. Popsanou metodou Allenovou určovali jsme hodnoty anorganického fosforu u 265 klinicky zdravých krav. Jako střední hodnota pro obsah anorganického fosforu v krevním séru skotu vychází z našich měření

6,29 mg %.

Krajní případy 2,5 mg % až 10,5 mg %.

Výsledky jsou vyneseny v grafu.



Pro srovnání uvádíme hodnoty, které zjistili jiní autoři:

Klobouk (14)	4,2 — 7,0 mg %	
Příbyl (15)	4,56 — 6,52 mg %	krávy určené na žír
Příbyl	4,18 — 7,38 mg %	se sajícími telaty
Příbyl	3,36 — 6,08 mg %	krávy březí
Petr (16)	4,64 — 5,98 mg %	
Stejskal (17)	4,22 — 6,98 mg %	
D'Ans, Lax (18)	3,7 mg %	
Salgues (19)	7,9 mg %	
Kudrjavcev (22)	6,0 — 9,0 mg %	
Hippmann (23)	3,76 — 12,50 mg %	
Robinson, Huffmann (24)	3,00 — 8,99 mg %	

Vliv stárnutí krevního séra na množství anorganického fosforu jsme sledovali dvojím způsobem. Zajímalo nás:

1. jak se bude měnit hladina fosforu, zůstane-li sérum delší dobu s krevním koláčem, a
2. bude-li se měnit hladina fosforu v séru již odděleném od krevního koláče.

Zkumavky s krví od každé krávy byly rozděleny do dvou skupin a) a b). Ve skupině a) jsme sledovali úkol 1., ve skupině b) úkol 2.

Skupina a).

Sérum z krve v první dvojici zkumavek jsme odstředili ihned po odběru a v odstředěném séru jsme ihned stanovili anorganický fosfor. V další dvojici zkumavek jsme odstřeďovali sérum za dvě hodiny po odběru a v odstředěném séru jsme určili anorganický fosfor opět ihned. V dalších dvojicích zkumavek jsme odstřeďovali po 4, 24, 48 a 72 hodinách. V odstředěném séru jsme vždy ihned určovali anorganický fosfor.

Skupina b).

Odstředovali jsme sérum ve dvojicích zkumavek stejně jako ve skupině a), tj. první dvojici ihned a další dvojice postupně za 2, 4, 24 a 48 hodin po odběru, ale v séru byl určován anorganický fosfor vždy t e p r v e 24 hodiny po odstředění. Po tuto dobu bylo sérum uloženo při 4° C.

Studium vlivu stárnutí krevního séra na množství anorganického fosforu bylo sledováno u 21 krav, klinicky zdravých. U čtyřech krav uvádíme detailní výsledky v tabulce V., u 17 ostatních uvádíme hodnoty obsahu anorganického fosforu v séru zpracovaném ihned po odstředění. V prvním sloupci jsou uváděny hodnoty v séru odstředěném ihned po odběru, ve druhém sloupci hodnoty v séru odstředěném teprve 48 hodin po odběru (tab. VI.).

Jak je patrné z tabulek V. a VI., má doba uplynulá od odebrání krve do okamžiku provedení analýzy na obsah anorganického fosforu vliv, a to u různých individuí různý. Z počátku (do 24 hodin) zůstala hladina anorganického fosforu u některých sér stejná, u jiných množství anorganického fosforu v séru nepatrně

V.

Maryša, 3letá

Doba	a)		b)	
	E	mg %	E	mg %
ihned	0,575	6,74	0,592	6,96
2 hod.	0,575	6,74	0,597	7,03
4 hod.	0,576	6,75	0,599	7,05
24 hod.	0,585	6,86	0,599	7,05
48 hod.	0,602	7,07	0,607	7,15
72 hod.	0,614	7,28	—	—

Srna, 8letá

Doba	a)		b)	
	E	mg %	E	mg %
ihned	0,549	6,56	0,608	7,29
2 hod.	0,565	6,74	0,585	7,04
4 hod.	0,529	6,31	0,547	6,53
24 hod.	0,592	7,09	0,635	7,45
48 hod.	0,657	7,89	0,709	8,33
72 hod.	0,727	8,79	—	—

Červenka, 4letá

Doba	a)		b)	
	E	mg %	E	mg %
ihned	0,545	6,43	0,547	6,42
2 hod.	0,548	6,48	0,547	6,42
4 hod.	0,524	6,18	0,527	6,21
24 hod.	0,562	6,64	0,558	6,57
48 hod.	0,573	6,74	0,570	6,70
72 hod.	0,604	7,09	—	—

Bola, 8letá

Doba	a)		b)	
	E	mg %	E	mg %
ihned	0,404	4,74	0,402	4,73
2 hod.	0,403	4,74	0,402	4,73
4 hod.	0,407	4,78	0,409	4,81
24 hod.	0,410	4,82	0,419	4,93
48 hod.	0,428	5,03	0,430	5,05
72 hod.	0,442	5,19	—	—

VI.

I.	II.	Rozdil	
mg %	mg %	v mg	v %
5,65	6,65	1,00	17,9
4,05	6,05	2,00	50,0
5,85	7,90	2,05	35,1
7,70	8,85	1,15	14,9
8,30	8,95	0,65	7,8
8,95	9,15	0,20	2,2
6,90	8,02	1,12	16,2
6,25	7,30	1,05	16,8
4,75	5,82	1,07	22,5
5,34	5,62	0,28	5,30
6,85	7,90	1,05	15,3
5,75	6,40	0,65	11,3
6,40	7,11	0,71	11,1
6,10	6,45	0,35	5,80
6,15	6,45	0,30	4,9
7,00	7,49	0,49	7,0
5,50	5,75	0,25	4,6

pokleslo, což se shoduje s údaji H i n s b e r g o v ý m i (20). Po 48 hodinách stoupla hladina anorganického fosforu u všech krevních sér, a to vždy nad hodnoty, zjištěné v čerstvých krevních sérech. Vzestup obsahu anorganického fosforu se objevil, ať již zůstalo krevní sérum delší dobu ve styku s krevním koláčem nebo bylo-li od něho odděleno. Tento úkaz lze vysvětlit tím, že dochází k hydrolýze organicky vázaného fosforu. Doporučujeme proto určovat obsah anorganického fosforu v krevním séru pokud možno ihned po odběru krve.

S o u h r n

Autoři stanovili obsah anorganického fosforu v krevním séru 265 klinicky zdravých krav a našli jako průměrnou hodnotu 6,29 mg % (min. hodnota 2,5, max. 10,5 mg %). Zjištěné hodnoty jsou poněkud vyšší než hodnoty, které zjistila většina autorů.

Fosfor určovali kolorimetricky podle Allena. Zjistili, že výsledky touto metodou získané se shodují s výsledky získanými metodou Lohmannovou, kdy se fosfor sráží jako NH_4MgPO_4 . Lze tedy v denní praxi při sériových zkouškách krve

na obsah fosforu použit s úspěchem jednodušší a rychlejší metody Allenovy místo sice specifickější, ale složitější a zdouhavější metody Lohmannovy.

Sledovali také, má-li doba uplynulá od odebrání krve do okamžiku provedení analýzy vliv na množství anorganického fosforu v séru. Poznali, že vliv doby je zpočátku nepatrný a nestejný, po 48 hodinách je však obsah anorganického fosforu vždy vyšší nežli v séru čerstvém. Doporučují proto provádět zkoušky krve na obsah P pokud možno co nejdříve po odebrání krve.

Literatura

1. Neumann A.: Zeitschr. Physiol. Chem. 37, 115 (1902/03). — 2. Embden G.: Zeitschr. Physiol. Chem. 113, 138 (1921). — 3. Bell R. D., Doisy E. A.: J. biol. Ch. 44, 55 (1920). — 4. Briggs A. P.: J. biol. Ch. 53, 1 (1922); 59, 255 (1924). — 5. Fiske C. H., Subbarow Y.: J. biol. Ch. 66, 375 (1925). — 6. Lohmann K., Jendrassik L.: B. Z. 178, 419 (1926). — 7. Müller E.: Zeitschr. Physiol. Chem. 237, 35 (1935). — 8. Allen R. J.: Biochem. J. 34, 858 (1940). — 9. Borei H.: B. Z. 314, 351 (1943). — 10. Denigès G.: C. R. Soc. Biol. 84, 875 (1921). — 11. Okáč A.: Kvalitativní analýsa. — 12. Flaschka H., Holasek A.: Zeitschr. Fysiol. Chem. 289, 279 (1952). — 13. Lohmann K.: B. Z. 194, 306 (1928). — 14. Klobouk A.: Zvěrolék. rozpravy, roč. III., č. 9-10. — 15. Příbyl E.: Klin. spisy vys. školy zvěrol. v Brně sv. IX., č. 9-10 (1932). — 16. Petr K.: Zvěrolék. rozpravy, roč. II., č. 19, 20, 22. — 17. Stejskal J.: Klin. spisy vys. školy zvěrolék. v Brně sv. XI. č. 9-10 (1934). — 18. D'Ans J., Lax E.: Taschenbuch f. Chemiker und Physiker 1743, (1943). — 19. Salgues R.: Bull. Soc. Chim. Biol. 20, 1223 (1938). — 20. Hinsberg K., Hoppe-Seyler (Tierfelder): Hdb. physiol.-pathol. chem. Analyse V., 15 (1953). — 21. Zbarskij B. I., Zbarskij I. B., Solncev A. I.: Prakt. cvič. z biochemie, 183 (1956). — 22. Kudrjavcev A. A.: Issledovanija krovi v vet. diagnostike. Moskva (1952). — 23. Hippmann W.: Diss. Hannover, 1930. Ref. v Jb. Vet. Med. 50 (1930). — 24. Robinson C. S., Huffman C. F.: Jour. biol. Chem. 67, (1927).

К вопросу определения неорганического фосфора в кровяной сыворотке крупного рогатого скота

Авторы определили содержание неорганического фосфора в кровяной сыворотке 265 клинически здоровых коров и установили в среднем 6,29 мг % (миним. 2,5, максим. 10,5 мг %). Установленные величины несколько выше тех, которые были установлены большинством авторов.

Авторы определяли фосфор колориметрическим путем по Аллену, и обнаружили, что результаты, полученные при помощи этого метода, соответствуют результатам, полученным при помощи метода Логмана, при котором фосфор свертывается в виде NH_4MgPO_4 . Это значит, что в обычной практике при серийных испытаниях крови на содержание фосфора можно с успехом использовать более простой и быстрый метод Аллена вместо метода Логмана, который хотя и более специфичен, но зато более сложен, трудоемок и продолжителен.

Авторы выдвинули вопрос: влияет ли время, истекшее с момента взятия крови до момента проведения анализа, на количество неорганического фосфора в сыворотке. Оказалось, что влияние времени сначала незначительно и неодинаково, но по истечении 48 часов содержание неорганического фосфора всегда выше, чем в свежей сыворотке. Поэтому рекомендуется проводить испытания крови на содержание фосфора по возможности немедленно после взятия крови.

Ein Beitrag zur Bestimmung des anorganischen Phosphors im Blutserum des Rindes

Die Autoren haben den Gehalt an anorganischem Phosphor in den Blutseren von 265 gesunden Kühen gemessen und haben denselben im Durchschnitt von 6,29 mg% gefunden (Maximalwert 10,5, Minimalwert 2,5 mg%). Die festgestellten Werte sind im Durchschnitt um etwas höher als die Werte, welche die Mehrzahl der anderen Autoren ermittelt haben.

Der Phosphorgehalt wurde nach Allen bestimmt und es wurde konstatiert, daß die mit dieser Methode gewonnenen Resultate mit denen bei der Lohmanns Methode, bei der P als NH_4MgPO_4 ausgeschieden wird, übereinstimmen. Man kann also in der alltäglichen Praxis von Serienproben des Blutes auf den Phosphorgehalt die einfachere und raschere Allens Methode an Stelle der komplizierten, schwierigeren und zeitraubenderen Lohmanns Methode mit Erfolg anwenden.

In der Arbeit wurde auch der Einfluß der Zeit, die zwischen Blutabnahme und Blutanalyse verläuft, auf den Phosphorgehalt verfolgt und zwar:

- a) die Zeit, in der das Serum mit dem Blutkuchen in Berührung blieb,
- b) die Zeit, welche zwischen der Abtrennung des Serums von Blutkuchen und der Analyse verlief.

Die Autoren sind zu der Erkenntnis gekommen, daß der Zeiteinfluß am Anfang gering und unregelmäßig ist, nach 48 Stunden jedoch ist der Phosphorgehalt immer größer als im frischen Blutserum. Es ist also empfohlen die Blutproben betreffend den Phosphorgehalt, so bald als möglich nach Blutentnahme vorzunehmen.

K možnosti využití resorpce solného pupene (testu podle Mc Clurea a Aldricha) k diagnostice hepatid ve veterinární medicíně. II. (ukončení)

О возможности использования резорбции бугорка, вызванного физиологическим раствором (проба по Клюре и Альдриху), для диагностики гепатитов в ветеринарии
(II часть)

Zur Möglichkeit der Ausnützung von Quaddelresorption (der Test nach McClure und Aldrich) für Hepatitidendiagnostik in der Veterinärmedizin. II. Mitt.-Be-
endigung

On Possible Utilization of Salt Blister Resorption (McClure - Aldrich's Test) for
Diagnostics of Hepatites in Veterinary Medicine. Part II.

MVDr M. LEBEDA, MVDr VI. ZÝKA

*Z ústavu pro patologickou fyziologii veterinární fakulty VŠZL v Brně; přednosta
prof. dr. V. Jelinek, doktor vet. věd; a z krajské veterinární nemocnice v Hranicích*

Došlo dne 30. I. 1958

Úvod

V první části práce jsme referovali o výsledcích, získaných testem podle Mc Clure a Aldricha u laboratorních zvířat — králíků a psů. Práce ukázala, že velká variabilita resorpce solného pupene u dospělých, klinicky zdravých zvířat vytváří nepříznivou situaci pro stanovení hodnot patologických. U mláďat naopak jeví test značnou uniformitu. Zhodnocení testu u zvířat s experimentálně porušenými játry potvrdilo většinu názorů, získaných rozhorem hodnot, pocházejících od zvířat klinicky zdravých.

Vzhledem k tomu, že test má sloužit v klinické diagnostice, považovali jsme za nutné provést šetření též u velkých hospodářských zvířat. V případě příznivých výsledků jsme uvažovali i o eventuálním použití testu u zvířat nemocných hepatitidou nebo i jinými nemocemi, spojenými s vážnými poruchami metabolismu vody a minerálů.

V této závěrečné části práce sdělujeme výsledky prověřování testu podle Mc Clure a Aldricha u koní a skotu.

Metodika

Resorpce solného pupene byla zkoumána celkem u 186 koní a 158 kusů skotu. Všechna v tomto počtu zahrnutá zvířata byla klinicky zdravá. Koně byli převážně teplokrevníci obojího pohlaví, dále skupina 52 hřebců před kastrací a ko-

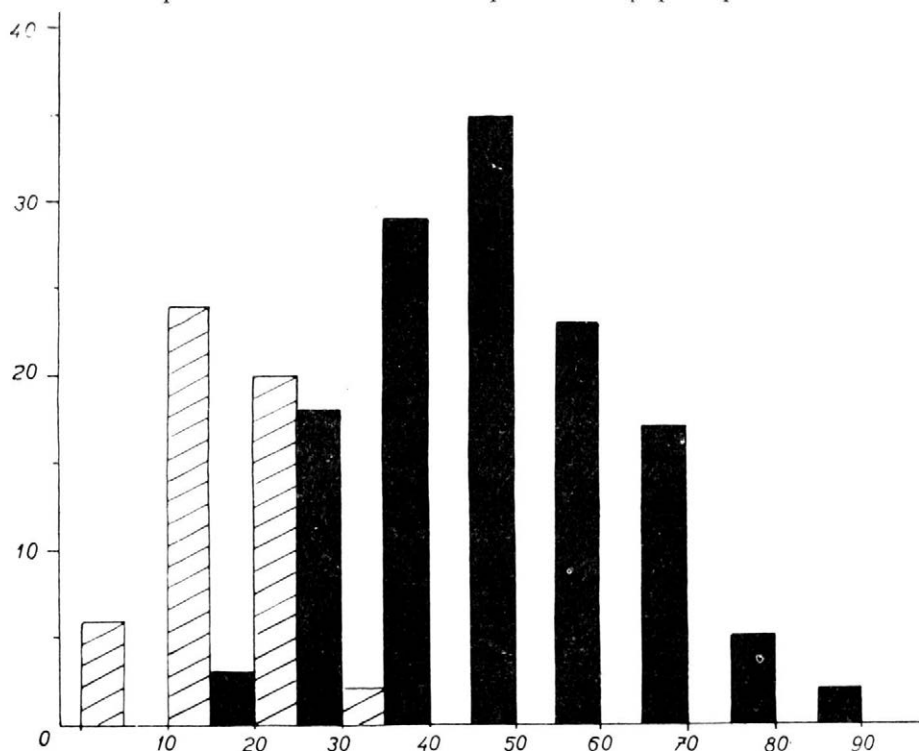
nečně skupina 31 vesměs chladnokrevných hříbat, obojího pohlaví. Testování bylo prováděno ve stájích při normálním způsobu krmení. Pouze u hřebců, určených ke kastraci, byl test zkoušen po jednodenní hladovce. Skot byl zastoupen vesměs příslušníky hřebíneckého plemene. Do věku dvou let byla zastoupena obě pohlaví zhruba stejným počtem, u starších ročníků převládaly samice. Testování se provádělo v době mimopastevní. Technika testu byla v podstatě táž jako v pokusech na laboratorních zvířatech. Intrakutánně jsme injikovali tuberkulinační jehlou 0,2 ml fyziologického roztoku v dorsální části krajiny lopatkové. U menší části koní bylo injikováno 0,5 ml fyziologického roztoku. Před provedením injekce byla srst ostříhána a kůže desinfikována ethanolem. Rezorpce pupene byla posuzována palpací i adspekcí.

Výsledky byly hodnoceny statisticky podle P i c k o, přičemž za významné byly považovány hodnoty přesahující příslušné hodnoty tabelované pro 0,05% stupeň významnosti t-testu a F-testu.

V ý s l e d k y

K o n ě

Četnost případů rezorpce solného pupene v různých časových rozmezích bez ohledu na věk klinicky zdravých koní vyjadřuje graf 1. Z grafu vyplývá, že u koní v normálních podmínkách dochází k rezorpci solného pupene převážně v rozmezí



Graf 1. Resorpce solného pupene u klinicky zdravých koní. Na svislé ose počet koní, na vodorovné ose doba resorpce v desetiminutových intervalech. Plné sloupce = koně normálně živení. Šrafované sloupce = hřebci po jednodenní hladovce.

20–70 minut. Maximum případů leží v rozmezí 40–50 minut. Nápadná je kratší doba rezorpce i menší variační šířka hodnot u hřebců po hladovce. Zde leží maximum případů v rozmezí 10–20 minut.

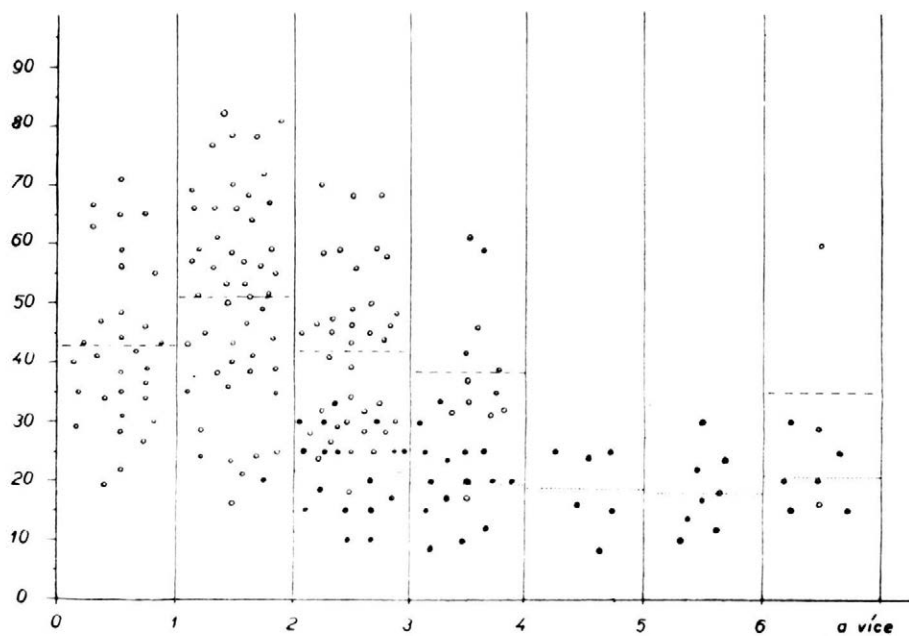
Z grafu 2, který zachycuje rozptyl rezorpce solného pupene u jednotlivých věkových skupin, lze vyčíst, že:

1. Skupina hřebců po jednodenní hladovce jeví poměrně malou variabilitu, která se nezdá být závislou na věku zvířat. Rovněž průměrná hodnota rezorpce u jednotlivých věkových skupin se nepatrně odlišuje. U koní od 2 do 3 let činí 22 min. (maximální odchylka – dále jen m. o. = +11, –12), u koní od 3 do 4 let – 20 min. (m. o. +13, –12), u koní od 4 do 5 let – 19 min. (m. o. +6, –11), u koní od 5 do 6 let – 18 min. (m. o. +12, –8) a u koní šestiletých a starších 22,5 min. (m. o. +7,5, –7,5).

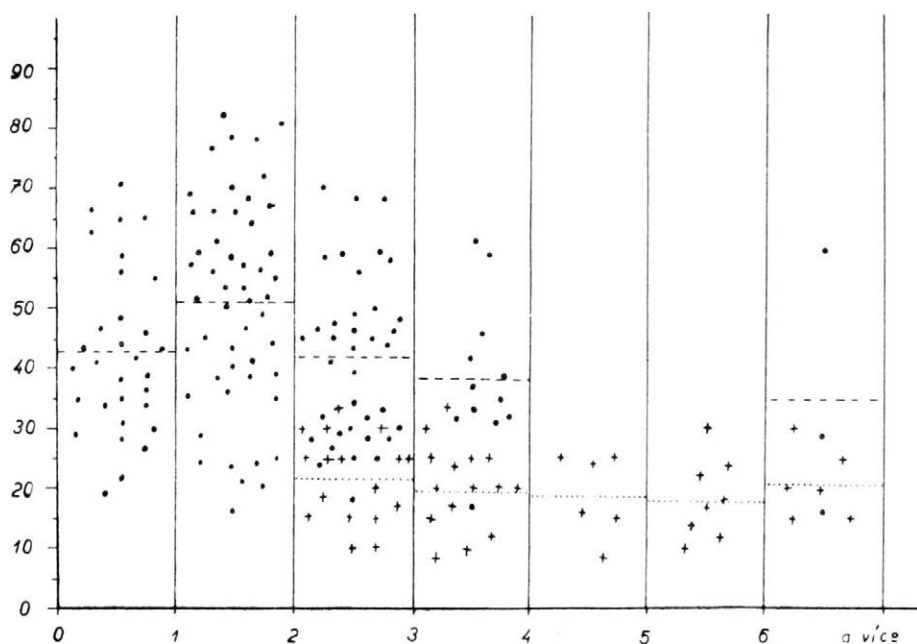
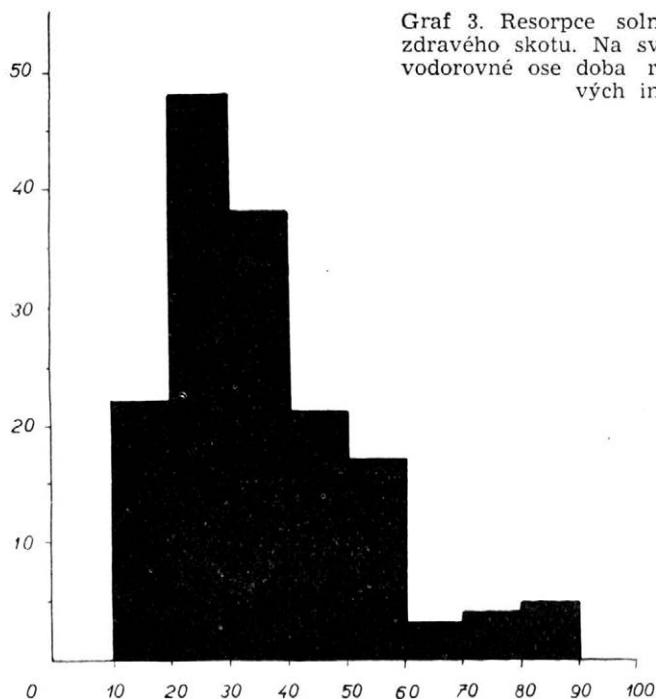
2. Největší rozptyl hodnot a také nejvyšší průměrná hodnota rezorpce je u koní ve věku od 1 do 2 let – 51 min., (m. o. +31, –35). S věkem jak rozptyl tak i průměrná hodnota rezorpce klesá. U koní od 2 do 3 let je průměrná doba rezorpce 42 min. (m. o. +28, –24), od 3 do 4 let – 37 min. (+24, –20), u koní šestiletých a starších – 35 min. (m. o. +25, –19).

3. Průměr hodnot rezorpce u hříbat do jednoho roku je zhruba na úrovni koní ve věku od 2 do 3 let – rozdíl činí pouze 1 min. Je však třeba mít na paměti, že se jedná o hříbata vesměs chladnokrevná o průměrném věku 5 měsíců, zatím co ostatní hodnoty byly získány u teplekrevníků.

Statisticky významné jsou rozdíly v rezorpci solného pupene mezi hříbaty do 1 roku stáří a koňmi ve věku od 1 do 2 let ($t > p 0,05$), mezi koňmi ve věku od 2



Graf 2. Rozptyl a průměrná doba resorpce solného pupene u věkových skupin koní. Na svislé ose čas resorpce v minutách, na vodorovné ose věk koní. Kroužky = koně normálně živení. Křížky = hřebci po jednodenní hladovce. Přerušovaná čára = průměrná doba resorpce u normálně živených koní. Tečkovaná čára = průměrná doba resorpce ve skupině hřebců po jednodenní hladovce



Graf 4. Rozptyl a průměrná doba resorpce solného pupene u věkových skupin skotu. Na svislé ose čas resorpce v minutách, na vodorovné ose věk zvířat. Přerušovaná čára = průměrná doba resorpce ve skupině.

do 3 let a koňmi ve věku od 1 do 2 let ($t > p 0,02$). Rozdíl mezi skupinou ve věku od 2 do 3 let a skupinou starou 3–4 roky není již významný ($t < p 0,2$), rovněž tak mezi dvěma nejstaršími skupinami ($t < p 0,5$).

U dvou koní bez klinického nálezu jsme zjistili během 16 dnů tyto doby rezorpce solného pupene:

Kůň č. 1 (9 let)	Kůň č. 2 (5 let)
60 min.	33 min.
56 min.	28 min.
50 min.	34 min.
—	30 min.
52 min.	30 min.
58 min.	42 min.
45 min.	30 min.
55 min.	33 min.
53 min.	33 min.
53 min.	35 min.
54 min.	38 min.
47 min.	38 min.
Průměr 53 min.	Průměr 33,6 min.
Max. odch. +7, -6	Max. odch. +8,4, -5,6

Analýzou rozptylu byla zjištěna veličina F testu = 101,089 při tabelované F 0,05 = 4,32 a tabelované F 0,01 = 8,02.

Vliv individuální odchylnosti rezorpce solného pupene je tedy statisticky prokázán. Vliv metody na výsledky je podružného významu.

Kolísání hodnot rezorpce solného pupene se projevilo o téhož individua v různých dnech a téže denní hodině jako značně malé.

Abychom zjistili, není-li rozptyl hodnot v určité věkové skupině způsoben rozdílností v rezorpci solného pupene u pohlaví samčího a samičího, otestovali jsme rozdíly v rezorpci u obou pohlaví téže věkové skupiny t — testem. Zjistili jsme, že rozdíly jak u hříbat do jednoho roku, tak i u koní dvouletých nejsou statisticky významné. U hříbat do 1 roku bylo $t < p 0,1$, u dvouletých koní bylo $t < p 0,2$.

Orientačně jsme vyšetřili 3 koně postižené podle klinického nálezu hepatitidou.

1. Klisna 9 roků se sekundární hepatitidou a ikterem po alimentární intoxikaci. Doba rezorpce při prvním vyšetření 20 min. (t. j. 5 min. nad spodní hranicí variační šířky, zjištěné u zdravých koní), při druhém vyšetření za 25 dní — 15 min. (t. j. 1 min. pod spodní hranicí variační šířky zdravých koní).

2. Klisna, 12 roků, s gastroenteritidou a sekundární hepatitidou s ikterem. Doba rezorpce solného pupene 97 min. (t. j. 27 min. nad horní hranicí u koní zdravých).

3. Klisna, 4½ roku, s hepatitidou a ikterem, vyvolanými experimentálně intramuskulární injekcí 15 ml 10% phenylhydrazinu. Rezorpce solného pupene (5. den procesu) za 22 min. (t. j. cca 5 min. nad spodní hranicí rozptylu u koní zdravých).

Skot

Z grafu 3 vyplývá, že u převážné většiny zvířat dochází k rezorpci solného pupene v rozmezí od 10 do 60 minut, přičemž maximum případů je v rozmezí od 20 do 30 minut.

Věkové rozdíly u skotu (viz graf 4) jeví tyto znaky:

1. U telat do 3 měsíců stáří je rozptyl hodnot velmi malý a průměrná doba rezorpcce krátká — 22 min. (m. o. +15, — 6). U jednoletých a starších kusů je rozptyl značný a průměrná doba rezorpcce podstatně vyšší, s věkem se však většinou snižuje podobně jako u koní. U skotu starého 1 rok — 45 min. (m. o. +38, —22), 2 roky — 39 min. (m. o. +35, —18), 3 roky — 36 min. (m. o. +51, —20), 4 roky — 35 min. (+18, —20), 5 roků — 33 min. (m. o. +26, —18), 6 roků a více — 34 min. (m. o. +33, —19).

Rozdělením telat na skupinu ve věku od 2 do 6 týdnů a skupinu od 6 týdnů do 3 měsíců bylo zjištěno, že u mladší skupiny činí průměrná doba rezorpcce 18 min. (m. o. +2, —2), u starší skupiny pak již 27 min. (m. o. +10, —10).

U skotu staršího 9 let činí průměrná doba rezorpcce pouze 29 min. (m. o. +12, —12).

Statisticky významné rozdíly byly zjištěny mezi oběma skupinami telat, t. j. do 6 týdnů a od 6 týdnů do 3 měsíců stáří ($t > p 0,01$), mezi telaty a skupinou ve věku do 1 roku ($t > p 0,01$). Mezi ostatními nejbližšími ročníky nebyly zjištěny signifikantní rozdíly. (Jednoleté kusy — dvouleté kusy = $t < p 0,2$; dvouleté kusy — tříleté kusy = $t < p 0,2$; tříleté kusy — čtyřleté kusy = $t < p 0,5$; čtyřleté kusy — pětileté kusy = $t < p 0,5$; pětileté kusy — šestileté a starší kusy = $t < p 0,5$).

