

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

10

ROČNÍK 15 (XLIII)
PRAHA,
ŘÍJEN 1970
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král (předseda), prof. MVDr. Koloman Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., doc. MVDr. Jozef Hrušovský, MVDr. Jaromír Lát, MVDr. Martin Lis, CSc., MVDr. Andrej Mačička, CSc., doc. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Jiří Srna, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc., doc. MVDr. Alojz Žuffa, CSc.

Vedoucí redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1970

■

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—.

■

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издаёт Институт научно-технической информации. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Слезска 7.

■

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Institute of Scientific and Technical Information. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7

■

Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben von Institut für wissenschaftlich-technische Informationen. Ercheint monatlich. Redaktion Praha 2, Slezská 7

■

Le journal scientifique VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publie les études, analyses et traités scientifiques concernant les tâches de recherches résous dans le domaine de médecine vétérinaire. Publie par l'Institut des renseignements scientifiques et techniques. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7

VYUŽITÍ MORFOLOGICKÝCH UKAZATELŮ KE KVALITATIVNÍMU HODNOCENÍ EJAKULÁTŮ

Z. Věžník

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

VĚŽNÍK Z. *Využití morfologických ukazatelů ke kvalitativnímu hodnocení ejakulátů.* Vet. Med. (Praha) (10) : 571-578, 1970.

Sledovali jsme morfologické ukazatele narušení povrchových struktur spermií. Bylo stanoveno, že barvicí metoda podle Hancocka dostatečně jasně znázorňuje změny na cytoplazmatickém reliktu. Výsledky prokázaly, že dynamika nárůstu strukturálních povrchových změn, sledovaných v průběhu čtyř hodin, je ve shodě se vzestupem mrtvých spermií a odpovídá poklesu indexu endogenní redukce a rychlosti pohybu. Na základě pozorování lze konstatovat, že při přesném diferenciálním cytomorfologickém vyšetření spermií je možno zaznamenat ukazatele, které lze považovat za přesvědčivé znaky narušení kvality ejakulátu, a tedy za diagnosticky směrodatné.

morfologie spermií; morfologie a vitalita; přežitelnost

Dosud stále platí (přes některé kritické poznámky), že morfologické vyšetření spermií patří mezi nejobjektivnější metody posuzování kvalitativní úrovně ejakulátů (G a m č í k 1966). Je ovšem nutné před takovýmto výrokem vymezit očekávanou informaci do patřičných dimenzí diagnostických kritérií a hlavně vztahu těchto ukazatelů k výhledovému posouzení fertilizační potence ejakulátu.

Údaje E i b l a (1959), M i l o v a n o v a (1962), N a g y h o (1965) a dalších poukazují na přítomnost abnormálních spermií v každém ejakulátu. Otázka procentuálního zastoupení těchto patologických spermií v ejakulátech, které mají být použity k osemenění, je stále předmětem diskusí, ale pro praxi je vymezeno maximum na 20 %.

Po klasických pracích W i l l i a m s e a S a v a g e (1925) a L a g e r l ö f a (1934) se věnovala otázkám patologických změn na spermiích a jejich vztahu k fertilitě celá řada autorů: H a n c o c k (1946, 1957); R o b (1962); H r u d k a a Z i b r i n (1964); M a r e k (1958); G a m č í k (1966); K a r r a s (1965, 1966); B i e l a ň s k i (1966); B l o m a A n d e r s e n (1965); V ě ž n í k (1961).

V poslední době se s rozvojem diagnostických spermiologických metod objevilo i několik prací přehodnocujících význam morfologických kritérií, poukazujících na subjektivismus hodnocení (V a n D u i j n 1963, 1967) nebo kritérií, která se rozcházejí s názorem na vztah abnormit spermií k fertilitě ejakulátu (S c h r ö d e r 1963).

Velká většina prací vychází při hodnocení abnormit z klasického dělení na primární a sekundární změny. Méně autorů si však již všimá charakteristiky sekundárních změn; jejich dynamiku sledují zcela ojediněle (B o u t e r s, V a n d e p l a s s c h e 1964).

Naši pozornost upoutala skutečnost, že abnormality povrchových struktur spermie, vznikající jako sekundární změny (a to jak v pohlavním traktu plemene, tak *in vitro*), nepostihují všechny spermie a nevznikají u jednotlivých spermií současně. Zaměřili jsme proto svou pozornost na charakter těchto změn, jejich frekvenci, dynamiku a vztah ke kvalitě ejakulátu.

MATERIÁL A METODA

V práci bylo použito ejakulátů plemenků z PS, u nichž jsme měli možnost jednorázově nebo i opakovaně provést celkové spermiologické vyšetření, a dále semene experimentálních býků ustájených na VÚVL. Základem materiálu bylo asi 900 ejakulátů, posouzených morfologickými metodami. Doplnující metodické studie byly udělány na 120 ejakulátech experimentálních býků.

Při sledování vzniku sekundárních změn *in vitro* byly ejakuláty uchovávány okamžitě, jakmile jsme získali naředění 1 : 10 ve fyziologickém roztoku pufového na 6,8 pH v termálních lázních při teplotě 30 °C po dobu sledování.

Pro morfologické posouzení spermií bylo použito metody Hancocka, která je dnes v praxi běžně používána (Hancock 1946, 1957, Rob 1962, 1963).

Jako srovnávací techniky pro průkaz mrtvých a živých spermií byl použit primulinový test (Věžík 1967).

K průkazu aktivity mitochondrií ve spermiích bylo použito testu endogenní redukce (Hrudka 1963, 1964, 1965, Rob 1967).

VLASTNÍ POZOROVÁNÍ

Při posuzování strukturálních abnormalit spermií jsme vycházeli z obecně uznávaného popisu skladby spermie. Detailní morfologická skladba hlavičky spermie není barvicími technikami zvýrazňována, a proto ve velké řadě případů není v literatuře dostatečný popis změn povrchových strukturálních složek, které můžeme nazvat cytoplazmatický relikt. Do tohoto označení na hlavičce spermie zahrnujeme povrchovou membránu, souvisle kryjící povrch spermie a mající svůj původ v buněčné membráně spermatidy, akrosom s jeho oběma listy a akrosomální hmotou a konečně i kalíšek jádra, tvořený vnějším listem a vrstvou mezi touto kapslí a membránou jádra.

Při používané barvicí technice sec. Hancock je nemožné diferencovat uvedené struktury pro jejich poměrně jednolitě difúzní zbarvení. Zůstává jen jasná kresba akrosomální oblasti, oddělené od kalíšku jádra segmentem označovaným jako aequatoriální prsteneček.

Při ovlivňování morfologické integrity spermie se velmi často setkáváme u zcela normálně vyvinutých jedinců se změnami, týkajícími se těchto povrchových struktur.

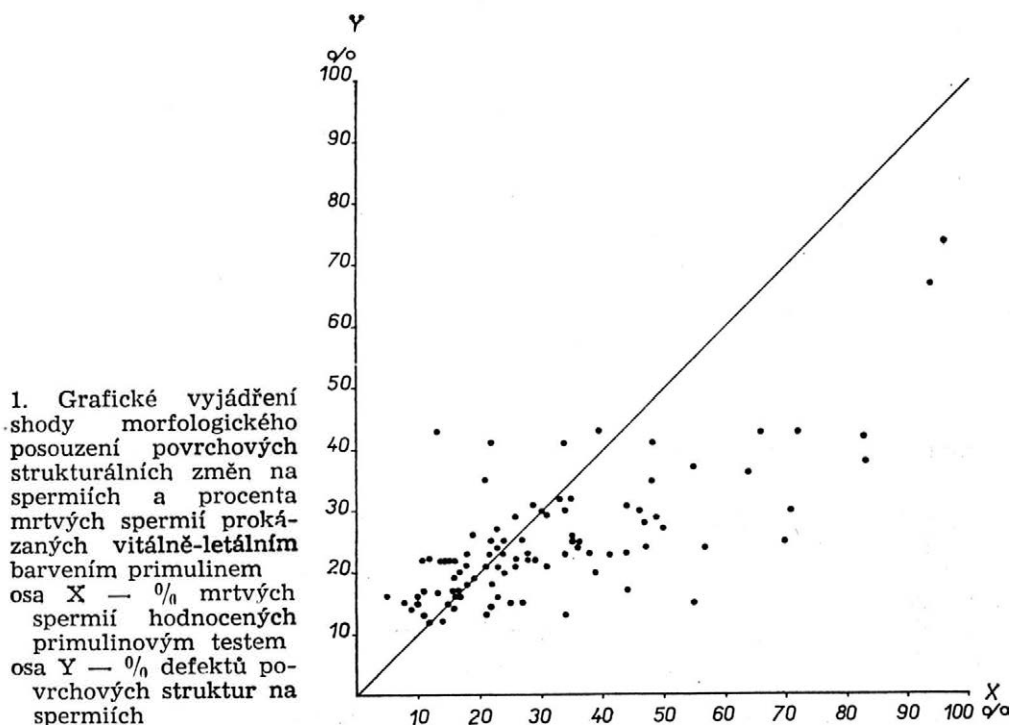
Povrchový cytoplazmatický relikt začne ztrácet svou jasnou konturu a difúzní homogennost tince. Nejdříve spatřujeme rozmazanost strukturální kresby, přesné vyznačení aequatoriálního prstence mizí, v důsledku nehomogenního rozložení materiálu, reaktivního s Giemsovým barvivem a jinými kyselými barvivy, se hlavička spermie rozmazává, až má mapovitě nezřetelnou kresbu. Tento stav je provázen projasňováním některých míst a tvorbou vakuol, které nacházíme jak v úseku akrosomu, tak v části kalíšku jádra.

Postupně přechází tento obraz často do bullózního prosáknutí povrchu sper-

mie, takže spermie je puchýřkovitě zbobtnalá. Povrchová membrána ztrácí svou kontinuitu, trhliny jsou četné, až dávají spermii roztřepený vzhled. Veškeré tyto změny nejsou omezeny jen na akrosomální oblast, nýbrž i na kalíšek jádra, postupně i na krček a spojovací část. Finální obraz přechází od charakteristiky narušeného povrchu spermií až k nálezům nahých skeletů spermie.

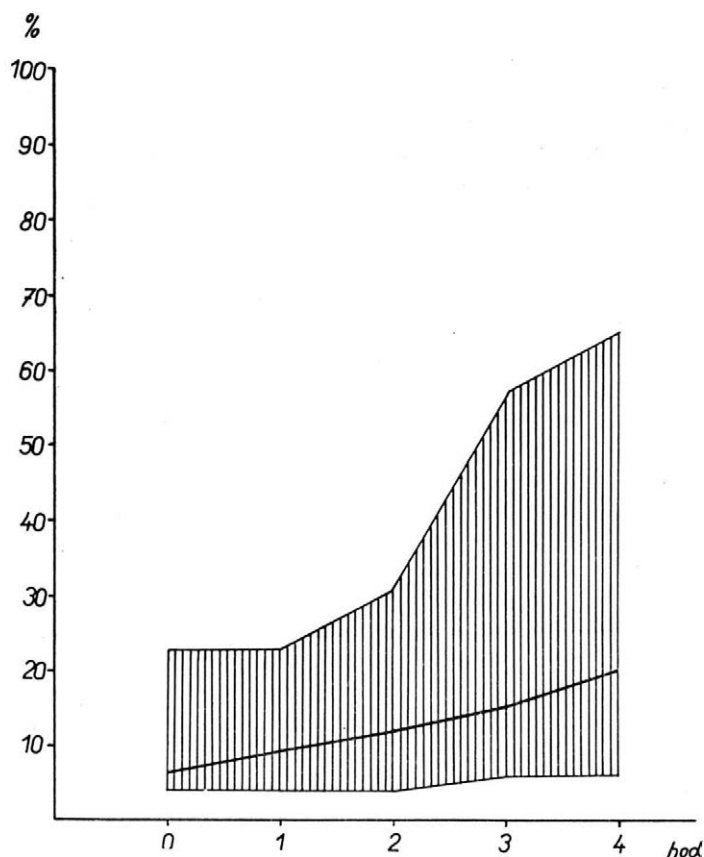
S těmito nálezy jsme se velmi často setkávali při kontrolních vyšetřeních plemeníků v terénu. Výskyt změn na spermiích se pohyboval okolo 6 %.

Charakteristika dovoluje předpoklad, že je souhlasné procentické zastoupení změněných spermií v ejakulátu s procentem mrtvých spermií. Tento dohad jsme se pokusili doložit srovnáním změn cytoplazmatického reliktu ve všech stupních s průkazem mrtvých metodou vitálně-letálního barvení primulinem. Grafické vyjádření shody nálezů je v rozmezí přípustné variace (obr. 1).



Popsané změny cytoplazmatického reliktu jsou typickým obrazem porušení spermií vznikajícího při dlouhodobém skladování ejakulátu *in vitro*. Pokus o vyvolání vzestupu těchto změn zředěním semene ve fyziologickém roztoku v průběhu termálního testu přežitelnosti, sledovaného po dobu čtyř hodin, vykazuje širokou variaci nárůstu procent strukturálních změn (obr. 2). Minimo-maximální hodnoty dovolují posoudit individuálnost rezistence povrchových složek spermií u jednotlivých testovaných zvířat. Vycházíme-li ze skutečnosti, že kvalita celku je dána kvalitou jedinců, pak nutně očekáváme, že při snížené kvalitě ejakulátu se budeme setkávat s větším procentem spermií s povrchovými abnormitami a opačně.

Pokusili jsme se porovnat trend křivek vyjadřujících nárůst povrchových změn s výsledky dalších kritérií hodnotících kvalitu ejakulátu na základě projevů aktivity jedinců. Jako srovnávací ukazatele jsme použili již uvedený počet mrtvých



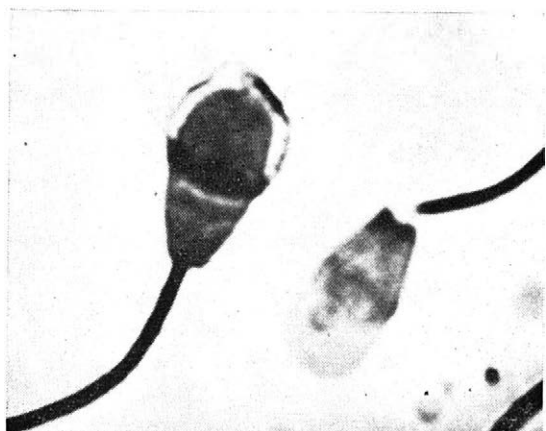
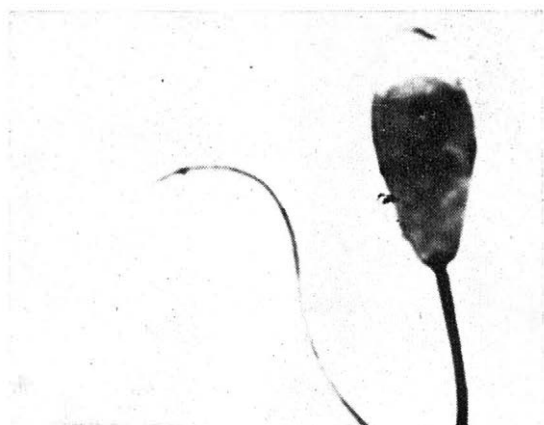
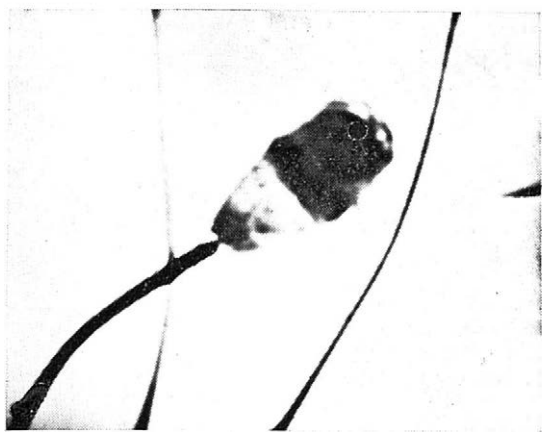
spermií, reciprokou hodnotu poklesu spermií živých, rychlost pohybu spermií a konečně aktivitu endogenních reduktáz.

Z obrázků 3 a 4 je zřejmé, že trend vzestupu strukturálních povrchových změn je ve shodě s nárůstem mrtvých spermií a odpovídá poklesu indexu endogenní redukce (ER) a rychlosti pohybu. Souhlasnost těchto hodnot je však omezena. Při srovnání procentuálního poklesu indexu ER a procentuálního zvýšení povrchových změn na spermiích můžeme vzájemnou závislost zaznamenat až při pětinasobném zvýšení procenta povrchových defektů. Obdobně je tomu při vzájemném porovnání těchto hodnot u výchozích posouzení sledovaných ejakulátů. Pokles indexu ER oproti průměrům je zřejmý, přesáhnou-li povrchové defekty na spermiích 16 %.

Z předloženého pozorování je možno konstatovat, že při přesném diferenciálním cytomorfologickém vyšetření spermií můžeme zaznamenat ukazatele, které lze považovat za přesvědčivé znaky kvality ejakulátu, a tedy za diagnosticky směrodatné.

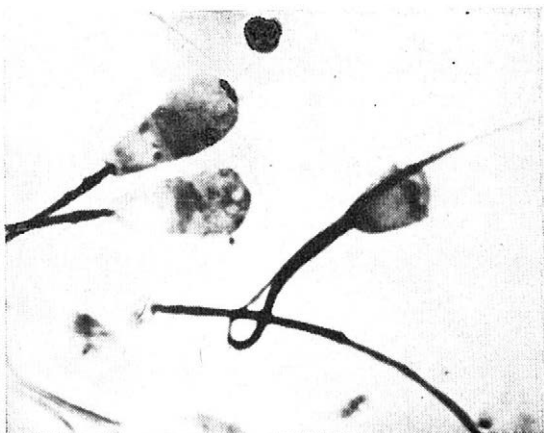
DISKUSE

Van Duijn (1967) vyslovil názor, který není zdaleka osamocený (Schröder 1963), a který vymezuje význam morfologické diagnostiky jen na několik přesně vymezených abnormit, jejichž výskyt v ejakulátech má statisticky signifikantní vztah k fertilitě. Také jiní autoři vystoupili s pozorováním, že vzájemný poměr mezi nálezem abnormálních spermií, které byly eosin nigro-

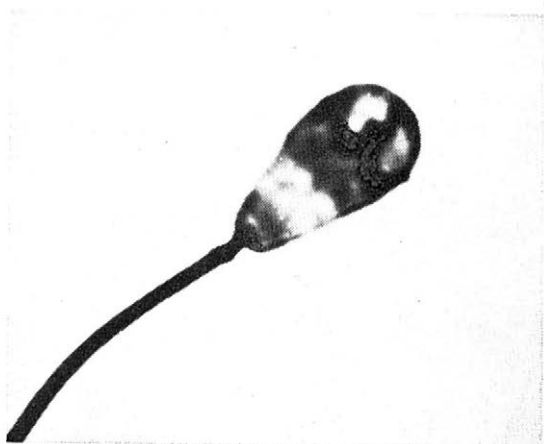


8, 9, 10. Různé stupně povrchového defektu, charakteristického jednak poruchou v kontinuitě cytoplazmatických substancí vykazujících změny v tloušťce, jednak bulózním edémem povrchových struktur spermie, zřejmým v různých stupních

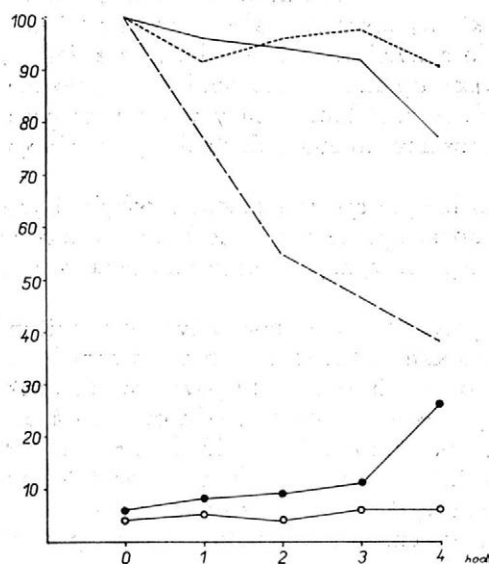
5. Povrchový defekt spermií, charakteristický diskontinuitou akrosomové hmoty, místy i jaderného kalíšku



6. Nabobtnalé a porušené akrosomy, typicky roztřepený vzhled povrchových struktur spermií



7. Barevně zvýrazněná porucha kontinuity cytoplazmatického reliktu, formovaná do parciální kondenzace a fokální lýze



3. Srovnání nárůstu defektů povrchových struktur spermii s počtem mrtvých a s hodnotami index ER a rychlostí pohybu

osa X — časový údaj v hodinách

osa Y — %

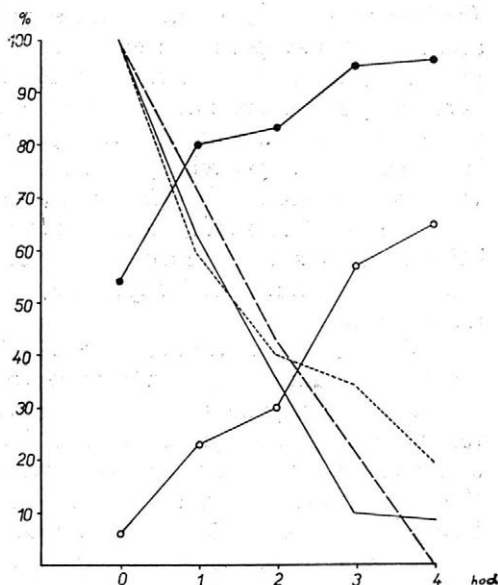
○ ○ defekt povrchových struktur spermii

● ● počet mrtvých spermii

— — rychlost pohybu spermii

- - - - index endogenní redukce

— — počet živých spermii



4. Srovnání nárůstu defektů povrchových struktur spermii s počtem mrtvých a s hodnotami indexu ER a rychlostí pohybu (označení je stejné jako u obr. 3)

sinem prokázány jako mrtvé, a počtem abnormit mezi živými spermii nebyl průkazný a vyzněl u některých abnormit dokonce ve prospěch živých.