Věkové rozdíly se stávají významnými až v rozmezí 2 nebo i více let. Např. u skotu jednoletého a dvouletého je $t > p 0,1$ a $< p 0,05$, u skotu dvouletého a pětiletého je $t > p 0,01$.

Mezi oběma pohlavími ve věku 1 roku nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl ($t < p 0,5$).

Diskuse

Průběh rezorpcce solného pupence u klinicky zdravých koní a u klinicky zdravého skotu vykazuje některé charakteristiky shodné s výsledky získanými u laboratorních zvířat. Především je třeba upozornit na rychlejší rezorpci solného pupene a menší variabilitu hodnot u mladých zvířat, která se naprosto výrazně projevila u 3 ze 4 dosud zkoumaných druhů zvířat a to u králíků, psů a skotu. Relativně větší variabilitu rezorpcce solného pupene u hříbat než u ostatních mláďat si vysvětlujeme jednak tím, že test jsme museli zkoušet na poněkud starších mláďatech než u ostatních druhů zvířat, a dále tou okolností, že šlo o hříbata chladnokrevná, zatím co hodnoty starších koní pocházejí od teplekrevníků. K tomuto způsobu řešení jsme byli donuceni vypuknutím bronchitidy v chovu teplekrevných hříbat, které znemožnilo provedení testu. Z důvodů ekonomických jsme pak museli tyto údaje získat na hříbatech chladnokrevných.

Vcelku je možno konstatovat, že test podle Mc Clure a Aldricha jeví u mláďat znaky příznivé pro jeho využití k diagnostice poruch výměny vody a minerálů. Je zde tedy shoda s poznatky humánní medicíny, která s úspěchem používala tento test právě u dětí (Mc Clure a Aldrich Olmsted). Na druhé straně je však třeba poznamenat, že u mláďat je výskyt hepatitid méně častý,

takže je zde méně příležitosti k použití testu v tomto směru. Spíš lze očekávat jeho využití obecně při poruchách výměny látkové, které nejsou u mláďat vzácností. Vycházíme zde i ze sdělení Prusíka a Herlese, kteří zjistili zkrácenou dobu rezorpce pupene ve všech případech, kdy došlo k těžkým poruchám přeměny látek. Kromě toho se poruchy v příjmu vody nebo ve výměně vody projeví u mladého organismu dříve než u dospělého porušením rovnováhy tělesných tekutin (G a m b e).

Hodnocení výsledků u dospívajících a dospělých koní a skotu je obtížnější. Jsou zde totiž, zvláště pak u koní, statisticky významné rozdíly v době rezorpce solného pupene u jednotlivých věkových skupin, současně však je zde i značný rozptyl hodnot, který bude pravděpodobně v řadě případů značnou překážkou pro široké použití testu v diagnostice. Tato okolnost a dále též velké potíže v získávání koordinované spolupráce několika veterinárních nemocnic, která je nutná k získání bohatého klinického materiálu v současné době, kdy došlo k velkému ústupu hepatitid tak hojných ještě před 2 lety, nás přiměly po dohodě s kliniky, ponechat prověření testu na klinickém materiálu klinikům. Modelové pokusy na hříbátech a telatech by sice též mohly přispět k dalšímu upřesnění poznatku o tomto testu, jsou však pro ústav finančně nedostupné.

Statisticky významné rozdíly, zjištěné u věkových skupin, mohou mít v každém případě význam teoretický, zejména pak pro výzkum hydrofilie tkání, výměny vody a minerálií aj. problémy související s věkovými zvláštnostmi. Z tohoto hlediska se jeví pozoruhodnou i skutečnost, že u hřebců po jednodenní hladovce dochází k značnému zkrácení doby rezorpce, k zmenšení rozptylu hodnot a snížení věkových diferencí pod hranici významnosti. Máme zato, že tento zjev je jedním z projevů funkce organismu udržovat objem extracelulární tekutiny na stále úrovni. Je známo, že tato stálost objemu extracelulární tekutiny (činicí u zdravého dospělého zvířete přibližně 25 % tělesné váhy) je u zdravého zvířete udržována bez ohledu na výkyvy v přívodu vody, ztráty vodní páry a vylučování vody a solí ledvinami (C o r t 1955). Při hladovění pak ztrácí organismus nejdříve značné množství vody, takže lze očekávat zvýšenou aviditu kůže k fyziologickému roztoku.

Vzhledem k tomu, že k problému variability rezorpce solného pupene jsme učinili poznámky již v první části publikace, omezíme se zde jen na některé doplňky. Systém hyaluronát — hyaluronidáza ovlivňovaný zejména žlázami se zvlášť úzkým vztahem k výměně vody (hypofyzou a nadledvinkami) má jistě určitý vliv na rozptyl hodnot rezorpce solného pupene. Tyto vlivy se však neodvažujeme považovat u testu podle M c C l u r e a A l d r i c h a za zásadní, neboť většina metod, zkoumajících aktivitu hyaluronidázy respektive množství kyseliny hyaluronové ve tkáni, používá jako kontroly právě injekce fyziologického roztoku (Š m a h e l, G a i s f o r d a E v a n s 1949, S c h u m a n a F i n e s t o n e 1950). Otázku prudkého prodloužení doby rezorpce solného pupene u koní a skotu na přelomu prvního roku života je obtížné vysvětlit bez dalšího hlubšího teoretického výzkumu. Vysvětlení otázky, je velmi komplikováno spleťtými vztahy různých systémů v regulaci výměny vody a hydrofilie tkání. Není zde možno vyloučit např. ani vliv thymu a jeho fyziologickou regresi. Thymus působí totiž hormonálně podobně jako insulin zvýšením bobtnavosti koloidů a zvyšuje schopnost buněk k retenci vody (S e c k e l 1927). Zvláštnosti rezorpce solného pupene u mláďat lze sotva považovat za projev samoočelné regulace objemu extracelulární tekutiny, ale spíše za projev funkce mechanismů řídících intracelulární metabolismus. Není vyloučeno, že jistý vliv zde má — a to především u skotu — i struktura kůže. Pozorovali jsme totiž u zvířat ve věku jednoho roku jak při testování, tak i při tuberkulinaci nápadnou tuhost kůže, spojenou s velkým odporem při vstřikování tekutiny.

I u velkých hospodářských zvířat považujeme injekci 0,2 ml fyziologického roztoku za výhodnější než dávku 0,5 ml, a to proto, že je zde menší nebezpečí úniku tekutiny do podkoží při stejné době rezorpce jako u větších dávek. V tomto směru souhlasí naše poznatky plně s údaji Prusíka a Herlese (1927).

Traumatickou reakci na injekci fyziologického roztoku jsme pozorovali jen u dospívajících a dospělých zvířat, nikoli u mláďat. Při té příležitosti chceme upozornit i na eventuální možnost snížení tkáňové reakce nahrazením fyziologického roztoku NaCl např. roztokem Ringerovým, Lockeovým nebo Tyrodovým, u nichž lze podle Postřáneckého (1949) předpokládat menší poškození buněk.

Na podkladě získaných výsledků a konzultací s kliniky máme zato, že test bude možno při jeho jednoduchosti výhodně používat u mláďat hospodářských zvířat. U dospívajících a dospělých zvířat budou sice podmínky pro praktické využití testu komplikovány různými jeho hodnotami v jednotlivých věkových a případně i plemenných skupinách, budou-li však tyto zvláštnosti brány v úvahu, pak bude možno hodnoty, přesahující rozptyl u zdravých zvířat, využít k diagnostice.

Souhrn

U 186 klinicky zdravých koní a 158 klinicky zdravých kusů skotu byla zjišťována doba rezorpce solného pupene a stanoveny její průměrné hodnoty a rozptyl u jednotlivých věkových skupin.

Stejně jako u králíků a psů, byla i u koní a skotu zjištěna signifikantně kratší doba rezorpce a s výjimkou hřibat i podstatně menší rozptyl hodnot u mláďat než u zvířat starších.

U koní byly zjištěny signifikantní rozdíly v době rezorpce solného pupene již v rozpětí 1 roku života až do věku 3 let, u skotu s výjimkou telat až v rozpětí 2 nebo i více let.

U hřebců došlo po jednodenní hladovce k význačnému zkrácení doby rezorpce solného pupene a snížení věkových rozdílů pod hranici signifikance.

Test vykazuje u mláďat velmi příznivé znaky pro využití v diagnostice poruch výměny vody a minerálií. U dospělých zvířat i mláďat je diagnostické využití testu možné jen za předpokladu, že bude brán zřetel na věkové a případně i plemenné zvláštnosti.

V souhlase s názorem kliniků máme za to, že dalšího prověřování testu se musí ujmout převážně klinické sami a to jak z důvodů ekonomických, tak i pro podchycení příslušných nosologických jednotek.

(Naše díky za umožnění této práce patří ředitelství a zaměstnancům ČSSS Xaverov, ředitelství, zaměstnancům a především statkovému veterináři Výzkumného ústavu pro chov skotu v Rapotíně — dr. St. Haltmarovi, ředitelství a zaměstnancům Státního hřebčince v Tlumačově a též Interní klinice veterinární fakulty v Brně.)

Literatura

1. Antal J., Brod J. a spol.: Učebnice fyziologie pro studující lékařství. SZN, Praha 1956, str. 437. — 2. Cort J. H.: Úloha centrální nervové soustavy při řízení objemu extracelulární tekutiny. Čsl. fyziologie IV, 2, 127-142, 1955. — 3. Málek P., Trávníček R.: Nová modifikace biologického testu průkazu hyaluronidázy. Čsl. fyziologie, IV, 2, 216-223, 1955. — 4. McClure W. B., Aldrich C. A.: Die intradermale Salzlösungsprobe. Klinische Wochenschr. 6, 25, 1198-1201, 1927.

— 5. Lebeda M., Zendulka M.: K možnosti využití resorpce solného pupene (testu podle McClure a Aldricha) k diagnostice hepatitid ve veterinární medicíně. I. Veterinární medicína, č. 1, 53-76, 1958. — 6. Postránecký O.: Fysiologie a pathologie přeměny látek. Nakl. Svoboda, Praha 1949. — 7. Prusík B., Herles F.: Umělý pupen solný a pituitrinový. I, II. ČLČ, 25, 1051-1054; 26, 1092-1095, 1927. Citace: Gamble podle 1, Olmsted podle 4, Seckel podle 6, Šmahel, Gaisford a Evans, Schuman a Finestone podle 3.

О возможности использования резорбции бугорка, вызванного физиологическим раствором (проба по К्लюре и Альдриху), для диагностики гепатитов в ветеринарии (II часть)

У 186 клинически здоровых лошадей и у 158 клинически здоровых голов крупного рогатого скота исследовалось время резорбции бугорка, вызванного физиологическим раствором и была установлена средняя продолжительность времени, а также отклонения у отдельных возрастных групп.

Так же как у кроликов и собак, так и у лошадей и крупного рогатого скота была установлена явно более короткая продолжительность резорбции и, за исключением жеребят, существенно меньшие отклонения у молодняка, чем у старших животных.

У лошадей были установлены выразительные различия в продолжительности резорбции физиологического бугорка уже в пределах 1 года даже до трёхлетнего возраста; у крупного рогатого скота, за исключением телят, в пределах 2 и более лет жизни.

У жеребцов после однодневной голодовки выразительно сократилась продолжительность резорбции физиологического бугорка и понизилась возрастная разница ниже предела выразительности.

Тест выявляет у молодняка очень благоприятные признаки для использования в диагностике нарушения обмена воды и минеральных веществ. У взрослых животных и у молодняка диагностическое использование теста возможно только при условии, когда будут учитываться возрастные, а также и племенные особенности.

В согласии со взглядами клинических работников авторы считают, что дальнейшую проверку тестов должны преимущественно проводить сами клинические работники как по экономическим соображениям, так и по установлению соответствующих нозологических единиц.

Zur Möglichkeit der Ausnützung von Quaddelresorption (der Test nach McClure und Aldrich) für Hepatitidendiagnostik in der Veterinärmedizin. II. Mitt.-Beendigung

Bei 186 klinisch gesunden Pferden und bei 158 klinisch gesunden Rindern wurde die Zeit der Quaddelresorption ermittelt und ihre Durchschnittswerte und Frequenzstreuung (Häufigkeiten) bei einzelnen Altersgruppen festgestellt.

Ebenso wie bei Kaninchen und Hunden wurde auch bei Pferden und Rindern eine signifikant kürzere Resorptionszeit und — mit Ausnahme von Fohlen — auch eine wesentlich kleinere Wertestreuung bei Jungtieren als bei älteren Tieren ermittelt.

Bei Pferden wurden signifikante Unterschiede in der Zeit der Quaddelresorption schon im Zeitraum des ersten Lebensjahres bis zum Alter von 3 Jahren festgestellt, beim Rind mit Ausnahme von Kälbern erst im Zeitraume von 2 oder auch mehreren Jahren.

Bei Hengsten kam es nach dem eintägigen Fasten zur bemerkenswerten Verkürzung in der Zeit der Quaddelresorption und zur Herabsetzung der Altersunterschiede unter die Grenze der Signifikanz.

Der Test erweist bei Jungtieren sehr günstige Zeichen für Ausnützung in der Diagnostik der Metabolismusstörungen betreffs Wasser und Mineralstoffe. Sowohl bei erwachsenen Tieren als auch bei Jungtieren ist die Ausnützung dieses Testes

nur unter der Voraussetzung möglich, daß die Alters-, bzw. auch Zuchtseigentümlichkeiten in Betracht genommen werden.

Übereinstimmend mit der Ansicht der Kliniker denken wir, daß weiteres Nachweisen des Testes überwiegend von den Klinikern selbst durchgeführt werden muß und zwar sowohl aus wirtschaftlichen Gründen, als auch zwecks Erfassens der betreffenden nosologischen Einheiten.

On Possible Utilization of Salt Blister Resorption (McClury - Aldrich's Test) for Diagnostics of Hepatitis in Veterinary Medicine. Part II.

In 186 horses and 158 head of cattle, both clinically healthy, the time of salt blister resorption was ascertained and its average values and frequency distribution in individual age groups were determined.

Similarly as in rabbits and dogs, in horses and cattle, too, a significantly shorter time of resorption was found out and — with exception of foals — also the frequency distribution of values in young animals was essentially smaller than in older ones.

Significant differences in resorption time were found in horses as early as the time span of the first year of life up to the age of 3 years.

In stallions after one day's fasting a marked shortening of resorption time of the blister and the decrease in age differences below the significance level took place.

In young animals the test shows signs very suitable for utilization in diagnostics of metabolic disorders with respect to water and minerals. In both adult and young animals utilizing the test for diagnostical purposes is possible only if peculiarities concerning age, eventually breeding, too, are taken into account.

In accordance with clinicians' view we are of the opinion that it is predominantly the task of clinicians to carry out further trials of the test, partly for economic reasons, partly to intercept respective nosologic entities.

Chlorpromazin a změny krevního obrazu

I. sdělení — periferijní krevní obraz

Хлорпромазин и изменения кровяной картины

Chlorpromazin und Blutbildveränderungen

Chlorpromazine and Blood-Picture-Changes

J. KOMÁREK, J. POSPÍŠIL, J. JANEČEK

Technická spolupráce Zdena Chaloupková

Veterinární výzkumné středisko, Praha

Došlo dne 4. V. 1958

Úvod

Chlorpromazin je N-(3-Dimethylaminopropyl-3-chlorphenothiazinum hydrochloricum) (1). V zahraničí je znám pod několika jmény jako Largactil, Hibernal, Megaphen, Amplictil, Ampliactil, Thorazin, Amiazin, Propaphenin apod. Je indikován k potencování anestézie, k řízené hypotermii, v psychiatrii při neklidech a vzrušenosti. Je kotraindikován při otravách barbituráty a alkoholem, při chorobách jater a ledvin a chorobách srdce, hlavně věnčitých cév.

Podle dosavadních výsledků léčby chlorpromazinem je doporučováno sledovat krevní obraz a proto jsme se rozhodli přezkoušet vliv jednorázové aplikace chlorpromazinu na krevní obraz psa. K jednorázové aplikaci chlorpromazinu jsme se rozhodli proto, poněvadž dosavadní výsledky dokazují, že se chlorpromazinu u psů používá vesměs v jednorázové dávce, zejména při potenciaci narkózy v chirurgické praxi.

Světová literatura uvádí několik úspěšných případů použití chlorpromazinu ve veterinární medicíně. S h a m b a u g h (2) použil chlorpromazinu s úspěchem při léčbě tetanu u klisny v jednorázové aplikaci v dávce 50 mg intramuskulárně, léčení skončilo úspěšně. Ve stejném případě použili chlorpromazinu T a b s t a R y a n (3) v dávce 500 až 700 mg denně po tři dny, taktéž s úspěšným vyléčením. Jako uklidňujícího prostředku použil chlorpromazinu R i t c h i e (4) u prasat. E s t r a d a (5) použil chlorpromazinu jako premedikace při pentobarbiturátové narkóze u psů. Chlorpromazin potlačil nepříjemnou pre- a postnarkotickou excitaci. Kromě toho použil Estrada chlorpromazinu jako utišujícího prostředku u neklidných psů. A s úspěchem jím potlačoval zvracení při odčervování psů. M a r t i n, S i m p s o n a R e i d (6) použili chlorpromazinu s úspěchem při léčbě dislokace ramenního kloubu u skotu a při léčbě dušení skotu po cizím tělese v jícnu. Konečně s ním měli úspěch při provádění císařských řezů u ovcí v dávce

250 mg intramuskulárně před zákrokem tak, že operace mohla být provedena jen v místním znecitlivění. Hoerlein a Marsh (7) použili chlorpromazinu při odstavu telat a zdůrazňují, že telata po aplikaci chlorpromazinu lépe snášela odstav a lépe přibývala na váze. Stejně jako Estrada použili Brodey a Thor-dal-Christensen (8) při potencování narkózy u psů chlorpromazinu v dávce 20 mg na 1 kg ž. v. *per os* s velmi dobrým výsledkem. Při podání chlorpromazinu *per os* v menší dávce nebylo však zaznamenáno zlepšení narkózy.

Literární údaje o vlivu chlorpromazinu na periferní krevní obraz

Většina změn v periferním krevním obraze po aplikaci chlorpromazinu byla sledována v humánní medicíně, kde použití chlorpromazinu nabylo velkého rozsahu. Avšak i v humánní medicíně použilo mnoho autorů jako pokusných zvířat ve svých sledováních psů.

Změnami počtu červených krvinek se zabýval po aplikaci chlorpromazinu Kuttner (9), který zjistil, že u psa dochází k přechodnému snížení počtu červených krvinek, někdy však může podle něho dojít k silnému snížení počtu erytrocytů. To vše záleží podle něho na individuální vnímavosti organismu. Množství krevního barviva po aplikaci chlorpromazinu u psů zjišťovali Hoe a Wilkin-son (10), kteří našli pokles množství krevního barviva, ale zdůrazňují, že to nebyl pokles statisticky významný. Stejní autoři zjistili i pokles hodnoty hematokritu. Nepoměrně větší množství autorů se zabývalo změnami v bílém krevním obraze po aplikaci chlorpromazinu. Byly zjišťovány odchylky na obě strany, jak zvýšení tak i snížení počtu leukocytů. Kuchler a Koch (11) našli pokles celkového počtu leukocytů a lymfocytů. Autoři tvrdí, že regulace krevního obrazu po aplikaci chlorpromazinu nastává cestou autonomního nervového systému a upozorňují, že by se chlorpromazinu nemělo používat u pacientů s adrenální insuficiencí. Stejně tak Kopf (12) zjistil po aplikaci chlorpromazinu leukopenii, která v jeho případě přetrvávala tři dny. Kuchler a Koch (13) pozorovali ve své další práci po subkutánní aplikaci chlorpromazinu opět pokles leukocytů (významnost — leukocyty 0,01., lymfocyty 0,01.). Po 24 hodinách došlo v jejich případě k postupnému vzestupu obou druhů krvinek. Hoe a Wilkinson (10) nepozorovali u psů s chlorpromazinem změny v celkovém počtu leukocytů proti psům kontrolním. Šrámek (14) naproti tomu ve své souhrnné práci upozorňuje na leukocytózu (až 20.000 v *ccm*). Stejný výsledek našel i Sakai (15), který po přechodné leukopenii pozoroval leukocytózu. Tasker (16) naproti tomu zaznamenal pokles celkového počtu leukocytů po 14denní léčbě chlorpromazinem v denní dávce 150 mg. Stejný výsledek zjišťovali Giacobini a Lassenius (17), stejně i Andersen (18). Owen (19) naproti tomu popisuje kolísání počtů leukocytů, nepozoroval však nějakou depresi leukopoesy. Hartnett (20) zjišťoval mírnou leukocytózu se silnou eosinofilií, která dosahovala až 58 %. Eosinofilii po podání chlorpromazinu zjišťovali taktéž Lemire a Mitchell (21). Dubanský a Doubrava (22) popisují v souhrnném referátě o aplikaci chlorpromazinu přechodné snížení počtu leukocytů, které je později vystřídáno leukocytózou. Současně upozorňují na lymfopenii a eosinopenii, a proto doporučují při léčbě chlorpromazinem kontrolovat krevní obraz. Několik autorů, jako Goldmann (23), Rotstein a spol. (24),

Tasker (16), Lamas (25), Munch a Petersen (26), popisují po aplikaci chlorpromazinu dokonce agranulocytózu, která se ve většině případů po aplikaci penicilinu a krevních transfuzích upravila. Sosa spol. (27) sledovali účinek chlorpromazinu na fagocytózu leukocytů a zjistili inhibiční vliv na bakteriální fagocytózu kolujících leukocytů. Stejný výsledek našli i Ludányi a spol. (28), fagocytóza v jejich případě poklesla o 19 až 31 %. Změny v sedlivosti erytrocytů pozoroval po aplikaci chlorpromazinu Brusha (29), který zjistil urychlení sedlivosti v prvním dnu, ale pak došlo opět k poklesu sedimentace erytrocytů na obvyklou hranici.

Shrnutí literárních údajů o změnách periferního krevního obrazu po aplikaci chlorpromazinu: V počtu červených krvinek, množství krevního barviva i hodnotě hematokritu byl pozorován mírný pokles (Kuttner, Hoe a Wilkinson). Údaje o vlivu chlorpromazinu na bílý krevní obraz jsou značně rozdílné, někteří autoři uvádějí leukopenii (Küchler a Koch, Kopf, Tasker), někteří dokonce agranulocytózu (Tasker, Goldmann, Rotstein a spol., Lamas, Munch a Petersen), zatím co jiní popisují leukocytózu (Šrámek, Sakai, Dubanský a Doubrava). Sosa spol. a Ludányi a spol. popisují nápadný pokles fagocytózy leukocytů. Brusha zjistil zrychlení sedlivosti červených krvinek.

Vlastní práce

A. Metodika

K pokusu bylo použito dvanáct větších psů, různých plemen, psů i fen, stáří 1 až 6 let, průměrné váhy kolem 20 kg, dobrého výživného stavu, kteří předtím nebyli zařazeni do žádného pokusu, bez klinických příznaků onemocnění. Psi prošli před pokusem třítýdenní karanténou, ve které byli odčerveni, vyšetřeni na salmonelózu, leptospirózu, toxoplasmózu, psinku a infekční hepatitidu. Do pokusu byli zařazeni jen zcela zdraví psi. Psi byli krmeni běžnou stravou. Šest psů bylo kontrolních a šest psů pokusných. U všech psů byl před pokusem zjištěn normální krevní obraz. Chlorpromazin byl podáván jednorázově intramuskulárně v dávce 3 mg na 1 kg živé váhy. Bylo použito preparátu Largactil, výrobek firmy Specie, Paříž. Krev byla odebírána z hrudní končetiny z *vena cephalica antebrachii* nebo ze zadní končetiny z *vena saphena*. Krevní obraz byl sledován před podáním chlorpromazinu, 45 minut po aplikaci chlorpromazinu, tři hodiny po aplikaci a 24 hodiny po aplikaci chlorpromazinu. Tuto dobu odběrů jsme si stanovili na základě práce Hoe a Wilkinsona a podle našich zkušeností s potencováním pentothalové narkózy chlorpromazinem. Krev byla odebírána na lačno v denní době mezi 8 až 14 hodinou, při pokojové teplotě 18 až 22° C. Byl zjišťován počet červených krvinek, množství krevního barviva, hodnota hematokritu, sedlivost červených krvinek, celkový počet bílých krvinek a diferenciální rozpočet bílých krvinek.

Počet červených krvinek a množství krevního barviva bylo zjišťováno na elektrickém počítací čs. výroby. Hodnota hematokritu byla měřena ve Wintrobových hematokritových rourkách. Celkový počet bílých krvinek byl počítán baničkovou metodou v Bürkerově komůrce. Krevní nátěry z čerstvé krve byly barveny panopticky podle May-Grünwald-Giemsa. Diferenciální rozpočet bílých krvinek byl počínán z 200 buněk. Sedlivost červených krvinek byla zjišťována ve Westergrenových sedimentačních rourkách. Sedlivost červených krvinek byla zjišťována jednak

v rourkách kolmě postavených, jednak v rourkách skloněných pod úhlem 60° . Hodnoty sedlivosti červených krvinek byly odečítány v kolmě postavených rourkách po 30, 60 a 120 minutách a po 24 hodinách a ve skloněných rourkách po 7, 10 a 20 minutách a po 24 hodinách. Statistické hodnocení bylo prováděno pořadovým V testem, jak je uvedeno v práci Malého (30).

Na závěr metodické části uvedeme přehled normálních krevních hodnot psa, jak jsme dříve stanovili, u sedlivosti červených krvinek pod úhlem 60° , pak údaje Christophovy (31).

Počet červených krvinek v <i>cmm</i>	6,900.000
Množství krevního barviva	18,72g%
Hematokrit	55
Celkový počet bílých krvinek v <i>cmm</i>	11.500
Neutrofilní segmenty	57,76%
Neutrofilní tyče	3,5 %
Eosinofilní granulocyty	7,9 %
Basofilní granulocyty	0,23%
Lymfocyty	23,72%
Monocyty	4,53%

Sedlivost červených krvinek

kolmá	30 min.	60 min.	120 min.	24 hod.
	0,39 mm	1,23 mm	2,82 mm	11,4 mm

skloněná pod úhlem 60° (podle Christophy a podle našich výsledků

7 min.	10 min.	20 min.
0	0	1-2 mm

B. Dosažené výsledky

Počet červených krvinek

Množství červených krvinek bylo u všech psů před pokusem v mezích normálu. Po aplikaci chlorpromazinu došlo za 45 minut k průměrnému poklesu počtu červených krvinek na 86 % z výchozí stoprocentní hranice a tento pokles je statisticky významný na pětiprocentní hranici významnosti. Počet červených krvinek u kontrolních psů byl v průměru snížen o 4 % proti výchozí hodnotě. Sledování počtu červených krvinek na tři hodiny po aplikaci chlorpromazinu ukázalo další snížení, které bylo 84 % a tato hodnota je vysoce statisticky významná na jedno procentní hranici. Počet červených krvinek kontrolních psů se pohyboval těsně pod výchozí hranici a dosáhl 97 %. Za 24 hodin se počet červených krvinek pokusné skupiny přiblížil na 7 % výchozí hodnotě a tento pokles není statisticky

významný. Červené krvinky kontrolních psů se udržovaly těsně pod stoprocentní hranicí a dosáhly 96 %.

Výsledek je znázorněn na grafu 1, kde na ose x je čas v minutách a hodinách a na ose y jsou procenta množství elementů.

Množství krevního barviva

Bylo určováno v g % na elektrickém počítací. Před aplikací chlorpromazinu bylo množství krevního barviva u obou skupin v normálních mezích. Za 45 minut po aplikaci došlo k snížení množství krevního barviva na 91 % z výchozí stoprocentní hodnoty, ale tento pokles nebyl statisticky významný. Množství krevního barviva u pokusných-kontrolních psů se snížilo o 2 % z výchozí hodnoty. Tři hodiny po aplikaci chlorpromazinu došlo k statisticky vysoce významnému poklesu množství krevního barviva na 77 % z výchozí stoprocentní hodnoty, statistická významnost 1 %. U skupiny kontrolních psů množství krevního barviva opět mírně kleslo a dosáhlo 94 %. Po 24 hodinách dochází k pozvolnému vzestupu množství krevního barviva a dosahuje u pokusných psů 92 % a u kontrolní skupiny 96 % z výchozí stoprocentní hodnoty. Pokles zaznamenaný po 24 hodinách u pokusných psů není statisticky významný.

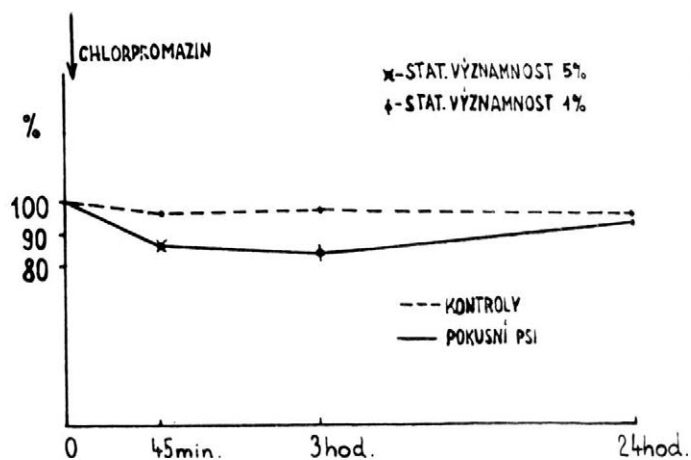
Stejně jako u počtu červených krvinek dochází i v množství krevního barviva k poklesu jeho hodnoty, zejména za tři hodiny po aplikaci chlorpromazinu, kdy pokles je statisticky vysoce významný a představuje 77 % z výchozí stoprocentní hodnoty.

Hematokrit

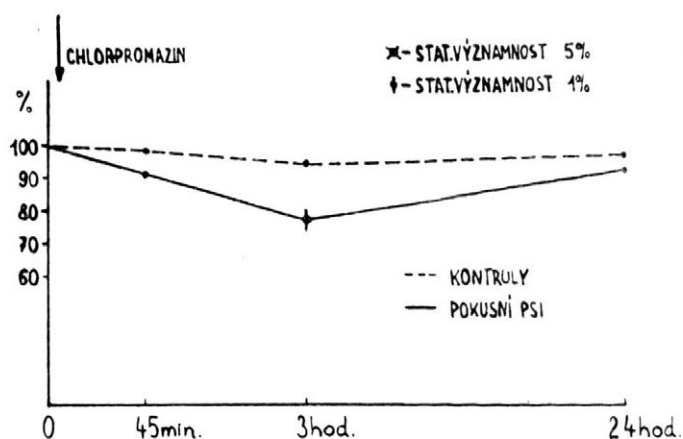
Hematokrit byl zjišťován Wirobovými hematokritovými rourkami. Již 45 minut po aplikaci chlorpromazinu dochází k vysoce významnému poklesu hodnoty hematokritu na 82 %, zatímco u kontrolní skupiny klesl hematokrit jen o 3 % z výchozí hodnoty. I když za tři hodiny po aplikaci došlo k poklesu hematokritu až na 79 %, přece je pokles významný jen na 5 % hranice významnosti. Hodnota hematokritu klesla v té době u kontrolní skupiny na 96 %. I když za 24 hodin po aplikaci chlorpromazinu dochází k mírnému vzestupu, přece jen zůstává na nízké hranici 87 % a tento pokles je stále statisticky významný na 5 % hranici. U kontrolní skupiny dosáhla hodnota hematokritu 95 % z výchozí stoprocentní hodnoty.

Celkový počet bílých krvinek

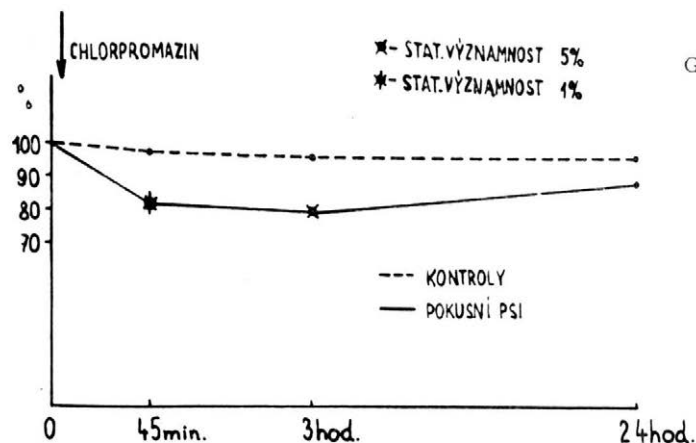
Počet bílých krvinek byl zjišťován baničkovou metodou v Bürkerově komůrce. Bílé krvinky jsou krevními elementy značně kolísavými, které se dovedou rychle početně měnit po rozličných vlivech, ať je to denní doba, krmení, roční období, poloha těla apod. V našem pokuse jsme nenašli typické změny bílých krvinek na aplikaci chlorpromazinu, neboť současně se změnami u pokusné skupiny se měnily počty bílých krvinek i skupiny kontrolní. Z toho důvodu také jsme nikdy nezaznamenali statistickou významnost změn celkového počtu bílých krvinek. Za 45 minut po aplikaci chlorpromazinu došlo k poklesu obou skupin, v pokusné skupině na 78 % a u kontrolní skupiny dokonce na 73 % z výchozí stoprocentní hodnoty. Po třech hodinách obě hodnoty mírně stouply a dosáhly u kontrolní skupiny 93 % a u pokusné skupiny přestoupily stoprocentní hranici a dosáhly 103 %. Celkový počet bílých krvinek u pokusné skupiny se po 24 hodinách opět zvýšil, a to na 111 %, zatímco u kontrolní skupiny poklesl na 92 %. V žádném případě



Graf 1. Na grafu je znázorněn pokles množství červených krvinek



Graf 2. Pokles množství krevního barviva



Graf 3. Pokles hodnoty hematokritu

poklesu ani vzestupu nebyl zaznamenán statisticky významný odklon od normálních hodnot a současně s poklesem pokusné skupiny pokleslo i množství bílých krvinek skupiny kontrolní.

Diferenciální rozpočet bílých krvinek

Neutrofilní segmenty

Neutrofilní segmenty se chovaly téměř shodně jako celkový počet bílých krvinek a po přechodném poklesu po 45 minutách po aplikaci chlorpromazinu došlo k vzestupu a 24 hodiny po aplikaci dokonce přesáhly stoprocentní hranici. Neutrofilní segmenty kontrolní skupiny se chovaly obdobně jako u celkového počtu bílých krvinek.

Neutrofilní tyče

Také u těchto elementů bílé složky nedošlo k podstatným a statisticky hodnotitelným změnám.

Lymfocyty

Lymfocyty u pokusné skupiny klesly po 45 minutách po aplikaci chlorpromazinu na 88 %, po třech hodinách na 73 % a za 24 hodin vystoupily na 111 %. U kontrolní skupiny klesly po 45 minutách na 69 %, po třech hodinách stouply na 91 % a za 24 hodiny opět mírně klesly na 81 %. Všechny tyto změny však nejsou statisticky významné. Množství lymfocytů, stejně jako i množství ostatních elementů bílé složky bylo hodnoceno v absolutních počtech. Křivka poklesu lymfocytů je znázorněna na grafu 6.

Eosinofilní granulocyty

Po 45 minutách, třech i 24 hodinách došlo k poklesu eosinofilních granulocytů, z nichž zvláště pokles po třech hodinách po aplikaci chlorpromazinu je výsoce statisticky významný na 1 % hranici významnosti.

Monocyty

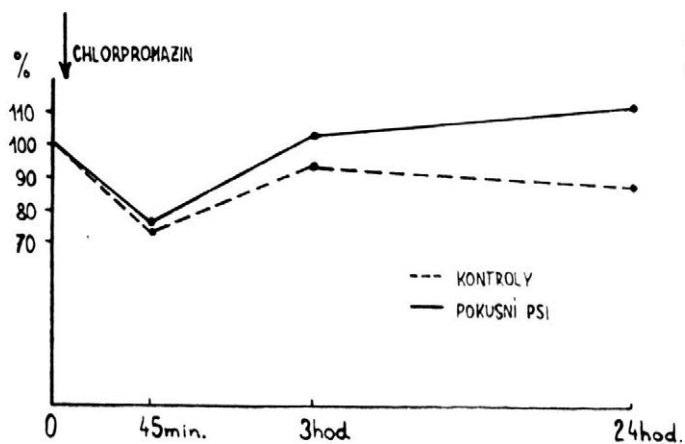
Stejně jako eosinofilní granulocyty klesly po aplikaci chlorpromazinu i monocyty, které po 45 minutách po aplikaci a 24 hodin po aplikaci klesly na 51 % a na 57 % a tyto poklesy jsou významné na 5 % hranici významnosti.

Morfologické změny

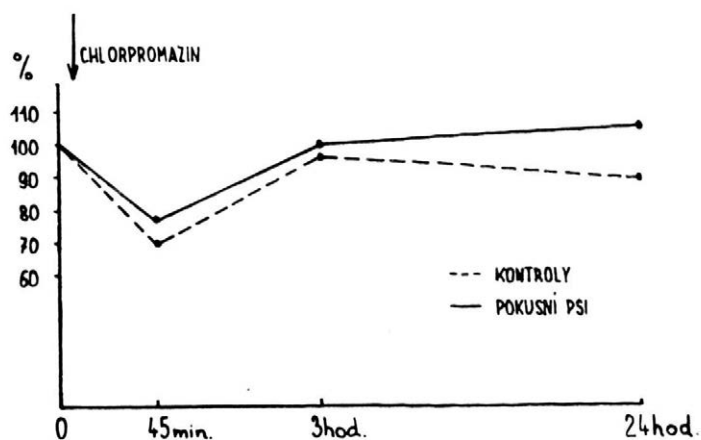
Během pokusu nebyly pozorovány žádné závažné změny v morfologii červené nebo bílé krevní složky. V červeném krevním obraze byla zjišťována anisocytóza, ale ta se téměř pravidelně vyskytuje v krvi zdravých psů. V bílém krevním obraze byla ojediněle zjišťována hypersegmentace jader neutrofilních segmentů.

Sedlivost červených krvinek

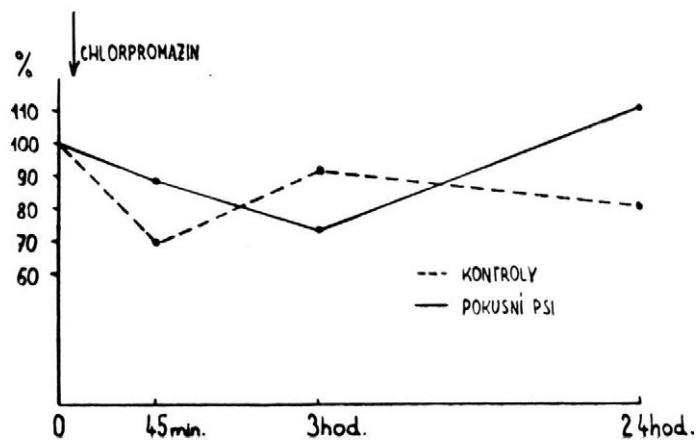
Byla stanovována předem uvedenými metodami. V průběhu aplikace chlorpromazinu došlo k zrychlení sedlivosti červených krvinek jak u kolmé, tak i u šikmé (skloněné pod úhlem 60°) sedlivosti. Zejména za tři hodiny po apli-



Graf 4. Na grafu je znázorněn pohyb množství bílých krvinek



Graf 5. Neutrofilní segmenty



Graf 6. Lymfocyty

kaci chlorpromazinu bylo pozorováno nápadné zrychlení sedlivosti červených krvinek. Po 24 hodinách se rychlost sedlivosti červených krvinek vyrovnala na normální hranici.

Přehled hodnot sedlivosti červených krvinek je znázorněn na tabulce I.

I. Kolmá sedlivost červených krvinek

Doba po aplikaci chlorpromazinu	30 min.		60 min.		120 min.		24 hod.	
	K.	Chl.	K.	Chl.	K.	Chl.	K.	Chl.
Před	0,5	0,5	1	0,68	2,15	1,25	8,3	4,5
45 min.	0,4	0,7	1,25	1,3	2,6	2,4	7,6	7,6
3 hod.	0,25	1	0,75	2,7	1,6	5,4	5,8	13,1
24 hod.	0,3	0,25	1	1,83	2,1	2,3	2,3	7,3

Šikmá sedlivost červených krvinek

Doba po aplikaci chlorpromazinu	7 min.		10 min.		20 min.		24 min.	
	K.	Chl.	K.	Chl.	K.	Chl.	K.	Chl.
Před	0,58	0,5	2,3	2,6	7,6	7,7	71	69
45 min.	1,1	1,5	3,3	5,7	10,5	15,1	81	78
3 hod.	1	1,5	4,3	5,1	10	16	73	88
24 hod.	1	0,5	4,3	1,8	8,5	4,4	75	61

Na tabulce je znázorněn pokles sedlivosti červených krvinek po různé době aplikace chlorpromazinu v milimetrech. K — kontrola, Chl. — psi s chlorpromazinem.

Diskuse

V našem sdělení jsme chtěli ověřit některé literární údaje o vlivu chlorpromazinu na periferní krevní obraz psa. D o u b r a v a a D u b a n s k ý a návod k použití československých léčiv doporučují sledovat krevní obraz po aplikaci chlorpromazinu.

Shodně s K u t t n e r e m jsme sledovali statisticky vysoce významný pokles červených krvinek, který se ale po 24 hodinách téměř vyrovnal. Stejně i v množství krevního barviva a hodnotě hematokritu jsme sledovali statisticky vysoce významný pokles jako Hoe a Wilkinson. Zatím co Hoe a Wilkinson nezjistili statistickou významnost poklesu obou hodnot, pozorovali jsme tento u obou hodnot. Dosažené výsledky červeného krevního obrazu ukazují, že by se nemělo chlorpromazinu používat u zvířat ve vývinu, anemických, špatně krmených a ustájených a u zvířat starých, ne v opakovaných dávkách, aby se předešlo možnosti vzniku anemie.

V našem pokuse se nám nepodařilo potvrdit výsledky různých autorů, pokud se týká bílého krevního obrazu, zejména pokud jde o leukocytózu a leukopenii.

Domníváme se, že šlo většinou o klinické případy, kde nebylo použito srovnání s kontrolními případy, a že se přitom vždy neuvažovalo o značném kolísání počtu bílých krvinek během denní doby. Naše výsledky dosažené v celkovém počtu bílých krvinek se shodují s výsledky Hoe a Wilkinsona, kteří ve svém pokuse použili i kontrolní skupiny a nenalezli mezi oběma skupinami nápadných rozdílů. Zjišťované leukopenie a agranulocytózy byly pravděpodobně způsobeny opakovanými vysokými dávkami chlorpromazinu, byly přechodného rázu, aniž došlo k útlumu leukopoezy, což je zřejmé z úspěšného léčebného zákroku antibiotiky a krevními převody. Proti Küchlerovi a Kochovi a Dubanskému a Doubravovi jsme nepozorovali lymfopenii. Souhlasně s Dubanským a Doubravou jsme však pozorovali za tři hodiny po aplikaci chlorpromazinu eosinopenii. Rozdílného výsledku dosáhl Hartnett, který zjistil eosinofilii, která dosahovala až 58 %. Ačkoli jsme nenašli v dostupné literatuře údaje o změnách počtu monocytů, došlo v našem pokuse k jejich poklesu.

Námi pozorovaný pokles sedlivosti červených krvinek se shoduje s údaji, které zaznamenal Brusha.

Změny v červeném krevním obraze a sedlivosti červených krvinek se shodují s literárními údaji, zatím co změny dosažené v bílém krevním obraze jsou v některých případech shodné a v jiných si odporují.

S o u h r n

Byly sledovány změny periferního krevního obrazu psa po jednorázové intramuskulární aplikaci chlorpromazinu v dávce 3 mg na 1 kg živé váhy. Byly zjištěny statisticky vysoce významné změny v počtu červených krvinek, množství krevního barviva a hodnotě hematokritu, kde došlo k hlubokému poklesu. Sedlivost červených krvinek byla zrychlená. V celkovém počtu bílých krvinek nebylo nalezeno podstatných změn. V diferenciálním krevním obraze byla zjištěna eosinopenie a pokles monocytů. Během pokusu nebyly zjištěny žádné morfologické změny.

Vzhledem ke změnám červeného krevního obrazu doporučujeme kontrolovat během aplikace chlorpromazinu červený krevní obraz a sedlivost červených krvinek.

L i t e r a t u r a

1. Československé farmaceutické přípravky. Odborné informační středisko, 161, 1957. — 2. Shambaugh B.: Veterinary Medicine, 1, 54, 1958. — 3. Tabst A. R., Ryan B. G.: Australian Veterinary Journal, 9, 237, 1957. — 4. Ritchie H. E.: Veterinary Record, 69, 895, 1957. — 5. Estrada E.: Journal of American Veterinary Medical Association, 128, 292, 1956. — 6. Martin T. D., Simpson B., Reid J. H.: Veterinary Record, 1, 16, 1958. — 7. Hoerlein A. B., Marsh C.: Journal of American Veterinary Medical Association, 131, 227, 1957. — 8. Brodey R. S., Thordal-Christensen A.: Journal of American Veterinary Medical Association, 129, 410, 1956. — 9. Kuttner J.: Vet. Diss. München, 1955. — 10. Hoe M., Wilkinson J. S.: Veterinary Record, 31, 734, 1957. — 11. Küchler A., Koch R.: Klinische Wochenschrift, 33, 462, 1955. — 12. Kopf R.: Arzneimittel Forschung, 6/4, 220, 1956. — 13. Küchler A., Koch R.: Klinische

Wochenschrift, 1098, 1954. — 14. Šrámek L.: Vnitřní lékařství, 1, 51, 1957. — 15. Sakai T.: Acta haematologica Japonica, 19/4, 134, 1956. — 16. Tasker J. R.: British Medical Journal, 16, 950, 1955. — 17. Giacobini E., Lassenius B.: Nord. Med., 52, 1693, 1954. — 18. Andersen H.: Ugeskr. Laeg. 116, 1733, 1954. — 19. Owen J. H.: Brit. Med. J. 7, 1155, 1957. — 20. Hartnett B. S.: Brit. Med. J. 18, 1458, 1955. — 21. Lemire R. E., Mitchel R. A.: Journal of Clinical and Laboratory Medicine, 44, 825, 1954. — 22. Dubanský B., Doubrava O.: Farmakoterapeutické zprávy, 1, 3, 1957. — 23. Goldmann D.: American Medical Ass. Archives of Int. Med., 4, 1955. — 24. Rotstein J., Paul F., Schiele B. C.: Am. M. A. Archives of Int. Med., 6, 1955. — 25. Lamas J.: Brit. Med. J., 2, 358, 1954. — 26. Munch S., Petersen S.: Ugeskr. Laeg, 116, 1787, 1954. — 27. Sos J., Csalay L., Fehér I., Gáti T., Hannos G., Kemény T., Perenyi L.: Schweizer Medizinische Wochenschrift, 37, 1077, 1956. — 28. Ludányi G., Vajda G., Döhlen A., Li Bok Nam.: Orv. Hetl., 96/40, 1100, 1955. — 29. Bruscha W.: Klin. Wschr. 29/30, 669, 1954. — 30. Malý Z.: Sborník lékařský, 59, 155, 1957. — 31. Christoph H. J.: Zentralblatt für Veterinärmedizin, 2, 590, 1955. — 32. Pospíšil J.: Veterinární Medicina ČSAZV, 4, 1956.

Хлорпромазин и изменения кровяной картины

Авторы наблюдали изменения в периферической кровяной картине собаки после однократного внутримышечного применения хлор-промазина в дозе 3 мг на 1 кг живого веса. Они обнаружили чрезвычайно важные по статистической стороне изменения в числе эритроцитов, в количестве красящего вещества крови и гематокрита, которое значительно понизилось. Реакция осаждения эритроцитов была ускорена. В общем количестве лейкоцитов существенные изменения не наблюдались. В дифференциальной кровяной картине были обнаружены эозинопения и убыль моноцитов. В течение опытов не наблюдалось никаких морфологических изменений.

Принимая во внимание изменения в красной кровяной картине, авторы рекомендуют контролировать во время применения хлорпромазина красную кровяную картину и реакцию осаждения эритроцитов.

Chlorpromazin und Blutbildveränderungen

Man verfolgte die Veränderungen in dem peripheralen Blutbild beim Hund nach einmaliger i. m. Verabreichung von Chlorpromazin in der Dose von 3 mg per 1 kg G. Es wurden statistisch hoch signifikante Veränderungen in der Erythrozytenzahl, in der Menge von Hämoglobin und in dem Hämatokritswerte, in welchem eine tiefe Herabsetzung stattfand, festgestellt. Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten war beschleunigt. In der Gesamtzahl der Leukozyten wurden keine wesentlichen Veränderungen gefunden. In dem Differentialblutbild wurde Eosinopenie und herabgesetzte Zahl von Monozyten ermittelt. Während der Versuche wurden keine morphologischen Veränderungen festgestellt.

In Hinsicht auf die Veränderungen des roten Blutbildes wird die Kontrolle desselben und der Senkungsgeschwindigkeit während des Verabreichens von Chlorpromazin empfohlen.

Chlorpromazine and Blood-Picture-Changes

The changes of the peripheral blood picture in dog were studied after a single i/v application of chlorpromazine in the dose of 3 mg per 1 kg b. wt. Statistically highly significant changes were ascertained in erythrocyte counts, haemoglobin amount and haematocrite value in which there was a deep fall. Erythrocyte sedimentation was enhanced. No essential changes were found in the total count of leukocytes. In the differential blood picture eosinopenia and decrease in monocyte counts were encountered. No morphologic changes were found during experiments.

With regard to the change of the blood red picture the control of the same as well as that of erythrocyte sedimentation is recommended during the application of chlorpromazine.

Chlorpromazin a změny krevního obrazu

II. sdělení

Хлорпромазин и изменения картины крови

II сообщение

Chlorpromazin und Änderungen des Blutbildes

II. Mitteilung

Chlorpromazin and Changes in Blood Picture

Report II

J. POSPÍŠIL, J. KOMÁREK

Technická spolupráce Zdena Chaloupková

Veterinární výzkumné středisko, Praha

Došlo dne 4. V. 1958

Úvod

V tomto sdělení jsme si vzali za úkol zjistit vliv jednorázové aplikace chlorpromazinu na koagulační krevní změny.

Chemické složení chlorpromazinu, indikace a kontraindikace jeho použití a možnosti jeho využití ve veterinární medicíně jsme uvedli v prvním sdělení, proto se jimi nebudeme již zabývat.

Literární přehled

V nám dostupné literatuře jsme našli jen několik údajů o změnách koagulace krve po aplikaci chlorpromazinu. K o s a k i pozoroval po aplikaci chlorpromazinu prodloužení srážlivosti krve a prodloužení krvácivosti (uvádí se též jako gutadiofot). Š r á m e k pozoroval po aplikaci chlorpromazinu snížení hladiny protrombinu a snížení počtu krevních destiček. Také T a s k e r pozoroval snížení počtu krevních destiček.

Kratičký přehled literárních údajů ukazuje, že po aplikaci byl zjišťován pokles množství krevních destiček, prodloužení srážlivosti krve a prodloužení krvácivosti. Také pokles hladiny protrombinu byl pozorován.

Vlastní práce

A. Metodika pokusu

K pokusu bylo použito dvanácti psů větších plemen stejně jako v prvním sdělení. Před pokusem byli podobně připraveni jako psi v prvním sdělení. Chlorpromazin byl aplikován jednorázově intramuskulárně v dávce 3 mg na 1 kg živé váhy. Bylo použito preparátu Largactil. Koagulace krve byla zjišťována před pokusem, za 45 minut, tři hodiny a 24 hodiny po aplikaci chlorpromazinu. Byl zjišťován počet krevních destiček, srážlivost krve, protrombinový čas, konzumace protrombinu a smrštnost krevního koláče.

B. Přehled použitých metod

1. Krevní destičky

Bylo použito metody podle Feisslyho a Lüdinga, která byla pozměněna jen v tom, že místo melanžerů bylo použito mikropipet a baniček, kterých se používá při počítání bílých krvinek. Provedení: do baničky na bílé krvinky se napipetuje 475 mml ředícího roztoku tohoto složení: *Cocaini chlorati* 3,0., *Natrii chlorati* 0,4., *Aquae destillatae* ad 100,0. Z čerstvé venózní krve se mikropipetou napipetuje do připravené baničky s ředícím roztokem 25 mm! krve a takto zředěná krev se ponechá 30 minut v klidu. Před naplněním Bürkerovy komůrky se obsah baničky protřepává po dobu tří minut. Naplněná Bürkerova komůrka se pak vloží do Petriho misky, na jejímž dně je navlhčená buničitá vata, aby se destičky stejnoměrně rozprostřely po komůrce, a aby roztok nevyschnul. Počítání bylo prováděno mikroskopem. Meopta C 36 Bi, který byl opatřen zařízením pro fázový kontrast. Použitá optika: objektiv Ph 20, okulár P 15 x. Destičky byly počítány ve 25 čtvercích. Výpočet byl prováděn podle vzorce — součet krevních destiček ve čtvercích x 100.

Průměrná hodnota krevních destiček zjištěná u psů byla 185.900 v cmm.

2. Srážlivost krve

Bylo použito metody podle Lee-Whita, upravené Whitby a Brittonem. Po nabodnutí žíly se nasaje do stříkačky 1 ccm krve tak, aby vtékala do stříkačky pokud možno samovolně a nevytvářely se bubliny. Na počátku nasátí krve do stříkačky se zmáčknou stopky. Krev ze zkumavky se vpraví ihned do připravené zkumavky velikosti 80 mm x 7 mm. Zkumavka pak se uzavře gumovou zátkou a vloží se do vodní lázně 37° C teplé. Po uplynutí asi jedné minuty se zkumavka v pravidelných intervalech obrací a sleduje, zdali ještě přetéká krev. V případě, že se dá zkumavka obrátit dnem vzhůru, aniž by se krev přelila, zmáčknou se stopky a čas na stopkách je časem srážlivosti krve.

Průměrná doba srážlivosti krve u psů byla zjištěna 3 minuty 3 vteřiny se střední chybou 34 vteřin.

3. Protrombinový čas

Určovali jsme ho metodou podle Quicka. Provedení: do 5 ccm stříkačky natáhneme 0,5 ccm n/10 šťavelanu sodného. Po nabodnutí žíly nasajeme do takto připravené stříkačky 4,5 ccm krve. Krev dobře promícháme a odstředíme při 2000 obrátkách během 10 minut. Nato odpipetujeme 0,1 ccm získané plazmy do dokonale čisté zkumavky, rozměrů 9 mm x 65 mm a ponoříme do vodní lázně 37° C teplé. K plazmě přidáme 0,1 ccm tromboplastinu. K této směsi přidáme

0,1 *ccm* m/40 chloridu vápenatého. V okamžiku, kdy jsme přidali chlorid vápenatý, spustíme stopky. Ve zkumavce ponořené do vodní lázně pozorujeme vypadnutí prvních fibrinových vláken, což zjistíme buď nakláněním zkumavky nebo protahováním roztoku ve zkumavce tenkým drátkem nebo pasterkou. Doba od spuštění stopek po vypadnutí prvních fibrinových vláken nám určuje protrombinový čas. Vyšetřujeme dva- až třikrát a z výsledků vezmeme průměr. Kromě toho vyšetřujeme současně protrombinový čas v normální plazmě.

Výsledek protrombinového času závisí z velké míry na použitém tromboplastinu. V našich pokusech jsme použili thromboplastinu Spofa, který není vždy stejný. V roce 1956, kdy jsme začali vyšetřovat protrombinový čas, jsme dosáhli průměru v psí krvi 18,6 vteřiny. V posledním půl roce máme průměr 13 až 14 vteřin. Rozdílné výsledky jsou způsobeny rozdílným tromboplastinem.

4. Konsumpce protrombinu

Tímto testem zjišťujeme, kolik ještě zbylo v séru protrombinu po sražení krve, neboť při normálním srážení krve se téměř veškerý protrombin přemění v trombin. U některých poruch krve (srážení) se téměř veškerý protrombin nezmění v trombin, ale přejde nezužitkován do séra. Podle množství protrombinu možno soudit na spotřebu protrombinu, jejich konsumpci.

Provedení: odebereme 5 *ccm* krve a dáme ji do termostatu při 37° C na čtyři hodiny. Potom krev odstředíme po 10 minut při 2000 otáčkách a odsajeme sérum. Do zkumavky pak dáme 0,1 *ccm* séra a 0,1 *ccm* tromboplastinu a ihned zmáčkne stopky. Po jedné minutě přidáme 0,2 *ccm* 0,5 % fibrinogenu. Vše provádíme při teplotě 37° C. Potom protahujeme háčkem až do vytváření prvního vlákna fibrinu. Při počítání pak odečteme jednu minutu.

Normální časy konsumpce protrombinu u psů jsou nedojde-li do třech minut k vytvoření fibrinových vláken. V případě, že se nevytvoří do čtyř minut, zmáčkne stopky a pak test ukončíme, aniž bychom čekali na vytvoření fibrinových vláken.

5. Smrštnost krevního koláče

K určení smrštnosti krevního koláče jsme modifikovali metodu uváděnou L á z n i č k o u. Provedení: 1 *ccm* krve vpravíme do zkumavky rozměrů 80 *mm* × 7 *mm*. Zkumavku uzavřeme zátkou, kterou je protažen tenký drátek, který sahá až ke dnu a je ponořen do krve a má na konci háček. Poté necháme zkumavku stát 24 hodiny při pokojové teplotě. Pak vytáhneme zátku s drátkem a na konci drátku současně vytáhneme i krevní koláč. Změříme množství zbylého séra, které nám určuje smrštnost krevního koláče.

Sledovali jsme na zdravých psech normální smrštnost krevního koláče a zjistili jsme průměrnou hodnotu vytlačeného séra 30 až 50 %, tj. 0,3, až 0,5 *ccm*.

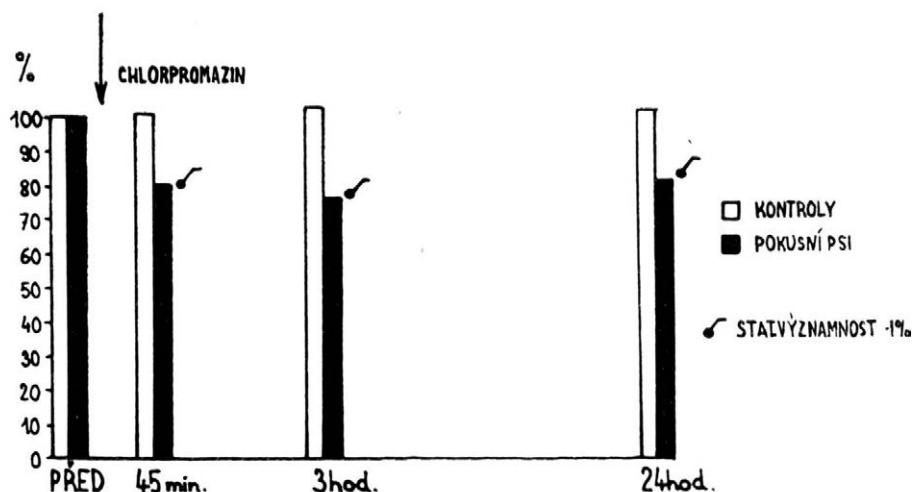
Vlastní práce

Krevní destičky

Počet krevních destiček před podáním chlorpromazinu se u obou skupin psů pohyboval v normálních mezích a v průměru bylo na *ccm* 150.000 až 160.000. Již za 45 minut po aplikaci došlo k poklesu počtu krevních destiček na 80 % z výchozí stoprocentní hodnoty, což představuje statistickou významnost na 1 % hranici. U kontrolní skupiny dosáhl počet destiček 101 %. Počet krevních destiček

stále klesal a dosáhl za tři hodiny po aplikaci chlorpromazinu 76 %, které představují také statistickou významnost na 1 % hranici významnosti. U kontrolní skupiny dosáhly krevní destičky 103 %. Po 24 hodinách je zřejmý návrat k původní hodnotě a dosahuje 81 %. Krevní destičky kontrolní skupiny se udržují kolem stoprocentní hranice a dosáhly po 24 hodinách 102 %. Ve všech třech odběrech po aplikaci došlo k vysoce významnému poklesu krevních destiček.

Množství krevních destiček je znázorněno na grafu 1.



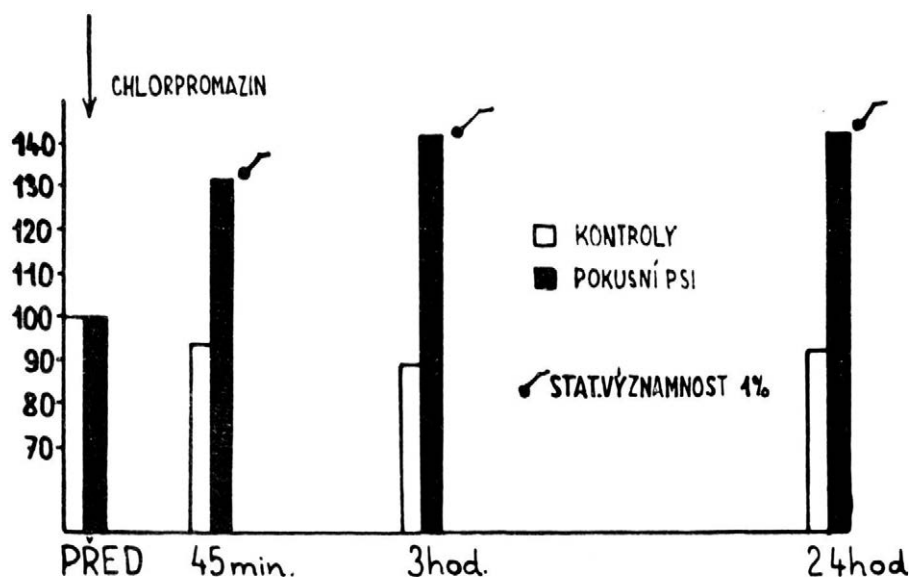
Graf 1. Počet krevních destiček

Srážlivost krve

Souhlasně s poklesem počtu krevních destiček došlo i k hluboké poruše ve srážlivosti krve po aplikaci chlorpromazinu. Již 45 minut po aplikaci chlorpromazinu došlo k prodloužení doby srážlivosti na 132 % z výchozí stoprocentní hodnoty. Toto prodloužení doby srážlivosti je vysoce statisticky významné na 1 % hranici významnosti. U kontrolní skupiny klesla průměrná doba srážlivosti na 94 %. Tři hodiny po aplikaci chlorpromazinu došlo ještě k prodloužení doby srážlivosti na 142 % a tato hodnota představuje statistickou významnost na 1 % hranici významnosti. U kontrolní skupiny klesla doba srážlivosti na 89 %. Ani za 24 hodin po aplikaci chlorpromazinu nedošlo ke zkrácení doby srážlivosti a naopak prodloužení dosáhlo 143 %. Stejně jako dvě předchozí hodnoty je i tato statisticky významná na 1 % hranici významnosti. U kontrolní skupiny dosáhla průměrná doba srážlivosti 93 %. Prodloužení doby srážlivosti je znázorněno na grafu 2.