Je sice pravda, že od výroku Williamse a Savage (1925), že plodnost je třeba posuzovat především podle morfologie spermii, uplynula řada let a názory i metody prošly kritickým vývojem, ale i v současné době je možno se opřít o experimentální výsledky těchto autorů. Tak Rob (1966) studoval patologické procesy ve varlatech býků a odraz těchto změn ve spermato-morfologickém obraze. Také naše práce z let 1960 a 1961 sledovaly podobný záměr. Lze konstatovat, že veškerá tato pozorování přináší jasné informace o závislosti morfologické integrity spermii na stavu parenchymu varlat.

Jinou otázku tvoří ovšem subjektivismus a individualita v názorech na jednotlivé abnormity a defekty spermii. Zde je nutno souhlasit, že stanovení norem má vesměs omezený význam. Tyto okolnosti vedou také stále znovu autory k přehodnocování morfodiagnostických kritérií a ke sjednocování názorů na jednotlivé klasifikační typy (Rob 1963, Bielaňski 1966).

Hathaway a Hartree (1963) popisují ve své studii o akrosomu změny, které vyvolávali arteficiální lýzí. Jejich popis a mikrofotografie zcela souhlasí s našimi nálezy a podporují předpoklad, že takto změněné spermie jsou funkčně insuficientní. O změnách postihujících akrosom se vyslovuje také Van Duijn

(1963); staví je do signifikantní korelace s nízkou fertilitou. Teoreticky lze vysvětlit tento stav poruchou enzymatické aktivity spermií. Také Austin (1960) při studiu kapacity a fertilizace uvádí do souvislosti špatnou fertilitu s defekty akrosomu, neboť spermie tak ztrácí možnost uplatnit hyaluronidázu. Tento mechanismus probíhá buďto předčasným uvolněním hyaluronidázy v důsledku porušení permeability povrchových struktur akrosomu, anebo v důsledku jeho vývojových změn nedochází k jejímu uvolnění.

Všeobecně se soudí, že abnormality morfologie spermií omezují pohyb. Fyziální testy Van Duinovy (1963) dokázaly, že narušené hlavičky mohou klást až třináctkrát větší odpor, což při stejném výdaji energie znamená o 5 % nižší rychlost.

V našich sledováních jsme mohli potvrdit vzájemnou návaznost snížené fertility a strukturálních změn na povrchu spermií. Při terénních depistážních vyšetřeních na PS jsme v průměru získávali 6 — 6,5 % defektu povrchových struktur. U jedinců a skupin býků, u nichž byl sledován pokles plodnosti, provázený sníženou kvalitou ejakulátu, pohybovalo se procento změn od 13 do 19 % i více. Opakovaná vyšetření v odstupu několika dnů a týdnů podala většinou tytéž informace. U plemenů s nízkým procentem výskytu změn spermií bylo zvýšení těchto změn signálem a iniciálním symptomem odezvy patologických procesů v pohlavních ústrojích.

Naše nálezy nás přesvědčily, že i když nemůže být vysoká korelace mezi morfologickým obrazem spermií, je-li výskyt abnormalit omezen na nízké procento, musíme považovat dynamické změny v morfologické struktuře spermií za obzvláště přesné a významné ukazatele procesů odehrávajících se v pohlavním traktu. Důkladná znalost morfologie spermií je základem pro spermatologickou diferenciální diagnostiku, bez níž se nelze obejít při hodnocení výsledků žádného vyšetřovacího postupu.

Technická spolupráce: M. Fejová, D. Švecová

Literatura

- AUSTIN C. R., 1960, Capacitation and the release of hyaluronidase from spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 1 : 310.
- BIELAŇSKI W., 1966, Proba ujednoczenia oceny morfologicznej nasienia. *Zeszyty problemowe postępow nauk rolniczych* 61 : 227-293.
- BLOM E., ANDERSEN A., 1965, The ultrastructure of the bull sperm. II. The sperm head. *Nord. Vet. Med.* 17 : 193.
- BOUTERS R., VANDEPLASSCHE M., 1964, Veränderung im Bullensamen nach experimenteller Injektion mit einem Enterovirus. *B. M. T. Wschr.* 7 : 87.
- EIBL K., 1959, Lehrbuch der Rinderbesamung. P. Parey, Berlin-Hamburg.
- GAMČÍK P., 1966, Štúdium morfologických zmien spermií býkov s porušenou a neporušenou plodnosťou. *Vet. Med. (Praha)* 11 : 431-436.
- HANCOCK J. L., 1946, Morphology of bull spermatozoa. *Nature* 157 : 447.
- HANCOCK J. L., 1957, The morphology of boar spermatozoa. *J. Exp. Biol.* 76 : 84.
- HATHAWAY R. R., HARTREE E. F., 1963, Observations on the mammalian acrosome: Experimental removal of acrosomes from ram and bull spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 5 : 225-232.
- HRUDKA F., 1963, Cytochemická metóda na hodnotenie vitality spermií. *Biológia* 18 : 937.
- HRUDKA F., 1964, Über die Dehydrogenaseaktivität und die endogene Reduktion in Bullenspermien. *Acta histochem.* 19 : 346.
- HRUDKA F., 1965, Cytochemical demonstration of catabolic activity in spermatozoa by the formazan test. *J. Reprod. Fertil.* 10 : 15-20.
- HRUDKA F., ZIBRIN M., 1964, Výskyt vakuól v nukleoplazme spermií normálnych býkov. *Vet. Med. (Praha)* 1 : 11-18.

- KARRAS W., 1965, Zur Pathologie der *Galea capitis*. II. B. M. T. Wschr. 78 : 402.
 KARRAS W., 1966, Zur Pathologie der *Galea capitis*. II. B. M. T. Wschr. 79 : 312.
 LAGERLÖF N., 1934, Morfologische Untersuchungen über Veränderungen im Sperma-
 bild und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fer-
 tilität. Uppsala.
 MILOVANOV V. K., 1962, Biologija vosproizvedenija i iskusstvennoje osemenenije
 životnych. Moskva.
 MAREK J., 1958, Nové poznatky o patologických ejakulátech býků. Vet. Med. (Praha)
 8-9 : 613-626.
 NAGY G., 1965, A patológiás ondósejtek százalékos aránya és a fertilitás közötti
 összefüggés. Magy. Állat. lap. 20 : 72-75.
 ROB O., 1962, Metody morfologického vyšetření spermatu býků při sledování pato-
 logických změn a jejich význam z hlediska dědičnosti. Vet. Med. (Praha) 7 :
 843-854.
 ROB O., 1961, Primární defekt na akrosomu hlaviček spermií plemenných kanců
 jako hereditární forma neplodnosti. Vet. Med. (Praha) 6 : 409-418.
 ROB O., 1966, Histopatologický a spermilogický náález a plodnost býků postižených
 degenerativními procesy na zárodečném epitelu. Vet. Med. (Praha) 11 : 437-444.
 ROB O., 1967, Použití Hrudkovy metody stanovení dehydrogenáz pro vyšetření sper-
 matu plemenných kanců. Živ. výr. 12 : 27-34.
 SCHRÖDER G., 1963, Morfologische Untersuchungen am Rindersperma. Arch. Tier-
 zucht. 6 : 234.
 VAN DUIN C. Jnr., 1963, Bevruchtend vermogen van spermatozoa in verband met
 hun beweeglijkheidskenmerken en overle vindsducer. I. Kinetische theorie van
 de bevruchtungskans. Instituut voor Veeteeltkundig Onderzoek „Schvinoord“.
 VAN DULJN C. Jnr., 1967, Seminal characteristics governing male fertility. Ab-
 stracts Int. Sympos. on Immunology of Spermatozoa and Fertilization. Varna,
 Bulg., 55.
 VĚŽNÍK Z., 1961, Histopatologické změny ve varlatech býků při poruchách plod-
 nosti. Kand. dis. práce, Brno.
 VĚŽNÍK Z., 1967, Fluorochromy ve spermilogii. Docum. vet. 6 : 75-82.
 WILLIAMS W. W., SAVAGE A., 1925, Observation on the seminal micropathology
 of Bulls. Cornell Vet. 15 : 353.

Došlo dne 24. 6. 1970

ВЕЖНИК З. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия).
 Использование морфологических показателей для качественной оценки эякулятов. Vet. Med.
 (Praha) 15 (10) : 571-578, 1970.

Изучали морфологические показатели повреждения поверхностной структуры спермы.
 Установлено, что окрашивающий метод Ганкокка достаточно ясно отражает изменения
 в цитоплазматическом реликте. Результаты показали, что динамика наращения структуральных
 поверхностных изменений, изучаемых в течение 4 час., пропорциональна росту мертвых
 сперматозоидов и отвечает понижению индекса эндогенной редукции и скорости движе-
 ния. На основе наблюдений можно сказать, что благодаря точному дифференциальному
 цитоморфологическому исследованию сперматозоидов можно выявить те показатели, кото-
 рые можно считать надежными признаками повреждения качества эякулятов и, следова-
 тельно, диагностически показательными.

морфология сперматозоидов; морфология и жизнеспособность; выживаемость

VĚŽNÍK Z. (Research Institute of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia).
 Utilization of Morphological Indices for a Qualitative Evaluation of Ejaculates. Vet.
 Med. (Praha) 15 (10) : 571-578, 1970.

Morphological indices of the deterioration of surface structures of sperm were ob-
 served. It was determined that the staining method according to Hancock suffi-
 ciently clearly illustrates the changes in the cytoplasmatic relict. The results proved
 that the dynamics of growth of structural surface changes, observed for 4 hours
 harmonizes with the increase of dead sperms and corresponds to the decrease of
 the endogenous reduction index and the rate of motion. According to observations

it can be stated that in an exact differential cytomorphological examination of the sperms indices can be noted that can be considered as persuading symptoms of deterioration of the quality of the ejaculate and therefore as diagnostically conclusive. morphology of sperms; morphology and vitality; survival rate

VĚŽNÍK Z. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). *Aus-nützung der morphologischen Kennziffern zur qualitativen Bewertung der Ejaku-late*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 571-578, 1970.

Es wurden die morphologischen Kennziffern der Störung der oberflächlichen Sper-mienstrukturen verfolgt. Es wurde bestimmt, daß die Färbungsmethode nach Han-cock genügend klar die Änderungen am zytoplasmatischen Relikt veranschaulicht. Die Ergebnisse wiesen nach, daß die Anwachsdynamik der strukturellen oberfläch-lichen Änderungen, die im Verlaufe von 4 Stunden verfolgt wurden, mit dem Auf-stieg der toten Spermien in Einklang stehen und der Indexherabsetzung der endo-genen Reduktion und der Bewegungsgeschwindigkeit entsprechen. Auf Grund der Beobachtung kann konstatiert werden, daß bei einer genauen differentiellen zyto-morphologischen Untersuchung der Spermien Kennziffern verzeichnet werden kön-nen, die als überzeugende Merkmale der Störung der Ejakulatqualität und deshalb diagnostisch maßgebend angesehen werden können.

Spermienmorphologie; Morphologie und Vitalität; Überlebensrate

Adresa autora:

MVDr. Zdeněk Věžník, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno -- Medlánky

LÉČEBNÝ ÚČINEK METRIFONÁTU (DTHP) ČS. VÝROBY A PŘÍPRAVKU MS 1 NA DEMODIKÓZU PSŮ

K. Blažek, V. Kazda

Parazitologický ústav ČSAV, Praha
PS Libějovice

BLAŽEK K., KAZDA V. Léčebný účinek metrifonátu (DTHP) čs. výroby a přípravku MS 1 na demodikózu psů. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 579-588, 1970.

Autoři prokázali, že preparát MS 1 (Spolana) na bázi metrifonátu je účinný proti roztoči *Demodex canis*. Lokální (perkutánní) terapie preparátem MS 1 vede ke klinickému vyléčení a vymizení demodexů z kůže. Při lokální léčbě zastaralé generalizované demodikózy preparátem MS 1 došlo však v 50 % (u dvou ze čtyř psů) k recidivě za pět a šest měsíců. Metrifonát v pulverizované formě (který je účinnou součástí MS 1) vyléčil demodikózu při perorální aplikaci teprve po opakovaném podávání dávky 100 mg/kg a den, zatímco dávka 50 a 80 mg/kg byla neúčinná. Při použití kombinace perkutánní aplikace MS 1 a perorálního podání metrifonátu došlo u všech zvířat (9) k vyléčení. Denní dávku 100 mg/kg ž. v. je třeba při perorální léčbě podat rozděleně na dvakrát, aby se zamezilo nástupu vagomimetických příznaků. U citlivých zvířat a malých plemen se může za 6 až 7 hodin po perkutánní aplikaci dostavit průjem, který však spontánně a rychle ustupuje. U pacientů s rozsáhlými změnami je třeba aplikovat MS 1 na postižená místa po částech, aby se předešlo příliš rychlé resorpci metrifonátu.

metrifonát (preparát MS 1); demodikóza; pes; léčba

Demodikóza psů je parazitární onemocnění, u něhož byla zkoušena terapeutická účinnost velkého množství preparátů (Koutz 1952, 1955, Glynn 1959, Kazda 1969). Její léčba je však stále ještě dosti problematická, i když bylo zvláště v poslední době dosaženo velmi dobrých léčebných výsledků s organofosfáty (Mc Gregor, Lord 1961, Fabián, Zoltán 1962). Z literárních údajů zahraničních autorů je zřejmé, že se demodikóza vyskytuje v cizině relativně často (Mc Gregor, Lord 1959, Koutz a kol. 1960). Při systematickém vyšetřování psů s kožními afekcemi jsme se přesvědčili, že i u nás je její výskyt častější, než se všeobecně předpokládá. Z léčebných metod, které přezkoušel jeden z nás (Kazda 1969), se nejlépe osvědčil — v souhlase s údaji ze zahraničí — Neguvon firmy Bayer. Tento preparát není však běžně na našem trhu k dispozici a proto jsme se rozhodli ověřit účinnost preparátu československé výroby na bázi metrifonátu, označeného pracovním názvem MS 1, u něhož byla prokázána vysoká účinnost při terapii a prevenci hypodermatózy (Minář, Dorž 1969a, b, Minář a kol. 1968).

MATERIÁL A METODY

K lokální léčbě jsme použili preparátu MS 1, který byl vyvinut Parasitologickým ústavem ČSAV (Praha) a Spolanou (Neratovice) na bázi metrifonátu. Tento preparát obsahuje 0,0-dimetyl-2,2,2-trichlor-1 hydroxyetylfosfonát (synonymum metrifonát, trichlorfon, DTHP) v polárním organickém rozpustidle s přídavkem glycerinu. Preparát byl nanášen na postižená místa nakapáváním tak, aby se stačil vsakovat do kůže a v některých případech byl mírnou masáží do pokožky vetřen.

Perorálně jsme použili práškovitého metrifonátu (DTHP; Spolana Neratovice), a to v dávkách, které jsou uváděny jako při demodikóze účinné a ještě pro psy dobře snášené u Neguvonu (Nugureanu, Furtunescu 1963, Bolle 1956). Dávkování preparátu jsme kromě toho volili také podle vlastních výsledků, které jsme získali v samostatném pokuse, zaměřeném k ověření účinku preparátu MS 1 a metrifonátu čs. výroby na organismus psa (Pavlíček 1970).

K pokusu jsme použili 14 psů plemene německý ovčák ve stáří 6 až 12 měsíců, obojího pohlaví, u nichž byla demodikóza zjištěna při cílevědomé prohlídce mladých psů výcvikového střediska. Pět dvojic těchto psů byli sourozenci. Šlo o skvamózní formu onemocnění, někdy s výskytem pustulí, lokalizovanou na hlavě (horní a spodní pysk, brada, víčka) a v několika případech i ložiskově na končetinách. Čtyři z těchto psů byli použiti k pokusu dvakrát, když byla předchozí perorální léčba neúčinná.

Dále jsme vyzkoušeli preparát ve čtyřech případech generalizované pustulozně-skvamózní demodikózy, a to u dvouleté feny krátkosrstého ohaře, šestiměsíčního psa německého ovčáka, jezevčíka samčího pohlaví starého pět měsíců a u dvouměsíčního štěněte krysaříka. Do pokusu bylo tedy zařazeno 18 zvířat, z nichž čtyři byla použita ve dvou různých pokusech.

Během léčby a po ní byl hodnocen klinický stav vzhledem ke stavu před zahájením terapie a současně byly vyšetřovány hluboké seškraby kůže, dělané oční kyretou. Tato metoda se nám osvědčila lépe, než vyšetřování vzorků získaných povrchovou abrazí pokožky (Kazda 1969).

U osmi psů z 22 pokusů jsme použili výhradně lokální terapie preparátem MS 1, pěti psům byl podán metrifonát pouze perorálně a u devíti zvířat jsme ověřili účinnost kombinace perorální aplikace metrifonátu a perkutánní aplikace MS 1.

VÝSLEDKY

A. LOKÁLNÍ APLIKACE PREPARÁTU MS 1

1. U čtyř štěnat (tabulka I) s demodikózou, lokalizovanou na hlavě a končetinách, jsme aplikovali perkutánně preparát MS 1 každý druhý den, a to čtyřikrát, takže léčba byla skončena v sedmi dnech. Během léčby se na kůži další chorobné změny neobjevily a u dříve mokvavých eflorescencí byla kůže suchá. První známky obnovy osrstění postižených míst jsme zaznamenali přibližně za 14 dní od zahájení léčby. První kontrolní seškrab byl proveden za 14 dní po ukončení léčby (tzn. za 21 dní po jejím zahájení). U jednoho jsme našli jediný, málo pohyblivý exemplář *Demodex canis*, u ostatních tří psů byl nálezní negativní. Při dalších třech kontrolách seškrabů, které následovaly v intervalech 7, 14 a 14 dní (tedy téměř za dva měsíce od zahájení léčby), nebyli roztoči nalezeni. U všech těchto psů dříve alopetická místa zarostla srstí a onemocnění se u nich již neobjevilo.

Závěr: Po čtyřnásobné perkutánní aplikaci preparátu MS 1 ob den nastalo ve všech případech uzdravení za 21 den. Po skončení léčby byl zjištěn jediný

I. Perkutánní terapie MS 1

Pes	Léčba				Demodex folliculorum v kůži			
	16. 1.	18. 1.	20. 1.	22. 1.	5. 2.	12. 2.	26. 2.	12. 3.
Mína 619	MS 1	MS 1	MS 1	MS 1	—	—	—	—
Orlo 621	MS 1	MS 1	MS 1	MS 1	+	—	—	—
Tarzan 581	MS 1	MS 1	MS 1	MS 1	—	—	—	—
Talga 582	MS 1	MS 1	MS 1	MS 1	—	—	—	—

exemplář *Demodex canis* pouze u jednoho psa při první kontrole, v ostatních případech nebyli roztoči v kůži nalezeni. Při dalších třech kontrolách byly nálezy negativní u všech psů.

- Čtyři psi (Flora, Bart, Egy, Čert) (tab. II), měli generalizovanou skvamózní formu demodikózy s ojedinělými pustulkami. U těchto psů bylo použito pouze lokální terapie MS 1, protože jsme v době, kdy byli k ošetření předvedeni, ne-

II. Lokální terapie MS 1

Pes	Datum aplikace							Výsledek léčby	Recidiva
Flora	28. 9.	19. 10.	26. 10.	9. 11.	28. 11.			+	+
Bart	5. 11.	12. 11.	27. 11.	3. 12.				+	
Egy	27. 11.	30. 11.	3. 12.	5. 12.	11. 12.	13. 12.*)	19. 12.	+	+
Čert	17. 1.*)	20. 1.	23. 1.	30. 1.	11. 2.			+	

*) průjem

měli spolehlivě ověřen účinek čistého metrifonátu, zejména ve vztahu k dávkování a k případnému výskytu jeho vagomimetických účinků. Šlo vesměs o případy, které byly již dříve a déle neúspěšně léčeny jiným způsobem, nebo u nichž nebylo známo, že jde o demodikózu.

Kritériem úspěšné léčby bylo zde negativní vyšetření seškrabů kůže na přítomnost *D. canis* a dokonalé osrstění.

U jednoho psa (Flora) došlo k vyléčení za šest týdnů po pětinasobné aplikaci preparátu MS-1, přičemž již za 14 dní po prvé (a v době kontroly jediné) aplikaci bylo pozorováno nápadné zlepšení. Vyléčení však nebylo dokonalé, přestože byl v závěru léčby aplikován perorálně i Neguvon (Bayer) v dávce 2 g *pro toto* po pět dní, s opakováním této kúry po desetidenní přestávce. Po šesti měsících od ukončení léčby došlo k recidivě. Objevilo se několik kruhových alopetických ložisek, která po trojnásobné každodenní aplikaci preparátu MS-1 zmizela.

U druhého psa (Bart) byl aplikován preparát MS-1 čtyřikrát během jednoho měsíce a k uzdravení došlo za šest týdnů od zahájení léčby. Zlepšení klinického stavu bylo však pozorováno již za dva až tři týdny. K recidivě nedošlo.

Třetí pes (Egy) dostal preparát MS-1 sedmkrát během tří týdnů. Vyléčení jsme zaznamenali za šest týdnů po zahájení léčby, avšak po pěti měsících od skončení léčby se znovu objevily ojedinělé pustulky a ložiskové prořidnutí srsti. Tyto změny natrvalo vymizely po trojnásobné aplikaci MS-1.

U čtvrtého psa (Čert) této skupiny došlo k vyléčení po pětinasobné perkutánní aplikaci MS-1 (3× každý 3. den, dále v intervalu 7 a 12 dní). Psa jsme považovali za vyléčeného za pět týdnů, výrazné zlepšení stavu jsme však zaznamenali již za 25 dní od zahájení léčby.

Z á v ě r: U čtyř psů se skvamózně-pustulózní formou demodikózy, která postihovala téměř celé tělo, došlo k vyléčení po opakované perkutánní aplikaci, a to nejdéle za šest týdnů od zahájení léčby. U dvou z nich onemocnění recidivovalo za pět a šest měsíců od ukončení léčby.

B. PERORÁLNÍ TERAPIE METRIFONÁTEM

U pěti psů, štěňat německých ovčáků, u nichž byly zjištěny demodikózní změny na hlavě a na končetinách, jsme použili perorální terapie metrifonátem čs. výroby. Preparát byl podáván tři dny po sobě a po čtyřdenní přestávce byl znovu podán ve třech dnech za sebou. U dvou psů jsme zkusili aplikovat 50 mg/1 kg ž. v. a den (rozděleně na dvakrát) u dvou 80 mg/kg a u jednoho dávku 100 mg/kg (tab. III). Při kontrolních seškrabech, opakovaných po skončení léčby, se však ukázalo, že se v kůži psů, jimž bylo podáno 50 a 80 mg/kg, demodexy vyskytují dále. U psa s denní dávkou 100 mg/kg ž. v. byla první kontrola na přítomnost roztočů v kůži (za týden po skončení léčby) negativní, kontrola za 19 dní po skončení terapie byla pozitivní (!) a další dva seškraby za 27 a 40 dní byly již negativní.

Z á v ě r: Perorální aplikace metrifonátu (čs.) v dávce 50 a 80 mg/kg ž. v. na den po tři dny za sebou a po čtyřdenní přestávce opět po tři dny opakovaná nevedla k vyléčení přesto, že bylo zřetelné zlepšení v osrstění lysých míst. Teprve dávka 100 mg/kg, podaná stejným způsobem jako předchozí, způsobila trvalé vymizení demodexů z kůže a došlo i ke klinické úzdavě.

C. KOMBINACE PERKUTÁNNÍ APLIKACE MS 1 A PERORÁLNÍHO PODÁNÍ METRIFONÁTU

V tomto pokuse bylo použito dvojího schématu:

a) u dvou psů byla kúra devítidenní, přičemž byl první tři dny podáván metrifonát 100 mg/kg a den, další tři dny byl aplikován MS 1 perkutánně a v závěru kúry dostali psi opět tři dny za sebou DTHP (100 mg/kg);

b) u sedmi psů byla léčebná kúra šestidenní s pravidelným denním střídáním perorálního podání metrifonátu (100 mg/kg a den) a perkutánní aplikace MS-1 (tab. IV).

V obou případech došlo k uzdravení všech psů během 14 až 21 dnů a opakované mikroskopické vyšetření seškrabů kůže neprokázalo přítomnost roztočů *Demodex canis* (tab. IV).

Z á v ě r: Kombinace perorální a lokální léčby vedla k vytrvalému vyléčení všech devíti psů.

DISKUSE

Ve svých pokusech s preparátem MS 1 (Spolana) a metrifonátem (Spolana) při léčbě demodikózy psů jsme zjistili, že metrifonát čs. výroby v denní dávce 50 a 80 mg/kg ž. v., perorálně podaný ve dvakrát opakované třídenní kúře

III. Perorální terapie metrifonátem (50, 80, 100 mg/kg)

Pes	Léčba						<i>Demodex folliculorum</i> v kůži				Dávka
	23. 1.	24. 1.	25. 1.	29. 1.	30. 1.	31. 1.	5. 2.	12. 2.	26. 2.	12. 3.	
Oleg 620	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	+	+	+	+	50 mg
Iro 595	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	+	+	+	+	1 kg
	28. 1.	29. 1.	30. 1.	4. 2.	5. 2.	6. 2.	5. 2.	12. 2.	26. 2.	12. 3.	
Irus 593	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	+	+	+	+	80 mg
Rek 573	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	+	+	+	+	1 kg
	13. 2.	14. 2.	15. 2.	19. 2.	20. 2.	21. 2.	28. 2.	12. 3.	20. 3.	2. 4.	100 mg
Sultán 1223	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	DTHP	—	+	—	—	1 kg

IV. Kombinace metrifonát 100 mg/kg *per os*/MS 1 perkutánně

Pes	Léčba									<i>Demodex folliculorum</i> v kůži			
	26. 2.	27. 2.	28. 2.	1. 3.	2. 3.	3. 3.	4. 3.	5. 3.	6. 3.	12. 3.	20. 3.	27. 3.	2. 4.
Gril 1247	DTHP	DTHP	DTHP	MS 1	MS 1	MS 1	DTHP	DTHP	DTHP	—	—	—	—
Grila 1248							≡			—	—	—	—
	12. 3.	13. 3.	14. 3.	15. 3.	16. 3.	17. 3.				27. 3.	2. 4.	9. 4.	17. 4.
Borek 1266										—	—	—	—
Pard 1268										—	—	—	—
Pedro 1269										—	—	—	—
Oleg 620	DTHP	MS 1	DTHP	MS 1	DTHP	MS 1				—	—	—	—
Iro 595										—	—	—	—
Irus 593										—	—	—	—
Rek 573										—	—	—	—

≡ tonicko-klonické křeče

se čtyřdenním intervalem mezi oběma kúrami, je neúčinný. Teprve dávka 100 mg/kg demodexy zabíjí. Tato dávka je ovšem již značně vysoká a přesahuje nejvyšší tolerovanou dávku organofosfátů, udávanou v literatuře (Bolle 1956). Je-li tato denní dávka podána rozděleně na dvakrát, dostaví se vagomimetické příznaky poklesu erytrocytární cholinesterázy jen zcela výjimečně, a to i tehdy, je-li preparát podáván bez přestávky opakovaně. Pozorovali jsme to u jednoho psa naší sestavy (Gril), u něhož se dostavil průjem, zvracení a křeče při perorálním podání metrifonátu, když předtím obdržel třikrát metrifonát a třikrát MS 1 *per cutim* bez jakékoli pauzy. Podání celé denní dávky (100 mg na kg) najednou vede naproti tomu k rychlému nástupu klinických příznaků, působených nahromaděním mediátoru parasympatických vláken — acetylcholinu (Pavlíček 1970).

Preparát MS 1 působí při perkutánní aplikaci spolehlivé usmrcení *Demodex canis*, zejména při aplikaci opakované. Někdy však nestačí k trvalému vyléčení generalizované a zastaralé demodikózy, při níž může dojít k recidivě (v našich případech u dvou ze čtyř léčených psů) za několik měsíců (5 a 6) po klinické úzdavě. Je pravděpodobné, že roztoči, vyskytující se ve vnitřních orgánech (Koutz 1957, Kingscote 1953), nejsou při tomto způsobu léčby usmrceni, protože tam preparát neproniká v dostatečném množství.

Zdá se tedy, že by generalizované formy demodikózy byly snáze léčitelné při použití kombinace perkutánní a perorální terapie, jak jsme to provedli u devíti psů naší sestavy; u všech těchto pokusných zvířat došlo k trvalému vyléčení. Není však vyloučeno, že by k vyléčení došlo i tehdy, byl-li by podáván samotný preparát MS 1. Šlo totiž o poměrně čerstvé onemocnění, i když byly demodikózní změny lokalizovány nejen na hlavě, ale i na trupu a na končetinách. Domníváme se, že perorální léčba metrifonátem je přece jen stále problematická zejména proto, že ani vysoké dávky (100 mg/kg) nepůsobí na demodexy v kůži tak promptně jako MS 1 v aplikaci lokální, a pro snazší možnost výskytu příznaků intoxikace.

Pokles aktivity erytrocytární cholinesterázy je totiž při perorálním podání metrifonátu poměrně rychlý a hluboký, zatímco při perkutánní aplikaci této látky v preparátu MS 1 je pokles jen nevýznamný a pozvolný (Pavlíček 1970). Koncentrace metrifonátu v kosterní svalovině a vnitřních orgánech je nadto při perorální aplikaci i maximální tolerované dávky metrifonátu (80 mg/kg) malá a je přibližně třikrát nižší než při téže dávce, podané perkutánně (Pavlíček 1970). S těmito údaji je v souladu i náš poznatek, že dvakrát opakovaná třídenní léčba metrifonátem v dávce 80 mg/kg a den je naprosto neúčinná a že ani perorální aplikace Neguvonu v jednom z našich zastaralých případů demodikózy nezabránila recidivě. Fabián a Zoltán (1962) uvádějí dokonce zhoršení stavu po perorální léčbě demodikózy Neguvonem v dávce 50-70 mg/kg (8× každý 5. den). K usmrcení roztočů, kteří by snad byli lokalizováni v mizních uzlinách a vnitřních orgánech, by mohlo dojít také při častěji opakovaných vyšších dávkách MS 1, které jsou pro organismus psa šetrnější než tytéž nebo i nižší dávky metrifonátu, podaného perorálně.

Literatura

- BOLLE W. P., 1956, Neguvon, ein äußerlich und innerlich anwendbares Insektizid, Larvizid und Acarizid. Vet. Med. Nachr. 3 : 3-20.
 FABIÁN L., ZOLTÁN L., 1962, Behandlung des Demodikoseerkrankungs der Hunde mit organischen Phosphorverbindungen (Neguvon-Bayer). Vet. Med. Nachr. 4 : 262-264.

- FLYNN R. J., 1959, Demodectic and Sarcoptic Mange of Dogs succesfully treated with Aramite. JAVMA 134 : 177-179.
- KAZDA V., 1969, Příspěvek k hromadnému výskytu a terapii demodikózy u německých ovčáků. Veterinářství XIX : 113-117.
- KINGSCOTE A. A., 1953, Demodectic mange. Proceedings book-American Veterinary Association, Ninetieth Annual Meeting, Toronto, July 20-30 : 276-278.
- KOUTZ F. R., 1952, *Demodex folliculorum* studies I. The use of phenamidine as internal medication for the treatment of demodectic mange in the dog. JAVMA 121 : 470-473.
- KOUTZ F. R., 1955, *Demodex folliculorum* studies IV. Treatment methods. N. Amer. Veterinarian 36 : 129-131.
- KOUTZ F. R., 1957, *Demodex folliculorum* studies VI. The internal phase of canine demodectic mange. JAVMA 131 : 45-48.
- KOUTZ F. R., GROVES H. F., GEE C. M., 1960, A survey of *Demodex canis* in the skin of clinically normal dogs. Vet. Med. 55 : 52-53.
- MCGREGOR J. K., LORD L. H., 1959, Clinical report-control of demodectic mange. Vet. Med. 54 : 308.
- MCGREGOR J. K., LORD L. H., 1961, Clinical use of organic phosphates to control canine demodicosis. Vet. Med. 56 : 166-169.
- MINÁŘ J., DORŽ C., 1969a, Iz praktiki lečeniya gipodermatoza krupnogo rogatogo skota. Meždunarodnyj selskochozajstvennyj žurnal, SEV, Moskva 13 : 100-101.
- MINÁŘ J., DORŽ C., 1969b, Tlumení střechovitosti skotu v Mongolské lidové republice. Vet. Med. (Praha) 12 : 695-701.
- MINÁŘ J., GRÁC Z., WÜNSCHOVÁ M., SMOLÍKOVÁ J., 1968, Preparáty MS 1 a MS 2 k hubení podkožních střechů hovězího dobytka. Zprávy pro výzkumné oddělení n. p. Spolana Neratovice: 1-26.
- MINÁŘ J., WÜNSCHOVÁ M., 1969, Hyrporid, Závěrečná zpráva. Parasitologický ústav ČSAV Praha a Výzkumné oddělení n. p. Spolana Neratovice.
- NUGUREANU E. M., FURTUNESCU G. T., 1963, Versuche über die Wirkung des Neguvon auf die Helminthen des Hundes. Vet. Med. Nachr. 1 : 64-66.
- PAVLÍČEK J., 1970, Reakce psů na různé aplikační způsoby metrifonátu (trichlorfonu). Vet. Med. (Praha) 10 : 589-597.

Došlo dne 28. 5. 1970

БЛАЖЕК К., КАЗДА В. (Паразитологический институт ЧСАН, Прага, Чехословакия). Лечебный эффект метрифоната (ДТНР) чехословацкого производства и препарата MS 1 на демодикоз собак. Вет. Мед. (Прага) 15 (10) : 579-588, 1970.

Авторы доказали, что препарат MS 1 (Сполана) на базе метрифоната эффективен против клеща *Demodex canis*. Местная (подкожная) терапия препаратом MS 1 ведет к клиническому излечению и ликвидации клещей с поверхности кожи. Однако при местном лечении устаревшего генерализованного демодикоза препаратом MS 1 в 50 % случаев (у двух из четырех собак) произошел через 5—6 месяцев рецидив. Метрифонат в распылительной форме (который представляет действующий компонент MS 1) вылечил демодикоз при внутреннем применении только после повторной дачи дозы 100 мг/кг в день, в то время, как доза 50 и 80 мг/кг оказалась неэффективной. При применении комбинации подкожного впрыскивания MS 1 и внутреннего применения метрифоната все собаки (9) были вылечены. Суточную дозу 100 мг/кг ж. в. для предупреждения вагомиметических признаков при внутреннем лечении необходимо разделить на два раза. У чувствительных животных и малых пород собак через 6—7 часов после подкожного впрыскивания может возникнуть понос, который, однако, самопроизвольно и быстро исчезает. У пациентов с обширными изменениями необходимо применять MS 1 на пораженных местах по частям, во избежание слишком быстрого рассасывания метрифоната.

метрифонат (препарат MS 1); демодикоз; собака; лечение

BLAŽEK K., KAZDA V. (Institute of Parasitology of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha, Czechoslovakia). Curative Effect of Metriphonate (DTHP) of Czechoslovak Production and of the Preparation MS 1 on Demodicosis of Dogs. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 579-588, 1970.

The authors proved that the preparation MS 1 (Spolana) on the base of metrifphonate was effective against the mite *Demodex canis*. A local (percutaneous) therapy with the preparation MS 1 leads to a clinical curing and disappearance of demodices from the skin. But after a local treatment of an inveterate generalized demodicosis with the preparation MS 1 a relapse took place in 50 % (two from four dogs) after 5 and 6 months. Metrifphonate in pulverized form (which is an active substance of MS 1) applied orally cured demodicosis only after a repeated administration of a dose of 100 mg/kg and day, a dose of 50 and 80 mg/kg being ineffective. A combination of percutaneous application of MS 1 and oral administration of metrifphonate resulted in curing of all (9) animals. With the oral treatment it is necessary to administer the daily dose of 100 mg/kg live weight divided into two, to prevent the occurrence of vagomimetic symptoms. In sensitive animals and small races a diarrhoea, declining nevertheless spontaneously and quickly, can take place in 6—7 hours after percutaneous application. In patients with wide-spread changes it is necessary to apply MS 1 to the affected spots in parts, to prevent a too rapid resorption of metrifphonate.

metrifphonate (preparation MS 1); demodicosis; dog; treatment

BLAŽEK K., KAZDA V. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha, Tschechoslowakei). *Heilwirkung des Metrifphonats der tschechoslowakischen Erzeugung und des Präparats MS 1 auf Hundedemodikose*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 579-588, 1970.

Die Autoren wiesen nach, daß das Präparat MS 1 (Spolana) auf der Basis von Metrifphonat gegen Milbe *Demodex canis* wirksam ist. Lokale (perkutane) Therapie mit dem Präparat MS 1 führt zu einer klinischen Heilung und Verschwinden der Demodices von der Haut. Bei einer lokalen Behandlung einer veralteten und generalisierten Demodikose mit dem Präparat MS 1 kam jedoch in 50 % (bei zwei von vier Hunden) eine Rezidive nach 5 und 6 Monaten vor. Metrifphonat in pulverisierter Form (der ein wirksamer Bestandteil von MS 1 ist) heilte Demodikose bei einer peroralen Applikation erst nach einer wiederholten Gabe von 100 mg/kg und Tag, während die Gabe 50 und 80 mg/kg unwirksam war. Bei einer Kombination der perkutanen Applikation von MS 1 und peroraler Verabreichung von Metrifphonat wurden alle Tiere (9) geheilt. Die Tagesgabe 100 mg/kg Lebendgewicht muß bei peroraler Behandlung geteilt auf zweimal verabreicht werden, damit das Auftreten von vagomimetischen Symptomen verhindert wird. Bei sensitiven Tieren und kleinen Rassen kann nach 6—7 Stunden nach einer perkutanen Applikation ein Durchfall eintreten, der jedoch spontan und schnell zurückgeht. Bei Patienten mit umfangreichen Änderungen ist es notwendig MS 1 auf die betroffenen Stellen teilweise zu applizieren, um eine zu schnelle Resorption des Metrifphonats zu verhindern.

Metrifphonat (Präparat MS 1); Demodikose; Hund; Behandlung

BLAŽEK K., KAZDA V. (Institut parasitologique de l'Académie tchécoslovaque des sciences, Praha, Tchécoslovaquie). *Effet curatif du métrifphonate (DTHP) de production tchécoslovaque et de la préparation MS 1 sur démodicose des chiens*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 579-588, 1970.

Les auteurs ont prouvé que la préparation MS 1 (Spolana) sur la base du métrifphonate, est efficace contre l'acarien *Demodex canis*. La thérapie locale (par voie cutanée) avec la préparation MS 1 conduit à la guérison clinique et à la disparition des demodex de la peau. En effectuant le traitement local d'une demodicose généralisée invétérée par la préparation MS 1, on a été cependant témoin en 50 p. 100 de cas (chez deux sur quatre chiens) d'une récurrence au bout de cinq et six mois. Le métrifphonate en forme pulvérisée (qui constitue un élément actif de Ms 1) n'a guéri la demodicose, quand on l'appliquait par voie buccale, qu'à la suite d'une administration répétée de la dose de 100 mg/kg par jour, tandis que la dose de 50 et de 80 mg/kg était inefficace. En combinant l'application par voie cutanée de la préparation MS 1 et l'administration par voie buccale du métrifphonate, on a guéri tous les animaux (9). Quand on procède au traitement par voie buccale, in faut administrer la dose quotidienne de 100 mg par 1 kg de poids vif en deux fois, pour empêcher l'apparition des symptômes vagomimétiques. Chez les animaux

sensibles et les petites races il peut apparaître, au bout de 6-7 heures, à la suite de l'application par voie cutanée, une diarrhée qui disparaît cependant spontanément et vite. Chez les patients qui souffrent d'altérations étendues, il faut appliquer MS 1 aux régions attaquées successivement, pour prévenir la résorption rapide du métriphonate.

métriphonate (préparations MS 1); démodicose; chien; traitement

Adresy autorů:

MVDr. Karel Blažek, CSc., Parasitologický ústav ČSAV, Praha 6, Flemingovo nám. 2, MVDr. Václav K a z d a, PS, Libějovice

REAKCE PSŮ NA RŮZNÉ APLIKAČNÍ ZPŮSOBY METRIFONÁTU (TRICHLORFONU)

J. Pavlíček

Parazitologický ústav ČSAV, Praha

PAVLÍČEK J. *Reakce psů na různé aplikační způsoby metrifonátu (trichlorfonu)*. Vet. Med. (Praha) 15 (10): 589-598, 1970.