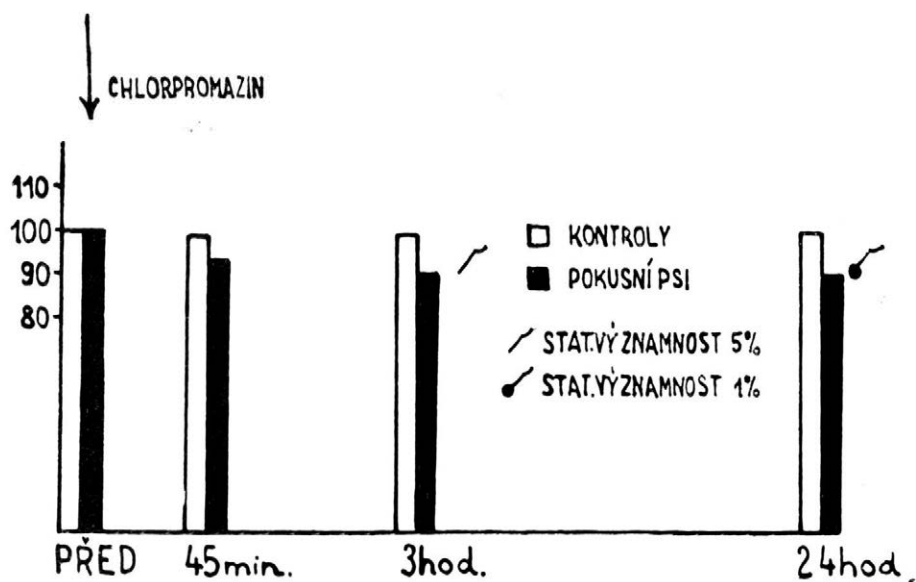
Protrombinový čas

Ačkoli došlo po aplikaci chlorpromazinu k poklesu množství krevních destiček a k prodloužení srážlivosti krve, nebylo nalezeno po aplikaci téhož prostředku prodloužení protrombinového času, jak by se dalo předpokládat. Naopak došlo za 45 minut po aplikaci chlorpromazinu k poklesu protrombinového času na 93 % z původních 100 %, zatímco u kontrolní skupiny se protrombinový čas pohyboval u stoprocentní hranice a dosáhl 99 %. Pokles u skupiny s chlorpromazinem



Graf 2. Srážlivost krve

nebyl statisticky významný. Po třech hodinách došlo k statisticky významnému poklesu na 5% hranici významnosti u skupiny s aplikovaným chlorpromazinem a hodnota protrombinového času dosáhla 90 %. U kontrolní skupiny byl protrombinový čas na téže hodnotě jako za tři hodiny. Ani po 24 hodinách nedošlo k vyrovnání protrombinového času a dosáhl opět 90 % ze stoprocentní původní hranice, což představuje statisticky významný pokles na 5% hranici významnosti. U kontrolní skupiny dosáhl protrombinový čas stoprocentní hranici. Hodnoty protrombinového času po aplikaci chlorpromazinu jsou znázorněny na grafu 3.



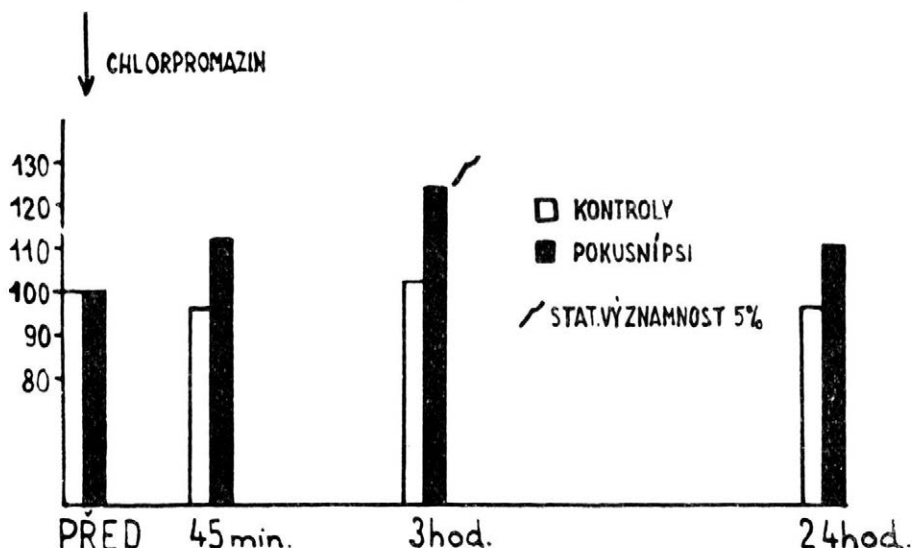
Graf 3. Protrombinový čas

Konsumpce protrombinu

Test konsumpce protrombinu nepřesáhl ani v jednom případě pokusné i kontrolní skupiny délku tří minut.

Smrštnost krevního koláče

Po aplikaci chlorpromazinu došlo k zvýšení smrštnosti krevního koláče. Za 45 minut po aplikaci došlo k zvýšení smrštnosti krevního koláče na 112 % z původní stoprocentní hodnoty, zatímco u kontrolní skupiny poklesla smrštnost krevního koláče na 96 % z původní hodnoty. Zvýšení smrštnosti krevního koláče po 45 minutách nebylo statisticky významné. Po třech hodinách po aplikaci chlorpromazinu došlo k dalšímu zvýšení smrštnosti krevního koláče a hodnota dosáhla 124 % z původní stoprocentní hodnoty, což představuje statistickou významnost na 5% hranici. U kontrolní skupiny dosáhla smrštnost krevního koláče 102 %. Za 24 hodin došlo ke zvýšení smrštnosti krevního koláče na 111 %, tato hodnota není statisticky významná. Smrštnost krevního koláče kontrolní skupiny dosáhla 96 % z původní hodnoty. Hodnoty smrštnosti krevního koláče u pokusné i kontrolní skupiny jsou uvedeny na grafu 4.



Graf 4. Smrštnost krevního koláče

Diskuse

Nedostatek dostupné literatury o změnách koagulace krve po aplikaci chlorpromazinu nedovolil důkladně porovnat námi dosažené výsledky s výsledky uváděných světovou literaturou. Snížení počtu krevních destiček, které jsme po aplikaci chlorpromazinu sledovali, shodně pozorovali Š r á m e k a T a s k e r. Prodloužení doby srážlivosti, které jsme našli, odpovídá výsledkům, které dosáhl K o s a k i. Ačkoli Šrámek pozoroval po aplikaci chlorpromazinu snížení hladiny

protrombinu, nepodařilo se nám v našem pokuse snížení hladiny protrombinu prokázat. Podle D e u t s c h e je smrštnost krevního koláče snižena při trombopeniích, trombopathiích a trombastheniích. Ačkoli v našem pokuse došlo k poklesu počtu krevních destiček, zjistili jsme naopak zvýšení smrštnosti krevního koláče. Rozdílnost výsledků dosažených v počtu krevních destiček a srážlivosti krve na jedné straně a protrombinového času a smrštnosti krevního koláče na straně druhé vyžadovala by další podrobnější analýzu zbývajících koagulačních faktorů po aplikaci chlorpromazinu.

S o u h r n

V našem pokuse jsme pozorovali změny v koagulaci krve po jednorázové intramuskulární injekci chlorpromazinu v dávce 3 mg na 1 kg živé váhy. Bylo statisticky zjištěno významné snížení počtu krevních destiček, statisticky významné prodloužení doby srážlivosti krve, zkrácení protrombinového času a statisticky významné zvýšení smrštnosti krevního koláče. V testu konsumpce protrombinu nebyly nalezeny žádné změny.

Vzhledem k dosaženým výsledkům v počtu krevních destiček a srážlivosti krve doporučujeme vyšetření počtu krevních destiček a srážlivosti krve před aplikací chlorpromazinu a sledování těchto hodnot při opakovaných vysokých dávkách chlorpromazinu.

L i t e r a t u r a

1. K o s a k i G.: Acta haematologica Japonica, 19, 144, 1956. — 2. Š r á m e k L.: Vnitřní lékařství 1, 51, 1957. — 3. T a s k e r J. R.: Brit. Med. J. 16, 950, 1955. — 4. K o m á r e k J., P o s p í š i l J.: Veterinářský časopis 5, 432, 1957. — 5. P o s p í š i l J., K o m á r e k J.: Vojenské zdravotnické listy 11, 1956. — 6. W h i t b y E. H., B r i t t o n J. C.: Disorders of the blood, J. A. Churchill Ltd., London, 1953. — 7. K o m á r e k J., P o s p í š i l J.: Veterinářství, v tisku. — 8. D o n n e r L.: Hematologie, SNZ, Praha, 1956. — 9. L á z n í č k a M.: Laboratorní hematologie, Naše vojensko, Praha, 1952. — 10. D e u t s c h E.: Blutgerinnungsfaktoren, O. Hoffmann, Wien, 1955.

Хлорпромаксин и изменения картины крови II сообщение

При нашем опыте мы наблюдали изменения в свертывании крови после однократного внутримышечного вливания хлорпромаксина в дозе 3 мг на 1 кг живого веса. Было установлено статистически значимое снижение числа кровяных телец, статистически значимое продолжение срока свертывания крови, сокращение протромбинного срока и статистически значимое увеличение стянутости кровяных сгустков. При тесте расхода протромбина не было обнаружено никаких изменений.

Учитывая полученные результаты в отношении количества кровяных телец и свертываемости крови, мы рекомендуем исследовать количество кровяных телец и свертываемость крови перед подачей хлорпромаксина и провести наблюдения над этими величинами при повторных подачах высоких доз хлорпромаксина.

Chlorpromazin und Änderungen des Blutbildes

II. Mitteilung

Bei unserem Versuch beobachteten wir Änderungen der Blutkoagulation nach einmaliger intramuskulärer Chlorpromazin-Injektion in einer Dosis von 3 mg pro 1 kg Lebendgewicht. Wir konnten eine statistisch bedeutende Senkung der Blutplättchenzahl, eine statistisch bedeutende Verlängerung der Blutgerinnungszeit, eine Kürzung der Prothrombinzeit und eine statistisch bedeutende Steigerung der Schrumpfung des Blutkuchens feststellen. Im Test der Prothrombinkonsumption waren keine Änderungen zu verzeichnen.

Mit Rücksicht auf die erzielten Resultate in der Anzahl von Blutplättchen und der Gerinnungsfähigkeit des Blutes empfehlen wir eine Untersuchung der Blutplättchenzahl und der Gerinnungsfähigkeit des Blutes vor der Applikation von Chlorpromazin und Beobachtung dieser Werte bei wiederholten hohen Dosen von demselben.

Chlorpromazin and Changes in Blood Picture

Report II

In our experiment we observed changes in the coagulation of blood after a one-shot intramuscular injection of chlorpromazin in a dosage of 3 mg per kilogram live weight. Statistically important prolongation of time of coagulation of blood, statistically important decrease in number of blood corpuscles, shortening of prothrombin time and statistically important increase in shrinking capacity of the blood cake was found. No changes were found in the consumption of prothrombin.

In view of the results obtained in number of blood corpuscles and coagulation of the blood, we recommend an investigation of the number of blood corpuscles and of coagulation before applying chlorpromazin and observations of these values in repeated high dosages of chlorpromazin.

K otázce vnímavosti králíka a morčete pro virus psinky

К вопросу восприимчивости кролика и морской свинки к вирусу собачьей чумы

On the Question of Susceptibility of Rabbits and Guinea Pigs to Distemper Virus

MVDr. V. TICHÝ

Z ústavu mikrobiologie a imunologie Veterinární fakulty VŠZL v Brně, přednosta
prof. MVDr. R. Harnach, doktor vet. věd

Došlo dne 21. V. 1958

Literární údaje

Virus psinky, o jehož jednotnosti či pluralitě stále ještě není mezi autory naprosto jasno – někteří autoři – P a n k o v (12), B e l l e r - B i e l i n g (2, 80-85) tvrdí, že virus nemá pluralitu, zatímco jiní autoři – V y š e l e s s k i j (13), říkají, že mezi viry jsou imunologicky neshodné typy, je prokazatelně patogeni pro mladá štěňata; přitom však sající štěňata se zdají být chráněna protilátkami obsaženými v mléce matky. A h n e n (2) zjistil patogenitu viru pro vlka, hyenu a šakala. Prakticky velmi důležitá je skutečnost, že virus má vysokou patogenitu pro kozešinová zvířata, jako stříbrné lišky a mývaly [A l g r e n (1), (32, 197-209), P a n k o v (12)]. Přitom však se zdá, že nejnímavější z těchto zvířat jsou právě stříbrné lišky, kdežto červené a modré jakož i divoce žijící lišky bývají označovány za vzdorné [B e l l e r - B i e l i n g (2, 80-85)]. Značně patogeni je virus také pro tchoře, norky a fretky, ale pasáží těmito zvířaty se značně oslabuje [H a r n a c h (9)], M a r t i n (10, 23, 457-462) prováděl pokusy s infikováním opic *Macacus Sylvanus* – virem ze psů onemocnělých nervovou formou psinky a pozoroval u nich onemocnění podobné lidské poliomyelitidě. Přitom je třeba se zmínit o názoru některých autorů [V y š e l e s s k i j (13)], kteří se pokusili ztotožnit psinku s lidským onemocněním, které sice probíhá bez symptomů, ale po němž lze krví infikovaného člověka nakazit psy. To by prakticky znamenalo, že lidé mohou být roznášeci a jakýmsi rezervoárem psinkového viru.

Z nemasožravých zvířat byla věnována zatím největší pozornost králíkům. Tak M a r t i n (11-23, 291-294) zjišťoval, je-li virus psinky přenosný na králíky. Výsledky jeho pokusů tuto domněnku potvrzují. Virus získával Martin od psů nemocných v různých stadiích klasické formy nervové psinky.

Klinické příznaky se u králíků neprojevovaly a nejsou podle Martina směrnatné. Směrdatná je jen změna teploty. Virus z králíka však zpětně psa nenakazil. Avšak ani přenos viru z míchy a mozku psa na králíka se vždycky nezdařil. Martin vysvětluje tento zjev různou individuální odolností králíků. Naproti tomu P a n k o v (12), který referuje o výrobě nové protipsinkové vakciny,

uvádí, že se nepodařilo virus psinky vždy adaptovat králíkům metodou četných pasáží tak, že virus se stal posléze pro králíky tak patogenním, že tito hynuli během 5 až 10 dní po infekci. Celkem provedl 126 pasáží a použil k tomu 4965 králíků. Dále uvádí P a n k o v (12), že virus psinky uhynulých štěňat stříbrných lišek byl adaptován štěňatům, kofatům, králíkům a bílým myškám. U všech těchto zvířat byl pak pozorován typický klinický obraz psinky. Tuto skutečnost Pankov potvrzuje ještě dále: „Roku 1949 jsme pozorovali enzootické vzplanutí psinky v podnicích, kde chovali mývaly, lišky a králíky. Psinkové onemocnění se projevilo nejdříve u mývalů k psince nejnáchylnějších, pak přešlo na lišky a naposled na králíky s velkými ztrátami u všech těchto zvířat.“ Virem psinky, izolovaným z králíka, se pak podařilo Pankovovi vyvolat onemocnění u kofat a štěňat. I toto Pankovovo pozorování mluví ve prospěch tvrzení, že virus psinky je pro králíka patogenní.

Z literárního přehledu plyne, že není jasno v otázce, zda přenosnost viru psinky na králíky a morčata je snadná nebo vůbec možná; všechna dosud známá zvířata, která jsou vnímavá pro virus psinky, jsou velmi drahá a manipulace s nimi je značně obtížná. Z těchto důvodů jsou zvířata jako liška, pes, fretka a tchoř málo vhodná pro pokusy s virem psinky. Hledají se proto nová pokusná zvířata, která by tyto nedostatky — vysokou cenu a nepohodlnou manipulaci — odstranila. Hledání takových zvířat se obrací ovšem především na obvyklá laboratorní zvířata jako jsou králík a morče. Z tohoto důvodu jsem byl pověřen prozkoumat vnímavost králíků a morčat pro virus psinky a vhodnost jejich použití k pokusům s psinkovým virem.

Metodika práce

Pokusy jsem rozdělil na dvě části. V první části svých pokusů jsem vycházel ze skutečnosti, zjištěné některými badateli, např. Pankovem, že virus psinky po mnoha pasážích králíkem se stává plně virulentním pro tento druh, načež po infekci takto adaptovaným virem hynou králíci během 5 až 10 dní.

V první řadě pokusů jsme se pokusili zjistit, zda může králík a morče onemocnět již po první infekci virem psinky, tj. takovým, který ještě neprodělal pasáže, či zda infekciozita viru zesiluje pro uvedená zvířata teprve po druhé či třetí pasáži.

Za tím účelem jsme připravili suspenzi z mozku a sleziny psa jevícího před usmrcením zřetelné klinické příznaky katarální formy psinky. Třetí suspenze byla připravena z nosního výplachu ze živého psa nemocného katarální formou psinky. Všechny suspenze byly připraveny 20%. Pak vždy dva králíci a dvě morčata byla před pokusem zvážena a byla u nich zjištěna tělesná teplota. Infekce byla provedena intranasálně a subkutánně (1 ml i. n. a 1 ml s. c.). Denně byla sledována u infikovaných zvířat teplota a za týden překontrolována váha.

Desátý den jsme všechna zvířata usmrtili a z jejich mozku a sleziny opět připravili smíšenou suspenzi, kterou jsem infikoval další dva králíky a dvě morčata. Takové pasáže jsem provedl celkem tři.

V druhé řadě pokusů, kterými se měla ověřit možnost infikovat králíky a morčata psinkovým virem různé virulence z psinkových psů, jsem infikoval vždy dva králíky a dvě morčata; orgánovou suspenzí z těchto králíků a morčat usmrcených po 10 dnech jsme se pokusili vyvolat psinkové onemocnění u psa. To mělo ukázat, zda virulence viru psinky zůstává v těle králíků a morčat nezměněna či je vůbec likvidována, po případě zda se nezměnila ve virulenci. Takto byli infi-

kování čtyři psi orgánovou suspenzí z králíků a tři orgánovou suspenzí z morčat. V této druhé řadě pokusů bylo v prvním pokusu použito pro infekci králíků a morčat krve psa s klinickými příznaky katarální psinky. Krev byla odebrána ve stadiu nejvyšší teploty.

Pro další pokusy jsem připravil suspenzi ze sleziny, mozku, mizních uzlin a plic psa, který byl usmrčen po umělé infekci psinkou, když projevoval již zřetelné příznaky psinkového onemocnění. Tato suspenze byla vždy připravena 20% a zvířata infikována dávkou 1 ml suspenze podkožně na krku. Denně jsem kontroloval tělesnou teplotu králíků a morčat a v týdenních intervalech i jejich váhu. Desátý den po infekci byla zvířata usmrcena a suspenzí z jejich orgánů infikována štěňata.

Suspenze byla připravována rozetřením části sleziny, mozku, mizních uzlin a plic v třech miskách za pomoci sterilního skelného písku. Dokonale rozetřené části orgánů byly pak zředěny fyziologickým roztokem NaCl na 20% suspenzi. Hrubé částice suspenze byly odděleny odstředěním a zkoušeny na bakteriologickou sterilitu. Suspenze z nosního sekretu, použitá k infekci v první řadě pokusů, byla připravena takto: byly vypláchnuty nosní dutiny štěně nemocného katarální formou psinky. Štěně — německý ovčák — jevílo značný výtok katarálního charakteru z nosu i očí. Výplach byl proveden pomocí injekční stříkačky s připojenou gumovou hadičkou fyziologickým roztokem NaCl. Před použitím k infekci byla tato suspenze vyčištěna penicilinem a streptomycinem a přezkoušena na bakteriologickou sterilitu.

Vlastní pokusy

I. řada pokusů. Zde byla řešena otázka, zda se daří pasáže psinkového viru na králících a morčatech.

Dne 22. 4. 1952 jsem infikoval suspenzí ze sleziny psa, usmrčeného za příznaků katarální psinky, dvě morčata č. 1/I a č. 1/II. Další dvě morčata č. 2/I a č. 2/II byla infikována suspenzí z mozku a morčata č. 3/I a č. 3/II suspenzí z nosního sekretu dalšího psa, stíženého katarální psinkou. Použité suspenze byly připraveny 20% za použití fyziologického roztoku NaCl. Byly vyčištěny odstředěním a provedeny zkoušky na bakteriální sterilitu. Suspenze z nosního sekretu byla podrobena vyčištění penicilinem a streptomycinem.

Skupina A. I. pasáž psinkového viru „PS“

Morčata infikována psinkovou suspenzí ze sleziny;

Morče č. 1/I bylo infikováno s. c. 1 ml suspenze a morče č. 1/II i. n. 1 ml v lehké narkóze.

Morče č. 1/I inf. s. c.

Morče č. 1/II inf. i. n.

Datum inf.	Teplota	Váha	Teplota	Váha
22. IV.	38,0	400 g	38,7	425 g
23. IV.	37,6		38,0	
24. IV.	38,5		39,4	
25. IV.	39,7		39,6	

Datum inf.	Teplota	Váha	Teplota	Váha
26. IV.	39,6	290 g	37,5	uhynulo
27. IV.	36,5		uhynulo	
28. IV.	36,9			
29. IV.	29,5			
30. IV.	uhynulo			

U obou morčat se příznaky onemocnění po infekci vyvíjely shodně. Zvířata byla smutná, malátná a jevila silný výtok z očí. Uhynula devátý resp. šestý den p. i. Patologicko-anatomický nález: Mírný tumor sleziny s drobnými subkapsulárními krváčeninami na slezině a játrech a drobné petechie na serózách a epicardu. Bakteriologický nález: Gr-pozitivní streptokoky, *B. coli*.

Z orgánů uhynulých morčat byla připravena suspenze, vyčištěná penicilinem a streptomycinem, po provedené zkoušce bak. čistoty byla touto suspenzí infikována další morčata. (II. pasáž.)

II. pasáž psinkového viru „PS“

12. V. byla očkována morčata suspenzí připravenou z orgánů — plic, sleziny a mozku — morčat infikovaných 22. IV. suspenzí připravenou ze sleziny. Obě morčata byla infikována jedním ml 20% suspenze připravené s fyziologickým roztokem NaCl.

Morče č. 1/Ia bylo infikováno s. c. suspenze a morče č. 1/IIa i. n. 1 ml v lehké narkóze.

III. pasáž byla provedena na morčatech č. 1/Ib s. c. a na č. 1/IIb cestou i. n. Došlo jen ke zvýšení teploty.

Výsledek pasáží psinkového viru „PS“ ze sleziny psinkového psa morčaty:

Již první pasáž viru „PS“ ze sleziny psinkového psa způsobila uhynutí obou morčat devátý, resp. šestý den po infekci. Ve druhé pasáži došlo k uhynutí obou morčat osmého, resp. šestého dne, zatím co ve třetí pasáži došlo již jen ke zvýšení teploty v jednom případě u morčete č. 1/Ib. Druhé morče č. 1/IIb ve třetí pasáži již nereagovalo na infekci.

Skupina B

Obdobně jako při infekci zvířat suspenzí ze sleziny bylo postupováno při infikování morčat suspenzí z mozku. Materiál pro přípravu suspenze pro pokus skupiny B byl vzat z mozku téhož psa jako materiál pro infekci skupiny A. Suspenze byly připraveny 20 % s fyziologickým roztokem NaCl a morčata jsme infikovali teprve po provedení bakteriologických zkoušek na čistotu suspenze a jejich negativním výsledku, případně po vyčištění antibiotiky. Infekce byla provedena u morčete č. 2/I 1 ml suspenze s. c. a u morčete č. 2/II 1 ml suspenze i. n.

Výsledek: Virus v suspenzi z mozku psinkového psa způsobil jen ojedinělé uhynutí morčete č. 2/II I. pasáže, a to sedmý den po infekci. Ve druhé a třetí pasáži nezpůsobil u morčat již žádných změn.

Skupina C

Při infikování morčat suspenzí z nosního sekretu bylo, pokud jde o způsob aplikace a dávek suspenze, postupováno obdobně jako při aplikaci suspenzí z mozku a sleziny ve skupině pokusů A a B. Nosní sekret, kterého jsem použil k přípravě suspenze, jsem získal výplachem nosních dutin štěněte nemocného katarální formou psinky. Toto štěně bylo jeden měsíc starý německý ovčák, majetek Interní kliniky VŠV. Suspenze byla vyčištěna antibioticky a teprve pak jí byla infikována 2 morčata č. 3/I s. c. 1 ml suspenze a č. 2/II i. n. 1 ml suspenze.

I. pasáž psinkového viru „PNs“

Dvě morčata, infikovaná materiálem z nosního sekretu, uhynula za příznaků kataru oční spojivky a malátnosti. Bakteriologický nález: Gr-pozitivní streptokoky, *E. coli*.

Patologicko-anatomické změny: Tumor sleziny, subkapsulární krváceniny na slezině a játrech. Z orgánů uhynulých morčat byla opět připravena 20% suspenze s fyziologickým roztokem NaCl, kterou jsme po vyčištění antibiotiky a zkouškách na bakteriální čistotu infikovali další dvě morčata č. 3/Ia a 3/IIa s. c. a i. n. (1 ml) jako II. pasáž.

II. pasáž psinkového viru „PNs“ naočkována 2 morčatům a ve III. pasáži očkována opět dvě morčata.

Výsledek u morčat infikovaných materiálem z nosního sekretu psinkového psa došlo v první pasáži k uhynutí obou morčat devátý resp. čtvrtý den po infekci. Virus se pasážováním oslabil, takže ve II. a III. pasáži vyvolával jen zvýšení teploty.

Pokusy na králících

Souběžně s morčaty byli týmž způsobem a stejným materiálem infikováni vždy dva králíci, a to 1 ml s. c. a i. n., načež jim denně byla měřena tělesná teplota a v týdenním intervalu kontrolována váha. Po usmrcení provedena 20% suspenze II. a z ní III. pasáž. 1. V. byli oba králíci usmrceni. Králík č. K1/II byl od počátku zvýšení teploty malátný, nežral a vykazoval silný výtok z nosu hlavně hnisavé povahy. Králík č. K1/I neměl žádné klinické příznaky onemocnění. Z orgánů obou králíků byla připravena směs 20% suspenze; touto suspenzí byli infikováni další dva králíci č. K1/Ia a K1/IIa jako II. pasáž psinkového viru „PS“.

Oba králíci byli 21. V. usmrceni. Kromě zvýšené teploty nejevili žádné známky onemocnění. Z jejich orgánů byla připravena 20% suspenze s fyziologickým roztokem NaCl a touto suspenzí byli infikováni dávkou 1 ccm suspenze další dva králíci. Č. K1/Ib a č. K1/IIb (III. pasáž).

III. pasáž psinkového viru „PS“

Výsledek(u králíků infikovaných materiálem ze sleziny psinkového psa nezpůsobil virus uhynutí, takže se králíci jevíli vzdornější než morčata, nicméně ve všech těch pasážích došlo ke značnému zvýšení teploty. V první pasáži čtvrtého až pátého dne, ve druhé pasáži pátého dne a ve třetí pasáži třetího resp. pátého dne.

Skupina B

Při infekci králíků v této skupině bylo použito materiálu z mozku stejného psinkového psa jako u morčat infikovaných suspenzí připravenou z mozku. Suspenze byla opět připravena 20% fyziologickým roztokem NaCl a byli jí infikováni 2 králíci, z nichž dva ve II. pasáži a z těchto dva ve III. pasáži.

Výsledek: infekce materiálem z mozku vyvolala v první pasáži (subkutánní) infekce zvýšení teploty 6. den p. i., v ojedinělém případě uhynutí králíka ve II. pasáži. Ve III. pasáži došlo při obou způsobech infekce ke zvýšení teploty 1. den po infekci.

Skupina C

Při infikování třetí dvojice králíků bylo použito k infekci suspenze získané výplachem nosního sekretu psinkového psa. Šlo o psa, jehož nosního sekretu bylo použito při infikování morčat. Byla provedena infekce 1 ml suspenze podkožně u králíka č. KS I a 1 ml i. n. u králíka č. KS II a opakována ve II. a III. pasáži.

Když byli králíci usmrceni, nejevili žádných klinických příznaků onemocnění a ani jejich orgány neukazovaly žádné patologicko-anatomické změny.

Zhodnocení první řady pokusů

Oproti průběhu infekce morčat docházelo u králíků po infekci terénním virem psinky „PS“, „PM“ i „PNs“ k onemocnění jen vzácněji. Infekce i. n. působila onemocnění podobné katarální formě psinky.

Celkem se jeví králík podle těchto pokusů vzdornější než morče jak při první, tak i při druhé a třetí pasáži proti uměle vyvolané psince s. c.; jen intranasálně se infekce dařila častěji. Infekce virulentním materiálem ze sleziny působila určité zvýšení teploty již čtvrtý až pátý den v první pasáži a třetí až pátý den ve druhé, resp. třetí pasáži. Virus z mozku způsobil při s. c. infekci zvýšení teplot zpravidla již šestý den, a to buď již v první nebo teprve až ve třetí pasáži. Zatím co první pasáž viru z nosního sekretu minula celkem bez teplotních reakcí, docházelo ve druhé a třetí pasáži již šestého dne ke zvýšení teploty.

Vcelku lze konstatovat, že králíci reagovali na s. c. nebo i. n. aplikaci psinkového viru, a to již třetím až šestým dnem po infekci.

II. řada pokusů

Ve druhé řadě pokusů šlo o to, zjistit přímou infekci viru psinky pro králíka a morče.

Pokus č. 1

Jako infekčního materiálu jsem použil krve psa uměle infikovaného virem psinky. Šlo o pokusného psa mikrobiologického ústavu VF. Krev byla odebrána 9. I. 1953 ve stadiu nejvyšší teploty dotyčného psa. Z krve jsme připravili suspenzi s fyziologickým roztokem NaCl v poměru 1 : 1 a touto suspenzí v d. 1 ml infikování sc. a in. 2 králíci a 2 morčata. Za 9 dní byla zvířata usmrcena; nejevila příznaků nemoci.

Z orgánů králíků i z orgánů morčat jsme připravili 20% suspenzi s fyziologickým roztokem NaCl ze sleziny, mozku, mízních uzlin a plicní tkáně a infikovali 2 štěňata; jedno štěně č. Šk 1 jsme infikovali suspenzí z orgánů králíků, a druhé štěně suspenzí z orgánů morčat. Obě štěňata byla 2 měsíce stará; šlo o zjištění, zda virus, prošlý organismem králíka nebo morčete, si zachoval patogenitu pro štěňata.