Prověřovali jsme odezvu psů na perorální vpravení organofosforečné sloučeniny metrifonát a perkutánní aplikaci československého přípravku MS-1 (vytvořeného na bázi metrifonátu) při jednorázovém, popřípadě opakovaném podání dávek maximálně tolerovaných až letálních. Na skupině 14 psů plemene německý ovčák jsme elektrometrickou metodou hodnotili aktivitu erytrocytární acetylcholinesterázy, sledovali výskyt klinických příznaků vagomimetického charakteru a tenkovrstvou chromatografií určovali rezidua metrifonátu ve tkáních. Perorální aplikace metrifonátu vyvolala v intervalu 0,5 až 3 hodiny po všech zkoušených dávkách (80–400 mg na 1 kg) pokles aktivity acetylcholinesterázy a výskyt vagomimetických příznaků různě odstupňované intenzity. Po snížení aktivity na 34 % během jedné hodiny od podání následovalo uhybnutí. Perkutánní aplikace přípravku MS-1 způsobila v dávkách, srovnatelných v množství účinné substance i časovém schématu podání s perorálními aplikacemi, méně výrazné změny v aktivitě acetylcholinesterázy a klinické příznaky vagomimetického komplexu se vůbec nevyskytly. V různých intervalech od aplikací jsme ve tkáních psů zjišťovali rezidua metrifonátu v rozsahu 0–100 p. p. m.

metrifonát; pes; erytrocytární acetylcholinesteráza; vagomimetické příznaky; rezidua metrifonátu

Metrifonát je terapeuticky využíván u celé řady ento- i ektoparazitóz. V Československu byly na bázi této sloučeniny vyvíjeny přípravky řady MS se zaměřením na léčbu střevkovitosti. Obdobné zahraniční preparáty jsou v kombinaci vnitřní a vnější aplikace označovány jako velmi účinné i při demodikóze psů (Mori 1960, Ishihara 1961 — cit. Hashizume a kol. 1963), současně ale Mori (1960) upozorňuje na možnost zvýšené citlivosti psů vůči používaným dávkám při aplikaci *per os*. Přezkoušeli jsme proto vhodnost doporučených aplikačních způsobů a dávek pro použití přípravků MS při demodikóze psů.

MATERIÁL A METODY

Prověřovali jsme dvě látky:

1. Metrifonát (trichlorfon, DTHP) — 0,0-dimetyl-2,2,2-trichlor-1-hydroxyetyl fosfonát, čištěný rekrystalizací*)

*) Poskytnut Výzkumným oddělením n. p. Spolana Neratovice

2. Preparát s pracovním označením MS-1, obsahující metrifonát v polárním organickém rozpustidlu s přídavkem glycerinu (Minář, Grác, Wünschová, Smolíková 1968; Minář, Wünschová 1969)*)

U krystalického metrifonátu jsme volili perorální cestu vpravení, preparát MS-1 jsme aplikovali perkutánně. U obou přípravků jsme vyzkoušeli dávky tolerované až letální při jednorázovém a zčásti i opakovaném podání.

Pro posouzení reakce organismu jsme sledovali:

A) Aktivitu acetylcholinesterázy v erythrocytech za použití Manssonovy modifikace Michelovy elektrometrické metody v provedení popisovaném Golou a kol. (1968), s přepočtem na jednotky cholinesterázy podle Amonna a Zappa (cit. Gola a kol. 1968). Vzorky jsme odebírali v intervalech 0,5, 1, 3 (popřípadě i 6) a 24 hodiny.

B) Klinický stav s posouzením doby nástupu, intenzity a délky trvání komplexu příznaků odpovídajících vagomimetickému působení organofosfátu.

C) Vznik reziduí metrifonátu ve tkáních. Metrifonát jsme prokazovali v zahuštěných acetonových extraktech tkání (Holub, Hera, Strossa 1969), a to chromatografickým vydělením na silufolových deskách UV-254**) vzestupnou cestou v soustavě chloroform aceton 9:1. Při detekci jsme využili barevnou reakci vyvinutou Wollenbergem (cit. Mustafa a kol. 1966), která v alkalickém prostředí převádí metrifonát na 0,0-dimetyl-0-(2-dichlorvinyl) fosfát-DDVP a po reakci izonikotinylhydrazidem dává žluté zabarvení. Citlivost až 0,5 µg.

VÝSLEDKY

NORMÁLNÍ HODNOTY ERYTHROCYTÁRNÍ ACETYLCHOLINESTERÁZY POKUSNÝCH ZVÍŘAT

U souboru 14 pokusných psů dvou věkových kategorií jsme zjišťovali aktivitu acetylcholinesterázy ve dvou za sebou následujících dnech před aplikací organofosfátu (tab. I).

Hodnoty v obou dnech u stejné skupiny jsou velmi vyrovnané, rovněž tak

I. Průměrné hodnoty erythrocytární acetylcholinesterázy (vyjádřené v jednotkách podle Amonna a Zappa) u 14 psů sledovaných po dva dny za sebou (věkové skupiny 12–14 měsíců a 6 let jsou uvedeny zvlášť)

obě věkové kategorie se v úrovni aktivity acetylcholinesterázy téměř neliší.

Pokus č. 1 — Dávka letální *per os* a *per cutim*; dvojnásobek maximálně tolerované dávky *per os*

Metrifonát jsme podali perorálně na lačno ve škrobových kapslích psu č. 10 v dávce 400 mg/kg (horní hranice rozmezí uváděného Ishihara a kol. 1963) a psu č. 6 v dávce 160 mg/kg (toto množství nepatrně převyšuje dvojnásobek maximálně tolerované dávky, kterou uvádí Bolle (50–75 mg na 1 kg — cit. Hashizume 1963).

Erythrocytární cholinesteráza v jednotkách Průměrné hodnoty a směrodatná odchylka		
Datum	11. 2.	12. 2.
Skupina 10 psů stáří 12–14 měsíců	53,5 ± 9,3	56,7 ± 11,6
Skupina 4 psů stáří nad 6 let	51,2 ± 9,2	48,2 ± 15,0

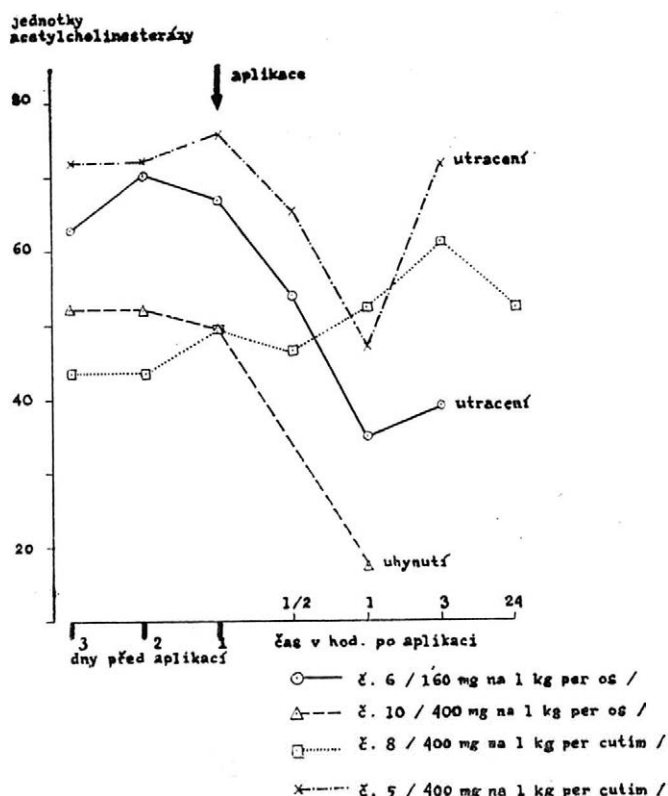
*) Přípravek byl vyvinut spoluprací Parasitologického ústavu ČAV, Výzkumného oddělení n. p. Spolana Neratovice a Ústavu organické chemie ČAV.

**) Výrobce Kavalier, n. p., Votice

Psům č. 8 a 5 jsme dávku 400 mg metrifonátu na 1 kg aplikovali perkutánně v přípravku MS 1 (nanesení na plochu 12 X 12 cm ostříhané kůže v bederní krajině).

Kontrolní hodnoty erytrocytární acetylcholinesterázy před pokusem a změny aktivity po aplikaci uvádí obrázek 1.

Úroveň aktivity erytrocytární acetylcholinesterázy byla u použitých psů různě vysoká, současně se ale ukázala vyrovnanost kontrolních hodnot u jednotlivých zvířat. Po aplikaci se objevil (s výjimkou psa č. 8) výrazný pokles, jehož maximum se soustředilo na interval jedné hodiny po podání, potom došlo opět k vzestupu (u psa č. 10 poklesla aktivita na 34 % výchozího stavu a došlo k uhybnutí).



1. Kontrolní hodnoty erytrocytární acetylcholinesterázy u čtyř psů a změny aktivity po různých dávkách a způsobech aplikace metrifonátu (vyjádřeno v jednotkách cholinesterázy podle Amonna a Zappa)

Klinické příznaky spojené s vagomimetickým účinkem metrifonátu se vyskytly pouze po perorálních aplikacích. U psa č. 6 (160 mg na 1 kg) se dostavily za 60 minut po podání preparátu. Salivace, defekace a urinace byly jen slabší intenzity, svalový tremor postupně přecházel až do křečových stavů, které vzápětí poměrně rychle ustoupily. Skončení příznaků se objevilo 100 minut po apli-

kaci, nadále přetrvávala apatie. Pes byl utracen tři hodiny po aplikaci. U psa č. 10 (400 mg na 1 kg) nastoupily vagomimetické příznaky za 40 minut po aplikaci a jejich intenzita měla rychlou gradaci. K počátečnímu slabšímu svalovému tremoru a salivaci se připojily vomitus a urince, opakovaně docházelo k defekaci kašovitě řídké až vodnaté stolice, svalové třesy byly vystřídány klonicko-tonickými křečemi a po 25minutovém trvání od prvního výskytu změn nastal exitus.

Pokus č. 2 — Maximálně tolerovaná dávka (80 mg na 1 kg) podávaná opakovaně

Psi č. 3, 4, 7 obdrželi dávku 80 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. perorálně opakovaně po tři dny za sebou vždy na lačno ve škrobových kapslích. Interval mezi aplikacemi byl 24 hodiny.

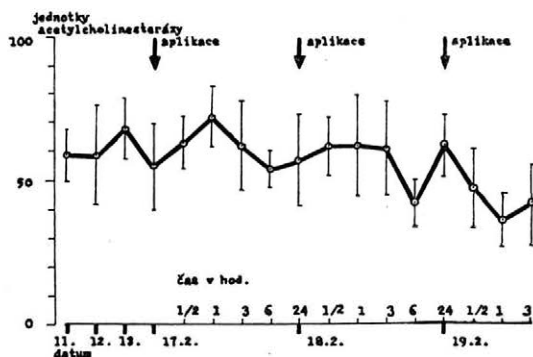
Psi č. 1, 2, 9 obdrželi dávku 80 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. opakovaně po tři dny za sebou ve formě perkutánní aplikace přípravku MS-1 na plochu 12×12 cm ostříhané kůže v bederní krajině. Interval mezi aplikacemi byl 24 hodiny.

Průměrné hodnoty erytrocytární acetylcholinesterázy každé pokusné skupiny před aplikací a po ní jsou uvedeny na obr. 2 a 3.



2. Průměry a směrodatné odchylky hodnot erytrocytární acetylcholinesterázy u tří psů (č. 3, 4, 7) po třikrát ve třech dnech opakované perorální aplikaci 80 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. (vyjádřeno v jednotkách cholinesterázy podle Amonna a Zappa)

3. Průměry a směrodatné odchylky hodnot erytrocytární acetylcholinesterázy u tří psů (č. 1, 2, 9) po třikrát ve třech dnech opakované perkutánní aplikaci 80 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. — přípravek MS 1 (vyjádřeno v jednotkách cholinesterázy podle Amonna a Zappa)



U perorálních aplikací se objevilo po každé dávce snížení aktivity acetylcholinesterázy s poměrně shodným průběhem. Pokles nastal už v odběrech $\frac{1}{2}$ hod. po aplikaci, přičemž maxima snížení byla soustředěna v intervalech 1 a 3 hod. po podání. Nástup klinických změn vagomimetického charakteru se projevoval za 10 až 70 minut od vpravení organofosfátu a odpovídal obrazu v acetylcholinesterázové aktivitě. Doba trvání vagomimetických příznaků (salivace, tachypnoe, svalové fibrilace) byla 35 až 50 minut, intenzita poměrně stejná u všech psů. Třetího dne byli dva psi utraceni, zbylého psa (č. 3), u něhož přetrvávala malátnost, apatie a nechutenství, jsme vyšetřovali na aktivitu acetylcholinesterázy třikrát během dalších pěti dnů. Acetylcholinesteráza zůstala na nízké úrovni (26 %, 47 % a 59 % průměru kontrolních měření), v klinickém stavu se projevilo jen nepatrné zlepšení.

U perkutánních aplikací se po první dávce objevilo určité zvýšení aktivity s následným poklesem na výchozí úroveň, pokles aktivity poněkud většího rozsahu se dostavil až šest hodin po aplikaci druhé dávky a ve všech odběrech po třetí dávce. Příznaky spojené s vagomimetickým účinkem metrifonátu se nevyskytly.

II. Rezidua metrifonátu ve tkáních psů po různých dávkách a způsobech aplikace (vyjádřeno v p. p. m.)

Dávka	Číslo psa	Doba zabiti od poslední aplikace	Vyšetřená tkáň	Rezidua metrifonátu v p. p. m.
80 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. perorálně 1 × denně po 3 dny za sebou	3	5 dnů	svalovina stehna játra	neg. neg.
	4	1 $\frac{1}{2}$ hod.	svalovina stehna játra	neg. neg.
	7	1 $\frac{1}{2}$ hod.	svalovina stehna játra	10 neg.
80 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. perkutánně 1 × denně po 3 dny za sebou	1	3 hod.	svalovina pod místem aplikace játra	30 neg.
	9	3 hod.	svalovina stehna játra	30 neg.
400 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. perkutánně jednorázově	5	3 hod.	svalovina stehna játra	40 neg.
	8	7 dnů	svalovina stehna játra	neg. neg.
160 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. perorálně jednorázově	6	3 hod.	svalovina stehna játra srdce	30 neg. 10
400 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. perorálně jednorázově	10	1 $\frac{1}{4}$ hod.	svalovina stehna játra	80 100

Pokus č. 3 — Rezidua metrifonátu ve tkáních

V kosterní svalovině, játrech a srdci psů, utracených v různých časových intervalech od aplikace, jsme tenkovrstvou chromatografií zjišťovali obsah metrifonátu. Velikost reziduí vyjádřenou v p. p. m. uvádí tabulka II.

Větší kvanta metrifonátu (80 a 100 p. p. m.) se vyskytla pouze po perorální letální dávce, a to už za 1¼ hodiny. po aplikaci. U perkutánních dávek dosáhlo množství metrifonátu v době tři a pět hodin od aplikace velmi vyrovnané hladiny (30 a 40 p. p. m.) i po velmi odlišném rozsahu dávkování.

DISKUSE

Sledování aktivity cholinesterázy v krvi je v současné době nejvhodnějším kritériem působení organofosfátů na lidi i na zvířata (Hais 1964). V našich pokusech jsme volili stanovení pravé cholinesterázy (acetylcholinesterázy) v erytrocytech, kde kompletní inhibice se považuje za letální, zatímco nepravá cholinesteráza může být většinou kompletně inaktivována bez vyvinutí jakýchkoli známek otravy (Davison 1955). Všeobecně se uznává, že pokles aktivity erytrocytární acetylcholinesterázy o 60 % je nebezpečný a za kritickou hranici se považuje 80 %, přičemž je důležitá i rychlost poklesu (Hais, Franz 1968).

Normálové hodnoty acetylcholinesterázové aktivity u psů naší pokusné sestavy odpovídaly rozsahu, který pro různé věkové kategorie plemene německý ovčák uvádí Gola (1968).

U perorální aplikace metrifonátu se po všech typech dávkování (tj. na lačno podaná dávka letální, dvojnásobek maximálně tolerované dávky a dávka tolerovaná, opakovaná třikrát vždy s intervalem 24 hod.) objevil pokles aktivity acetylcholinesterázy, jehož rychlost a hloubka se blížila hranici, která se považuje za nebezpečnou. Po letální dávce pes uhynul.

Perkutánní aplikace týchž dávek vyvolala v aktivitě acetylcholinesterázy změny méně výrazné.

Stejný obraz dává i vyhodnocení klinických změn vagomimetického charakteru, kde se příznaky vyskytly u všech perorálních dávek, zatímco po perkutánních aplikacích se neprojevyly klinické reakce ani při dávkách letálních. Tuto odlišnost zřejmě ovlivňují kromě jiného i následující skutečnosti. Metrifonát vykazuje rychlou metabolickou degradaci a disociaci svazku enzym-inhibitor (Du Bois, Cotter 1955 — cit. Arthur, Casida 1957). Davison (1955) uvažuje, že v případě takové nestability inhibovaného enzymu obnova cholinesterázové aktivity odpovídá nejen resyntéze nového enzymu, ale je úměrná i hydrolýze fosforylovaného (inaktivovaného) enzymu. A stupeň reaktivace inhibovaného enzymu je podle Wankera, Healta (1957) nepřímo úměrný době kontaktu mezi inhibitorem a enzymem. Zdá se, že námi použité různé způsoby aplikace právě podmiňují rozdílnou dobu kontaktu, a tím i rychlost následné reaktivace inaktivované acetylcholinesterázy, což se potom projevuje i v odlišné intenzitě výskytu klinických změn.

Z prací o metabolismu metrifonátu (Arthur, Casida 1957) je patrna rychlá metabolická degradace; 10 minut po intravenózním vpravení 150 mg preparátu L 13/59 na 1 kg (přípravek fy Bayer totožný s metrifonátem) obsahoval vzorek krve jednu část organofosfátu a dvě části hydrolytického produktu. Po šesti hodinách bylo v plazmě pouze 0,4 % podané dávky v nehydrolyzované formě. Toxicita degradačních produktů je nepatrná. Schenck (1969) o terapeutických dávkách metrifonátu uvádí, že netvoří rezidua.

K posouzení velikosti zbytkových množství metrifonátu ve tkáních jsme volili chromatografickou detekci za použití vyvíjecí soustavy chloroform-aceton 9 : 1 (Askew, Ruzicka, Wheals 1969), v níž se hodnoty Rf metrifonátu významně liší od Rf hodnot sloučeniny DDVP (0,0-dimethyl-0,2-dichlor-vinylfosfát), což je látka s 10X vyšší toxicitou než metrifonát. Arthur, Casida (1957) totiž naznačují možnost vzniku DDVP z metrifonátu v alkalickém prostředí v pokusech *in vitro*. *In vivo* zatím vznik DDVP zaznamenán nebyl, rovněž my jsme DDVP neprokázali.

Nejvyšší množství metrifonátu ve tkáních, a to 80 p. p. m. ve svalovině a 100 p. p. m. v játrech, jsme zachytili za 1¼ hodiny po perorální aplikaci letální dávky. Rychlost proniknutí do tkání odpovídá údajům Behrenze (1961), který zaznamenal největší nahromadění Neguvonu (přípravek fy Bayer vytvořený na bázi metrifonátu) v mase skotu a ovcí jednu hodinu po perorální aplikaci.

U perkutánních aplikací se po všech dávkách vyskytlo ve svalovině téměř stejné množství metrifonátu (30-40 p. p. m.), a to v intervalu tři až pět hodin po podání. Rychlost objevení i množství organofosfátu se zdají být poměrně velké ve srovnání s údaji Schwarze a Dedka (1965), kteří po perkutánní aplikaci u skotu registrovali maximum organofosfátu v krvi za 10 až 16 hodin. Odlišnost lze ovšem vysvětlit nejen rozdílnou stavbu kůže a jí ovlivněným vstřebáváním u použitých zvířat, ale i přítomností polárního organického rozpustidla v přípravku MS-1 námi použitým. Holub, Hera, Strossa (1969), kteří pracovali s přípravkem MS-1, nacházeli u králíků už tři hodiny po perkutánní aplikaci 800 mg MS-1 na 1 kg ž. v. (asi 400 mg metrifonátu na 1 kg) množství 40 p. p. m. metrifonátu ve svalovině, což jsou hodnoty podobné našim výsledkům u odpovídající dávky a způsobu aplikace.