U obou štěňat byl denně kontrolován zdravotní stav a tělesná teplota: Štěně č. Šk 1 bylo infikováno sc. 5 ml suspenze z orgánů králíků a štěně č. Šm 1 5 ml suspenze z orgánů morčat.

Štěně infikované z orgánů králíka jevílo za tři dny silný výtok z pravého oka a velmi rychle scházelo. Afekce na oku postupovala, až došlo k ulcerózní keratitidě a zvíře uhynulo devátý den v úplné kachexii. Na orgánech nebyly nalezeny žádné patologicko-anatomické změny. Druhé štěně (infikované z morčete) bylo usmrceno injekcí vzduchu do srdce; také orgány tohoto štěněte byly beze změny.

V druhé řadě pokusů (pokus číslo 1) neměla infekce králíků a morčat za následek těžší teplotní reakce. Došlo ke slabému, déletrvajícimu zvýšení teploty, ale toto bylo jen slabé a netypické. Uhynulé štěně nevykazovalo vůbec žádné zvýšení tělesné teploty. U druhého štěněte, infikovaného suspenzí z orgánů morčat, došlo druhého dne k velmi slabému zvýšení tělesné teploty krátkého trvání.

Pokus č. 2

V pokuse číslo 2 jsem infikoval králíky a morčata suspenzí připravenou z částí plic, mozku, sleziny a mízních uzlin psa, který byl usmrcen po onemocnění psinkou. Šlo o pokusného psa č. 5-Fls4F3P5-2, který byl majetkem Mikrobiologického ústavu Veterinární fakulty v Brně. Pes byl uměle infikován virem psinky a když zjevně onemocněl, byl usmrcen. Z orgánů tohoto psa, kterých jsem použil k přípravě 20% suspenze s fyziologickým roztokem NaCl, byl rovněž při pokusech bakteriologického ústavu infikován další pes, který onemocněl psinkou. Infekci zita použitého materiálu byla tím tedy plně zaručena.

Králíci a morčata byli infikováni 10. III., a to 1 ml suspenze subkutánně na krku a 1 ml suspenze i. n. infikování byli 2 králíci, č. KS/I a č. KS/II a dvě morčata č. 5/I a č. 5/II. 19. III. byli oba králíci i obě morčata, kteří reagovali teplotně, usmrceni.

Pasažované kmeny vyzkoušeny na 1 štěněti. Připravil jsem 20% suspenzi z orgánů jen infikovaných králíků a touto infikováno čtyřměsíční štěně, křížený německý ovčák, podkožně dávkou 5 ml suspenze. Denně jsem pak sledoval zdravotní stav a teplotu uvedeného štěněte. Čtvrtého dne zaznamenaná vzestup teploty na 39,4° C, která pátého až sedmého dne vystoupila ještě na 39,8° C a 39,9° C.

Pokus č. 3

V tomto pokusu bylo k infekci králíků a morčat použito materiálu z pokusného psa číslo 2-F1E4F3P1, který byl infikován 1 ml suspenze s obsahem viru psinky; pes byl usmrcen, když jevil první zřetelné příznaky katarální psinky. K přípravě suspenze pro infekci králíků a morčat jsem použil části sleziny a plic z výše uvedeného psa. Suspenze byla připravena 20% s fyziologickým roztokem. Virulence materiálu byla vyzkoušena a potvrzena pokusem bakteriologického ústavu, když suspenzi z uvedeného psa bylo infikováno štěně, které onemocnělo katarální formou psinky. Králíci i morčata byli infikováni 1 ml suspenze s. c. a i. n.

Po jejich usmrcení pořízena 20% suspenze z orgánů a jí naočkováno

- a) 1 štěně suspenzí (2 ml) z králíků
- b) 1 štěně suspenzí (2 ml) z morčete.

V tomto pokusu jsem u infikovaných králíků a morčat nezaznamenal ani zvýšení teploty, ani žádné klinické změny, které by ukazovaly na onemocnění způsobené infikovaným psinkovým virem. Ani u dvou štěňat, kterým byla aplikována suspenze z orgánů králíků a morčat, se teplota nezvýšila a nezjistil jsem u nich známek onemocnění.

Pokus č. 4

V tomto pokuse bylo použito k infikování králíků a morčat plně virulentního materiálu ze psa č. F1E4F3P22-5. Virulence tohoto materiálu byla ověřena na štěněti č. F1E4F3P24-6 v pokusu mikrobiologického ústavu VF. Uvedené štěně po infekci tímto materiálem onemocnělo typickou formou katarální psinky. 20% suspenzí, připravenou z orgánů psa č. F1E4F3P22-5, byli dávkou 1 ml 2 králíci č. K7/I s. c. a č. K7/II i. n. a dvě morčata č. 7/I s. c. a č. 7/II i. n. Po 8 dnech byla usmrcena obě morčata a oba králíci; byli stále bez teplotních reakcí a nevykazovali ani jiné známky onemocnění.

Z orgánů králíků a morčat byla připravena vždy 20% suspenze, kterou byla naočkována štěňata jak materiálem z králíků, tak i morčat.

V pokuse číslo 4 se nepodařilo virulentním laboratorním psinkovým virem vyvolat ani u králíků ani u morčat žádné změny zdravotního stavu. Rovněž i štěňata, na která byl zpětně přenesen materiál z králíků a morčat, neukazovala žádné změny zdravotního stavu.

Laboratorní virus psinky, prošlý organismem králíka, vyvolal v jednom případě uhynutí štěněte (č. Škl) a v jednom případě vyvolal zvýšení tělesné teploty. V ostatních případech nedošlo k žádným změnám zdravotního stavu ani k žádným teplotním reakcím. Virus prošlý organismem morčat nevyvolal u zpětně infikovaných štěňat žádné reakce.

Naskýtala se otázka, zda je virus prošlý organismem králíka a morčete zcela zničen či jen částečně oslaben, takže není v tomto stavu schopen vyvolat u štěňat onemocnění, dále nemohl-li by snad v tomto stavu vyvolávat imunitu. Infikoval jsem proto štěňata, kterým byla předtím aplikována suspenze z orgánů králíka a morčat, virulentním virem psinky. Šlo o dvě štěňata z pokusu č. 3 (č. Šk3, Šm2) a dvě štěňata z pokusu č. 4 (č. Šk4 a Šm3). Všechna čtyři štěňata byla infikována stejným způsobem podkožně (na krku) 2 ml 20% suspenze ze sleziny pokusného psa č. F1E4F3P24-6, který byl usmrcen po onemocnění katarální formou psinky. U všech čtyř štěňat se značně zvýšila teplota, která se za 5 dní po umělé infekci zvýšila na 40,1°—40,5° C (maximum), v dalších dnech byl pak zaznamenán pokles teploty, rovněž i ostatní klinické příznaky ukazovaly na onemocnění katarální psinkou.

U tří štěňat došlo ode dne zvýšení teploty ke značně silnému serosnímu výtoku z nosu a ke katarální konjunktivitě, doprovázené značným zduřením víček. Zvířata byla malátná a smutná a přijímání potravy bylo podstatně sníženo. S poklesem teploty se upravily částečně i ostatní změny, zůstala však ve všech případech konjunktivitida.

Souhrn a zhodnocení výsledků

Úkolem práce bylo zjistit, zda lze virem katarální psinky vyvolat v první nebo v dalších pasážích králíkem nebo morčetem onemocnění a zda lze po těchto pasážích vyvolat psinku u psů zpětným přeočkováním.

Pokusy o vyvolání reakcí u morčat a králíků po naočkování viru psinky katarální nám daly tyto výsledky:

1. U morčat podařilo se vyvolat terénním virem z katarální psinky smrtelné onemocnění po aplikaci 20 % suspenze ze sleziny uhynulého psa.

Také materiál z mozku způsobil ojedinělé uhynutí.

Podobně i materiálem z nosního sekretu docházelo čtvrtého až devátého dne k uhynutí některých morčat; zdá se, že pasážemi se virus oslabil, takže ve II. a III. pasáži způsobil pouze zvýšení tělesné teploty.

2. U králíků (v porovnání s morčaty) po infekci terénním virem psinky „PS“, „PM“ i „PNs“ docházelo k onemocnění vzácněji. Infekce intranazální působila onemocnění podobné katarální formě psinky. Celkem se jeví podle těchto pokusů králík vzdornější než morče jak při první, tak i při třetí pasáži proti umělé psince, vyvolané infekci *s. c.*; jen intrazálně se infekce daří častěji.

Infekce viruletním materiálem ze sleziny měla za následek zvýšení teploty již čtvrtý a pátý den v první pasáži a třetí. až pátý den ve druhé resp. třetí pasáži. Také *s. c.* infekce materiálem z mozku způsobily zvýšení teplot zpravidla již šestý den, a to buď již v první nebo teprve až ve třetí pasáži. Zatímco první pasáž viru z nosního sekretu minula celkem bez teplotních reakcí, docházelo ve druhé a třetí pasáži již šestého dne ke zvýšení teploty. Vcelku je vidět, že králíci reagovali na *s. c.* nebo *i. m.* aplikací psinkového viru již mezi třetím až šestým dnem po infekci.

3. Pokusy s psinkovým virem laboratorním neměly při žádném způsobu infekce u morčat ani u králíků na následek těžší teplotní reakce.

4. Laboratorní virus prošlý organismem morčete nevyvolal u žádného ze tří štěňat, která byla zpětně tímto virem infikována, žádné teplotní reakce ani žádné jiné známky onemocnění.

5. Laboratorní virus psinky prošlý organismem králíka vyvolal po zpětné infekci štěňat tímto virem u prvního štěněte č. Šk 1 uhynutí a u štěněte č. Šk 2 zvýšení tělesné teploty; další dvě štěňata infikována zpětně virem prošlým organismem králíka na infekci nereagovala.

6. Třebaže morčata a králíci reagují na umělou infekci psinkou namnoze již v první nebo i v dalších pasážích, nejsou tato zvířata dosti vhodná ke studiu psinky pro značnou nepravidelnost reakcí.

Literatura

1. Algren: Distemper in dogs and fur bearing animals in Sweden. Bull. Off. internat. Epiz 1949 32, 197-209. — 2. Beller-Bieling: Die Viruskrankheiten der Haus und Laboratoriumstiere. Hundestaupe, str. 80-85. — 3. Berg: Virus diseases in dogs and foxes. Nord. Vet. Med. 1950 - 2. — 4. Bindrich: Beobachtungen bei Staupe-Virus Passagen an Hunde. Exp. Vet. Med. 1950 str. 68-81. — 5. Bindrich: Zur Auscheidung des Hundestaupevirus mit dem Harn. Experimentelle Veterinärmedizin. Bd. III 1950. — 6. Cazenave: Vliv rasy na psinku. Rev. méd. vét. 101, č. 2 1950. — 7. Drager-Schindler: Grundsätzliches zur Handlung und Auslegung von Staupe-Experimenten und über einen Modell-Versuch an Hund und Frettchen. Mh. prakt. Thierheilk. 1951 str. 273-283. — 8. Garet-Martin: Transmission au lapin du virus du névraxe de chiens atteints de formes nerveuses de la maladie. Bul. Acad. Vét. France 23, 229-304 1950. — 9. Harnach: Nauka o nákazách domácích zvířat (Praha 1954). — 10. Martin: Susceptibility of monkeys (*Macacus Sylvanus*) to distemper. Bull. Acad. vet. Fr. 1950 23, 457-462. — 11. Martin: Maladie de Carré à forme nerveuse Transmission du virus au lapin. Bull. Acad. France 23, 291 - 4 1950. — 12. Pankov: Nová protipsinková vakcína. Veterinaria č. 6 str. 38.

К вопросу восприимчивости кролика и морской свинки к вирусу собачьей чумы

Работа имела целью установить возможность вызывать заболевание катаральной собачьей чумой при первом и при дальнейших пассажах вируса через кролика или морскую свинку и возможность после этих пассажей вызвать, путем обратной прививки, чуму у собак.

Опыты с вызыванием реакций у морских свинок и кроликов прививкой вируса катаральной собачьей чумы привели к следующим результатам:

1. У морских свинок при помощи природного вируса катаральной собачьей чумы удалось вызвать смертельное заболевание после введения 20 % суспензии из селезенки погибшей собаки.

Материал, взятый из мозга, также вызвал отдельные случаи гибели свинок.

Гибель некоторых морских свинок также наступила на 4—9 день после инфицирования их секретом из носа собак; кажется, что повторными пассажами вирус ослаблялся до такой степени, что при II и III пассажах вызывал только повышение температуры тела.

2. У кроликов (по сравнению с морскими свинками) после инфекции природным вирусом собачьей чумы «PS», «PM» и «PNs» заболевание наступало реже. Интраназальное инфицирование вызывало заболевание, подобное катаральной форме собачьей чумы. В общем, судя по этим опытам, кролик, по сравнению с морской свинкой как при первом, так и при третьем пассаже, более устойчив против собачьей чумы, искусственно вызванной субкутанным путем; только интраназальная инфекция чаще удается.

Результатом инфекции вирулентным материалом из селезенки было повышение температуры уже на 4 и 5 день при первом пассаже и на 3—6 день при втором и третьем пассажах. Субкутанная инфекция материалом, взятым из мозга, также вызывала повышение температуры, как правило уже на 6 день, или уже при первом или только при третьем пассаже. В то время как первый пассаж вируса из секрета носа в общем не вызывал температурной реакции, при втором и третьем пассажах повышение температуры наступало уже на 6 день. В общем видно, что кролики реагировали на субкутанное или внутримышечное введение вируса собачьей чумы уже между 3 и 6 днем после инфекции.

3. Опыты с лабораторным вирусом собачьей чумы не вызывали более тяжелой температурной реакции, ни у кроликов, ни у морских свинок, при всех способах инфицирования.

4. Лабораторный вирус, прошедший организмом морской свинки, не вызвал ни у одного из трех щенят, обратно инфицированных этим вирусом, никакой температурной реакции и никаких признаков заболевания.

5. Лабораторный вирус собачьей чумы после пассажа через организм кролика и затем инфицированный щенятам вызвал гибель первого щенка № SK 1, а у второго щенка № SK 2 вызвал повышение температуры; остальные два щенка, обратно инфицированные вирусом, прошедшим через организм кролика, на инфекцию не реагировали.

6. Хотя морские свинки и кролики реагируют на искусственное инфицирование собачьей чумой в большом числе случаев уже при первом или при дальнейших пассажах, все же эти животные недостаточно пригодны для изучения собачьей чумы вследствие большой нерегулярности их реакций.

On the Question of Susceptibility of Rabbits and Guinea Pigs to Distemper Virus

The purpose of the work was to determine whether the virus of catarrhal distemper can bring on disease in the primary or further passaging of rabbits or guinea pigs, and whether distemper can be brought on in dogs after these passages by reinoculation.

Experiments in bringing on a reaction in guinea pigs and rabbits after inoculation with catarrhal distemper virus gave the following results:

1. In the case of guinea pigs success was had in bringing on mortal illness with terrain virus of catarrhal distemper, upon application of a 20% suspension from the spleen of a dead dog.

Material from the brain also caused single cases of death.

The same was true with material from nasal secretion, when some of the guinea pigs died on the 4th to 9th day; it seemed that the virus weakened with passaging, so that in the second and third passaging it caused only higher body temperature.

2. In the case of rabbits (as compared with guinea pigs), illness was more rare after infection with terrain virus of distemper "PS", "PM" as well as "PNa". Intranasal infection caused illness similar to the catarrhal form of distemper. According to these experiments it was shown that on the whole the rabbit is more resistant than the guinea pig in the primary as well as third passaging, to artificially induced distemper brought on by subcutaneous infection; only intranasally was the infection more often successful.

Infection from virulent material from the spleen had as result a higher temperature as early as the 4th or 5th day in the first passaging and in the 3rd to 5th day in the second or third passaging. Subcutaneous infection with material from the brain also caused higher temperatures, usually on the sixth day, either in the first, or else not until the third passaging. While the first passaging of the virus from nasal secretion passed on the whole without temperature reactions, there occurred a rise in temperature as early as the 6th day in the second and third passaging. In general we may see that rabbits reacted to subcutaneous or intramuscular application of distemper virus between the 3rd and 6th day after infection.

3. Experiments with laboratory distemper virus did not cause severe temperature reactions with any method of infection either in guinea pigs or in rabbits.

4. Laboratory virus which had gone through the organism of the guinea pig caused no temperature reaction or other symptoms of illness in any of the three puppies which were re-infected with this virus.

5. Laboratory virus which had gone through the organism of a rabbit caused death of puppy no. Sk 1 and a rise in temperature of puppy no. Sk 2, when the puppies were re-infected with this virus; another two puppies re-infected with virus which had passed through the organism of a rabbit did not react to the infection.

6. Although guinea pigs and rabbits react to artificial infection with distemper often in the first or in later passaging, these animals are not suitable for the study of distemper because of the considerable irregularity of their reactions.

Hladina celkového bilirubínu v séru klinicky zdravých koní

Уровень всего билирубина в сыворотке крови клинически здоровых лошадей

Level of Total Bilirubin in the Serum of Clinically Healthy Horses

MVDr. J. KONRÁD

Z Interního oddělení krajské veter. nemocnice v Českých Budějovicích)*

Došlo dne 10. VII. 1958

Úvod

V poslední době se setkáváme ve veterinárním písemnictví stále více s pracemi zabývajícími se problémy z biochemie i pato-fyziologie, zaměřenými většinou k možností zkvalitnění klinické laboratorní diagnostiky.

O tom jakou důležitost v biochemismu látkové výměny organismu zaujímají žlučová barviva svědčí to, že jejich výzkumu byla již více než před sto lety věnována značná pozornost.

Hlavním a nejvíce probádaným žlučovým barvivem je bilirubin. Jeho kvantitativní zjišťování zaujímá v diagnostice i prognostice vnitřních onemocnění, především pak jaterních chorob a latentních stadií ikteru, zvláštní postavení i důležitost.

Úkolem naší práce bylo zjištění normálních hodnot celkového bilirubinu v séru klinicky zdravých koní a sledování jeho hladiny za některých odlišných podmínek, i pokud jde o stáří, pohlaví a rás zvířat. Ověření o stanovení vlastního standardu považujeme za velmi důležité (i ostatních standardů ve veterinární haematologii) proto, že zahraniční údaje, o které se většina prací opírá, se v některých zjištěních značně rozcházejí a nemohou být přebírány vždy jako naše vlastní normy pro posuzování fyziologických a pato-fyziologických procesů v organismu.

Bude jistě i dalším úkolem veterinárního výzkumu zaměřit větší pozornost k problematice vzniku a vlastnostem žlučových barviv u zvířat vzhledem k novějším poznatkům, kterých bylo již dosaženo na tomto úseku.

Literární přehled

Žlučová barviva vznikají působením RES jako derivát haemoglobinu, ze kterého se vytvářejí po rozpadu červených krvinek. Určitá část krevního barviva se odbourává již v červené krvince přímo. Z haemoglobinu po několika mezipro-

*) Technická spolupráce J. Vyhlička.

duktech vzniká choleglobin, který přechází ve verdoglobin. Působením tkáňových enzymů je pak biliverdin redukován na bilirubin (Bi.). — Hořejší a spol. (10).

Úplné rozřešení biosyntézy i rozpadu nejen Bi., ale i dalších žlučových barviv zůstává však, přes dosažení značných výsledků, stále ne zcela objasněno a zvláště práce z posledních několika let přinášejí další důkazy, které revidují dosavadní názory na tuto problematiku.

Původně se zcela předpokládalo, že k syntéze Bi. z rozpadlého haemoglobinu dochází v játrech. To zdůvodňoval pokus Müllerův (1844), který nezjistil v krvi žáby, u níž extirpoval játra, bilirubin. Tyto pokusy potvrzovaly i nálezy Naunyna a Minkovského (1886) u kachen a hus. Předtím však již Virchow (1847) nalezl v krevních extravazátech podobné barvivo, které nazval haematoidin a které Fischer a Reindl až v roce 1923 prokázali za totožné s bilirubinem. Löwit (1889) první upozornil na to, že místní přeměna krvinek v Bi. se děje nejen v játrech, ale také ve slezině a ve dřeni kostní. Přitom v játrech dochází k této přeměně pouze v Kupferových buňkách a nikoli v buňkách jaterních.

Extrahepatální průkaz Bi. byl jednoznačně později potvrzen celou řadou dalších pracovníků (Aschoff, Mc Nee, Lepehne, Prusík), kteří prokázali, že tvorba žlučového barviva je vázána na systém buněk, které se mimo jiných orgánů vyskytují také v játrech v tzv. retikulárním systému — RES. Tím byly také vysvětleny neúspěchy pokusů u hus a kachen, neboť u těchto druhů je RES lokalizován hlavně v játrech.

Dalšího významného úspěchu ve výzkumu žlučových barviv bylo dosaženo V. d. Berghem (1916) zavedením kvantitativního určování Bi. Ehrlichovým činidlem s diazotovanou kyselinou sulfanilovou v alkoholickém prostředí.

Hijmans Van den Bergh nazval reakci, která vzniká i při vyloučení alkoholu, přímou diazoreakcí a reakci, při které reagovalo krevní sérum pozitivně (červenofialové zabarvení) až po přidání alkoholu, jako nepřímou. Poněvadž přímá reakce se sérem krevním byla zjišťována především u těch případů žloutenek, které vznikly jako důsledek obstrukce v odvodních žlučových cestách, byl tento Bi. označen jako přímý, zatímco nepřímý Bi. byl zjišťován hlavně při zvýšeném krevním rozpadu, u žloutenek haemolytických. Nepřímou reakci z krevního séra zdůvodňoval V. d. Bergh tím, že tento Bi. je vázán na určitou bílkovinu (albumin krevní), která brání této reakci, zatímco Bi. ze žluči této zábranné látky nemá. Teprve přidáním lihu nebo acetonu dojde k uvolnění této vazby a tím i k reakci přímé. Na základě těchto zjištění byla vypracována i teorie o možnostech vylučování Bi. játry.

Podle dosavadních názorů stačí odstranit z vazby bilirubinu s bílkovinou tuto bílkovinu a takto uvolněný Bi. se pak prokáže Ehrlichovým činidlem. Zvýšené množství uvolněného bilirubinu v séru krevním dává tedy přímou reakci a svědčí o afekci jaterní.

Rozdílnost obou bilirubinů se však nejvíce jeví jen v této přímé a nepřímé diazoreakci ale i v tom, že prostupnost obou bilirubinů ledvinami je rovněž kontrastní. Do moče přechází pouze přímo reagující Bi. (již při 2 mg %), zatímco nepřímo reagující jen velmi těžko (podle V. d. Bergha až po 10 mg %).

Tyto názory jsou dosud prezentovány ve většině humánních i veterinárních publikacích.

V poslední době setkáváme se stále častěji s pracemi, u nás jsou to především publikace Talafantovy (1954, 1956, 1957) a Jirsovy a spol. (1955), které se zabývají dalším výzkumem diazoreaktivních žlučových barviv a docházejí

k závěrům, které upravují dosavadní názory na tato barviva. Týká se to především teorie o různém jejich chování při diázoreakci, způsobeném vazbou nepřímo reagujícího Bi. s bílkovinou a o volném Bi. při přímé reakci.

Někteří autoři Pedersen a Waldenstrom (1937) a Martin (1948) dokazují, že v krevním séru je část barviva vázána na albumin s nepřímo reakcí i část barviva dávající přímo diázoreakci. Talařant (36) předpokládá, že jako jediné vysvětlení odlišných vlastností přímo a nepřímo reagujících barviv jsou různé, složením odlišné, pigmenty. Již také Griffith (1932) jako první usuzoval, že různou odlišností v diázoreakci vyvolávají různé látky. Cole, Lathe a Billigová (1954) dosáhli rozdělení přímo reagujícího barviva (přímý Bi.) na dvě odlišná barviva a pojmenovali je „pigment I“ a „pigment II“. Pomocí chromatografie rozdělil přímo reagující žlučová barviva na dvě složky i Sakamoto (1956). Tyto dva přímo reagující pigmenty přecházejí také ledvinný práh, zatímco vlastní bilirubin do moče nepřechází.

Práce Talařantovy i zahraničních autorů prokázaly, že přímý Bi. je vázán na kyselinu glukuronovou. Místem konjugace této kyseliny s Bi. je parenchym jaterní a snad i jiné orgány (ledviny).

Další složkou získanou ze žlučových barviv je tzv. éterém extrahovatelný pigment. Zatím je o něm známo, že je odlišný od Bi., hydrolýzou dává bilirubin a nejčastěji se vyskytuje u obstrukčních žloutenek, způsobených tumory.

Práce zabývající se zjišťováním hladiny Bi. u zdravých zvířat nejsou zvláště početné a třebaže některé z nich zasahují již i do doby značně starší, nenacházíme ani v novějších publikacích i samostatných učebnicích často bližších číselných citací o hladině Bi. u klinicky zdravých zvířat.

Je zajímavé, že ani v tak obsáhlé klinické diagnostice Marka a Mócsyho z roku 1956 nenalézáme základních číselných údajů o hladině Bi. u zdravého koně, kromě citace Grassnickelovy. Také v klinické propedeutice Králově (1947) je žlutavé (ikterické) zabarvení spojivky uváděno jako příznak nahromadění se žlučového barviva v krvi, aniž množství tohoto barviva je vyjádřeno kvantitativně. I v další publikaci uvádí Král (19) „malé množství“ bilirubinu v séru zdravého koně jako normální nález. Ani Bočarov (1951) nezaznamenává bližších údajů, týkajících se normálních hodnot Bi. v séru zdravých koní.

Na stabilní nález Bi. u zdravých koní — ve značně větším množství než u jiných zvířat — upozornil již 1878 Hammarsten. Jeho nález byl později potvrzen i prací Bierthenovou (1906). Jedna z prvních prací, která si všimá i množství Bi. v séru koní, je publikace Grassnickelova (1926). Autor uvádí poměrně značně vysoký obsah Bi. v séru zdravých koní v rozmezí od 1,94 do 3,14 mg %. Na početném materiálu ověřoval si hladinu Bi. u zdravých koní rovněž Reichardt (1931). Jím zjištěné hladiny pohybují se mezi 0,8 až 1,9 mg %, převážně však mezi 0,8 až 1,3 mg %. Autor nezjistil žádných rozdílů pokud se týká výšky této hladiny a vlivu krmení. Nabholz (1938) sledoval bilirubinaemie u 24 zdravých koní. Extrémní hodnoty se pohybovaly od 0,55 do 1,55 mg %. Hodnotu 2,05 mg % Bi., zjištěnou u jednoho z těchto koní, považuje autor již za chorobné zvýšení, aniž však mohl nalézt, pro tuto domněnku, bližšího podkladu v určitém patologickém procesu. Za průměrné hodnoty považuje Förenbacher (6) 0,8 mg % v rozmezí od 0,35 do 2,08 mg %.

Zjišťování celkového Bi. metodou podle Jendrassika a Grofa prováděl v séru koní Karsai (1957) a jeho výsledky dosahují hodnot mezi 0,8 až 2,4 mg % bilirubinu. Týž autor sledoval také kolísání hladiny Bi. u deseti koní během dne. Extrémní hodnoty byly o 40 až 80 % vyšší než hodnoty nejnižší. Autor nepozoroval změn v hladině Bi. pokud se týká jeho určování a doby krmení.

Zvýšené množství Bi. při hladovění pozoroval však Z i n k (1932), podobně jako B e r g e r (1956) po jedno- až dvoudenní hladovce. Bližší číselné vyjádření však autor (1) neudává, kromě jatečných koní, u nichž předpokládá určité hladovění. Oba citovaní autoři zjistili a shodně s nimi i N a s c h e f f (1940) vyšší hodnoty u mladších zvířat.

Z dalších autorů považuje za normální fyziologické hranice celkového bilirubinu W i r t h (0,5 až 2,5) v průměru kolem 1,5 mg %, Š o b r a (1,5 až 1,94), B l a ž e k (0,4 až 1,4), S i n ě v (0,3 až 1,0), K u d r j a v c e v (0,3 až 1,0), C h r u s t a l e v (0,37 až 3,0) a S i m o n o v (0,19 až 1,09).

Daleko příznivější poměry v rozsahu hladiny Bi. se zjišťují u člověka, kde maximální rozpětí fyziologické hranice se pohybuje od 0,1 do 1,0 mg %; P e l - n á ř (1947), N e t o u š e k (1949), L u k l (1955) a H o ř e j š í (1957).

Metodika a pracovní postup

Zjišťování celkového bilirubinu bylo prováděno metodou podle J e n - d r a s s i k a a G r o f a (12), číselné vyjádření zhodnocováno na Pulfrichově fotometru za použití filtru S 61. Extinkční hodnoty u vyšetřovaných vzorků sér z pokusných koní skupiny „B a C“, za účelem zpřesnění číselných nálezů, byly třikrát na sobě nezávisle odčítány a pro součin s konstantou brán jejich průměr.

Krev byla ve všech případech odebírána z *vena jugularis* a vyšetřování krevního séra prováděno následujícího dne po odběru. U koní skupiny „A“ prováděl se odběr většinou přímo v terénu na příslušném hospodářství, pokud nebyli tito koně hospitalisováni v ústavě. U koní skupiny „B a C“ byla krev získána ve všech případech vždy na vyšetřovně interního oddělení KVN.

U pokusných koní skupiny „C“ po dobu hladovění nebylo podáváno žádné krmivo ani nápoje.

Pokud není v příslušných tabulkách uvedeno jinak, prováděl se odběr u koní skupiny „A“ v různém časovém intervalu během dne, u skupiny „B“ v 7, 11, 15 a 20 hodin a následujícího dne opět v 7 (24 hodin), u skupiny „C“ v 8 a 18 hodin.

U všech zvířat poslední skupiny byl v době nejvyššího zvýšení hladiny bilirubinu (čtvrtý den hladovění) odebrán vzorek jater k histologickému ověření současného stavu jaterní buňky. Biopsie jater byla prováděna metodou popsanou v samostatné práci K o n r á d (15, 16).

Histologické vyšetřování prováděla histo-patologická laboratoř SVVÚ Praha — dr. B l a ž e k.

*

Použité zkratky v textu a tabulkách: Bi. — bilirubin, V — valach, Kl — klisna, H — hřebec, Ch — chladnokrevný, L — teplokrevný.

*

Vlastní nálezy

A. Jednorázová vyšetření

Jak je patrné z přehledu literárních údajů, týkajících se normálních hodnot hladiny Bi. v séru klinicky zdravých koní, nejsou dosaženy výsledky jednotlivých autorů jednoznačné.