Pro ilustraci o velikosti nacházených zbytkových množství metrifonátu je možno uvést údaje Engsta (1962), který uvádí toleranci 10 p. p. m. v potravinách pro NDR.

Z hlediska rozsahu změn v acetylcholinesteráze a klinickém stavu se tedy perkutánní aplikace jeví ve srovnání s perorálním podáním jako mírnější zásah do organismu zvířete, navíc je tento slabší rozsah změn při perkutánní aplikaci doprovázen výskytem větších množství metrifonátu ve sledovaných tkáních, což by bylo zvláště výhodné pro zasažení parazitujícího organismu.

Literatura

- ARTHUR B. W., CASIDA J. E., 1957, Metabolism and Selectivity of 0,0-Dimethyl-2,2,2-Trichloro-1-hydroxyethyl Phosphonate and its Acetyl and Vinyl Derivatives. *J. Agr. Food Chem.* 5 : 186-191.
- ASKEW J., RUZICKA J. H., WHEALS B. B., 1969, A General Method for the Determination of Organophosphorus Pesticide Residues in River Waters and Effluents by Gas, Thin-Layer and Gel Chromatography. *Analyst* 94 : 275-284.
- BEHRENZ W., 1961, Biologische Bestimmung des Wirkstoffgehaltes im Fleisch von Schafen und Rindern zu verschiedenen Zeiten nach oraler Behandlung mit Neguvon. *Arch. Lebensm.-Hyg.* 10 : 64-67.
- DAVISON A. N., 1955, Return of Cholinesterase Activity in the Rat after Inhibition by Organophosphorus Compounds. *Biochem. J.* 60 : 339-346.
- ENGST R., 1962, Die Anwendung der Schädlingsbekämpfungsmittel als lebensmittelhygienisches und toxikologisches Problem. *Nahrung* 6 : 69-91.
- GOLA J. a kol., 1968, Závěrečná zpráva úkolu Z-4-3.1. Výzkumný ústav masného průmyslu, Brno.
- HAIS K., 1964, Zkušenosti s používáním Soldepu proti ektoparazitům hospodářských

- zvířat. In: PLHOŇ M., Konference o veterinárních léčivech. Veterinaria 1-2 : 20-29.
- HAIS K., FRANZ J., 1968, Brevitox k desinfekci stájí. Veterinářství XVIII, 12 : 546-548.
- HASHIZUME K., MATSUMOTO H., ISHIKAWA H., SASAKI Y., 1963, Über den Einfluß des Bayer L 13/59 (Neguvon) auf Cholinesterase, insbesondere auf die unspezifische Cholinesterase in Serum, Leber, Pankreas und Milz der Hunde. Vet. Med. Nachr. 2/3 : 246-259.
- HOLUB J., HERA A., STROSSA V., 1969, Obsah organofosfátu v tkáních a mléce zvířat po ošetření preparáty typu MS se zaměřením na potřeby praxe. Závěrečná zpráva, ÚSKVLB Brno : 1-87.
- MINÁŘ J., GRÁC Z., WÜNSCHOVÁ M., SMOLÍKOVÁ J., 1968, Preparáty MS-1 a MS-2 k hubení podkožních střechů hovězího dobytka. Zprávy pro Výzkumné oddělení n. p. Spolana Neratovice : 1-26.
- MINÁŘ J., WÜNSCHOVÁ M., 1969, Hypocid. Závěrečná zpráva. Parasitologický ústav CSAV Praha a Výzkumné oddělení n. p. Spolana Neratovice : 1-78.
- MORI T., 1960, Pisemné sdělení. Bayer Veterinärmed.-wiss. Abteilung, 509 Leverkusen - Bayerwerk.
- MUSTAFA A., SIDKY M. M., EL-DARAWY Z. I., KAMEL HUSSIN, 1966, Colorimetric Determination of 0,0-dimethyl (1-hydroxy-2,2,2-trichloroethyl) phosphonate and Its Higher Homologs. J. Agr. Food Chem. 14,5 : 503-504.
- SCHENCK L., 1969, Untersuchungen zum Rückstandverhalten von Trichlorfon im tierischen Organismus. Vet. Med. Nachr. 1 : 77-78.
- SCHWARZ H., DEDEK W., 1965, Das Verhalten von radioaktiv markierten Trichlorfon nach Pouron-Applikation zur Dassellarven-Bekämpfung beim Rind. Mh. Vet. Med. 20 : 958-959.
- WANDEKAR M., HEALT D. F., 1957, The Reactivation of Cholinesterase after Inhibition in vivo by some Dimethyl Phosphate Esters. Biochem. J. 67 : 202.

Došlo dne 28. 5. 1970

ПАВЛИЧЕК Й. (Паразитологический институт ЧСАН, Прага, Чехословакия). Реакция собак на разные способы применения метрифоната (трихлорфона). Вет. Мед. (Прага) 15 (10) : 589-598, 1970.

Изучалась реакция собак на внутреннее введение органофосфорного соединения метрифоната и подкожное применение чехословацкого препарата MS 1 (приготовленного на базе метрифоната) при однократной или повторной даче максимально допустимых, вплоть до смертельных доз. На группе 14 собак породы немецкая овчарка при помощи электрометрического метода производилась оценка активности эритроцитарной ацетилхолинэстеразы, изучали случаи клинических признаков вагомиметического характера и тонкослойной хроматографией определяли остатки метрифоната в тканях. Внутреннее применение метрифоната в интервале 0,5—3 час, после всех испытываемых доз (80—400 мг на 1 кг) вызвало упадок активности ацетилхолинэстеразы и случаи вагомиметических признаков разной интенсивности. После снижения активности до 34 % в течение одного часа после дачи препарата следовала гибель. Подкожное применение препарата MS 1 в дозах, сравнимых по количеству действующей субстанции и по схеме времени дачи с внутренним введением, вызвало менее заметные изменения в активности ацетилхолинэстеразы, а клинические признаки вагомиметического комплекса вовсе не были обнаружены. В разных интервалах после введения препарата в ткани собак был установлен остаток метрифоната в объеме 0—100 · 10⁶.

метрифонат; собака; эритроцитарная ацетилхолинэстераза; вагомиметические признаки; остаток метрифоната

PAVLÍČEK J. (Institute of Parasitology of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha, Czechoslovakia). Reaction of Dogs to Different Ways of Applying Metriphosphate (Trichlorphone). Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 589-598, 1970.

We investigated the reaction of dogs to an oral ingestion of an organophosphoric compound metriphosphate and a percutaneous application of a Czechoslovak preparation MS 1 (formed on the base of metriphosphate) with one or repeated application

of the maximum of tolerated up to lethal doses. In a group of 14 dogs of the German Sheep-Dog race we evaluated in the electrometric way the activity of the erythrocytic acetylcholinesterase, observed the occurrence of clinical symptoms of vagomimetic character and through thin-layer chromatography determined the residua of metrifphonate in the tissues. In an interval of 0.5—3 hours after all tested doses (80—400 mg per 1 kg) the oral application of metrifphonate caused a decrease in the activity of acetylcholinesterase and an occurrence of vagomimetic symptoms of various grades of intensity. A decrease in the activity to 34 % within one hour after application was followed by death. Percutaneous application of the preparation MS1 in doses comparable as far as the quantity of active substance as well as time schedule of application is concerned with oral applications caused less significant changes in the activity of acetylcholinesterase, and clinical symptoms of the vagomimetic complex did not occur at all. In various intervals after applications we determined residua of metrifphonate amounting from 0 to 100 p. p. m. in tissues of the dogs.

metrifphonate; dog; erythrocytic acetylcholinesterase; vagomimetic symptoms; residua of metrifphonate

PAVLÍČEK J. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften. Praha, Tschechoslowakei). *Reaktion der Hunde auf verschiedene Applikationsmethoden von Metrifphonat (Trichlorphon)*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 589-598, 1970.

Wir untersuchten die Reaktion der Hunde auf die perorale Einbringung der Organophosphorverbindung Metrifphonat und perkutane Applikation des (auf der Basis von Metrifphonat gebildeten) tschechoslowakischen Präparats MS 1 bei einer einmaligen evtl. wiederholten Verabreichung von maximal tolerierten bis lethalen Gaben. Auf einer Gruppe von 14 Hunden der Rasse deutscher Schäferhund bewerteten wir mit der elektrometrischen Methode die Aktivität der Erythrozytenazetylcholinesterase, beobachteten das Vorkommen der klinischen Symptome des vagomimetischen Charakters und legten mit einer Dünnschichtchromatographie die Residuen des Metrifphonats im Gewebe fest. In einem Intervall von 0.5—3 Stunden nach allen geprüften Gaben (80—400 mg auf 1 kg) erregte die perorale Applikation des Metrifphonats eine Herabsetzung der Aktivität der Azetylcholinesterase und das Vorkommen von vagomimetischen Symptomen von verschieden abgestufter Intensität. Nach der Herabsetzung der Aktivität auf 34 % innerhalb einer Stunde nach der Verabreichung erfolgte das Verenden. Perkutane Applikation des Präparats MS 1 verursachte in, was Menge der Wirksubstanz und Zeitschema der Verabreichung anbelangt, mit den peroralen Applikationen vergleichbaren Gaben, weniger signifikante Änderungen in der Aktivität der Azetylcholinesterase und klinische Symptome des vagomimetischen Komplexes kamen überhaupt nicht vor. In verschiedenen Intervallen nach den Applikationen stellten wir in Hundegeweben Residuen des Metrifphonats im Umfang von 0—100 p. p. m. fest.

Metrifphonat; Hund; Erythrozytenazetylcholinesterase; vagomimetische Symptome; Metrifphonatresiduen

PAVLÍČEK J. (Institut parasitologique de l'Académie tchécoslovaque des sciences, Praha, Tchécoslovaquie). *Réponse des chiens aux modes différents d'application du métrifphonate (trichlorphone)*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 589-598, 1970.

On vérifiait la réponse des chiens à l'administration par voie buccale du composé organophosphaté métrifphonate et à l'application par voie cutanée de la préparation tchécoslovaque MS 1 (formée sur la base de métrifphonate), quand l'administration des doses tolérées maxima ou mêmes léthales avait lieu en une seule fois, ou était éventuellement réitérée. C'est sur un groupe de 14 chiens de la race chien de berger allemand que nous avons évalué, en appliquant la méthode électrométrique, l'activité de l'acétylcholinestérase érythrocytaire, tout en suivant également l'apparition des symptômes cliniques de caractère vagomimétique et déterminant par chromatographie en couche mince les résidus de métrifphonate dans les tissus. L'application par voie buccale du métrifphonate a provoqué dans l'intervalle de 0.5-3 heures, à la suite de l'application de toutes les doses examinées (80—400 mg par 1 kg), l'affaiblissement de l'activité de l'acétylcholinestérase et l'apparition des

symptômes vagomimétiques d'une intensité différemment échelonnée. Quand l'activité s'est abaissée à 34 p. 100, les animaux ont péri au bout d'une heure à la suite de l'application. L'application par voie cutanée de la préparation MS 1 a occasionné, à des doses comparables quant à la quantité de substance efficace et au schéma chronométrique d'application, avec les administrations par voie buccale, des changements moins expressifs de l'activité de l'acétylcholinestérase, les symptômes cliniques du complexe vagomimétique n'apparaissant pas du tout. Dans les intervalles variés, consécutifs à l'application, nous avons identifié dans les tissus des chiens des résidus de métriphonate en quantité allant de 0-100 p. p. m.

métriphonate; chien; acétylcholinestérase; symptômes vagomimétiques; résidus de métriphonate

Adresa autora:

MVDr. Jiří Pavlíček, Parasitologický ústav ČSAV, Praha 6, Flemingovo nám. 2

ZHODNOCENÍ NĚKTERÝCH BIOCHEMICKÝCH NÁLEZŮ V PRŮBĚHU APLIKACE METRIFONÁTU (DTHP) ČS. VÝROBY U PSŮ

J. Konrád, K. Blažek, J. Pavlíček

Vysoká škola veterinární, Brno
Parasitologický ústav ČSAV, Praha

KONRÁD J., BLAŽEK K., PAVLÍČEK J. *Zhodnocení některých biochemických nálezů v průběhu aplikace metrifonátu (DTHP) čs. výroby u psů.* Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 599-608, 1970.

Při jednorázové nebo krátkodobě opakované perorální aplikaci metrifonátu čs. výroby nebo perkutánní aplikaci čs. přípravku MS-1 (v němž je metrifonát účinnou látkou), nedochází k signifikantním změnám v celkové bílkovině krevního séra a v bílkovinném spektru. Nebyl zjištěn vliv takové aplikace na minerální metabolismus a obsah cholesterolu v krevním séru. Zjištěné zvýšení aktivity GPT a LDH není významné a je přechodného rázu; signalizuje určitý zásah do metabolických pochodů v cytoplasmě; nesvědčí však při použití terapeutických dávek o vážnějším poškození jater nebo jiných parenchymů. Aktivita GOT je v podstatě v mezích normy.

metrifonát (preparát MS-1); pes; bílkovinný a minerální metabolismus; transaminázy GOT, GPT; laktátdehydrogenáza

V rámci studia účinnosti metrifonátu čs. výroby v substanci a v preparátu MS 1 na organismus psa a při léčbě demodikózy (Pavlíček 1970, Blažek, Kazda 1970), sledovali jsme i některé biochemické ukazatele, abychom blíže poznali vliv tohoto preparátu na biochemické pochody organismu a podchytili jeho případné toxické účinky na některé orgány, zejména na játra.

MATERIÁL A METODY

U čtrnácti psů plemene německý ovčák byl proveden kontrolní odběr krve, byly zjištěny individuální výchozí hodnoty níže uvedených reakcí a stanovena hodnota průměrná. Devíti z těchto pokusných psů, jimž byl později perorálně aplikován metrifonát nebo perkutánně preparát MS 1, byly v průběhu pokusu odebírány krevní vzorky k biochemickému vyšetření. Šlo o tři psy s perorální aplikací 80 mg metrifonátu/kg ž. v. po tři dny za sebou (obr. 1), o další tři psy, jimž byla podána tatáž dávka metrifonátu v preparátu MS 1 perkutánně, rovněž po tři dny za sebou (obr. 2) a o vyšetření dvou psů s dávkou 400 mg metrifonátu na 1 kg ž. v., u jednoho z nich s aplikací perkutánní (obr. 4), u druhého perorální (obr. 3). Krev jsme odebírali za jednu nebo za tři hodiny po aplikaci. U dalšího psa bylo aplikováno 80 mg metrifonátu/kg ž. v., perorálně, rozděleně na dvakrát v intervalu 4½ hod., a krev byla odebrána za 3, 4½ a 5 hodin po první aplikaci. Třetí odběr (5 hodin po 1. aplikaci) byl proveden za ½ hodiny po podání druhé poloviny celkové dávky (obr. 5).

Z biochemických ukazatelů jsme sledovali bílkovinný a minerální metabolismus, některé enzymatické pochody a hladinu cholesterolu.

Celkovou bílkovinu jsme stanovovali refraktometricky, jednotlivé frakce sérových bílkovin elektroforézou na papíře s elučním vyhodnocováním příslušných frakcí.

Z minerálů jsme sledovali kalcium, fosfor, a chloridy. Kalcium bylo určováno fotometricky modifikovanou metodou podle Boudy za použití glyoxalu. Fotometricky byly zjišťovány i chloridy za použití „Lachema-testu“. Anorganický fosfor byl stanovován metodou Urbach-Raabe (Christoph, Meyer 1965).

Transaminázy jsme zjišťovali původní metodou podle Reitmana-Frankela (1957) v modifikaci Ševely (1958) a cholesterol metodou Pearsonovou v modifikaci Mrskoše a Továrka (1958).

Po usmrcení jsme pokusné psy pitvali a jejich orgány a kosterní svalovinu jsme vyšetřovali histologicky za použití obvyklé parafinové techniky.

VÝSLEDKY

METABOLISMUS BÍLKOVIN

Z výsledků, zachycených v obrázcích, je patrné, že hladina celkové bílkoviny nebyla aplikací preparátu vcelku ovlivněna. Podstatnější zvýšení jsme zaznamenali jediné u psa č. 10, a to za jednu hodinu po perorální aplikaci 400 mg/kg ž. v. metrifonátu (obr. 3); u tohoto psa došlo v důsledku aplikace k uhynutí krátce po odběru. Hladina celkové bílkoviny stoupla v tomto případě o 2,4 g% nad maximální hranici normy a o 2,05 g% nad průměr kontrolních odběrů u tohoto psa. Naproti tomu perkutánní aplikace dávky 400 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. v preparátu MS 1 hladinu celkové bílkoviny neovlivnila (obr. 4). Nepatrné zvýšení nad horní hranici normy (7,4 g%) bylo zaznamenáno také u psa č. 2 tři hodiny po druhé perkutánní aplikaci MS 1 (80 mg/kg ž. v.), avšak u tohoto zvířete bylo výrazné zvýšení (8,3) konstatováno i v kontrolním odběru již před aplikací preparátu. V kontrolním odběru jsme lehké zvýšení celkové bílkoviny zaznamenali také u psa č. 3.

V bílkovinném spektru jsme zachytili odchylky od normy především v beta globulinové frakci: u psa č. 3 (80 mg *per os*, tři dny) depresi za hodinu po první aplikaci na 10 rel % z hodnoty 28,8 % před podáním preparátu (obr. 1). U psa č. 10 došlo za hodinu po aplikaci (400 mg *per os*/kg ž. v.) k elevaci beta globulinů z 25,5 % na 31,9 % (obr. 3), zatímco u psa č. 8 (400 mg/kg ž. v. *per cutim*) došlo pouze k nevýznamnému zvýšení (27,1 %) nad horní hranici normy a průměr před aplikací, a to teprve čtvrtý den po aplikaci (obr. 4).

Lehké zvýšení beta globulinové frakce jsme zaznamenali také v kontrolním odběru psa č. 2 (u něhož bylo zjištěno i zvýšení celkové bílkoviny) a u psa č. 1 v kontrole před druhou aplikací (80 mg/kg *per cutim* (obr. 2), tzn. za 24 hodiny po první aplikaci preparátu MS 1. U psa č. 3 (kde došlo k významné depresi beta globulinů) jsme zaznamenali současně elevaci gama globulinů za hodinu po první aplikaci 80 mg/kg *per os* (obr. 1).

Hladina albuminů nevykazuje odchylek v průměrných hodnotách jednotlivých skupin. Při individuálním hodnocení jsme zjistili mírné snížení hladiny albuminů v kontrolním odběru u psa č. 2 a zvýšení u psa č. 9 před druhou

aplikací (80 mg *per cutim*, tři dny). Vcelku je však možno říci, že tyto výsledky odpovídají známé labilitě bílkovinného spektra a že není možno ze zjištěných odchylek činití obecnější závěry.

METABOLISMUS MINERÁLŮ

Při sledování hladiny kalcia, anorganického fosforu a chloridů v krevním séru nezjistili jsme ani u jedné skupiny pokusných zvířat takové odchylky od normy, které by bylo možno považovat za odraz působení metrifonátu (resp. preparátu MS 1). Při 53 analýzách krevního séra u každého z uvedených tří minerálů jsme zaznamenali pouze u psa č. 9 (80 mg metrifonátu *per cutim*/kg, tři dny po sobě) výraznější snížení hladiny anorganického fosforu z 4,4 mg% před aplikací na 2,5 mg% za hodinu po první aplikaci (obr. 2). Tato hladina je však ještě považována za minimální hranici fyziologického rozpětí hladin anorganického fosforu u psa (Christoph, Meyer 1965).

HLADINA CHOLESTEROLU

V krevním séru se hladina cholesterolu v průběhu pokusu pohybovala v hranicích fyziologického normálu.

ENZYMOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

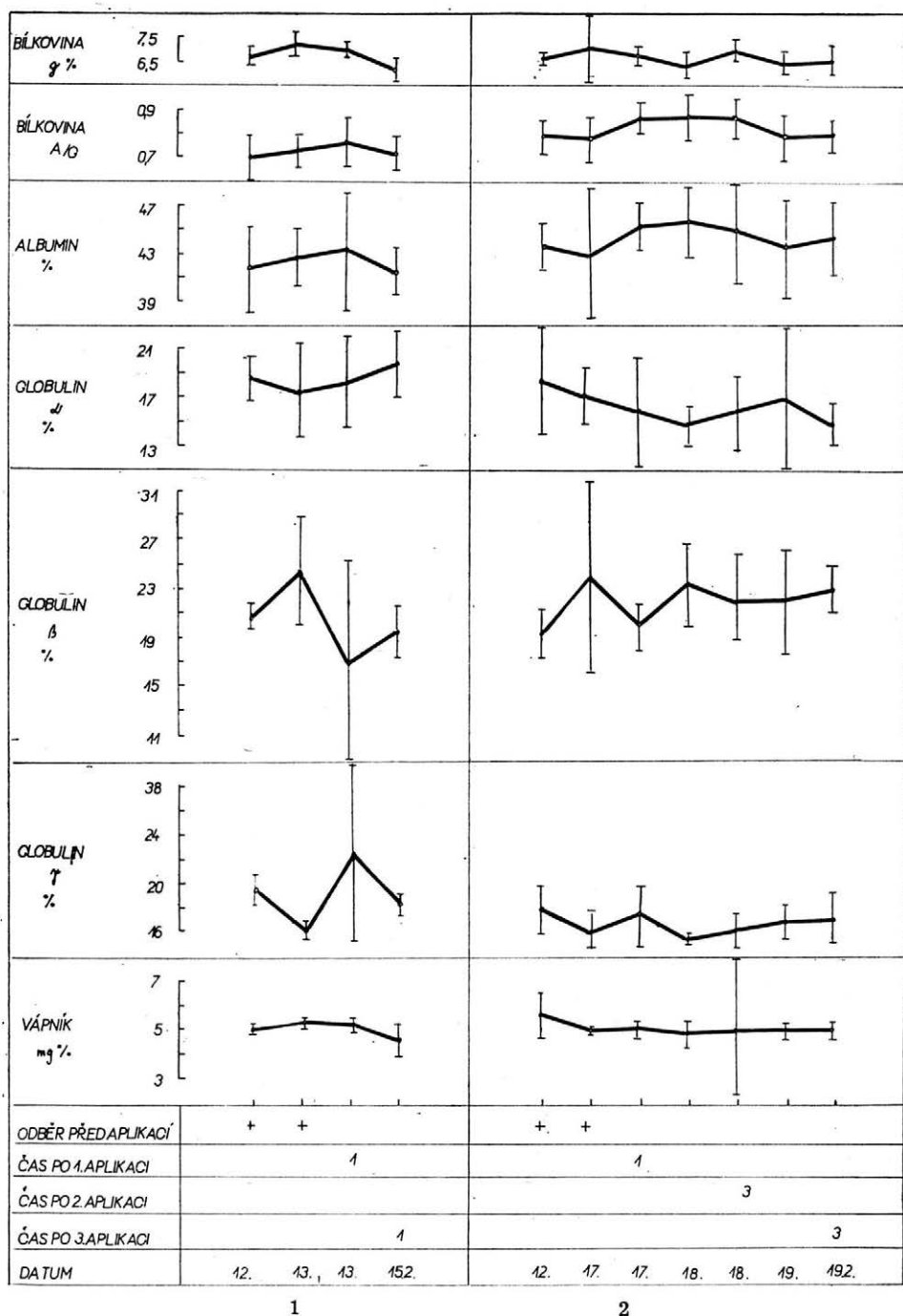
Při enzymologickém vyšetření jsme se zabývali především hodnocením transamináz, a to transaminázy glutamátu-oxalacetátu (GOT), transaminázy glutamátu-pyruvátu (GPT) a laktátdehydrogenázy (LDH). Sledování aktivity těchto enzymů jsme věnovali pozornost především proto, že mají úzký vztah k poškození jater a mohou tak být ukazatelem hepatotoxického vlivu zkoumaného preparátu.

Při sledování aktivity GOT jsme zjistili výraznější zvýšení pouze u psa č. 8, jemuž byl aplikován preparát MS 1 s obsahem 400 mg/kg metrifonátu *per cutim* (obr. 4). Zvýšení aktivity GOT (na 1,76 mikromolu proti 0,54 mikromolu před započítáním pokusu) bylo zjištěno za hodinu po aplikaci; při kontrole čtvrtý den od aplikace byly zjištěné hodnoty v mezích normy (0,64 mikromolu).

Také u psa č. 13 (80 mg/kg *per os* rozdělena na dvakrát) (obr. 5) jsme konstatovali zvýšení aktivity GOT tři hodiny po aplikaci první poloviny dávky (na 1,05 z hodnoty 0,32 mikromolu před započítáním pokusu). Tato hodnota je však stále v mezích normy.

U GPT jsme zaznamenali mírné zvýšení aktivity u psa č. 2 a 9 (80 mg/kg *per cutim* tři dny po sobě) za tři hodiny po druhé aplikaci (1,12; 1,00), avšak toto zvýšení je zcela zanedbatelné v relaci k počátečním hodnotám a vzhledem k tomu, že tyto hodnoty nepřesahují horní hranici normy (1,2 mikromolu). U psa č. 9 jsme však po aplikaci preparátu třetí den, a to za tři hodiny po aplikaci, zjistili hodnotu 1,44 mikromolu, která přesahuje horní hranici normy (obr. 2).

Při perorální aplikaci 80 mg/kg (tři dny za sebou) (obr. 1) došlo u psa č. 3 ke zvýšení na 1,28 mikromolu za hodinu po třetí dávce, proti kontrolám před započítáním pokusu. Za tři dny nato byla aktivita GPT v mezích individuální



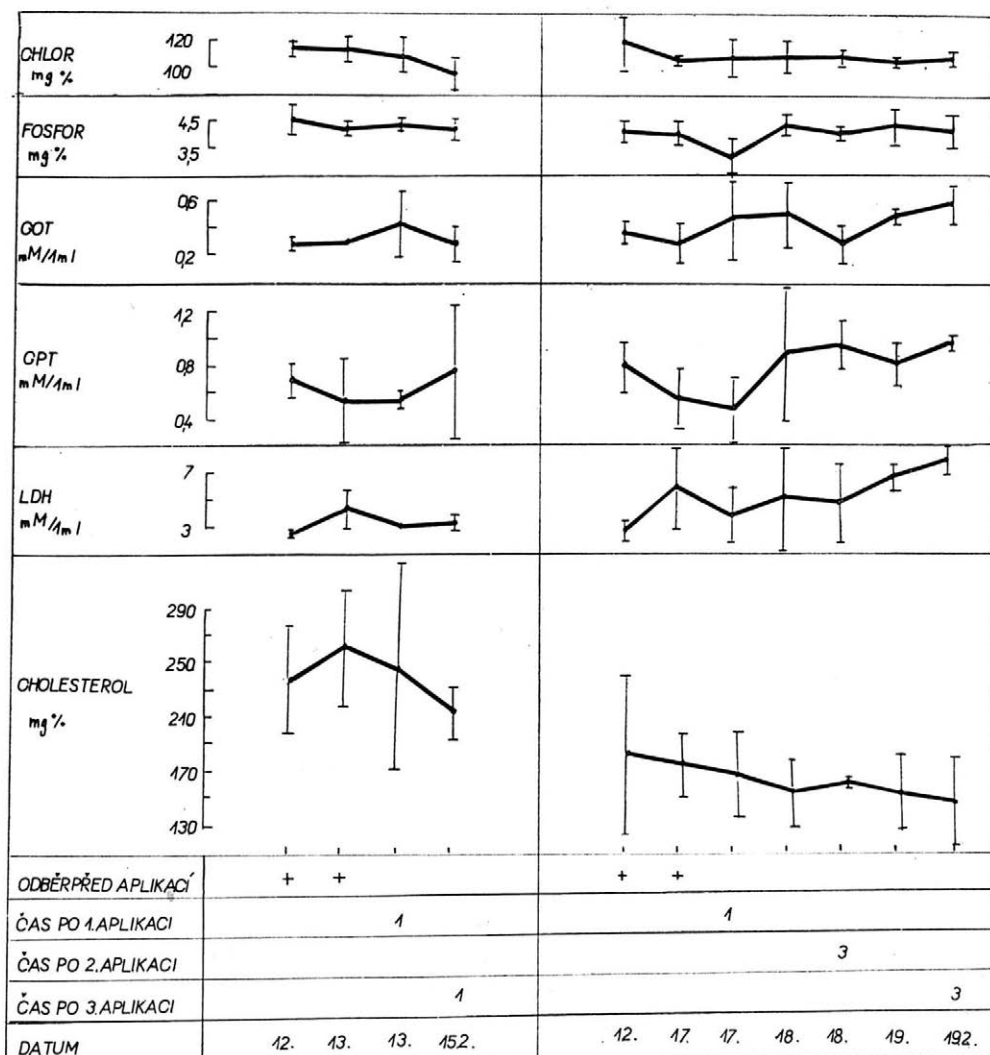
1

2

Popis stejný jako na str. 603.

1. pokračování

2. pokračování



1. 80 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. (dávka maximálně tolerovaná) při peronální aplikaci opakované po tři dny za sebou u tří psů (č. 3, 4, 7) (uváděn průměr a směrodatná odchylka)

2. 80 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. (dávka maximálně tolerovaná) při perkutánní aplikaci (nanesené na plochu 12×12 cm ostříhané kůže) opakované po tři dny za sebou u tří psů (č. 1, 2, 9) (uváděn průměr a směrodatná odchylka)

normy. U psa č. 13, jemuž byla podána jediná dávka 80 mg metrifonátu/kg rozděleně na dvakrát (kontrolní odběr 0,80), byly zvýšené hodnoty GPT za tři hodiny, čtyři a půl i pět hodin po aplikaci, a to dosti podstatně (2,00; 2,80; 2,70) (obr. 5).

Při perorálním podání metrifonátu v dávce 400 mg/kg (pes č. 10 — obr. 3) jsme našli za jednu hodinu po aplikaci hodnotu 3,40 mikromolu proti individuál-

ní kontrolní hodnotě 1,92. Perkutánní aplikace téže dávky zůstala bez odezvy v aktivitě tohoto enzymu (obr. 4).

Zajímavé výsledky jsme obdrželi při hodnocení laktátdehydrogenázy, neboť jsme ve většině případů zjistili zvýšení aktivity tohoto enzymu v porovnání s hodnotami před započítím pokusu. Při perkutánní aplikaci MS 1 (80 mg metrifonátu/kg po tři dny za sebou) byly u všech psů vysoké hodnoty LDH (obr. 2). U psa č. 1 byla hodnota před aplikací třetí den (tedy po dvou předcházejících aplikacích) 7,60 mikromolu proti průměrné kontrolní hodnotě 3,6 mikromolu; při odběru tři hodiny po třetí aplikaci byla aktivita LDH 8,4 mikromolu. U psa č. 9 jsme zaznamenali tři hodiny po druhé aplikaci hodnotu 8,00 a tři hodiny po třetí aplikaci 6,00 mikromolu (kontrolní hodnota 3,65 mikromolu).

Pes č. 2 této skupiny vykazuje však z blíže neobjasněných důvodů vysokou hodnotu (10,0) již v kontrole těsně před započítím pokusu, proti dřívější kontrole s hodnotou 2,45, a potom i v dalších odběrech.

Perorální aplikace 80 mg/kg po tři dny za sebou (odběry jednu hodinu po aplikaci) nepřinesla žádné překvapení, hodnoty se pohybovaly v hranici individuálních průměrů (obr. 1).

U psa č. 13 (80 mg/kg *per os* rozděleně na dvakrát) (obr. 5) jsme konstatovali za tři hodiny po aplikaci zvýšení aktivity LDH z původní hodnoty 2,20 na 6,20 mikromolu. Později došlo k poklesu těchto hodnot.

U dávky 400 mg *per cutim* (pes č. 8) bylo zjištěno lehké zvýšení hodnoty za čtyři dny po aplikaci (kontrola 4,2; čtvrtý den 5,80) (obr. 4).

Perorální aplikace 400 mg/kg (pes č. 10), která končila smrtí zvířete, vedla k trojnásobnému zvýšení aktivity LDH již za hodinu po aplikaci (ze 4,10 na 12,40 mikromolu) (obr. 3).

Při histologickém vyšetření orgánů pokusných psů — srdce, jater, ledvin, sleziny, pankreatu, mozku, a svaloviny kosterní — nebyly zjištěny výrazné patomorfologické změny.

DISKUSE

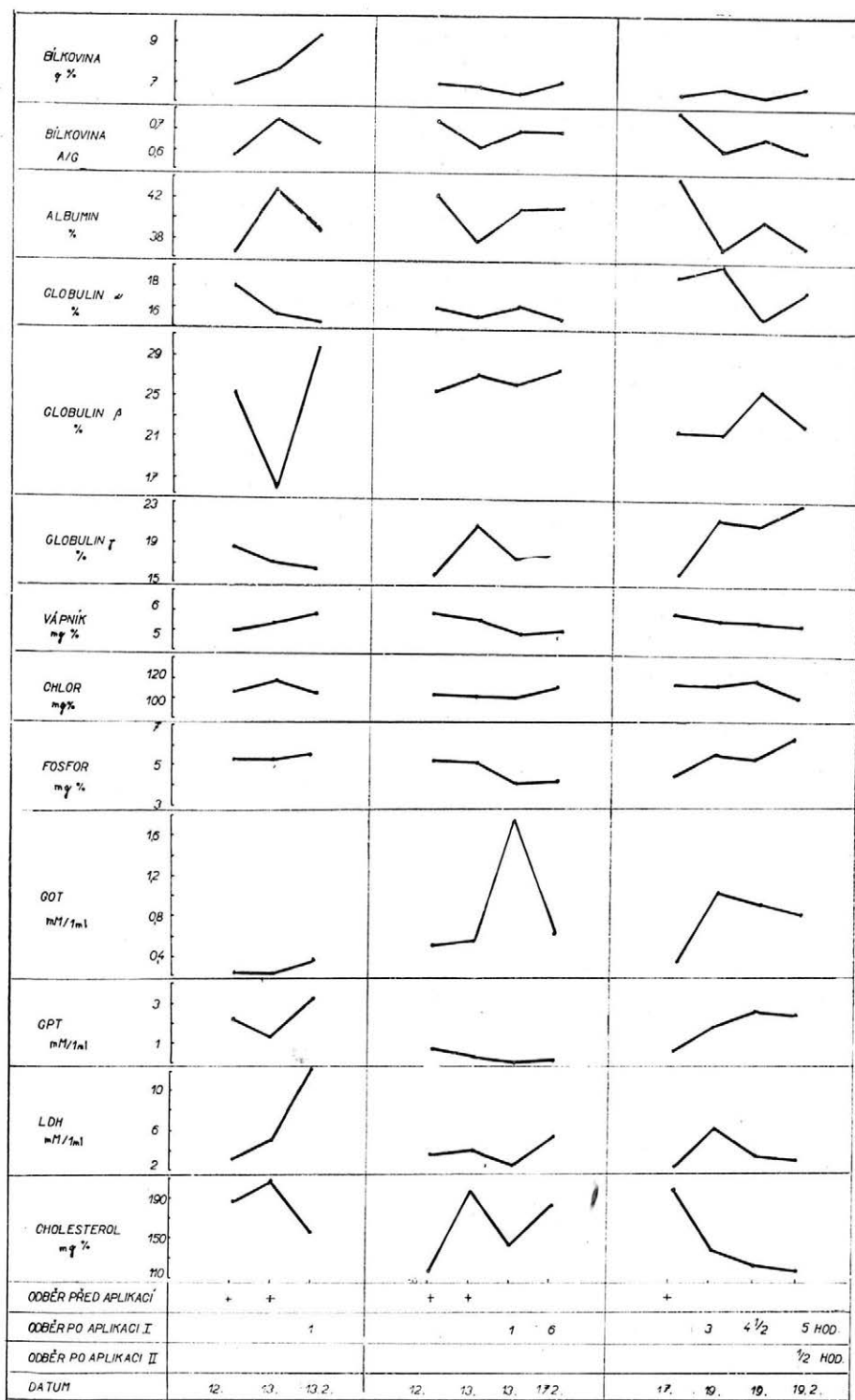
Při aplikaci metrifonátu (DTHP) čs. výroby, ať již perorální nebo v přípravku MS 1 určeném k zevnímu použití, nedochází k signifikantním změnám v celkové bílkovině krevního séra a v bílkovinném spektru; stejně tak jsme nezjistili vliv přípravku na minerální metabolismus nebo obsah cholesterolu v krevním séru. Výsledky našich šetření však ukazují, že metrifonát do jisté míry zasahuje do enzymatického celulárního systému a že ovlivňuje aktivitu transamináz. Zjistili jsme zvýšení aktivity GPT a zejména LDH, zatímco zvýšení u GOT bylo nepatrné. U LDH se objevuje zvýšení hodnot u různých psů již od prvního dne aplikace, avšak statisticky významného zvýšení vůči výchozí hodnotě dosahuje teprve průměr obou měření ze třetího dne aplikace.

Zvýšení, které jsme u transamináz zjistili, je však přechodného rázu. Zvýšení aktivity buněčných enzymů (GPT a LDH) signalizuje tedy určitý zásah do metabolických pochodů v cytoplasmě jaterní buňky, nejde však o vážnější

3. 400 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. (dávka letální) při jednorázové perorální aplikaci u jednoho psa — č. 10

4. 400 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. (dávka letální) při jednorázové perkutánní aplikaci (nanesení na plochu 12×12 cm ostříhané kůže) u jednoho psa — č. 8

5. 80 mg metrifonátu na 1 kg ž. v. (dávka max. tolerovaná) rozdělených do dvou perorálních aplikací — interval mezi podáními 4½ hod. (pes č. 13)



←

3

4

5

poškození jater nebo jiných parenchymů (srdce), jak ukazují hodnoty aktivity GOT, které jsou vcelku v mezích normy.

Histologické vyšetření orgánů neprokázalo zjiitelné morfologické změny na parenchymatózích orgánech.

Uzavíráme tedy, že preparát MS 1, jehož účinnou součástí je metrifonát čs. výroby, organismus psa v terapeutických dávkách nepoškozuje a že změny, které jsme zjistili v enzymatickém systému, jsou jen lehkého stupně a jsou reversibilní. K vážnějšímu poškození jater nedochází.

Uvedené výsledky našeho šetření, které bylo součástí výzkumu účinnosti metrifonátu čs. výroby, považujeme však jen za doplňující a orientační. Bylo by jistě vhodné tyto poznatky dále rozšířit o výsledky enzymatických reakcí, které mají vztah k játrům, zvláště o reakce na skupinu indikátorových a exkrečních enzymů.

Literatura

- BLAŽEK K., KAZDA V., 1970, Léčebný účinek metrifonátu (DTHP) čs. výroby a přípravku MS 1 na demodikózu psů. *Vet. Med. (Praha)* 10 : 579-588.
- CHRISTOPH H. J., MEYER H., 1965, *Klinisches Laboratorium*, Leipzig.
- KOLB E. a kol., 1962, *Lehrbuch der Physiologie der Haustiere*. Jena.
- MRSKOŠ A., TOVÁREK J., 1958, Rychlé stanovení totálního cholesterolu v séru bez extrakce. *Č.L.Č.* 6 : 191-196.
- MRSKOŠ A., TOVÁREK J., 1958, Rychlé stanovení totálního cholesterolu v séru bez extrakce. *Č.L.Č.* 6 : 191-196.
- PAVLÍČEK J., 1970, Reakce psů na různé aplikační způsoby metrifonátu (trichlorfonu). *Vet. Med. (Praha)* 10 : 589-598.
- REITMAN S., FRANKEL S., 1957, A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Path.* 28 : 56-63.
- ŠEVELA M., 1958, K fotometrickému stanovení sérových transamináz. (Srovnávání metody Reitmanovy — Frankelovy s metodou elektroforetickou). *Vnitřní lékařství* 4 : 721-729.

Došlo dne 28. 5. 1970

КОНРАД Й., БЛАЖЕК К., ПАВЛИЧЕК Й. (Ветеринарный институт, Брно, Паразитологический институт ЧСАН, Прага, Чехословакия). Оценка некоторых биохимических результатов исследования применения метрифоната (ДТГП) чехословацкого производства у собак. *Вет. Мед. (Прага)* 15 (10) : 599-608, 1970.

При однократном или кратковременно повторном внутреннем применении метрифоната чехословацкого производства или подкожного применения чехословацкого препарата MS 1 (в котором метрифонат является действующим веществом) не наблюдаются резкие изменения в общем белке кровяной сыворотки и в белковом спектре. Не было установлено влияния этого применения на минеральный метаболизм и содержание холестерина в кровяной сыворотке. Обнаруженное повышение активности ГПТ и ЛДГ незначительно и носит временный характер; оно сигнализирует определенное вмешательство в метаболические процессы в цитоплазме; однако при применении терапевтических доз оно не свидетельствует о существенных повреждениях печени или других паренхим. Активность GOT — в основном в пределах нормы.

метрифонат (препарат MS 1); собака; белковый и минеральный метаболизм; трансаминазы GOT; ГПТ; лактатдегидрогеназа

GOT = глутаминовая оксалоуксусная трансаминаза

ГПТ = глутаминовая пировиноградная трансаминаза

ЛДГ = лактодегидрогеназа

KONRÁD J., BLAŽEK K., PAVLÍČEK J. (University of Veterinary Medicine, Brno, Institute of Parasitology, Czechoslovak Academy of Sciences, Czechoslovakia). *Evaluation of Some Biochemical Findings During Application of Metriphonate (DTHP) of Czechoslovak Production to Dogs*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 599-608, 1970.