I. Hladina bilirubinaemie u zdravých koní

Č.	Pohl.	Stáří roků	Ráz	Bi. mg %	Číslo	Pohl.	Stáří roků	Ráz	Bi. mg %	Číslo	Pohl.	Stáří roků	Ráz	Bi. mg %	Číslo	Pohl.	Stáří roků	Ráz	Bi. mg %
1	kl	6 m	Ch	1,07	33	kl	2	Ch	0,42	64	kl	5	L	1,07	95	kl	10	Ch	1,12
2	kl	7 m	L	0,91	34	kl	2	Ch	0,37	65	kl	5	Ch	0,75	96	kl	10	Ch	0,90
3	H	8 m	L	1,01	35	kl	2	Ch	0,53	66	V	5	Ch	1,10	97	kl	11	Ch	1,12
4	kl	8 m	Ch	0,96	36	H	2	Ch	0,37	67	kl	5	Ch	1,01	98	kl	11	Ch	0,96
5	H	1	Ch	0,75	37	H	2	Ch	0,32	68	kl	6	L	1,01	99	kl	11	Ch	0,80
6	H	1	Ch	0,85	38	H	2	Ch	0,74	69	kl	6	Ch	0,90	100	kl	11	L	1,17
7	H	1	Ch	0,64	39	H	2	Ch	0,64	70	V	6	Ch	1,57	101	kl	11	Ch	0,85
8	H	1	Ch	0,96	40	kl	2	Ch	0,37	71	kl	6	L	0,80	102	kl	11	Ch	0,63
9	H	1	Ch	1,01	41	kl	2	Ch	0,53	72	kl	6	L	1,82	103	kl	12	Ch	0,48
10	H	1	L	0,64	42	kl	2	Ch	0,96	73	kl	6	L	0,74	104	V	12	L	1,12
11	H	1	L	0,48	43	H	2	L	1,81	74	V	6	L	1,07	105	kl	12	L	0,80
12	H	14 m	Ch	1,07	44	H	2	Ch	0,91	75	kl	6	Ch	0,64	106	V	12	L	0,96
13	kl	18 m	Ch	1,02	45	H	2	Ch	0,79	76	kl	6	Ch	0,58	107	kl	12	Ch	1,39
14	V	18 m	Ch	0,91	46	kl	3	L	1,07	77	kl	6	Ch	1,87	108	kl	12	Ch	1,07
15	kl	2	L	0,75	47	V	3	Ch	1,60	78	kl	7	Ch	1,12	109	V	13	L	0,80
16	H	2	L	1,01	48	V	3	L	0,80	79	kl	7	L	1,02	110	kl	13	L	1,76
17	H	2	L	1,18	49	H	3	Ch	0,96	80	V	7	L	0,85	111	kl	13	Ch	0,90
18	V	2	L	0,80	50	H	3	L	1,60	81	V	7	Ch	0,80	112	kl	14	Ch	1,23
19	H	2	Ch	0,69	51	H	3	L	0,85	82	kl	8	Ch	0,53	113	kl	14	L	1,82
20	kl	2	Ch	0,32	52	H	3	Ch	1,65	83	kl	8	Ch	0,80	114	kl	14	L	1,39
21	kl	2	Ch	0,48	53	kl	4	Ch	1,07	84	kl	8	Ch	1,34	115	kl	15	Ch	0,69
22	kl	2	Ch	0,26	54	kl	4	Ch	0,64	85	kl	8	Ch	1,23	116	V	15	Ch	1,49
23	kl	2	Ch	0,21	55	kl	4	L	0,75	86	kl	9	Ch	0,91	117	V	16	Ch	1,60
24	H	2	Ch	0,42	56	V	4	Ch	1,28	87	kl	9	L	1,17	118	kl	16	Ch	0,69
25	H	2	Ch	0,58	57	kl	4	Ch	0,68	88	V	9	Ch	1,12	119	kl	16	Ch	0,80
26	H	2	Ch	0,58	58	kl	4	L	1,23	89	V	9	L	0,80	120	V	16	Ch	0,85
27	H	2	Ch	0,58	59	H	4	L	1,23	90	kl	9	Ch	0,58	121	kl	17	Ch	0,32
28	H	2	Ch	0,58	60	H	4	L	1,97	91	kl	9	Ch	0,80	122	kl	18	Ch	0,68
29	kl	2	Ch	0,69	61	V	5	Ch	0,74	92	kl	10	Ch	0,80	123	kl	18	Ch	0,74
30	kl	2	Ch	0,37	62	V	5	Ch	1,07	93	kl	10	Ch	0,32	124	kl	18	Ch	0,86
31	kl	2	Ch	0,58	63	V	5	Ch	1,33	94	V	10	L	1,44	125	kl	21	Ch	0,58
32	kl	2	Ch	0,42															

Největší rozpětí pro klinickou diagnostiku a prognostiku dosti nepříznivé, uvádí Chrusťalov (3,7 až 3,0), nejnižší pak Simonov (0,19 až 1,09). Nejvyšší hodnotu (3,41 mg %), považovanou ještě za fyziologickou hranici, zaznamenává Grassnickel.

Vzhledem k těmto diferencím i některým literárním údajům o rozdílnosti hladiny bilirubinaemie pokud se týká stáří, snažili jsme se prověřiti si tuto fyziologickou hranici celkového bilirubinu. Za tím účelem bylo vyšetřeno 125 koní různého pohlaví, stáří i razu, u nichž nebyly klinicky zjištěny žádné příznaky vnitřního onemocnění, které by se mohly jakkoli uplatňovat v narušení fyziologických procesů ve vztahu k hladině Bi. krevního séra.

Šlo většinou o koně pocházející z plemenných hospodářství, státních plemennářských stanic, JZD i o menší počet koní (hřebců), hospitalizovaných v ústavu.

Tabulka I uvádí hodnoty celkového Bi. v séru všech těchto koní, zjištěné při jednorázovém vyšetření; pohlaví, stáří i raz zvířat. Další tabulka (Ia) pak souhrnně zaznamenává početní stav vyšetřených koní podle stáří v rozmezí po pěti letech a maximální rozpětí mezi nejnižší a nejvyšší zjištěnou hladinou Bi. v mg % příslušné skupiny zvířat podle stáří. Tabulka Ib hodnotí početní i procentuální zastoupení zvířat a odpovídající získanou hodnotu celkového Bi. postupně v rozmezí po 0,5 mg % bilirubinu.

Ia. Rozdělení koní podle stáří a maximální rozpětí zjištěných hodnot bilirubinu

Stáří koní		1	1—5	6—10	11—15	16
zastoupení koní	počet	11	56	29	20	9
	%	8,8	44,8	23,2	16	7,2
Max. rozpětí Bi. mg % podle skupin stáří		0,48—1,07	0,21—1,97	0,32—1,87	0,48—1,82	0,32—1,60

Ib. Hladina bilirubinaemie v rozmezí po 0,5 mg% a početní zastoupení koní

Bilirubin mg %		0,5	0,51—1,0	1,1—1,5	1,51—2,0
zastoupení koní	počet	15	71	29	10
	%	12	56,8	23,2	8

Zhodnocení zjištěných hodnot bilirubinaemie u zdravých koní

Z celkového počtu 125 vyšetřených koní různého stáří (šest měsíců až 21 let) nebyly v žádném případě zjištěny hodnoty přesahující 2 mg% bilirubinu. Nejvyšší zaznamenaná hladina 1,97 mg % (č. 60) byla zjištěna u čtyřletého hřebce, nejnižší 0,21 mg % u dvouleté chladnokrevné klisny. Hodnoty přesahující 1,5 mg % byly zjištěny pouze u 10 koní, tj. 8 %. Osmdesátšest koní (68,8 %) nevykázalo hladinu bilirubinaemie vyšší než 1,0 mg %. Nezaznamenali jsme žádných zvláštních rozdílů pokud jde o stáří, pohlaví ani raz zvířete, které by se mohly určitým vlivem uplatňovat na výšce hladiny Bi. v séru. U čtyř koní do jednoho roku a u sedmi koní jednotlivých nepřesáhla hladina celkového Bi. prak-

tický ani 1,0 mg %. Nejmladší zvíře (kl. 6 měs. -- č. 1) vykazala hladinu 1,07 mg %, nejstarší pak (kl. 21 r. — č. 125) 0,58 mg % bilirubinu.

Vzhledem k těmto získaným hodnotám celkového Bi. v séru 125 zdravých koní a s přihlédnutím i k možným nepatrným subjektivním chybám při fotometrickém vyhodnocování, považujeme za normální fyziologickou hladinu celkového Bi. v séru koní v rozmezí od 0,20 do 1,5 mg %. Přitom hodnoty od 1,5 do 2 mg % lze hodnotit za normální, případně mírně zvýšené podle zhodnocení výsledků celkového klinického stavu, případně i dalšího laboratorního vyšetření dotyčného jedince.

B. Sledování lability bilirubinaemie během dne

Odchylné anatomické uspořádání vývodných cest žlučových u koně proti ostatním domácím zvířatům i člověku podmiňuje, podle některých autorů, možnost určitého kolísání hladiny Bi. během dne, což může nepříznivě ovlivňovat její diagnostické hodnocení.

Největších rozdílů v kolísání hladiny bilirubinu během 24 hodin zjistil K a r s a i (14) a rozdily jím uváděné dosahují až 80 %.

Citované údaje vedly nás k přesnému ověření této problematiky a zároveň k prošetření jakých rozdílů toto kolísání dosahuje a zda je možno u koně tuto případnou labilitu žlučových barviv využít diagnosticky i prognosticky při sledování dynamiky fyziologických, ale především patologických procesů, či nikoli. Příliš vysoké kolísání nemohlo by dát objektivních podkladů pro diagnostické využití v klinice, zvláště pokud by šlo o latentní stavy ikteru a přechody na rozhraní fyziologických a pato-fyziologických hranic bilirubinaemie.

Opakované vyšetřování celkového bilirubinu během 24 hodin sledovali jsme u 10 koní. Příslušná tabulka (II) zachycuje časové intervaly, v nichž byla ode-

II. Kolísání bilirubinaemie během dne

Odběr krve v hod.	Kůň č. 1 kl, L 16 r.	Kůň č. 2 kl, Ch 4 r.	Kůň č. 3 V, Ch 10 r.	Kůň č. 4 kl, L 6 r.	Kůň č. 5 H, Ch 14 m.	Kůň č. 6 kl, L 13 r.	Kůň č. 7 H, L 2 r.	Kůň č. 8 kl, L 12 r.	Kůň č. 9 kl, L 14 r.	Kůň č. 10 H, L 2 r.
celkový bilirubin v mg %										
7	1,28	1,23	0,85	1,28	1,07	1,33	0,79	0,96	1,28	0,80
11	1,39	1,39	0,96	1,44	1,12	1,23	0,75	0,90	1,23	0,89
15	1,65	1,60	1,07	1,49	1,17	1,28	0,69	0,96	1,23	0,92
20	1,55	1,40	1,12	1,55	1,07	1,17	0,96	0,96	1,33	1,06
8 (24 hod.)	1,66	1,07	0,85	1,23	0,90	1,44	0,86	1,07	1,26	0,96
Max. rozpětí během 24 hod.	1,28 až 1,66	1,07 až 1,60	0,85 až 1,12	1,23 až 1,55	0,90 až 1,17	1,17 až 1,44	0,69 až 0,96	0,90 až 1,07	1,23 až 1,33	0,80 až 1,06
Rozdíl	0,38	0,53	0,27	0,32	0,27	0,27	0,27	0,17	0,10	0,26
%	29,6	49,5	31,7	26	30	23,1	39,1	18,9	8,1	32,5

bírána krev, stručně nacionále jednotlivých koní, zjištěné hladiny celkového bilirubinu v příslušných časových odstupech a maximální rozpětí nalezených hodnot během 24 hodin, jejich diferenci a procentuální vyjádření.

Zhodnocení kolísání bilirubinaemie během dne

U všech 10 koní nezaznamenala hladina v žádném případě výkyv nad normální fyziologickou hranici. Z 50 provedených vyšetření byla naměřena nejvyšší hodnota 1,66 mg % bilirubinu.

Poměrně trvalou stabilitu bilirubinu (8,1 % kolísání) prokázal kůň č. 9; maximální rozpětí v získaných hodnotách během pěti měření (49,5 %) kůň č. 2. Nebyly pozorovány určité rozdíly v jednotlivých výsledcích, pokud jde o dobu odběru krve, ani pokud jde o interval mezi jednotlivými odběry.

U čtyřech koní přesáhla hladina mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou většího rozdílu než 30 %, avšak pouze u jednoho případu přes 40 %. U žádného jedince nebylo zaznamenáno kolísání hladiny nad 50 %.

Také stáří, pohlaví i ráz zvířat neprojevil se určitým vlivem v rozdílnosti bilirubinaemie během dne. Vyšetření dále prokázala, že kolísání, ke kterému dochází, nepodléhá určitým zákonitostem, které by bylo možno považovat za stabilní.

Vliv hladovění na hladinu bilirubinu

Diagnostické využití kvantitativního i kvalitního zjišťování bilirubinaemie u koní vyžaduje nejen stanovení základních fyziologických hodnot, ale rovněž i ověření takových okolností, které samy o sobě mohou kolísání, respektive přímo zvyšování hladiny celkového Bi. podmiňovat, aniž jde o vlastní „patologické“ stavy.

Pozorování některých autorů (1, 39) upozorňují na vyšší hladinu bilirubinu při hladovění zvířete.

Poněvadž uvedené práce neuvádějí bližších informací o působení hladovění na zvyšování bilirubinaemie a citovaní autoři opírají svá pozorování hlavně o vyšetření jatečných zvířat, kde se předpokládá určitá hladovka, považovali jsme rovněž za nutné, sledovat blíže vliv hladovění na kolísání hladiny celkového bilirubinu, časový interval, který podmiňuje již první zvedání hladiny a zároveň i období, které je nutné k urovnání a navrácení zvýšené hladiny k fyziologickým hranicím.

Vzhledem k tomu, že celá řada vnitřních onemocnění je charakterizována, hlavně v počátečním stadiu, někdy i déletrvající inapetencí i úplným odmítáním krmiva, je jistě velmi důležité pro posuzování patologického procesu na podkladě hodnocení zjištěné bilirubinaemie, do jaké míry se může hladovka uplatnit na zvýšení celkového bilirubinu.

U třech pokusných koní, u nichž jsme sledovali vliv hladovění na labilitu celkového Bi., porovnávali jsme zároveň zjišťovanou bilirubinaemii i s celkovým klinickým stavem těchto koní a s intenzitou ikteru.

V tabulce III jsou shrnuty zjišťované hodnoty během sedmi dnů, tj. v období, kdy bylo započato s pokusem až po dobu vyrovnání hladiny bilirubinu k fyziologickým hranicím. Časové intervaly od posledního krmení a napájení jsou stejné u koně č. 1 a č. 2, zatímco pokusný kůň má tento interval zkrácený o devět hodin.

U koní byla několikrát provedena intravitální punkce jater za účelem histologického ověření stavu parenchymu jaterního. Tato vyšetření neprokázala v odebraných vzorcích patologických změn. Stručné histologické nálezy jaterních vzorků,

III. Bilirubinaemie ovlivňovaná hladověním

Odběr krve		Kůň č. 1 kl, L 13 r.	Kůň č. 2 kl, L 14 r.	Doba od posl. krmení v hod.	Kůň č. 3 kl, L 12 r.	Doba od posl. krmení v hod.
den	hod.	bilirubin v mg %			Bi. v mg %	
1	8	1,44	1,71	3	1,07	—
	18	0,96	1,76	13	0,75	4
2	8	2,30	3,90	27	1,92	18
	18	3,64	4,65	37	3,42	28
3	8	4,92	5,88	51	4,22	42
	18	5,78	5,61	61	5,24	52
4	8	6,42	7,01	75	5,88	66
	15*	6,58	7,54	82	6,42	73
5	8	3,85	4,81		3,74	
	18	2,72	3,15		2,24	
6	8	2,46	2,51		1,76	
	18	2,03	1,81		1,23	
7	8	1,62	1,71		1,01	

* Od 15 hodin po odběru krve a provedení biopsie jater bylo zařazeno opět normální krmení.

odebraných čtvrtého dne po započetí pokusu, jsou uvedeny ve „Zhodnocení“ této skupiny pokusných koní.

Zhodnocení vlivu hladovění na hladinu bilirubinu

Pokus na těchto třech koních jasně prokázal nepříznivý vliv hladovění na zvyšování hladiny celkového Bi. v séru. Již jednodenní hladovění se projevuje na stoupání hladiny. Zvýšení hladiny Bi. je přímo úměrné časovému intervalu, během kterého zvíře nepřijímá potravu ani tekutinu. Toto zvýšení především prokazuje srovnání mezi prvními dvěma koňmi (č. 1, č. 2) a třetím pokusným koněm, u něhož byla doba hladovění o devět hodin kratší.

Déletrvající úplné vyrazení krmení i nápojů má za následek několikanásobné zvýšení bilirubinu proti normálu, v případě koně č. 2 až na 7,54 mg %.

Během 82 hodin, pokud nebylo koňům podáváno krmivo, nebyly pozorovány žádné podstatné klinické změny v chování nebo ve zdravotním stavu zvířat. Pouze *faeces* byla sušší, drobnější, stěny břišní mírně napjaté s nepatrně „vtaženým“ břichem. *Trias* nezaznamenal zvláštních změn. Zajímavé konstatování vyplynulo z porovnání ikterického zabarvení sliznic a naměřených hodnot bilirubinu. Ve všech třech případech neodpovídal zjištěný ikterus svou barevnou intenzitou tak vysokým hodnotám Bi., jaké byly laboratorně zjištěny.

Dalším kvalitním ověřováním těchto nálezů bylo prokázáno, že jde převážně o tzv. nepřímý bilirubin.

Také histologická vyšetření jaterních vzorků neprokázala žádných zvláštních změn. V jaterních buňkách byly nalezeny drobné kapénky tuku, někdy v centrech acinů, jindy bez predilekčního místa (v acinu). Struktura jater nebyla v podstatě poškozena.

Třebaže byly naměřeny poměrně značně vysoké hodnoty celkového Bi., nebyla také ani v jediném případě — z 39 provedených vyšetření — zjištěna přímá re-

akce podle V. d. Bergha, zatímco u akutních procesů jaterních, kde dochází k destruktivním změnám parenchymu jaterního, projevuje se tato reakce jako pozitivní již i u nižších hodnot bilirubinu (K o n r á d, 17).

Jakmile se hladovění přeruší a zavede opět normální krmení a napájení, vrací se zvýšená hladina Bi. k normálu výrazně již následujícího dne a fyziologických hranic dosahuje druhého, nejpozději třetího dne.

Diskuse

Práce zabývala se stanovením vlastního standardu celkového bilirubinu v séru zdravých koní, sledováním lability Bi. během 24 hodin a působením vlivu hladovění na zvyšování této hladiny.

Přehled literárních údajů poukazuje na nutnost dalšího výzkumu biochemismu žlučových barviv také ve veterinární medicíně v novém směru, jak na to poukazují práce z posledních let (5, 13, 23, 27, 30, 34, 35 a 36).

Pokud se týká fyziologických hodnot Bi. v séru klinicky zdravých koní uváděných jednotlivými autory, nepřesahují tyto krajní hranice, kromě nálezů Chrustalevových a Grassnickelových, 2,5 mg %. Přesto však nutno konstatovat i v pracích ostatních autorů, že kolísání této hladiny je dosti značné a jeho hodnoty mnohem širší než je tomu u člověka, kde se maximální rozpětí pohybuje od 0,1 až 1,0 mg % (10, 21, 26 a 28).

Třebaže lze rozdílnost v číselném vyjádření bilirubinaemie jednotlivých autorů u koní do určité míry vysvětlit i některými lokálními chybami příslušné laboratoře, především technického rázu, přesto hodnoty přes 2 mg % nutno hodnotit, podle našich zkušeností, souhlasně s celou řadou citovaných autorů (3, 20, 24, 29, 31, 32 a 33) jako patologické zvýšení.

Na pokladě vyšetření 125 koní různého stáří považujeme za normální fyziologické hranice celkového bilirubinu hladinu 0,20 až 2,0 mg %, s převahou případů do 1,5 mg % (92 %).

Kontrastní rozdíly v hladině bilirubinu pokud se týká stáří koní, nalezené Meyerem a Wirthem, nemohli jsme zaznamenat, neboť jen u tří z 29 koní, kteří byli starší deseti let, jsme zjistili hodnoty vyšší než 1,5 mg %. Rovněž tak ani údaje Natscheffovy, Zinkovy a Bergerovy, kteří našli u mladých jedinců naopak opět hodnoty vyšší, nemůžeme potvrdit, pokud se ovšem týká stáří koní od šesti měsíců výše.

Rovněž jsme nezjistili odchýlek, které by ztěžovaly diagnostické hodnocení bilirubinaemie ve vztahu k pohlaví a rázu zvířat. Sledovali jsme tyto momenty proto, že se jich odborná literatura podrobněji nevšímá.

Sledování lability bilirubinaemie během 24 hodin prokázalo určité kolísání, které pouze u jednoho z deseti vyšetřovaných koní dosáhlo 49,5 %. V žádném případě však toto kolísání nepřesahuje fyziologické hranice celkové bilirubinaemie. Naše nálezy shodují se v převážné většině s nálezy Forenbacherovými a s citací Karsaie v tom smyslu, že výkyvy v našich případech dosahují pouze dolní hranice jím uváděné difference (40 až 80 %). Nemohli jsme zaznamenat ani u jednoho koně kolísání přes 50 %.

Vzhledem k dosaženým nálezům nepovažujeme toto fyziologické kolísání hladiny celkového bilirubinu za překážku pro důležité diagnostické hodnocení patologicky zvýšených hladin bilirubinu v séru koní, jak jsme na to také již poukázali i v jiné práci (17).

Důležitých zjištění bylo dosaženo při sledování vlivu hladovění na zvyšování hladiny Bi. Tento pokus prokázal nepříznivý vliv hladovění na poměrně výrazný vzestup bilirubinu.

Vzhledem k častým vnitřním onemocněním, projevujících se mnohdy inapetencí až úplným odmítáním krmiva, mají tato zjištění důležitý význam pro posuzování chorobných stavů, kdy hladiny Bi. mohou být ovlivněny i tímto stavem.

Důležitým momentem zůstává i zjištění disproporcí mezi zvýšenou bilirubinaemií a jí neodpovídajícím ikterickým zbarvením sliznic. Zvýšenou hladinu celkového bilirubinu, jehož převážnou částí byla nepřímo reagující frakce, přisuzujeme nejen anatomickým zvláštnostem u koně, ale i haemolytickým procesům, k nimž pravděpodobně dochází především v důsledku dehydratačních stavů následkem zastavení přívodu nutných tekutin. Tuto domněnku podporují nejen negativní histologické nálezy jaterních vzorků (drobné kapénky tuku v jaterních buňkách, bez poškození struktury), ale i další naše vyšetřování, která v žádném případě nepotvrdila i při tak vysokých hodnotách (č. 2, 7,54 mg % Bi). okamžitou přímo reakci bilirubinu.

Souhrn

Předložená práce zabývala se stanovením vlastního standardu celkového bilirubinu v séru klinicky zdravých koní, sledováním lability jeho hladiny během 24 hodin a působením vlivu hladovění na zvýšení celkového bilirubinu.

Laboratorním vyšetřením (metodou podle Jendrassika a Grofa) 125 krevních sér koní různého stáří, pohlaví i rásu, byly jako normální hranice fyziologické bilirubinaemie stanoveny hodnoty od 0,21 do 1,97 mg % s vysokou převahou případů do 1,50 mg % bilirubinu (92 %).

Nebylo zaznamenáno žádných podstatných rozdílů pokud jde o stáří, pohlaví i rás zvířat. Stáří vyšetřovaných koní pohybovalo se od šesti měsíců do 21 let.

Bylo prokázáno určité kolísání hladiny během dne, přitom však tato labilita celkového bilirubinu nepřesahuje zjištěné fyziologické hranice a nepovažujeme je proto za překážku pro hodnocení patologicky zvýšených hladin bilirubinu v séru krevním u koní.

Sledování vlivu hladovění na bilirubinaemii prokázalo nepříznivý důsledek úplného vyřazení krmení a nápojů na podstatné zvýšení celkového bilirubinu. Již jednodenní hladovění vyvolává stoupání hladiny. Zvýšení může dosáhnout až několiknásobek normálních hodnot. Nejvyšší zjištěná hodnota po 82hodinovém hladovění zaznamenala 7,54 mg % celkového bilirubinu.

Poměrně vysoké hodnoty tohoto bilirubinu neodpovídají však intenzitě ikterického zbarvení viditelných sliznic ani klinickému stavu pokusných koní.

Převážnou částí tohoto zvýšeného celkového bilirubinu byla jeho nepřímo reagující frakce.

Zvýšená bilirubinaemie těchto pokusných koní přisuzuje se nejen odlišným anatomickým poměrům u koně, ale i haemolytickým procesům, především v důsledku dehydratačních stavů.

Histologickým ověřením jaterních vzorků, získaných současně biopsií, nebyly také prokázány podstatné změny, které by podmiňovaly toto zvyšování hladiny. Zjištěné nálezy jsou důležité pro praktické posuzování bilirubinaemie u těchto

onemocnění koní, která jsou provázána výraznou inapetencí, případně úplným odmítáním krmiva.

Literární přehled konfrontuje dosavadní názory na biochemismus žlučových barviv a výsledky nových výzkumů z posledních let.

Literatura

1. Berger: Quantitative Bestimmung des „direkten“ und des „indirekten“ Bilirubins im Serum der Haustiere, Zblt. f. Vet. med. III, 273, 1957. — 2. Bierthen: Untersuchungen über das Vorkommen des Bilirubins in der Galle, in dem Harn und Blutserum des Pferdes, I. D. Bern, 1906, cit. z č. 24. — 3. Blažek: Příspěvek k enzootické hepatitidě koní, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXIX, 3, 157, 1956. — 4. Bočarov: Častnaja patologija i terapija vnutrennich nezaraznych boleznej domašnich životnyh, Moskva, 1951. — 5. Cole, Lathe, Billing: Separations of the Bile Pigments of Serum, Bile and Urine. Biochem. J. 57, 514, 1954. — 6. Forenbacher: Usporedna istraživanja o metabolizmu bilirubina kod konja za zdravom i bolesnom jetrom, Veterinarski Archiv, XXVII, 9, 245, 1957. — 7. Grassnickel: cit. Gebauerová: Der Bilirubinspiegel im Blutserum b. fieberhaften Erkrankungen der Pferde, I. D. Berlin, 1936. — 8. Griffith: The isolation from bile of a pigment having a direct van den Bergh reaction. Biochem. J. 26, 1156, 1932, cit. z č. 36. — 9. Hammarsten: Jahresberichte der Tierchemie, VIII, 129, 1878. — 10. Hořejší, Kandrác, Michalec, Slavík: Základy chemického vyšetřování v lékařství, SZN, Praha, 1957. — 11. Chrustalev: cit. z č. 37. — 12. Jendrassik, Grof: Biochem. Z. 297, 81, 1938. — 13. Jirsa, Jirsová: Příprava kalibračních křivek s koloidním bilirubinem, Čas. lék. čes. 94, 1936, 1955. — 14. Karsai: Untersuchungen zur Diagnose der Leberkrankheiten von Pferden, Acta veterinaria, Hung. VII, 2, 221, 1957. — 15. Konrád: Využití biopsie jater v diagnostice jaterních onemocnění u koní, Veterinářství, VIII, 5, 174, 1958. — 16. Konrád: Intravitální punkce (biopsie) jater u koní z hlediska klinické diagnostiky, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXXI, 5, 367, 1958. — 17. Konrád: Sledování bilirubinémie při některých jaterních onemocnění koní, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXXII, č. 5, 1959, v tisku. — 18. Král: Klinická propedeutika vnitřních chorob, Brno, 1947. — 19. Král: Interní medicina veterinární, skripta, Brno, 1947. — 20. Kudrjavcev: Isledovaniya krovi v veterinarnoj diagnostike, Moskva, 1953. — 21. Lukl: Přehled vnitřního lékařství, SZN, Praha, 1955. — 22. Marek, Mócsy: Lehrbuch der Klinischen Diagnostik der inneren Krankheiten der Haustiere, Jena 1956. — 23. Martin: Bilirubin - serum protein complexes, Biochem. J. XV, 42, 1948. — 24. Nabholz: Quantitative Bilirubinbestimmung im Blutserum von Pferd und Rind, I. D. Zürich, 1938. — 25. Natscheff: Jhrb. Vet. Med. 67, 328, 1940, cit. z č. 1. — 26. Netoušek: Nauka o krvi, Praha, 1949. — 27. Pedersen, Waldenström: Studien über das Bilirubin in Blut und Galle mit Hilfe von Elektroforese und Ultrazentrifuge, Z. physiol. Chem. 245, 152, 1937. — 28. Pelnář: Pathologie a terapie nemocí vnitřních, II, Praha, 1947. — 29. Reichardt: Der Bilirubinspiegel im Blutserum kolikkranker Pferde, ein prognostisches Hilfsmittel, I. D. Berlin, 1931, cit. z č. 24. — 30. Sakamoto: Studies on Bile Pigments. II. Separation of Natural Direct Bilirubins, Acta Med. Okayama, 10, (1), 30, 1956, cit. z č. 36. — 31. Simonov: cit. z č. 37. — 32. Siněv: Kliničeskaja diagnostika vnutrennich boleznej domašnich životnyh, Moskva, 1946. — 33. Šobra: Nauka o příznacích vnitřních a kožních chorob u koně a psa, Brno, 1950. — 34. Talafant: O povaze přímého a nepřímého bilirubinu I, Chem. listy, 48, 752, 1954. — 35. Talafant: Poznámka k povaze přímého žlučového barviva, Čas. lék. čes. 95, 792, 1956. — 36. Talafant: Vznik a osud hemoglobinu a žlučových barviv, SZN, Praha, 1957. — 37. Vasiljev: Diagnostika vnutrennich boleznej domašnich životnyh, Moskva, 1956. — 38. Wirth: Grundlagen einer klinischen Hämatologie der Haustiere, Wien, 1950. — 39. Zink: cit. z č. 1.

Уровень всего билирубина в сыворотке крови клинически здоровых лошадей

Целью настоящей работы было установление стандартного уровня всего билирубина в сыворотке крови клинически здоровых лошадей, наблюдение над колебаниями этого уровня в течение суток и изучение влияния, которое голодовка оказывает на повышение содержания всего билирубина.

Путем лабораторного исследования (по методу Ендрассика и Грофа) сыворотки крови 125 лошадей различного возраста, пола и породы были в качестве нормальных пределов физиологической билирубинемии установлены величины от 0,21 до 1,97 мг%, с подавляющим преобладанием случаев, когда содержание билирубина было меньше 1,50 мг% (92 % случаев).

Никаких существенных различий в связи с возрастом, полом и породой животных установлено не было. Возраст исследованных лошадей колебался от 6 месяцев до 21 года.

Были доказаны известные колебания уровня билирубина в течение суток, при этом, однако, эти колебания в содержании всего билирубина не превосходят установленного физиологического предела и поэтому мы не считаем их препятствием для оценки патологически повышенных уровней билирубина в сыворотке крови лошадей.

Наблюдения за влиянием голодовки на билирубинемии показали неблагоприятное действие полного прекращения кормления и поения на существенное увеличение содержания всего билирубина. Уже однодневная голодовка вызывает повышение уровня билирубина. Это повышение может достигнуть величин, в несколько раз превосходящих нормальные величины. Самая большая величина, установленная после 82 часов голодовки, равнялась 7,54 мг% всего билирубина. Эти относительно большие величины билирубина не отвечают, однако, ни интенсивности иктерической окраски видимых слизистых оболочек, ни клиническому состоянию подопытных лошадей.

Преобладающую часть этого увеличенного содержания билирубина составляла непрямо его реагирующая часть.

Повышение содержания билирубина у этих подопытных лошадей объясняется гемолитическими процессами, прежде всего вследствие дегидратизационных состояний.

Гистологическая проверка образцов печени, полученных путем биопсии, также не показала существенных изменений, которые обуславливали бы это повышение уровня билирубина.

Установленные данные важны для практического суждения о билирубинемии у тех больных лошадей, у которых она сопровождается ярко выраженным отсутствием аппетита или полным отказом от корма.