Once-over, or within a short period repeated oral application of metriphonate of Czechoslovak production or percutaneous application of the Czechoslovak preparation MS 1 (in which metriphonate is an active substance) does not cause significant changes in the protein of blood serum and protein spectrum. No influence of such an application on the mineral metabolism and cholesterol contents in the blood serum was found. The found increase in the activity of GPT and LDH is not important and is of a temporary character; it signalizes a certain interference into the metabolic processes in the cytoplasm; with using of therapeutic doses, however it does not signify a more serious damage to the liver or other parenchymas. The activity of GOT is in the main within the standard.

metriphonate (preparation MS 1); dog; protein and mineral metabolism; transaminases GOT; GPT; lactatedehydrogenase

GOT = glutamic oxalacetic transaminase
GPT = glutamic pyruvic transaminase
LDH = lacticdehydrogenase

KONRÁD J., BLAŽEK K., PAVLÍČEK J. (Hochschule für Veterinärmedizin, Brno, Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha, Tschechoslowakei). *Bewertung einiger biochemischen Befunde im Laufe der Applikation von Metriphonat (DTHP) von tschechoslowakischer Erzeugung bei Hunden*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 599-608, 1970.

Bei einer einmaligen oder kurzfristig wiederholten peroralen Applikation von Metriphonat der tschechosl. Erzeugung oder perkutanen Applikation des tschechosl. Präparats MS 1 (in dem Metriphonat ein Wirkstoff ist), finden keine signifikanten Änderungen im Gesamteiweiß des Blutserums und im Eiweißspektrum statt. Es wurde kein Einfluß einer solchen Applikation auf den mineralen Metabolismus und Chloesterolgehalt im Blutserum festgestellt. Die ermittelte Erhöhung der GPT und LDH Aktivität ist nicht bedeutend und ist vorübergehend; es signalisiert einen gewissen Eingriff in die metabolischen Prozesse in der Zytoplasma; bei einer Benützung der therapeutischen Gaben bedeutet es jedoch keine ernstere Beschädigung der Leber oder anderer Parenchyme. Die GOT Aktivität ist im Grunde innerhalb der Normgrenze.

Metriphonat (Präparat MS 1); Hund; Eiweiß- und Mineralmetabolismus; Transaminasen GOT, GPT; Laktatdehydrogenase

GOT = Glutaminoxalacetyltransaminase
GPT = Glutaminpyruvattransaminase
LDH = Laktatdehydrogenase

KONRÁD J., BLAŽEK K., PAVLÍČEK J. (Haute école vétérinaire, Brno, Institut parasitologique de l'Académie tchécoslovaque des sciences, Praha, Tchécoslovaquie). *Evaluation de certaines constations biochimiques au cours de l'application du metriphonate (DTHP) de production tchécoslovaque aux chiens*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 599-608, 1970.

En effectuant l'application par voie orale en une seule fois ou en la réitérant en courts intervalles, du metriphonate de production tchécoslovaque, ou en administrant par voie cutanée la préparation tchécoslovaque MS 1 (dans laquelle le metriphonate constitue la matière active), il ne se produit pas des changements significatifs dans la matière albuminoïde totale du sérum sanguin et dans le spectre albuminoïde. On n'a pas non plus identifié l'influence d'une telle application sur le métabolisme minéral et la teneur en cholestérol dans le sérum sanguin. L'élévation constatée de l'activité de GPT et de LDH n'est pas importante, accusant un caractère passager; elle signale, il est vrai, une certaine intervention dans les processus de métabolisme ayant lieu dans le cytoplasme, ne témoigne pas cependant, pour autant que l'on applique des doses thérapeutiques, d'une altération plus grave du foie ou des autres parenchymes. L'activité de la GOT se trouve en somme dans les limites de la norme.

métriphonate (préparation MS 1); chien; métabolisme albuminoïde et minéral;
transaminases GOT; GPT; lacto-déshydrogénase

GOT = transaminase glutamique oxalacétique

GPT = transaminase glutamique pyruvique

LDH = lacto-déshydrogénase

Adresy autorů:

Prof. MVDr. Jaroslav Konrád, DrSc., Vysoká škola veterinární, Brno, Palackého 1-3, MVDr. Karel Blažek, CSc., MVDr. Jiří Pavlíček, Parasitologický ústav ČSAV, Praha 6, Flemingovo nám. 2

IZOLACE A PRŮKAZ VIRU HERPESVIROVÉ INFEKCE HOLUBŮ NA CHORIOALANTOIDNÍCH BLANÁCH KUŘECÍCH EMBRYÍ

V. Krupička, B. Šmíd, L. Valíček, V. Pleva

Státní veterinární ústav, Plzeň

Československá sbírka mikroorganismů UJEP, Brno

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

KRUPIČKA V., ŠMÍD B., VALÍČEK L., PLEVA V. *Izolace a průkaz viru herpesvirové infekce holubů na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí.* Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 609-612, 1970.

Je popsána izolace herpetického viru (kmen V-236/69 Plzeň) z uhynulého holuba s fibrinózní laryngotracheitidou. Virus byl izolován na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí, kde vyvolával zesílení, drobné uzlíky a u embryí nekrotické změny na slezině a játrech. Při histologickém vyšetření chorioalantoidních blan byly v buňkách ektodermální vrstvy eosinofilní intranukleární inkluze. Virus byl citlivý k éteru a chloroformu a neměl hemaglutinační aktivitu. Velikost virionu byla 130-150 m μ a jeho struktura v ultratenkých řezech se podobala struktuře herpesvirů.

herpesvirus; holubi; kuřecí embrya; histologie; izolace viru; vlastnosti viru; struktura viru

Herpesvirové onemocnění holubů, charakterizované nálezem intranukleárních inkluzí v orgánech holubů, popsali S m a d e l a kol. (1945), kteří poprvé izolovali virus. Další práce týkající se tohoto onemocnění publikovali v r. 1967 Lehner a kol. v USA a Cornwell a Follett ve Skotsku. Zatímco Lehner a kol. (1967) popsali pouze klinický a patohistologický nález, podařilo se Cornwellovi a Follettovi (1967) izolovat z případu onemocnění virus a stanovit jeho vlastnosti.

Naše práce popisují izolaci viru, některé jeho vlastnosti a změny, jež vyvolává na kuřecích embryích.

MATERIÁL A METODY

Izolace viru: Ze sliznice hrtanu a průdušnice uhynulého holuba, postiženého fibrinózní laryngotracheitidou, byla připravena 10% suspenze ve fyziologickém roztoku s přidavkem streptomycinu (10 mg/ 1 ml suspenze). Po jednodinové inkubaci při 4 °C byla suspenze mírně odstředěna a supernatant, jako virová suspenze, byl použit k očkování na chorioalantoidní blány kuřecích embryí.

Virus V-236/69 Plzeň byl dále pasážován na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí a deponován v Čs. sbírce mikroorganismů*) pod označením CCM V 140 (CCM = Czechoslovak Collection of Microorganisms).

Adresa: Čs. sbírka mikroorganismů, Sběrka zoopat. mikroorganismů, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, Brno 21

Kuřecí embrya: K izolaci a pomnožení viru bylo použito devítidenních kuřecích embryí. Embrya byla očkovaná na chorioalantoidní blánu 0,2 ml virové suspenze. Za pět dní po očkování byla embrya zchlazena a chorioalantoidní blány vybrány, posouzeny a uschovány při -60°C k dalšímu pasážování.

Titrace viru: dávkou 0,1 ml desetinásobně ředěného supernatantu ze suspenze změněných chorioalantoidních blan bylo očkováno na chorioalantoidní blány kuřecích embryí v ředění 10^{-1} až 10^{-5} . Na každé ředění byla použita čtyři embrya.

Hemaglutinační test: Jako antigen byl použit supernatant z 10% suspenze infikovaných chorioalantoidních blan. Byly připraveny dvě série dvojnásobně ředěného antigenu ve fyziologickém roztoku. K 0,5 ml každého ředění antigenu bylo přidáno 0,5 ml 0,2% suspenze kohoutích, morčecích, králíčích nebo telecích erytrocytů. Obsah byl promíchán a potom byla jedna série inkubována při 37°C , druhá při 4°C . Testy byly odečítány každých 30 minut po dobu čtyř hodin.

Citlivost k éteru: K zjištění citlivosti byla použita metoda popsaná Estolou (1966), modifikovaná na kuřecí embrya. K virové suspenzi (s titrem $10^{3.7}$ EID 50/0,1 ml) se přidalo do zkumavky 20 % etyléteru. Po zazátkování a jednohodinovém protřepávání při pokojové teplotě a po následné 18hodinové inkubaci při 4°C se nechal éter odpařit při 37°C . Stejným způsobem byl zpracován kontrolní materiál bez éteru. Titrace viru byla stejná, jako je uvedeno dříve.

Citlivost k chloroformu: K virové suspenzi bylo přidáno 10 % chloroformu, zkumavky byly třepány jednu hodinu při 4°C , ponechány v klidu 18 hodin při 4°C a po několikerém protřepávání centrifugovány při 4°C . K titraci byla použita nejvrchnější vrstva supernatantu. Stejným způsobem, ale bez chloroformu, byla zpracována i kontrola.

Histologie: Kousky změněných chorioalantoidních blan byly za tři dny po infekci fixovány v Bouinově tekutině, zality do parafinu a histologické řezy barveny hematoxylin-eosinem.

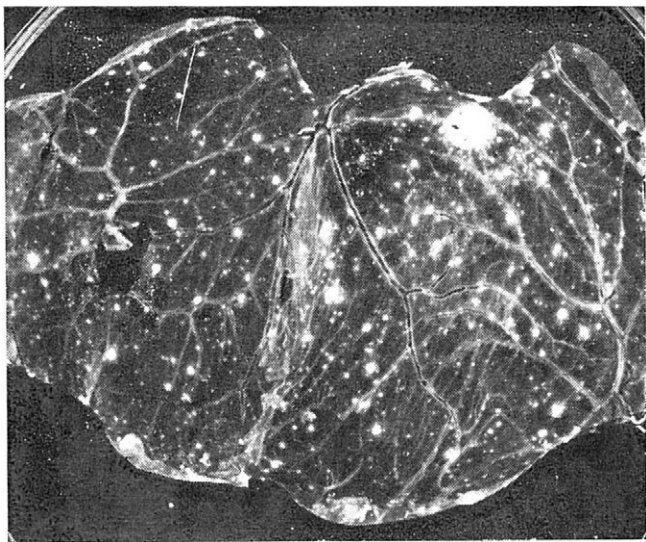
Elektronová mikroskopie: Chorioalantoidní blány tři dny po infekci virem byly fixovány 2% roztokem OsO_4 (Milloning 1961), odvodněny v acetonu a zality do Durcupanu ACM. Ultratenké řezy byly zhotoveny na ultramikrotomu Tesla BS 490, kontrastovány uranylacetátem a citrátem olova (Reynolds 1963). Použili jsme mikroskop Tesla BS 513A.

VÝSLEDKY

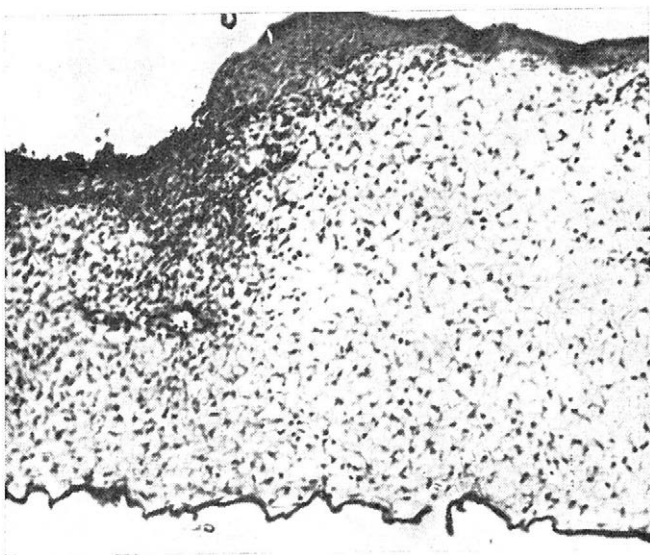
Změny na chorioalantoidních blanách a na kuřecích embryích. Za pět dní po infekci materiálem z hrtanové a průdušnicové sliznice holuba se na některých blanách objevila ojedinělá bělavá, ostře ohraničená uzlíkovitá ztlustění velikosti krupice. V druhé a dalších pasážích byly změny intenzivnější (obr. 1).

Histologickým vyšetřením změněných míst jsme zjistili výrazné zesílení ektodermální a mesodermální vrstvy buněk chorioalantoidních blan se zánětlivou buněčnou infiltrací a edémem (obr. 2). V ektodermálních buňkách se vyskytovaly neostře ohraničené, různě velké eosinofilní intranukleární inkluze a výrazná marginace jaderného chromatinu (obr. 3 a 4).

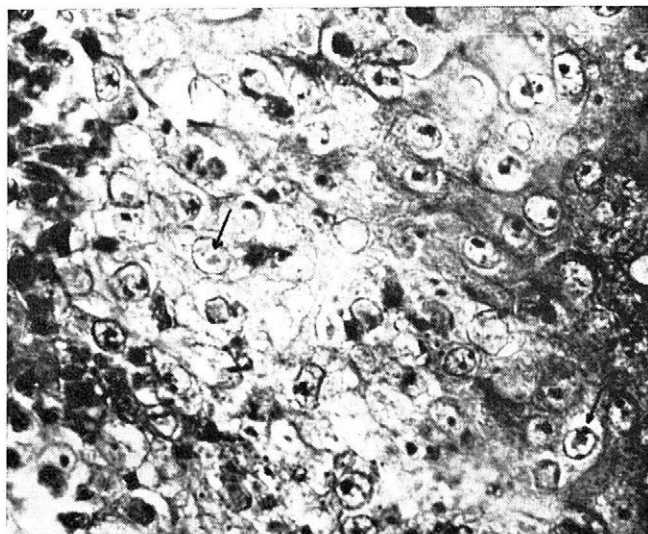
Embrya byla někdy zakrslá a u většiny z nich byl zjištěn tumor sleziny a jater s drobnými nekrózami.



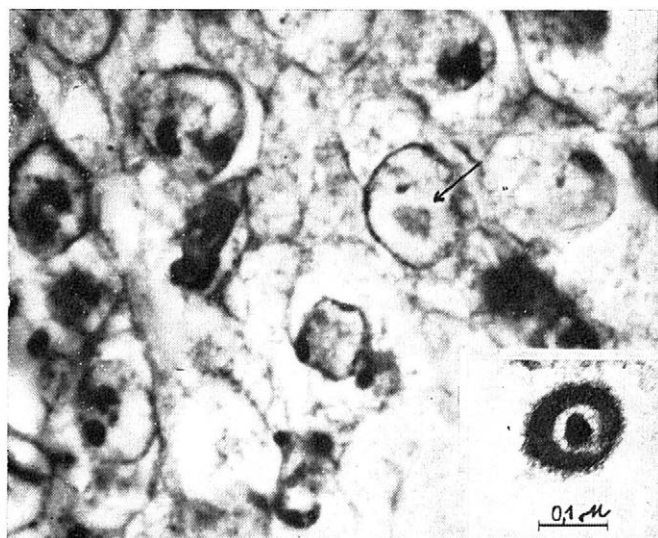
1. Uzlíková ložiska na chorioalantoidní bláně kuřecího embrya za pět dní po infekci virem



2. Zesílená chorioalantoidní blána s proliferací ektodermální vrstvy (X96)



3. Ektodermální vrstva chorioalantoidní blány s intranukleárními eosinofilními inkluzemi (šipky) — (X 546)



4. Intranukleární eosinofilní inkluze (šipka) s marginací chromatinu na periferii jádra (X 1596)
Vpravo dole — Zralá virová partikule velikosti 130—150 mμ v ultratenkém řezu (X 104 000)

Izolovaný virus dosahoval titru $10^{3.7}$ EID 50/0,1 ml.
 Hemaglutinační test: Během čtyřhodinové inkubace při 37 °C a 4 °C se neobjevila hemaglutinace u morčecích, kohoutích, telecích ani králičích krvinek.

I. Titr viru ($\log_{10}$ EID 50/01, ml)

Rezistence	Kontrola	Test. kmen
Éter	3,7	<1,0
Chloroform	3,5	<1,0

Citlivost k éteru a chloroformu: Testovaný kmen byl citlivý jak k éteru, tak k chloroformu (tab. I).
 Elektronková mikroskopie: Velikost virionu v ultratenkých řezech byla 130–150 m μ . Virion se skládal z centrálního neukleoidu, kapsidy a obalu (obr. 4 vpravo dole).

DISKUSE

Popsaný herpetický virus byl izolován z holuba, u něhož byla při patomorfologickém vyšetření nálezem fibrinózní laryngotracheitida. Cornwell a Follett (1967) zjistili však u holubů kromě změn na laryngu ještě konjunktivitidu a rhinitidu a Lehner a kol. (1967) popsali nekrózy jater, pankreatu a sleziny.

Herpes virus byl z holubů izolován na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí Smadelem a kol. (1945) a Cornwellem a Follettem (1967). Vyvolával tvorbu uzlíků a po infekci do amniotického vaku (Cornwell a Follett 1967) ložiskové nekrózy jater. Při histologickém vyšetření chorioalantoidních blan zjistili Cornwell a Follett (1967) basofilní a eosinofilní intranukleární inkluze s jasným ohraničením a oddělením od jaderné membrány.

Stejně makroskopické i histologické změny vyvolával na chorioalantoidních blanách i námi izolovaný virus, který však navíc způsoboval tumor a nekrózy sleziny, a to i po infekci na chorioalantoidní blánu. Izolát byl citlivý k éteru a chloroformu, což je v souladu se zjištěním Cornwella a Folletta (1967).

Izolát s jiným kmenem nebyl sérologicky prověřen (jak to popsali Cornwell a Follett (1967)), protože nebyl k dispozici referenční kmen.

Citlivost izolovaného viru k rozpouštědlům tuků, nález intranukleárních inkluzí a ultrastruktura viru svědčí o příslušnosti agens do skupiny herpesvirů, do které byl také v Čs. sbírce mikroorganismů zařazen pod označením CCM V 140.

Literatura

- CORNWELL H. J. C., FOLLETT E. A. C., 1967, A herpes virus infection of pigeons. Vet. Rec. 81: 267.
 ESTOLA T., 1966, Studies on the infectious bronchitis virus of chickens isolated in Finland. Acta Vet. Scand. 18: 3-111.
 LEHNER N. D. M., BULLOCK B. C., CLARKSON T. B., 1967, Intranuclear inclusion disease of pigeons. J.A.V.M.A. 151: 939.
 MILLONING G., 1961, Advantages of phosphate buffer for OsO₄ solutions in fixation. J. Appl. Phys. 32: 1637.
 REYNOLDS E. S., 1963, The use of lead citrate at high pH as an electron microcopy. J. Cell. Biol. 17: 208-212.

КРУПИЧКА В., ШМИД Б., ВАЛИЧЕК Л., ПЛЕВА В. (Государственный ветеринарный институт, Пльзень, Чехословацкая коллекция микроорганизмов УЯЭП, Брно, Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия). Изолирование и доказательство вируса инфекции герпесвируса у голубей на хориоаллантоисных пленках куриных эмбрионов. Вет. Мед. (Прага) 15 (10) : 609-612, 1970.

В работе описывается изолирование герпетического вируса (штамм V-236/69-Plzeň) от погибшего голубя с фибринозным ларинготрахеитом. Вирус был изолирован на хориоаллантоисных пленках куриных эмбрионов, где он вызывал утолщение, мелкие узелки, а у эмбрионов — некротические изменения в селезенке и печени. При гистологическом обследовании хориоаллантоисных пленок в клетках эктодермального слоя были обнаружены эозинофильные внутриядерные инклюзии. Вирус был чувствителен к эфиру и хлороформу и не обладал гемагглютинационной активностью. Величина вируса составляла 130—150 мμ, а его структура в ультратонких срезах походила на структуру герпесвирусов.

герпесвирус; голуби; куриные эмбрионы; гистология; изолирование вируса; свойства вируса; структура вируса

KRUPIČKA V., ŠMÍD B., VALÍČEK L., PLEVA V. (State Veterinary Institute, Plzeň, Czechoslovak Collection of Microorganisms, UJEP, Brno, Research Institute of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *Herpes Virus Infection of Pigeons: Isolation and Proof of the Virus on Chorioallantoid Membranes of Chicken Embryos*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 609-612, 1970.