Существовавшие до сих пор взгляды на биохимизм желчных красителей противопоставляются в обзоре литературы результатам новых исследований, произведенных за последние годы.

Level of Total Bilirubin in the Serum of Clinically Healthy Horses

This study deals with the establishing of a standard for total bilirubin in the serum of clinically healthy horses, by observing the lability of its level over 24 hours and that caused by hunger in increasing total bilirubin.

In a laboratory examination (using the Jendrassik and Grof method) of 125 blood sera of horses of different ages, sex and breed, the normal limits of physiological bilirubin were established at values from 0.21 to 1.97 mg%, with a very high percentage falling in the range up to 1.50 mg% (92 %).

No substantial differences were recorded in regard to age, sex or breed of horse. The age of the horses examined ranged from six months to 21 years.

A definite fluctuation of the level during the day was demonstrated, but at the same time the lability of total bilirubin does not exceed the determined physiological limits and therefore we do not consider them as an obstacle to the evaluation of pathologically higher levels of bilirubin in horses' blood serum.

Observing the effect of hunger on bilirubinaemia showed an unfavorable consequence of complete deprivation of food and drink, in a substantial increase in total bilirubin. Even hungering for one day brought about a rise in its level. The increase may go as high as several times the normal figure. The highest figure obtained after 82 hours of hunger was 7.54 mg% of total bilirubin.

Relatively high values of this bilirubin do not, however, correspond to the intensity of icteric colouring of the visible spleen area or to the clinical state of the horse experimented on.

The predominant part of this increase in total bilirubin was its indirectly reacting fraction.

The heightened bilirubinaemia of the horses experimented on can be ascribed to haemolytic processes, primarily as a result of dehydrated states.

Through a histological testing of liver samples obtained by biopsy, no substantial changes were demonstrated which could have caused this increase in level.

The finding obtained are important for a practical judging of bilirubinaemia in diseases of horses which are accompanied by marked loss of appetite or complete rejection of food.

A survey of the literature on the subject compares previous opinions concerning the biochemistry of gall colouring, with the results of new research in recent years.

Zánět zevního zvukovodu u psů, jeho etiologie a léčení

Воспаление наружного слухового прохода у собак, его этиология и лечение

Die Entzündung des äußeren Gehörganges beim Hund, ihre Ätiologie und Behandlung

MVDr. Z. SOVA

(věnováno k 65. narozeninám s. prof. dr. K. Šobry)

Z I. interního a infekčního oddělení Krajské veterinární nemocnice v Pardubicích

Došlo dne 16. IV. 1958

Úvod

Onemocnění kůže boltce a vnějšího zvukovodu u psů zaujímá poměrně značné procento ve statistikách interních veterinárních klinik i městských veterinárních ošetroven, léčících především psy.

Pes, který zvláště ve městech žije v úzkém vztahu s člověkem, může při onemocnění otitidou jednak působit odpudlivě, jednak může ohrožovat pestrou patogenní mikroflórou, která se běžně zjišťuje při *otitis externa*, i svého chovatele. Proto věnuje se tomuto problému řada zahraničních prací, řešících etiologii i specifické léčení, a proto jsme se na tento problém ve své práci zaměřili i my.

Etiologie

Onemocnění se vyskytuje procentuálně častěji u psů s převislými či polo-převislými slechy. Na velké a zvláště silně ochlupené slechy nachytá se nejrůznější nečistota, převislý boltec neumožňuje dostatečný přístup vzduchu a znemožňuje snadné čištění.

Příčiny, vyvolávající *otitis externa*, můžeme rozdělit na vnitřní a vnější.

A. Vnitřní příčiny: 1. Infekčního původu bývá podle Georgiho (4) zvláště u mladých psů pustulózní zánět vnitřní strany boltce a předních partií vnějšího zvukovodu jako jeden z prvních symptomů, ohlašujících počátek psinky. Maninger (15) uvádí, že tento mokravý zánět vnějšího zvukovodu psinkového původu je nebolestivý.

2. Toxicky podmíněnou *otitis externa* pozorovali několikrát při otravě thaliem u psů Konrád a Klimeš (10).

3. K r á l (13) popisuje *otitis externa* vnitřního původu v průběhu excémů symetricky zachvacujících kůže u psů tak zvaných excematiků.

B. V n ě j š í p ř í č i n y jsou daleko častější. Patří k nim nejružnější nečistota, jako prach, písek, semena trav a různé smetí, které po vniknutí do boltce dráždí kůži zvukovodu, podmiňuje zvýšenou produkci mazu a tím i onemocnění.

Jedním z velmi závažných faktorů je voda, která se dostává psovi do uší při koupání nebo mytí (mýdlová voda).

H l a v á č e k (6) uvádí u lidí tyto vlivy, podmiňující vznik *otitis externa*, při koupání:

1. Větší příležitost infekce kůže vodou s četnými patogenními mikroby. Možnost infekce je velká, zvláště dojde-li současně k podráždění nečistotou nebo náhodným poraněním.

2. Příčina tkví v chemických vlastnostech vody, která dráždí kůži. Zde jde především o nejružnější odpadové vody z továren.

3. Působením vody může nastat změna *pH* v zevním zvukovodu. Sekret vyvitutého zánětu zevního zvukovodu má *pH* posunuté k alkalické straně. Normálně se *pH* kůže pohybuje pod 6. Při tomto *pH* vznikají nepříznivé podmínky pro růst bakterií, jakmile se však *pH* posune k alkalické straně, nastávají vhodné podmínky pro růst mikrobů. Žlázy ceruminální, potní i mazové udržují kyselou reakci v zevním zvukovodu, takže krátkodobý vliv vody neporušuje obvykle příznivé *pH*. Působí-li však voda déle, k čemuž u psů dochází po koupání běžně (člověk si uši vyčistí, psovi chovatel téměř nikdy), poruší se sekrece mazu, poruší se jeho *pH* a i protizánětlivý účinek, dochází ke zmnožení ušního sekretu a hojný a zvláště u psů starý maz se stává dobrým prostředím pro mikroby.

4. Voda odstraní ochrannou vrstvu na povrchu kůže.

5. Ochlazení kůže při koupání snižuje odolnost organismu; po chlazení, ať přímém nebo cestou reflektorickou, nastává zmenšení odolnosti těchto tkání vůči mikrobům eventuálně zvýšená životnost mikrobů. (F e l d m a n, Š u b í k).

Statistické vyhodnocení otitid

V našem státě sledovali otázku otitid podrobně především K o n r á d, K l i m e š a Š a n d a (10) na I. interní klinice veterinární fakulty v Brně. Při dlouhodobém pozorování bylo postiženo zánětem zevního zvukovodu 16 % všech vyšetřovaných psů. Autoři rozdělili jednotlivá plemena do čtyř skupin: s uchem kupírovaným, vztyčeným, převislým a polopřevislým.

1. Skupina s uchem kupírovaným (krysařík, dobrman, boxer, knírač, doga, buldog a bullteriér): z 277 vyšetřených psů těchto ras zjištěna *otitis externa* 21krát (7,6 %).

2. Skupina s uchem vzpřímeným (německý ovčák, skotský teriér, collie a špic): z 1527 vyšetřených psů zjištěna *otitis externa* 187krát (12,2 %).

3. Skupina s uchem převislým (ohař, pudl, setr, jezevčík, kokršpaniel, maltézský pinč, čuvač, pointer, fousek, japonský chin, bernardýn a pekings): z 758 vyšetřovaných psů zjištěna *otitis* 147 krát (19,4 %).

4. Skupina s uchem polopřevislým (foxteriér, airedaile-teriér, irský teriér, kerry-bluetiér a welschteriér): z 524 zjištěna *otitis externa* 91krát (17,3 %).

Ze statistiky vyplývá, že zánět zevního zvukovodu se objevuje u psů s boltci kupírovanými a vzpřímenými méně často než u psů s ušima převislými a polo-převislými.

Z těchto sestav vybrali pak autoři skupinu se silně ochlupenou vnitřní stěnou boltce: pudl, skotský teriér, maltézský pinč, knírač, kerry blue teriér, fousek a špic. Ze 271 psů této sestavy byla 86krát zjištěna otitida (31,7 %). Tato skupina plemen bez ohledu na postavení uší ukazuje, že i ochlupení vnitřní stěny boltce zvláště s chlupy dlouhými a tvrdými je velmi důležitým činitelem, který může být příčinou vzniku zánětu zevního zvukovodu.

Z Prahy Komárek (9) uvádí 12,1 % otitid u psů, ošetřovaných ve veterinárním výzkumném středisku, Koller (11) 6,8 % otitid u psů, ošetřovaných na veterinární ošetřovně pro drobná zvířata.

Becher (19) na berlínské klinice uvádí 533 psů s otitidou (3,3 %) z 16.000 psů, ošetřených během jednoho roku.

Fröner (19) ve dvouroční statistice uvádí 3 % psů, nemocných na *otitis externa*.

Schulze (19) při statistickém zhodnocení psích chorob na lipské klinice uvádí v roce 1946 11,8 % otitid, v roce 1947 10,1 % otitid. Čiríčka Mihajlovíč (1) v Bělehradě zjišťovali *otitis externa* u 14 až 15 % psů, z toho asi z jedné poloviny šlo o postižení obou uší.

Klinické příznaky a průběh

Podle klinických příznaků můžeme rozlišit různé druhy *otitis externa*. Všeobecné příznaky jsou všem druhům společné a stejné. Je to především zvýšená citlivost a svědivý pocit v uších, který působí silné škrábání, otfásání a třepání hlavou, často s bolestivým kňučením. Při vážnějším průběhu drží pes hlavu šikmo.

Vlastní lokální změny rozděluje Jakob (7) v tato stadia:

1. *Otitis externa erythematosa squamosa*. Kůže vnějšího zvukovodu a často i kůže vnitřní plochy boltce je silně zarudlá, hyperaemická, někdy s nádechem do modra, zduřelá, zvýšené teploty, na povrchu pokrytá drobnými šedavými až hnědětými šupinkami. Tento typ se nejčastěji zvláště u vlčáků a airedale-teriérů.

2. *Otitis externa erythematosa ceruminosa*. Při tomto typu převládá vedle hyperaemie a zduření i velké odměšování ušního mazu, který buď vytéká z uší (*otorrhoe*) a znečišťuje boltec, nebo při hnětení boltce slyšíme známý mlaskavý šelest.

3. *Otitis externa squamo-crustosa*. V tomto stadiu převládají změny strupovitě. Zaschlý maz ve formě hnědavých až hněděčervených šupin znečišťuje zvukovod a boltec, strupy jsou měkčí a mazlavé konsistence.

4. *Otitis externa pustulosa*. Při této formě se vytvářejí různě velké pustulky se žlutavým obsahem a slabou krytkou, které brzy praskají. Tyto pustulky jsou obklopeny zarudlým dvorcem. Pozorujeme ji často u mladých psů, nemocných psinkou, a to za obdobných příznaků jako jsou kožní změny při její exanthematické formě.

5. *Otitis purulenta* se vyvine z předchozí formy po popraskání pustulek. Ve zvukovodu se hromadí hnis, který při pohybech hlavy vytéká ven.

6. *Otitis externa ulcerosa* je vředovitého charakteru, vředy jsou často pokryté hnisem, někdy promíšeným krví. Je to forma, která se velmi obtížně hojí a ráda recidivuje.

7. *Otitis chronica hyperplastica* se vyznačuje tím, že u ní převládá proces difusně sklerotický, případně verrukózně granulační (*otitis verrucosa*), zachvacující zpravidla nejen vnější zvukovod, nýbrž i kůži boltce. Kůže je vazivově zduřelá, lumen zvukovodu podstatně zúženo až zcela uzavřeno, sekrece mazu snížena. Při tomto stadiu psi velmi často ohluchnou.

Průběh choroby závisí přímo na etiologii a na délce trvání procesu než bylo vyhledáno odborné ošetření. Ulcerózní a zvláště chronické hyperplastické a verrukózní procesy mají jen malé vyhlídky na vyléčení.

Vlastní práce

Během dvou a čtvrt roku jsme na I. interním oddělení Krajské veterinární nemocnice v Pardubicích zjistili zánět zevního zvukovodu z 1366 psů 130krát (9,5 %). 121 případů jsme léčili ambulantně, devět ústavně. Erythematózní squamózní zánět jsme zjistili 89krát, erythematózní ceruminosní zánět 16krát, squamocrustózní zánět 10krát, pustulózní třikrát, ulcerózní šestkrát a chronický hyperplastický rovněž šestkrát. Parazitární zánět zevního zvukovodu neprokázali jsme v naší sestavě ani v jediném případě.

Zastoupení podle rasy bylo toto: německý ovčák 73krát, ohař krátkosrstý 14, foxteriér 13krát, pointer šestkrát, kříženci pětkrát, fousek čtyřikrát, boxer, ratlík a pudl třikrát, collie a irský teriér dvakrát a irský setr a maltézský pinč jednou.

Ve své práci jsem se zaměřil na zjištění, do jaké míry se které mikroby podílejí na etiologii otitidy a na vyzkoušení moderních prostředků k léčení.

Metodika

Při prvním vyšetření byly ve většině případů z obou uší odebrány výtěry a zaslány k bakteriologickému vyšetření do KHES v Havlíčkově Brodě (dr. Du-ben), kde nám byly jednak zjišťovány kultivací mikroby, vyvolávající či doprovázející zánět, jednak citlivost těchto zárodků na běžná antibiotika. Případy, podezřelé z parazitární invaze, byly vyšetřovány mikroskopicky. Nemocné uši byly vyčištěny a zavedena léčba. Většinou nejpozději do týdne jsme měli výsledky bakteriologického vyšetření a citlivosti a nezabrala-li do té doby zavedená terapie, použili jsme specifické terapie příslušného antibiotika v masti podle zjištěné citlivosti.

Abychom si udělali představu o tom, do jaké míry působí mikroby specificky při *otitis externa*, odesílali jsme k bakteriologickému vyšetření i výtěry od zdravých psů.

Výsledky bakteriologického vyšetření nemocných psů

Ze 130 ošetřených otitid (9,5 % léčených psů) bylo provedeno bakteriologické vyšetření od 86 psů, z toho u 17 s jednostrannou otitidou, u 69 s oboustrannou otitidou. Celkem bylo bakteriologicky vyšetřeno 155 výtěrů zevních zvukovodů. V naší sestavě nemocných psů byly identifikovány tyto zárodky či jejich kombinace:

Druh mikrobů	Počet případů	Druh mikrobů	Počet případů
<i>Staphylococcus pyogenes aureus hemolyticus</i>	44 ×	<i>Staphylococcus albus</i>	7 ×
<i>Staph. pyog. aureus hemol. Escherichia coli</i>	3 ×	<i>Staph. albus Streptococcus beta skup. B</i>	1 ×
<i>Staph. pyog. aureus hem. Streptococcus beta ze skup. C</i>	11 ×	<i>Staph. albus B. antracoides</i>	1 ×
<i>Staph. pyog. aureus hem. Staphylococcus albus</i>	5 ×	<i>Staph. albus Corynebacterium pseudodiphtheriae</i>	1 ×
<i>Staphyl. pyog. aureus hem. enterococcy</i>	3 ×	<i>Staph. albus hemolyticus Streptococcus beta skup. C enterococcy Proteus vulgaris</i>	1 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem. Corynebacterium pyogenes</i>	1 ×	<i>Staph. albus hemolyt. Proteus vulgaris Corynebacterium pseudodiphtheriae</i>	2 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem. Corynebacterium pseudodiphtheriae</i>	2 ×	<i>Staphylococcus albus hemolyticus</i>	6 ×
<i>Staph. pyog. aureus hem. enterococcy sporulující mikroby</i>	1 ×	<i>Staph. albus hemolyt. Staph. albus enterococcy</i>	1 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem. E. coli E. coli hemolyt.</i>	1 ×	<i>Staph. albus enterococcy</i>	2 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem. Streptococcus beta E. coli enterococcy</i>	4 ×	<i>Staph. albus Streptococcus alfa</i>	1 ×
<i>Staph. pyiogenes aureus hem. E. coli Streptococcus alfa</i>	1 ×	<i>Staph. albus hemolyt. Betastreptococcy ze skup. B</i>	1 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem. Streptococcus alfa B. antracoides</i>	1 ×	<i>Staph. albus enterococcy sporulující mikroby</i>	1 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem. enterococcy Proteus vulgaris Streptococcy beta skup. C</i>	1 ×	<i>Staphyl. albus Streptococcus alfa plisně</i>	1 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem. enterococcy</i>		<i>Staph. albus hemolyt. enterococcy</i>	2 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem. enterococcy Staphylococcus albus</i>	1 ×	<i>E. coli</i>	2 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem. enterococcy Corynebacterium pseudodiphtheriae</i>	1 ×	<i>Proteus vulgaris</i>	4 ×
<i>enterococcy sporulující mikroby</i>	1 ×	<i>enterococcy</i>	6 ×
<i>enterococcy B. antracoides</i>	1 ×	<i>B. antracoides</i>	4 ×
		<i>enterococcy pneumococcy</i>	1 ×
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2 ×
		<i>Pseudomonas aeruginosa B. antracoides</i>	2 ×

Druh mikrobů	Počet případů	Druh mikrobů	Počet případů
sporulující mikroby	6 ×	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>E. coli</i>	1 ×
sporulující mikroby <i>B. subtilis</i>	1 ×	<i>Streptococcus beta</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>enterococcy</i>	1 ×
<i>B. subtilis</i>	1 ×	<i>Streptococcus beta</i> <i>Gorynebacterium pseudodiphtheriae</i>	1 ×
<i>Corvnebacterium pseudodiphtheriae</i>	1 ×	bez bakteriologického nálezu	7 ×
<i>Streptococcus beta</i>	2 ×		
<i>Streptococcus alfa</i>	3 ×		

Bakteriologické vyšetření výtěru ze psů, kteří neměli otitis externa

Aby bylo možno posoudit, do jaké míry působí izolované mikroby specificky jako původci otitidy, bylo též vyšetřeno 33 výtěrů od zdravých psů. V naší sestavě zdravých psů byly identifikovány tyto mikroby či jejich kombinace:

Druh mikrobů	Počet případů	Druh mikrobů	Počet případů
<i>Staphylococcus pyogenes aureus hemolyticus</i>	1 ×	<i>Staphyloc. pyogenes aureus hem.</i> <i>Streptococcus beta</i> <i>Streptococcus alfa</i> <i>Staph. albus</i> <i>enterococcy</i>	1 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem.</i> <i>E. coli</i>	1 ×	<i>Staph. pyogenes aureus hem.</i> <i>enterococcy</i> Sporulující mikroby <i>Staph. albus</i> <i>Streptococcus alfa</i>	1 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem.</i> <i>Staph. albus</i> <i>enterococcy</i>	2 ×	<i>Staphyl. albus</i> <i>enterococcy</i> sporulující mikroby	5 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem.</i> <i>Streptococcus beta</i> ze skup. C <i>E. coli</i>	2 ×	<i>Staph. albus</i> <i>enterococcy</i>	3 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem.</i> <i>Staph. albus</i> <i>enterococcy</i> sporulující mikroby	1 ×	<i>Staph. albus</i> <i>enterococcy</i> <i>E. coli</i>	1 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem.</i> <i>Staph. albus</i> <i>Streptococcus alfa</i>	2 ×	<i>Staph. albus</i> <i>enterococcy</i> <i>Streptococcus beta</i> ze skup. C	1 ×
<i>Staph. pyogenes aureus hem.</i> <i>Staph. albus</i> <i>Streptococcus beta</i> ze skup. C sporulující mikroby <i>enterococcy</i>	1 ×	<i>Staph. albus</i> <i>enterococcy</i> <i>Streptococcus beta</i> ze skup. C <i>Streptococcus alfa</i> Sporulující mikroby	1 ×
<i>Streptococcus alfa</i> <i>E. coli</i> <i>enterococcy</i>	1 ×	<i>E. coli</i>	1 ×
<i>Enterococcy</i>	2 ×	Sporulující mikroby	2 ×
<i>Enterococcy</i> <i>E. coli</i>	1 ×	<i>Proteus vulgaris</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 ×
<i>Enterococcy</i> sporulující mikroby	2 ×		

Léčení našich psů

Nemocné ucho bylo před použitím jakékoli terapie důkladně vyčištěno a zbaveno mazu a sekretu. Byl-li odměsek příliš tuhý a boltec bolestivý, byl do zvukovodu nalit rybí tuk a ucho druhý den vypláchnuto ušní stříkačkou vlažným peroxidem vodíku v tříprocentní koncentraci. Pak byla zavedena specifická léčba.

U 10 psů jsme použili 1.5% *acidum aceticum* podle F a r r a h a a spol. (2). Šlo vesměs o erythematózní otitidy, na které lék změnou pH a pravděpodobně i mírným desinfekčním účinkem dobře zabíral. Na purulentní zánět není však tento roztok dostatečně účinný.

U 50 případů aplikovali jsme oční penicilinovou mast (10.000 jednotek v 1 g). U patnácti případů použili jsme streptomycinovou mast v tomto složení: *Vaseilina alba* 150,—, *Streptomycini* 1,— gram. U pěti případů, kde nebyla úspěšná léčba penicilinovou mastí, osvědčila se nám chloramfenykolová mast ve složení *Cetaceum* 5,00, *Adeps lanae* 35,0, *Cera alba* 2,4, *Vaseline alba* 156,0, *Chloramfenykol* 6,0. Konečně u zbývajících 50 případů použili jsme Tytrotricin-Lösung 2,5% ig „Biochemie“ obsahující v 1 ccm 25 mg Tyrotrycinu a 12,5 mg Cetyltrimethylammoniumbromidu.

Pokud jsme léčili případy mastmi s antibiotiky, přicházeli chovatelé se psy někdy dvakrát, třikrát i vícekrát. Obvykle nejpozději do týdne jsme měli z bakteriologické laboratoře citlivost a nebyl-li případ vyléčen penicilinovou mastí byla použita mast buď se streptomycinem či chloramfenylolem, podle citlivosti zárodků.

Po získání tyrotrycinu vyzkoušeli jsme tento přípravek u posledních padesáti psů naší sestavy. Pro velmi vhodnou aplikaci (tekutý přípravek se dává do zvukovodu kapátkem) a dostačující šíři na grampozitivní i gramnegativní mikroby používáme nadále jen toto antibiotikum. Při použití tyrotrycinu zkrátili jsme počet ambulančí převážně jen na první, kdy zvukovod důkladně vyčistíme a ošetříme a případ si pak již doléčí majitel sám aplikací dvakrát denně 2 až 4 kapátek roztoku do nemocného zvukovodu.

Ze 120 psů, léčených antibiotiky, nepodařilo se úplně vyléčit pouze pět chronických léta trvajících případů, které byly již indikovány pro chirurgický zákrok.

Souhrn

Ve statistice nemocnosti psů na I. interním oddělení Krajské veterinární nemocnice v Pardubicích byla diagnostikována během dvou a čtvrtletého sledování u 9,5 % případů *otitis externa*. Naše pozorování neliší se v průměru od jiných autorů, kteří uvádějí výskyt otitid od 3 do 16 %. Tyto statistické údaje jsou ovlivněny okolností, zda pocházejí z polykliniky pro malá zvířata (v součtu pacientů jsou zahrnuty i chirurgické případy) nebo zda jde o údaje vnitřních oddělení.

Z naší skupiny psů, sestavených podle rasy, nelze dělat závěry o vlivu tvaru ušního boltce a ochlupení na vznik otitidy, poněvadž maximální zastoupení německých ovčáků ve skupině přímo souvisí s maximálním zastoupením této rasy u našich klinických pacientů vůbec.

Zajímavé poznatky přineslo bakteriologické vyšetření uší nemocných i zdřevělých psů.

V sestavě 155 zánětů zevních zvukovodů (155 jednotlivých uší) vyskytují se tyto mikroby: *Staphylococcus pyogenes aureus hemolyticus* 77krát, enterococcy 28krát, *Staphylococcus albus*—22krát, beta streptococcy převážně ze skupiny C 20krát, *Staphylococcus albus hemolyticus* 12krát, sporulující mikroby 10krát,

Escherichia coli devětkrát, *Bacillus antracoides* devětkrát, *Proteus vulgaris* devětkrát, *Corynebacterium pseudodiphtheriae* osmkrát, *Alfa streptococcus* sedmkrát, *Pseudomonas aeruginosa* pětkrát, *Bacillus subtilis* dvakrát, plísňe jednou, pneumococcus jednou, *Escherichia coli hemolytica* jednou, *Corynebacterium pyogenes* jednou a jen v sedmi případech nebyly zjištěny žádné mikroby.

Ve srovnání s nálezy Farrahovými a spol. (2), Sertha (18), Schoopa (20), Čiriče a Mihajloviče (1) je naše mikroflóra daleko pestřejší. Patogenních mikrobů, které by mohly ohrozit i člověka, je zde celá řada (stafylokoky, streptokoky, *E. coli hemolyt.* atd.). Většina zahraničních autorů však skončila svá pozorování u těchto poznatků a vyvodila z nich ne zcela správné závěry, když se snažila hledat v této mikroflóře specifické původce otitidy.

Do jaké míry působí totiž tyto mikroby specificky ukáže nám naše sestava 33 výtěrů ze zvukovodů zdravých psů, i když tato naše skupina je téměř pětkrát menší než skupina psů nemocných (155 uší).

Ze zdravých psů bez nejmenších klinických příznaků otitid byly izolovány tyto mikroby: enterococcy 22krát, *Staphylococcus albus* 18krát, sporulující mikroby 13krát, *Staphylococcus pyogenes aureus hemolyticus* 12krát, *Streptococcus alfa* šestkrát, *Streptococcus beta* ze skup. C šestkrát, *Escherichia coli* pětkrát, *Proteus vulgaris* jednou a *Pseudomonas aeruginosa* též jednou.

Vzhledem k tomu, že tato skupina je pětkrát menší než předchozí, obsahuje relativně více druhů mikrobů při téměř stejném procentuálním zastoupení patogeních stafylokoků a streptokoků.

Z uvedeného lze soudit, že řada patogenních mikrobů běžně saprofytuje v zevním zvukovodu u psů a že při souhře celé řady vlivů (nečistota, podráždění kůže, voda, zmnožení mazu, zaviněné špatným čištěním uší atd.), podmiňujících zánět zevního zvukovodu, se tyto mikroby uplatní teprve druhotně.

Za nejzávažnější příčinu, podmiňující vznik *otitis externa*, je nutno podle našich pozorování považovat špatnou péči o zevní zvukovod u psa a jeho nedostačující či žádné čištění. Zmnožení mazu, který není pravidelně odstraňován a který si pes nemůže sám odstranit, eventuálně vniknutí špinavé vody do vnějšího zvukovodu tvoří vhodné podmínky pro vznik zánětu i vhodné prostředí k sekundárnímu pomnožení patogenních mikrobů, jinak za fyziologických podmínek jen saprofytujících ve vnějším zvukovodu.

V naší sestavě nebyla ani jedenkrát prokázána parazitární etiologie *otitis externa*, ačkoliv jsme všechny podezřelé případy kontrolovali mikroskopicky.

Při léčení, u něhož dochází nejprve k mechanickému vyčištění postiženého ucha, uplatní se použité specifické antibiotikum v masti nebo v roztoku proti druhotně exponované mikroflóře a urychlí vyléčení zánětu. Z námi používaných přípravků se nám nejlépe osvědčil Tyrotricin, směs antibiotik Tyrocidinu a Gramicidinu. Vhodná a i pro laika snadná aplikace roztoku kapátkem zkracuje délku léčení i finanční náklad na ně, tekutina se vlastně již jen přidává do zvukovodu nejprve důkladně vyčištěného, takže majitel psa — laik — nemusí se dostat do styku s orgány v hloubce ucha a neohrožuje bubínek.

Literatura

1. V. Čirič, B. Mihajlovič: Prilog lečenju otitis externa. Acta veter. (Jugoslavie) 1957, vol. VII, fasc. 2, str. 51-57. — 2. Farrag H., Hosny, Mahmoud A.: Otorrhea in Dogs Caused by *Pseudomonas aeruginosa*. JAVMA 1953, 122, 35 ref. Sch. A. f. T. 1954, 5, 276. — 3. Froehlich, W. Stulen: 701, T. U. 1955, 11. — 4. Georgi A.: T. U. 1952, 7, 79. — 5. Gustavson B.: Nord. Med.-vet. 1954, 6, 434 ref. Med. Weter. 1955, 2, 116. — 6. Hlaváček V.: Následky na OLR orgánech při

koupání. Č. L. Č. 1956, XCV, 6, 160-164. — 7. Jacob J.: Innere Krankheiten des Hundes Stuttgart 1924. — 8. Kafka H., Rokower M.: W. T. M. 1953, 150-154. — 9. Komárek J.: Ústní sdělení. — 10. Konrád J., Klimeš B.: Choroby psů. Naše vojsko, Praha 1955. — 11. Koller K.: Předneseno ve Věd. společnosti - zájmové skupině Kynologie 1958. — 12. Kostner M., Silbert P.: Terramycin in der tierärztlichen Praxis. T. U. 1957, 7, 230. — 13. Král Fr.: Veterinární dermatologie, Brno 1931. — 14. Lokse A., Löffler K.: Erfahrungen mit der Supracillin forte Suspension in der Kleintierpraxis. T. U. 1956, 5, 179-181. — 15. Manning R.: Infektionskrankheiten. Jena 1952. — 16. Otten E.: Beitrag zur Otitis externa parasitaria. Die Bekämpfung der Otodectes Milbe bei Katze und Hund. T. U. 1952, str. 423-425. — 17. Röchen H.: Beitrag zur operativen Behandlung der Otitiden des Hundes. Ber. uM. T. W. 1954, 67, 22, 357-361. — 18. Serth G. W.: Otitis externa in the Dog and Cat. Vet. Rec. 1954, 66, 254. — 19. Schneider H.: Bösartige Neubildungen als Ursache von einseitiger Otitis bei zwei Hunden u. einer Katze. M. f. V. M. 1956, 17, 396-397. — 20. Schoop G.: Otitis externa - eine Blastomycose? DTW, 216, 1951, ref. Veterinářství 1955, 6.

V závěru této práce považuji za svou milou povinnost poděkovat dr. Dubnovi z Krajské hygienicko-epidemiologické stanice v Havlíčkově Brodě za cennou, ochotnou a rychlou spolupráci při bakteriologickém vyšetřování našich případů a při zjišťování citlivosti na antibiotika.

Воспаление наружного слухового прохода у собак, его этиология и лечение

В предисловии к своему труду автор обращает внимание на этиологию, статистическую оценку, клинические признаки и течение воспаления наружного слухового прохода у собак.

Он испытывает симптоматические и специфические методы лечения, особенно методы с применением новейших антибиотиков.

Сама работа посвящена оценке 130 случаев воспаления наружного слухового прохода, что составляет 9,5% всех собак, подвергавшихся лечению в течение двух с четвертью лет в 1 отделении по внутренним болезням Областной ветеринарной клиники в Пардубицах.

Эритематозно-чешуйчатое воспаление наружного слухового прохода было установлено у 89 собак, эритематозно-церуминозное воспаление наружного слухового прохода у 16 собак, сквамозно-крупозное воспаление наружного слухового прохода у 10 собак, пустулезное воспаление наружного слухового прохода у 3 собак, ульцерозное воспаление наружного слухового прохода у 6 собак, хроническое гиперпластическое воспаление наружного слухового прохода у 6 собак.

Из 130 ветеринарных случаев воспаления наружного слухового прохода бактериологически исследовано было 86 собак, из которых 17 было с односторонним воспалением, 69 с двусторонним воспалением; всего было бактериологически исследовано 155 больных слуховых проходов.

Обнаружены были следующие возбудители: *Staphylococcus pyogenes aureus hemolyticus* 77 раз, энтерококки 28 раз, *Staphylococcus albus* 22 раза, *Streptococcus beta* главным образом из группы С 20 раз, *Staphylococcus albus hemolyticus* 12 раз, спорообразующие микробы 10 раз, *Escherichia coli* 9 раз, *Bacillus anthracoides* 9 раз, *Proteus vulgaris* 9 раз, *Corynebakterium pseudodiphtheriae* 8 раз, *Streptococcus alfa* 7 раз, *Pseudomonas aeruginosa* 5 раз, *Bacillus subtilis* 2 раза, плесени 1 раз, пневмококки 1 раз, *Escherichia coli hemolytica* 1 раз, *Corynebakterium pyogenes* 1 раз, и только в 7 случаях не было установлено никаких микробов.

С целью сравнения было бактериологически исследовано 33 мазка из слухового прохода здоровых собак, причем были обнаружены следующие возбудители: энтерококки 22 раза, *Staphylococcus albus* 18 раз, спорообразующие микробы 13 раз, *Staphylococcus pyogenes aureus hemolyticus* 12 раз, *Streptococcus alfa* 6 раз, *Streptococcus beta* из группы С 6 раз, *Escherichia coli* 5 раз, *Proteus vulgaris* 1 раз, *Pseudomonas aeruginosa* 1 раз.

При сравнении обеих групп автор пришел к заключению, что патогенная микрофлора обычно встречается и в слуховых проходах здоровых собак, так что в подавляющем большинстве случаев нельзя считать ее специфическим этиологическим агентом воспаления.

Активизация микрофлоры происходит только лишь вторичным путем после

предварительного воздействия некоторого влияния, как загрязнение слухового прохода, накопление ушной серы вследствие недостаточного соблюдения чистоты уха, проникновение грязной воды в слуховой проход при купании собаки, изменение реакции pH в слуховом проходе первоначальной кислотой в щелочную и т. п.

Главным профилактическим приемом нужно считать регулярно повторяющееся удаление ушной серы и грязи из слуховых проходов здоровых собак.

При лечении больных собак автор применял 1,5% Acidum aceticum 10 собак, пенициллиновую мазь у 50 собак, стрептомициновую мазь у 15 и хлорамфениколовую мазь у 5 собак. Наиболее пригодным оказался Tyrotricin, примененный у 50 последних собак, ввиду его удобного и легкого применения, а также хорошего лечебного эффекта.

Die Entzündung des äußeren Gehörganges beim Hund, ihre Ätiologie und Behandlung

In der Einleitung befaßt sich der Autor mit der Ätiologie, statistischer Bewertung, klinischen Symptomen und dem Verlauf der Otitis externa bei Hunden. Symptomatische und spezifische Behandlungsmethoden mit besonderer Berücksichtigung der modernen Antibiotika werden analysiert.

In der Arbeit selbst bewertet der Autor 130 Fälle von Otitis externa, welche 9,5 % aller in der I. internen Abteilung des Kreisveterinärkrankenhauses in Pardubice im Laufe von zwei und Viertel Jahren behandelten Fälle bildeten.

Es wurden folgende Typen von Otitis festgestellt:

Otitis externa erythematos squamosa bei 89 Hunden, Otitis externa erythematos ceruminosa bei 16, Otitis externa squamocrustosa bei 10, Otitis externa pustulosa bei 3, Otitis externa ulcerosa bei 6, Otitis externa chronica hyperplastica bei 6 Hunden.

Bakteriologische Untersuchung wurde bei 86 von 130 behandelten Hunden durchgeführt; von diesen hatten 17 Hunde einseitige, 69 Hunde beiderseitige Otitis, im Ganzen wurden 155 bakteriologische Untersuchungen der kranken Gehörgänge unternommen.

Folgende Keime wurden ermittelt: Staphylococcus pyogenes aureus hemolyticus 77 mal, Enterokokken 28 mal, Staphylococcus albus 22 mal, Streptococcus beta vorwiegend aus der Gruppe C 20 mal, Staphylococcus albus hemolyticus 12 mal, sporulierende Mikroben 10 mal, Escherichia coli 9 mal, Bacillus antracoides 9 mal, Proteus vulgaris 9 mal, Corynebacterium pseudodiphtheriae 8 mal, Streptococcus alfa 7 mal, Pseudomonas aeruginosa 5 mal, Bacillus subtilis 2 mal, Milben 1 mal, Pneumokokken 1 mal, Escherichia coli hemolytica 1 mal, Corynebacterium pyogenes 1 mal, und nur in 7 Fällen wurden keine Mikroben ermittelt.

Zwecks Vergleichung wurden 33 Ausstriche aus den Gehörgängen der gesunden Hunde untersucht; folgende Keime wurden ermittelt: Enterokokken 22 mal, Staphylococcus albus 18 mal, sporulierende Mikroben 13 mal, Staphylococcus pyogenes aureus hemolyticus 12 mal, Streptococcus alfa 6 mal, Streptococcus beta aus der Gruppe C 6 mal, Escherichia coli 5 mal, Proteus vulgaris 1 mal, Pseudomonas aeruginosa 1 mal.

Durch Vergleichen beider Gruppen wurde erkannt, daß die pathogene Mikroflora auch in den Gehörgängen gesunder Hunde geläufig gefunden werden kann und in meisten Fällen für spezifisches ätiologisches Agens der Entzündung nicht gehalten werden kann. Zur Aktivierung der Mikroflora kommt es erst sekundär, nachdem sich einer von der ganzen Reihe von Einflüssen vorgehend geltend gemacht hatte, wie z. B. die Unreinlichkeit in dem Gehörgange, das Vermehren von Ohrschmalz infolge unzulänglichen Reinigens, das Eindringen schmutzigen Wassers in den Gehörgang beim Waschen und Baden des Hundes, die Veränderung von pH im Gehörgange von der ursprünglich sauren Reaktion in eine alkalische, u. ä.

Als Grundmoment der Vorbeugung sollte regelmäßige, wiederholte Beseitigung des Ohrschmalzes und der Unreinlichkeit aus dem Gehörgange der gesunden Hunde angesehen werden.

Bei der Behandlung der kranken Hunde wurde Acidum aceticum 1,5% bei 10 Hunden verwendet, Penicillin-Salbe bei 50 Hunden, Streptomycin-Salbe bei 15 Hunden, Chloramfenikol-Salbe bei 5 Hunden. Am besten hat sich der bei den 50 letzten Hunden verwendete Tyrotricin wegen geeigneter und bequemer Applikation und guter Heilwirkung bewährt.

Nadhraniční útlum a jeho latentní doba u služebních psů

Сверхпредельное торможение и его латентный период у служебных собак

Überschwellige Dämpfung und ihre latente Dauer bei Diensthunden

M. KÚZEL

Ze zootechnického ústavu VF Brno, přednosta doc. dr. M. Pařízek

Došlo dne 24. IX. 1956

Úvod

Při výcviku služebních psů můžeme pozorovat, že povely, na které vycvičení psi velmi přesně reagují, ztrácejí při jednotvárném cvičení svou působivost. Pes reaguje na povely stále pomaleji a ospaleji, až se jeho pohyby podobají pohybům psa velmi unaveného a vyčerpaného. Jak působila jednotvárnost povelů na psy, bylo pozorováno při nácviku ukázek z výcviku služebních psů na I. celostátní spartakiádu. Během 30ti minut nereagovali psi na povely svých psovodů a usínali, aniž by byli fyzicky vyčerpaní. Podobné obtíže se psy byly v soustředění psovodů a psů pro reprezentační družstvo mezinárodních závodů ve výkonu služebních psů. Při kterékoliv návštěvě cvičiště služebních psů je možné pozorovat, že cvičení je stále totéž, že se provádějí neustále cviky poslušnosti psa u nohy psovoda a že psi reagují na povely svých cvičitelů čím dál, tím hůře. Kynologická literatura (M a t o u š e k, P o d h o r s k ý, Š t ů l a) popisuje tyto úkazy při výcviku služebních psů, ale neobjasňuje jejich vznik. „Není radno psa znuditi a unaviti stále stejným cvičením. Jako člověk tak i pes má rád změnu“ (P o d h o r s k ý). Psovodi služebních psů se však řídí heslem, které vystihl F. K u n c e: „Pod jménem vycvičený pes si představuji psa, který provádí určitý výkon, jemuž byl naučen, 1. kdy já chci, 2. jak já chci, 3. kolikrát já chci.“ Bohužel jsem byl nejednou svědkem zbytečného týrání psa, který odmítl po několikerém opakování téhož cviku, provádět žádaný úkon.

Ve své práci jsem se zaměřil na tento útlum u služebních psů, jeho latentní periodu a zkoušel jsem u jednotlivých psů meze tak zv. maximální poslušnosti.

Metodika

V pokusech jsem používal služební psy, kteří byli vycvičení, měli výcvikové zkoušky služebních psů, byli zařazení pro své výkony do krajského družstva a psy, kteří ještě zkoušku neměli, byli však již natolik vycvičení, aby mohli sloužit k po-

kusům. Pokusy byly prováděny v takovém místě, kde byl psovod se psem izolován od nežádoucích rušivých podnětů akustických i optických z vnějšího prostředí. Celý pokus jsem rozdělil na dvě fáze.

F á z e „a“

Psovod se psem na vodítku u levé nohy. Pes je před cvičením. Podmíněným podnětem je povel psovoda, který je pronášen tímž hlasem o stejné síle a intonaci, s tímž gestem či pohybem paže. Nejříve byl změřen čas efektu pohybového reflexu z polohy stoje do polohy sedě psa na podmíněný podnět „sedni“. Po jedné minutě volna psa v blízkosti psovoda byl změřen čas podmíněného reflexu pohybového z polohy v sedě do polohy leže na podmíněný podnět „lehni“. Po další minutě volna psa byl změřen efekt pohybového reflexu z polohy psa v leže do polohy sedě. Podmíněný podnět byl „sedni“. Psu byla dána volna na dobu jedné minuty.

F á z e „b“

Pes byl připoután na vodítko v poloze sedě u levé nohy psovoda. Se zazněním povelu „lehni“ byl měřen čas. Jakmile pes uleh, byl dán povel „sedni“, při usednutí psa znovu povel „lehni“ atd. až do doby, kdy pes na první povel úkon neprovedl a při zaznění opakovaného povelu bylo měření času skončeno. Záporná reakce psa na první povel byla brána jako měřítko nastávajícího útlumu.

Celý tento průběh pokusu byl opakován po skončení normálního cvičení služebních psů. Čas byl měřen ve vteřinách.

V ý s l e d k y

Celkem jsem provedl měření na 21 psech. 7 psů bylo měřeno před a po cvičení téhož dne, 4 psi byli měřeni v rozpětí až 14 dnů, 11 psů bylo měřeno před cvičením. 18 psů mělo zkoušky z výkonu služebních psů a 3 psi byli bez zkoušek (tab. I.).

H o d n o c e n í v ý s l e d k ů a d i s k u s e

Z uvedených výsledků je patrné, že jsou značné rozdíly ve vyvolání útlumových procesů u služebních psů. Pokusní psi č. 4, 6, 7, 18 měli průměrný časový rozdíl fází pokusu „a“ a „b“ před cvičením horší než po cvičení, kdy se dalo předpokládat, že je namáhavé cvičení fyzicky unaví. Cvičení, které trvalo průměrně jednu hodinu, zahrnovalo tyto cviky: obraty na místě, chůzi při noze na vodítku a bez vodítka, obraty při chůzi, cviky „sedni“, „lehni“, „vstaň“, plížení, přinášení předmětů, skoky před překážky až 2 m vysoké, chůzi po žebříku, skoky před 3 m příkop, vyhledání pachatele v nepřehledném terénu, zneškodnění a zadržení pachatele při jeho pokusu o útěk a hlídání pachatele.

Tato namáhavá cvičení se nijak neprojevila na psu č. 4, který po cvičení provedl ve „b“ fázi pokusu o 12 cviků více než před cvičením, u psa č. 6 o 7 cviků více a u psa č. 8 o 6 cviků více.

Psi č. 8 a 11 měli průměrný rozdíl časů, potřebných k provedení cviků při pokusu stejný před cvičením a po cvičení.

Psi č. 12, 13 a 14 měli průměrný čas potřebný k provedení cviků pokusu ve fázi „b“ o 0,8 vteřiny lepší, než průměrný čas potřebný k provedení cviků ve fázi

I.

Pes č.	Zkoušky	Průměrný čas pokusů fáze „a“	Průměrný čas pokusů fáze „b“	Rozdíl časů „a“ „b“	Počet podm. reflexů do útlumu	Latentní doba	Před, po cvičení	Měřeno dne
1.	ZVIII OPII	1,5 0,9	1,6 1,7	0,1 0,8	93 40	151,5 68,4	před po	22. 3. 3. 4.
2.	ZVIII OPI	1,6 2,3 1,7	3,4 2,9 3,0	1,8 0,6 2,3	13 6 4	46,2 17,5 12,0	před před před	22. 3. 29. 3. 3. 4.
3.	—	2,9 2,1 2,2	3,0 2,6 2,5	0,1 0,5 0,3	36 27 22	111,2 70,2 55,8	po před po	22. 3. 3. 4. 3. 4.
4.	ZVI OPII	1,2 1,5	1,9 2,0	0,7 0,5	25 37	45,0 76,5	před po	22. 3. 27. 3.
5.	ZVII OPI	1,4 2,1 1,5	2,3 2,6 4,0	0,9 0,5 2,5	6 3 2	14,2 8,6 9,0	před po po	27. 3. 3. 4. 5. 4.
6.	ZVIII OPI	1,4 1,5	1,9 1,7	0,5 0,2	26 33	49,6 57,5	před po	3. 4. 3. 4.
7.	ZVIII OPI	0,7 1,7 1,8 1,5	1,8 2,7 2,1 2,5	1,1 1,0 0,3 1,0	21 16 42 32	41,7 44,5 89,8 81,0	před po před po	22. 3. 29. 3. 5. 4. 5. 4.
8.	ZVIII	1,0 1,5 1,5	1,4 1,8 1,8	0,3 0,3 0,3	22 24 30	31,5 45,3 54,5	před před po	27. 3. 5. 4. 5. 4.
9.	ZVIII OPII	1,6	2,1	0,5	56	121,7	před	22. 3.
10.	ZVI	1,1	2,7	1,6	6	16,7	před	27. 3.
11.	ZVIII OPII	1,3 1,2 1,6	1,5 1,4 1,8	0,2 0,2 0,2	35 29 12	54,0 42,5 21,6	před před po	29. 3. 5. 4. 5. 4.
12.	ZVII	2,4	1,6	-0,8	40	65,4	před	3. 4.
13.	ZVII	2,7	1,9	-0,8	35	66,6	před	3. 4.
14.	ZVII OPI	2,7	1,9	-0,8	7	20,0	před	3. 4.
15.	—	0,9	1,9	1,0	10	19,4	před	1. 4.
16.	ZVI	0,8	1,3	0,5	19	25,6	před	1. 4.
17.	—	0,7	1,8	1,1	26	45,0	před	1. 4.
18.	ZVI	0,7 1,3 1,1	1,6 1,7 1,9	0,9 0,4 0,8	45 69 60	72,5 120,0 117,5	před před po	29. 3. 3. 4. 3. 4.
19.	ZVIII OPI	0,9	1,5	0,6	44	68,0	před	5. 4.
20.	ZVI	1,7	2,2	0,5	15	33,9	před	3. 4.
21.	ZVII OPII SPI	0,8 1,0	2,2 3,5	1,3 2,5	18 4	40,0 14,2	před po	5. 4. 5. 4.

„a“ téhož pokusu. Tyto výsledky poukazují na to, že zřejmě nešlo o únavu svalovou, nýbrž že útlumový proces byl vyvolán jiným činitelem. Aby bylo možné vysvětlit si, proč služební psi neposlechnou při jednotvárném cvičení na první povel (a u některých psů je to velmi brzy) (viz psi č. 2, 5, 10, 14), cituji I. P. Pavlova: „Je rovněž běžným faktem, že podmíněné podněty při opakování průběhem jednoho pokusu, rychle ztrácejí svůj kladný efekt, často dokonce i při jediném opakování.“ Dále říká Pavlov: „Spojíme-li efekt úderu metronomu se stavem korové buňky, je třeba z toho vyvodit závěr, že se tato buňka vyčerpává funkčně při častém dráždění a pro nedostatek času k restituci přechází do stavu úplného útlumu.“ Servít říká o tomto jevu: „Okolnost, že příliš vystupňované podráždění automaticky přechází po překročení určité hranice v útlum (tak zv. nadhraniční útlum), je biologicky velmi závažná. Útlum chrání vzrušivou soustavu před úplným vyčerpáním energetických rezerv, případně před nenapravitelným poškozením.“

II. Výsledky pokusů se služ. psy u nichž byly podmíněné reflexy pohybové posíleny opakováním podmíněných a nepodmíněných podnětů od okamžiku, kdy se projevil útlum

Pes č.	Před, po cvičení	Počet pod. reflexů do útlumu	Posíleno počtem nepodm. podnětů	Celkem počet podm. opakov. ných podnětů	Počet pod. reflexů navíc	Celkem vypracoval pod. refl.	Měřeno dne
20.	před	15	5	5	56	71	3. 4.
3.	před	27	1	5	20	47	3. 4.
18.	po	60	—	22	158	218	3. 4.
11.	před	29	3	1	13	42	3. 4.
21.	před	18	3	4	29	47	3. 4.
8.	před	24	3	—	30	54	5. 4.
7.	před	42	—	1	8	50	3. 4.

Únavu svalovou je nutné vyloučit i tehdy, když bylo v pokuse ve fázi „b“ pokračováno a pes č. 20 po první známce útlumu, tehdy, kdy bylo nutné opakovat povel, provedl z původních 15 cviků na jediný rozkaz psovoda dalších 56 cviků navíc, při nichž bylo během pokusu použito 5 opakování podmíněného podnětu (povelu) a 5 posílení nepodmíněnými podněty taktilními (tah obojku), než útlum dostoupil takových mezí, že nepomohlo ani 5 povelů navíc, aby pes úkon provedl.

Pes č. 3 z pokusu 3. dubna provedl před cvičením po první známce útlumu ještě 20 cviků navíc, kdy bylo použito během pokusu summace pěti podmíněných podnětů a jednou byl posílen nepodmíněným podnětem.

Podobně to bylo u psa č. 18, který v pokuse z 3. dubna po cvičení provedl po první známce útlumu 158 cviků navíc. Do úplného vyčerpání byl pouze opakován 22krát podmíněný podnět.

Pes č. 11 byl posílen 3krát nepodmíněným podnětem a jednou opakováním povelu, aby zvýšil počet cviků z 29 na 42.

U psa č. 21 byl před cvičením opakován povel 4krát a 3krát byl posílen nepodmíněným podnětem. Zvýšil počet cviků z 24 na 54.

Pes č. 7 zvýšil v pokuse před cvičením počet cviků z 42 na 50. Bylo použito jednou opakování povelu po první známce útlumu.

Z těchto výsledků soudím, že nešlo o únavu svalovou ani o vyhasínací útlum. Výsledku pokusů u psů č. 3, 6 a 8 jasně ukazují, že pozorovaný a zaznamenaný útlum nebyl projevem fyzické únavy. Aplikujeme-li tyto výsledky na slova I. P. Pavlova ve čtvrté přednášce, kde říká o únavě sekrečních orgánů při pokusech se slinnými reflexy, docházíme tím i k závěru, že v těchto pokusech nešlo o vyhasínací útlum: „Že nemůže být řeči o nějaké únavě vlastních sekrečních elementů, je zřejmé ze všeho našeho faktického materiálu, neboť stále posilované podmíněné reflexy dávají ohromná množství slin při sebečastějším opakování; a obnovy vyhaslého reflexu se dosáhne jediným vyvozením sekreční činnosti při aplikaci nepodmíněného podnětu.“

Stačí tedy jediná aplikace nepodmíněného podnětu a podmíněný reflex, který by vyhasnul, způsobí znovu efekt nových pohybových podmíněných reflexů. Nejmarkantnější je to vidět na psu č. 8, který po trojím posílení nepodmíněným podnětem provedl dalších 30 úkonů navíc. Nepodmíněnými podněty byli dále posilováni psi č. 20, 3, 11, 21. Všichni tyto psi provedli určitý počet úkonů navíc. Tyto výsledky by tedy nasvědčovaly tomu, že jde o vyhasínací útlum. Tito psi však po určité době přestali vůbec pracovat, jejich celkový útlum dostoupil takových mezí, že psi zůstali ležet a nepomohly žádné další nepodmíněné podněty anebo summované podmíněné podněty, aby psi provedli daný úkol.

Proti vyhasínajícímu útlumu dále mluví výsledky psa č. 18, kterému byl vždy po záporném efektu pohybového podmíněného reflexu summován podmíněný podnět, nikdy během pokusu nebyl posílen nepodmíněným podnětem. Tento pes provedl celkem 218 podmíněných reflexů pohybových, z nichž 158 bylo 22krát summováno jedním opakováním podmíněného podnětu. U tohoto psa byla po nastalém útlumu rovněž patrná naprostá nevnímavost vůči podmíněným i nepodmíněným podnětům. I. P. Pavlov ve své čtrnácté přednášce říká: „Buňka přechází do stavu útlumu i při posilování. To, že se v ní rozvíjí útlumový stav, když nedochází k posílení, je zvláštní případ všeobecnějšího vztahu. Buňka pod vlivem podráždění směřuje neustále, byť i někdy pomalu, k přechodu do stavu útlumu. Nepodmíněný podnět pouze brzdí tento přechod.“

Popsané jevy při pokusech rovněž vyvracejí domněnku, že by šlo o zpoždování. Během celého pokusu psi č. 1, 4, 6, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 a 19 prováděli správné pohybové podmíněné reflexy na povely „sedni“ a „lehni“ ve fázi „b“ do dvou vteřin v průměru na jeden pohyb. Ostatní psi do čtyř vteřin. Při značné rychlosti střídání jednotlivých podmíněných podnětů a jejich správným provedením nemohlo docházet k útlumu vlivem zpoždování. I. P. Pavlov ve čtrnácté přednášce říká: „Zpoždování je to, co nazýváme latentní periodou, vytváří se krátce po vypracování každého podmíněného reflexu a trvá pak delší nebo kratší dobu beze změn.“ V našem případě je to tedy doba, která uplyne od zaznění podmíněného podnětu (povelu) do skončení pohybového efektu z lehu do sezení anebo naopak.

Protože byli k pokusům vybráni služební psi dobře vycvičení a že bylo použito velmi silných a pevných podmíněných reflexů „sedni“ a „lehni“, nemůžeme konečný útlum zaměňovat s útlumem diferenciativním. Během pokusu jak ve fázi „a“ tak i „b“ docházelo u všech psů ke správné diferenciaci podmíněných podnětů.

Konečný útlum, jak byl pozorován u 21 služebních psů, nebyl tedy způsoben ani svalovou únavou, nebyl projevem ani vyhasínacího, či zpoždovacího nebo diferenciativního útlumu, ale tento jev byl projevem nadhraničního útlumu. Prvním projevem tohoto nadhraničního útlumu byl záporný efekt pohybového podmíněného reflexu v sérii krátce za sebou jdoucích úkonů v pokusu ve fázi „b“. Latentní doba prvního projevu nadhraničního útlumu je u těchto psů různá.

Praktičtí kynologové se setkávají denně s těmito procesy a označují je jako tzv. přepracování psa. Je zajímavé, že tato přepracování jsou výrazná jen u některých psů. Bezesporu to souvisí s typologickými vlastnostmi vyšší nervové činnosti. Pokusní psi č. 1, 3, 5, 7, 11, 18 a 21 měli výraznější nadhraniční útlum po cvičení než před cvičením. Protože tyto psy jsem znal déle než jeden rok a z diskuse s jejich psovody vyplynulo, že je jednotvárné cvičení „znudí“, domnívám se, že u těchto psů by se mohl opakováním cviků stejného charakteru vyvinout ochranný útlum s klinickými projevy.

Souhrn

a) Byla řešena otázka nadhraničního útlumu u služebních psů opakováním cviků stejného charakteru.

b) Na 21 psech bylo dokázáno, že latentní doba, potřebná k prvnímu projevu nadhraničního útlumu je různě dlouhá a neodpovídá jí zcela přesně počet podmíněných reflexů.

c) Propracováním této metodiky by se mohlo dospět k rámcovému určování typů vyšší nervové činnosti u služebních psů.

Literatura

Kunec F.: Pes, jeho přirozenosti a jejich aplikace pro praktický chov a výcvik, Úpice 1944. — Pavlov I. P.: Sebrané spisy, díl IV. — Čtvrtá a čtrnáctá přednáška. Praha 1953. — Podhorský J.: Výcvik psa, Pardubice 1947. — Servít Z. doc. dr.: Fysiologie vyšší nervové činnosti, učební texty vysokých škol, Praha 1952. — Štůla J.: Výcvik psa, Praha 1953.

Сверхпредельное торможение и его латентный период у служебных собак

a) Был решен вопрос сверхпредельного торможения у служебных собак путем повторных упражнений одинакового характера.

b) На 21 собаке было доказано, что латентный период, необходимый для первого проявления сверхпредельного торможения, различен по длине и не вполне соответствует числу условных рефлексов.

в) Разработка этой методики могла бы способствовать установлению в общих чертах типов высшей нервной деятельности служебных собак.

Überschwellige Dämpfung und ihre latente Dauer bei Diensthunden

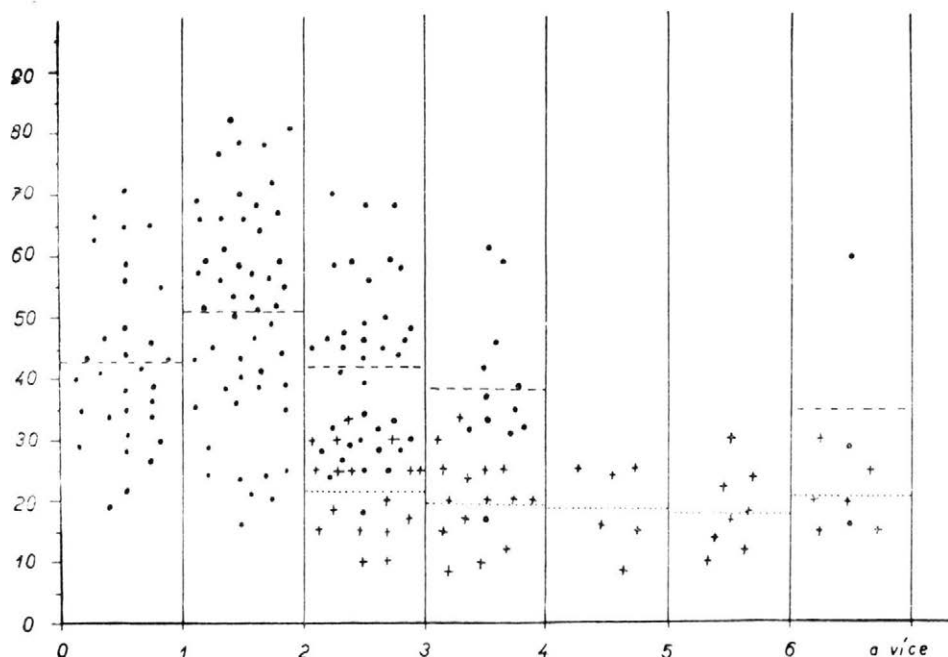
a) Die Frage der überschwelligen Dämpfung bei Diensthunden durch Wiederholung von Übungen gleichen Charakters wurde gelöst.

b) An 21 Hunden konnte bewiesen werden, daß die zum ersten Erscheinen der überschwelligen Dämpfung notwendige latente Dauer von verschiedener Länge ist und daß die Anzahl bedingter Reflexe derselben nicht ganz genau entspricht.

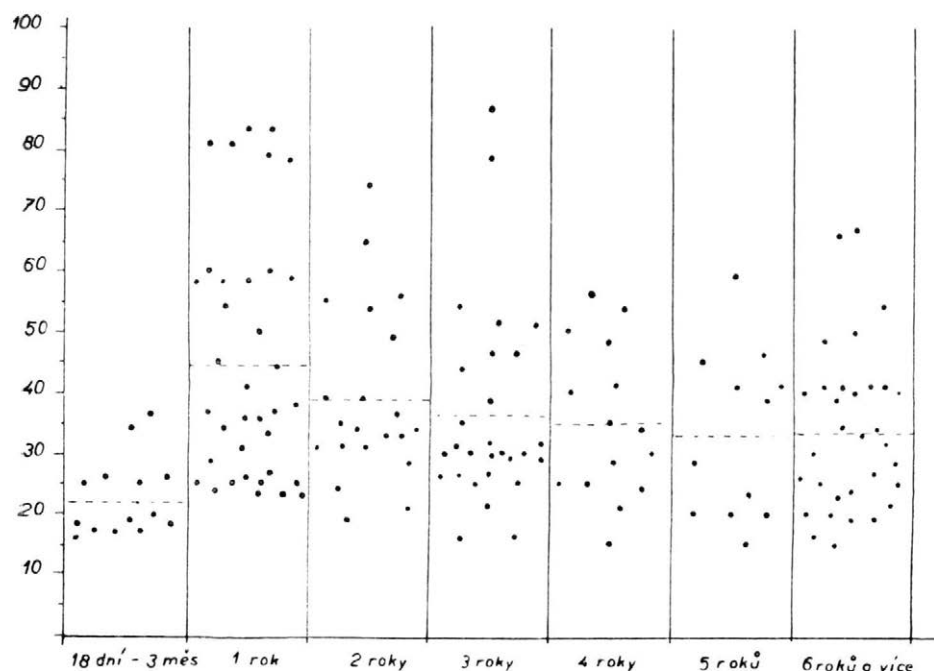
c) Durch Vervollkommen dieser Methodik könnte man zu einer rahmenmäßigen Typenbestimmung höherer Nerventätigkeit bei Diensthunden gelangen.

Oprava

Ve 4. čísle Sborníku Vet. medicína 1959 na str. 263 a 264 byly chybně otištěny grafy 2. a 4. ke článku M. Lebedy a M. Zýky: K možnosti využití resorpce solného pupene... Přetiskujeme dnes grafy s příslušnými správnými texty a prosíme čtenáře, aby si vzniklou chybu laskavě opravili. Redakce



Graf 2. Rozptyl a průměrná doba resorpce solného pupene u věkových skupin koní. Na svislé ose čas resorpce v minutách, na vodorovné ose věk koní. Body = koně normálně živení. Křížky = hřebci po jednodenní hladovce. Přerušovaná čára = průměrná doba resorpce u normálně živených koní. Tečkovaná čára = průměrná doba resorpce ve skupině hřebců po jednodenní hladovce



Graf 4. Rozptyl a průměrná doba resorpce solného pupene u věkových skupin skotu. Na svislé ose čas resorpce v minutách, na vodorovné ose věk zvířat. Přerušovaná čára = průměrná doba resorpce ve skupině.