There is a description of an isolation of the herpes virus (strain V-236/69-Plzeň) from a dead pigeon with fibrinous laryngotracheitis. The virus was isolated on the chorioallantoid membranes of chicken embryos, where it caused a thickening, small nodules, and, in the embryos, necrotic changes in the spleen and in the livers. Histological examination of the chorioallantoid membranes revealed eosinophilic intranuclear inclusions in the cells of the ectodermal layer. The virus was sensitive to ether and chloroform and showed no hemagglutination activity. The size of the virion was 130-150 mμ and its structure in ultrathin sections resembles the structure of the herpes virus.

Herpes virus; pigeons; chicken embryos; histology; isolation of virus; properties of virus; structure of virus

KRUPIČKA V., ŠMÍD B., VALÍČEK L., PLEVA V. (Staatliches Veterinärinstitut, Plzeň, Tschechoslowakische Sammlung von Mikroorganismen UJEP, Brno, Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). *Isolation und Virusnachweis der Herpesvirusinfektion bei Tauben an den chorioallantoiden Membranen der Kükenembryen*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 609-612, 1970.

Es wird die Isolation des Herpesvirus (Stamm V-236/69-Plzeň) aus einer eingegangenen Taube mit fibrinöser Laryngotracheitis beschrieben. Der Virus wurde an den chorioallantoiden Membranen der Kükenembryen isoliert, wo er eine Verstärkung, kleine Knoten und bei den Embryen nekrotische Änderungen an der Milz und Leber hervorrief. Bei der histologischen Untersuchung der chorioallantoiden Membranen befanden sich in den Zellen der ektodermalen Schicht eosinophile intranukleäre Inklusionen. Der Virus war gegen Äther und Chloroform empfindlich und hatte keine Hämagglutinationsaktivität. Die Virionengröße war 130—150 mμ und seine Struktur in den ultradünnen Schnitten ähnelte der Herpesvirenstruktur.

Herpesvirus; Tauben; Kükenembryos; Histologie; Virusisolierung; Viruseigenschaften; Virusstruktur

Adresy autorů:

MVDr. V. Krupička, Státní veterinární ústav, Plzeň, Družstevní 13, MVDr. B. Šmíd, Československá sbírka mikroorganismů UJEP, Brno, MVDr. L. Valíček, MVDr. V. Pleva, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno - Medlánky

BAKTERIOSTATICKÁ ÚČINNOST NĚKTERÝCH LÁTEK, KTERÉ BY MOHLY OMEZOVAT REZISTENCI K ANTIBIOTIKŮM A CHEMOTERAPEUTIKŮM

J. Bartoš

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

BARTOŠ J. *Bakteriostatická účinnost některých látek, které by mohly omezovat rezistenci k antibiotikům a chemoterapeutikům.* Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 613-620, 1970.

Byla sledována bakteriostatická účinnost pěti látek, které by mohly omezovat rezistenci k antibiotikům a chemoterapeutikům, na 77 kmenech *E. coli*, pocházejících z telat s průměrem ze tří zemědělských závodů. Minimální inhibiční koncentrace se pohybovaly v těchto rozmezích: kyselina nalidixová 1–8 µg/ml, čtyři kmeny byly rezistentní (MIC 4096 µg/ml); chlorpromazin 64–256 µg/ml; Septonex 32–512 µg/ml; akriflavin 8–1024 µg/ml; Rivanol 256–1024 µg/ml. Z hlediska možného bakteriostatického účinku v jednom a dvou litrech tekutého obsahu by mohly být přijatelné dávky kyseliny nalidixové a Rivanolu, které by bylo vhodné odzkoušet *in vivo* přímo na telatech.

průjmy telat; citlivosti; kyselina nalidixová; chlorpromazin; Septonex; akriflavin; Rivanol

V naší terénní praxi zjišťujeme velmi rozšířenou rezistenci mikrobů na léčiva. V některých případech léčby průměrných telat se setkáváme s polyrezistencí, kdy mikroby jsou rezistentní na všechna dostupná léčiva, takže pro léčbu nemůžeme volit vhodný lék. Obdobná situace je na celém světě. Z toho důvodu je část výzkumu v zahraničí zaměřena na hledání látek, které by zamezily šíření tzv. infekční rezistence, a látek, které by zabráňovaly vzniku rezistence, respektive látek, které by rezistentní kmeny učinily citlivými: Mitsuhashi, Harada, Kameda (1961), Watanabe a Fukasawa (1961), Sevaga Drabble (1962), Mitsuhashi a Takahashi (1964), Sevaga (1964), Sevaga a Ashtonová (1964a, 1964b), Mitsuhashi (1965), Heller a Sevaga (1966), Smékal, Nezval, Táborský, Rýc (1966), Voňdrášková a Stárka (1966), Nezval, Rýc, Maternová (1967), Šmejkal (1968b), Výmola, Nezval, Rýc, Táborský, Pillich, Páčová (1968), Walton (1968), Brodinová a Moroz (1969). Účelem této práce bylo zjistit, které ze zkoušených látek, u nichž různí autoři popsali tlumivý vliv na rezistenci, by mohly být přidávány do kombinovaných léků proti infekčním průjmům telat za tím účelem, aby se snížil výskyt a rozsah rezistence k používaným lékům a současně se uplatnil antimikrobiální účinek.

MATERIÁL A METODY

Ze skupiny inhibitorů přenosu rezistence (Mitsuhashi 1965, Walton 1968) jsme testovali kyselinu nalidixovou a akriflavin. Dále jsme testovali účinnost příbuzného Rivanolu (*Acrinolum lacticum*). Ze skupiny látek

působících preventivně proti vzniku rezistence k antibiotikům a chemoterapeutikům jsme testovali chlorpromazin a akriřavin (Heller a Sevag 1966). Septonex jsme testovali z důvodů potenciace účinku neomycinu (Šmejkal 1968a) a z důvodu blokování vzniku rezistence k neomycinu (Šmejkal 1968b). Na základě antimikrobiální účinnosti těchto látek samotných bude rozhodnuto, zda by se snad mohly některé z nich uplatnit *in vivo* ve veterinární medicíně, zvláště při průjemových onemocněních mláďat. Ze zahraničí se nám nepodařilo získat Atebrin, v současné době nejslibnější látku, která zabíjí vznik rezistence k antibiotikům a chemoterapeutikům (Sevag 1964, Warren, Gregory, Healy a Rlint 1967).

Z rektálních výtěrů průjmujících telat ze tří zemědělských závodů jsme izolovali 77 kmenů *E. coli*. Kmeny jsme zařadili na základě kultivačních a biochemických vlastností podle Sedláka a Rischeho (1961). Minimální inhibiční koncentrace (MIC) jednotlivých látek jsme zjišťovali kvantitativní plotnovou metodou. Látky jsme navazovali na sterilní Petriho misky (kyselinu nalidixovou jsme rozpouštěli v malém množství 1N NaOH a potřebná množství jsme nanášeli pipetou) a zalévali agarem ve složení doporučeném Výmola a Hejzlar (1964b). Ředěnou bujónovou kulturu zkoušených kmenů jsme nanášeli na plotny bakteriologickou kličkou paprskovitě v čarách o délce 1 cm. Při testování kyseliny nalidixové jsme na kontrolních plotnách použili stejných koncentrací rozpouštědla (1N NaOH), jako obsahovaly půdy se zkoušenými koncentracemi kyseliny nalidixové. Použité koncentrace 1N NaOH nepůsobily inhibičně.

U čtyř rezistentních kmenů *E. coli* k nalidixové kyselině jsme dále zjišťovali citlivost k dalším antibiotikům a chemoterapeutikům pomocí kvalitativní diskové metody (Výmola a Hejzlar 1964a). Disky z n. p. Lachema obsahovaly 30 μ g u chlortetracyklinu, streptomycinu, neomycinu, chloramfenikolu a mycerinu, 20 μ g u kanamycinu, ampicilinu a gentamycinu, 100 μ g u polymyxinu, 200 μ g u furazolidonu a 300 μ g u sulfadimidinu. Za rezistentní byly považovány ty kmeny, které měly menší inhibiční zónu než 15 mm u ampicilinu, než 14 mm u chloramfenikolu, než 12 mm u chlortetracyklinu, streptomycinu, neomycinu, mycerinu, kanamycinu, gentamycinu a sulfadimidinu, než 10 mm u furazolidonu a menší než 9 mm u polymyxinu.

VÝSLEDKY

Tab. I uvádí porovnání účinnosti pěti testovaných látek na účinnost proti kmenům *E. coli*, izolovaným z telat s průjemovým onemocněním.

Minimální inhibiční koncentrace (MIC) kyseliny nalidixové se pohybovaly od 1 do 8 μ g/ml, převážná většina kmenů byla citlivá v rozmezí 2–4 μ g/ml. Ze 77 kmenů *E. coli* z telat se vyskytly čtyři kmeny vysoce rezistentní (MIC 4096 μ g/ml).

Minimální inhibiční koncentrace chlorpromazinu se pohybovaly v rozmezí 64 až 256 μ g/ml. Největší procento kmenů (72,7 %) *E. coli* bylo inhibováno v růstu koncentrací 128 μ g/ml.

Minimální inhibiční koncentrace Septonexu byly v rozsahu 32 až 512 μ g/ml. Největší procento kmenů (53,2 %) *E. coli* bylo inhibováno v růstu koncentrací 128 μ g/ml.

Citlivost k akriřavinu se pohybovala v širokých mezích od 8 do 1024 μ g/ml. Převážná většina kmenů však byla inhibována koncentracemi 64 až 512 μ g/ml.

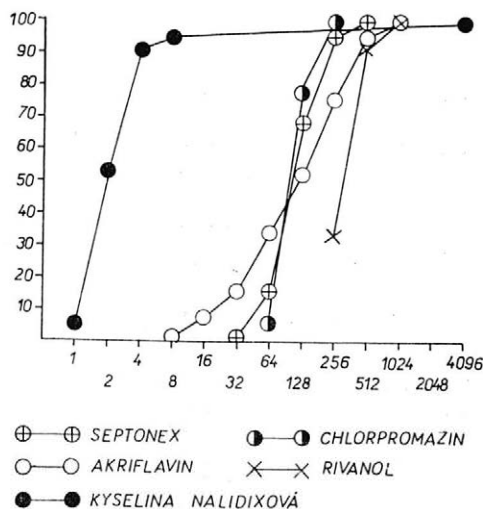
Rivanol působil bakteriostaticky v koncentracích 256 až 1024 μ g/ml. Nej-

I. Minimální inhibiční koncentrace zkoušených látek u počtu a procenta kmenů *E. coli* z telat s průjmy

MIC v $\mu\text{g/ml}$	Kyselina nalidixová		Akriflavin		Septonex		Chlorpromazin		Rivanol	
	počet	%	počet	%	počet	%	počet	%	počet	%
1	4	5,2								
2	37	48,1								
4	29	37,7								
8	3	3,9	1	1,3						
16			5	6,5						
32			6	7,8	1	1,3				
64			14	18,2	11	14,3	4	5,2		
128			14	18,2	41	53,2	56	72,7		
256			18	23,4	22	28,6	17	22,1	26	33,8
512			17	22,1	2	2,6			45	58,4
1024			2	2,6					6	7,8
2048										
4096	4	5,2								

vyšší procento kmenů (58,4 %) bylo inhibováno koncentrací 512 $\mu\text{g/ml}$.

Obr. 1 uvádí pořadí účinnosti zkoušených látek z hlediska sčítaných procent. Nejúčinnější byla kyselina nalidixová, pak následovaly: chlorpromazin, Septonex, akriflavin a Rivanol.



1. Bakteriostatická účinnost látek, které by mohly omezovat rezistenci k antibiotikům a chemoterapeutikům

Na ose x jsou koncentrace látek v $\mu\text{g/ml}$; na ose y jsou procenta kmenů *E. coli*

Vzhledem k tomu, že nalidixová kyselina byla vysoce účinná u naprosté většiny kmenů, ale u čtyř kmenů byla téměř neúčinná, pokládali jsme za užitečné zjistit, zda tyto čtyři kmeny budou obdobně odolné i k běžným antibiotikům a chemoterapeutikům užívaným při léčbě průjmů telat. Pracovali jsme diskovou metodou uvedenou ve stati materiál a metody. Z uvedených čtyř kmenů rezistentních k nalidixové kyselině byl jeden kmen rezistentní i k chlortetracyklinu, streptomycinu, furazolidonu a sulfadimidinu, druhý k chlortetracyklinu, chloramfenikolu, ampicilinu a sulfadimidinu, třetí k chlortetracyklinu, ampicilinu a sulfadimidinu a čtvrtý k chlortetracyklinu a sulfadimidinu. Šlo tedy u těchto kmenů o silně vyjádřenou polyrezistenci a volba léčiva pro klinické použití by byla v případech infekcí těmito kmeny velmi obtížná.

Pro porovnání našich výsledků s výsledky jiných autorů uvádíme pouze ty, kteří studovali bakteriostatickou účinnost látek obdobnou kvantitativní metodou. Poněvadž jsme v dostupné literatuře nezjistili práce, které by se zabývaly bakteriostatickou účinností námi studovaných látek na kmenech *E. coli* pocházejících z telat nebo jiných zvířat s průjmy, uvádíme jen některé práce z humánní medicíny.

Bakteriostatickou účinnost kyseliny nalidixové na různé mikroby včetně *E. coli* studovala řada autorů, např. Ritzerfeld, Liedtke (1965), Marwyc, Warnecke (1966), Fryszman, Kossakowski, Narbutowiczová, Soldajová (1966), Padějskaja, Peršin (1966), Planeles, Andrejeva, Moroz (1968) aj. Různí autoři uvádějí různou citlivost, která se pohybuje od 1 do více než 500 $\mu\text{g/ml}$. Tyto literární údaje jsou rovněž ve shodě s námi zjištěnými výsledky citlivosti kmenů *E. coli* pocházejících z telat. Převážná většina kmenů byla inhibována koncentracemi od 1 do 8 $\mu\text{g/ml}$. Tyto výsledky jsou v souladu se skutečností, že kyselina nalidixová není podávána telatům léčebně. Tím zajímavější je zjištění vysoké rezistence ke kyselině nalidixové u čtyř kmenů *E. coli* izolovaných z telat, neboť se v terapii telat nepoužívá a v době izolace našich kmenů *E. coli* nebyla dosud vyráběna ani používána v ČSSR — ani v terapii lidí. Že se mohou vyskytnout kmeny spontánně rezistentní i bez vlivu léčebného či profylaktického používání léčiva, vyplývá ze zprávy Smitha (1968), který uvedl, že našel jeden kmen *E. coli* izolovaný a uložený v roce 1942, tj. před zavedením antibiotik vůbec, který byl infikován R faktorem, rezistentním vůči tetracyklinu a streptomycinu. Nález polyrezistence u čtyř kmenů rezistentních k nalidixové kyselině rozšiřuje poznatky o polyrezistenci kmenů *E. coli* z průjemových onemocnění telat, které jsme popsali v jiné práci (Bartoš, Lebduška 1968). Tato polyrezistence se týkala maximálně čtyř látek. Dva z izolovaných kmenů v této práci byly odolné dokonce k pěti látkám.

Zjištění Bourdona (1961), že *E. coli* je inhibováno v růstu koncentrací 200 μg chlorpromazinu v jednom mililitru, je v souladu s výsledky námi zjištěnými u *E. coli* pocházejících z telat.

Nížší účinnost Septonexu na *E. coli* v naší práci oproti práci Šmejkal (1968a) si můžeme vysvětlit rozdílem ve složení a typem použitých půd (Quisno, Gibby, Foter 1946).

Mitsuhashi, Harada a Kameda (1961) uvádějí, že subletální koncentrace akriřavinu pro *E. coli* je 20 $\mu\text{g/ml}$. Tato koncentrace působila v našich pokusech bakteriostaticky na nepatrné množství kmenů. Pozoruhodné je však zjištění značného rozptylu v účinnosti akriřavinu na jednotlivé kmeny *E. coli* z telat, jimž vůbec nebyl podáván. Snad bychom si mohli toto zjištění vysvětlit tím, že některá telata dostávala různé dávky glukózy do mléka, neboť Nakamura (1967) zjistil *in vitro*, že odolnější k akriřavinu byl kmen, který předtím rostl na půdě s vysokou koncentrací glukózy.

Čerkasová a Serebrenniková (1968) zjistily, že roztok Rivanolu 1 : 1000 (1 mg v 1 ml) působí baktericidně na *E. coli* a neztrácí účinnost ani při desetiminutové sterilizaci a při jeho uchovávání po dobu 48 hodin. Jejich výsledky jsou v souladu s naší prací, neboť při stejné koncentraci bylo inhibováno všech 77 kmenů *E. coli* pocházejících z telat. Rivanol pro terapii průjmů telat užil např. Karpov (1959), který doporučuje roztok Rivanolu 1 : 1000 až 1500 v množství 50 ml, 75 ml a v některých případech 100 ml ve směsi s 250 ml mlé-

ka. Avšak podle našich propočtů i nejvyšší doporučená koncentrace by nepůsobila ani na polovinu kmenů bakteriostaticky. Rivanol v kombinaci s opiovou tinkturou a Biomycinem (CTC) doporučila Nurmuchamedová (1964). Při podání teleti Rivanolu 0,3 g v roztoku jednoroztokového NaCl v množství 15 ml/kg jednu hodinu před napájením se podle našich propočtů dosáhlo koncentrace, která by působila bakteriostaticky přibližně na 90 % kmenů, které jsme izolovali z průjemujících telat.

Pro posouzení použitelnosti výše uvedených látek v praxi je nutno určit, jak vysokou dávku látek v jednom až ve dvou litrech tekutin by musela telata přijmout, aby se dosáhlo bakteriostatického účinku *in vivo*. Vezmeme-li za základ propočtu koncentrace jednotlivých látek, které působily bakteriostaticky na 90 až 100 % kmenů *E. coli*, zjistíme, že v jednom litru tekutin by působily bakteriostaticky tyto koncentrace: kyselina nalidixová 8 mg, chlorpromazin 256 mg, Septonex 256 mg, akriřavin 512 mg, Rivanol 512 mg.

Z hlediska účinnosti a použitelnosti dávek by bylo vhodné zkoušet *in vivo* kyselinu nalidixovou a Rivanol, u nichž se dá předpokládat, že účinné dávky nebudou působit toxicky. Také akriřavin by mohl být použitelný, i vzhledem k tomu, že prospekt Trypařavinu fy Bayer doporučoval při infekčních průjmech dávku 1-2 g *per os*. Účinná dávka chlorpromazinu by byla již značně vysoká. použitelnost Septonexu by musela být studována základním výzkumem. V zahraničí připravují kombinace kvarterních amoniových solí s různými antibiotiky za účelem zvýšení účinnosti a snížení rezistence. Tak např. v humánní medicíně jako tablety pro perorální použití: Penifen (Hoechst A. G.) obsahuje penicilin a bis-2-methyl-4-amino-chinolyl-6-carbamid-hydrochlorid (Sufren). Polyfen (Hoechst A. G.) obsahuje neomycin a Surfen, Tonsilitin (Bayer Products Co., Surrey) obsahuje fenoxymethyl-penicilin a benzalconium chlorid. Šmejkal (1968a) prokázal, že Septonex Spofa potencoval účinnost neomycinu u zástupců grampozitivních mikroorganismů, ale u zástupců gramnegativních mikroorganismů potenciální účinnost neprojevoval. Z tohoto důvodu by použití Septonexu v kombinacích léčiv proti průjmům telat nemělo výhodu. Výzkum látek, které by zabráňovaly vzniku rezistence k antibiotikům a chemoterapeutikům, nepřešel na celém světě rámec laboratorního zkoušení *in vitro*. Nejdále pokročil zatím výzkum s Atebrinem (Sevag a Ashtonová 1964b, Warren, Gregory, Healy a Flint (1967).

Poděkování: Za technickou spolupráci děkuji B. Seidlové

Literatura

- BARTOŠ J., LEBDUŠKA J., 1968, Vývoj rezistence a polyrezistence *E. coli* z novorozených telat v letech 1962-1964 vzhledem k léčbě. Vet. Med. (Praha) 13, 10 : 527-536.
- BOURDON J. L., 1961, Contribution à l'étude des propriétés antibiotiques de la chlorpromazine OV 4560 RP. Anns. Inst. Pasteur, Paris 101 : 876-886.
- BRODINOVA N. S., MOROZ A. F., 1969, Eliminovanie R-faktora u *E. coli* akridinovými krasiteljmi i vzdějstvijem uť lučami. Antibiotiki 14, 6 : 535-540.
- ČERKASOVA N. S., SEREBRENNIKOVA I. I., 1968, O baktericidnych svojstvach rastvora rivanola pri raznoj dlitel'nosti jego sterilizacii i chraněnija. Ž. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol. 45, 7 : 145-146.
- FRYSZMAN J., KOSSAKOWSKI J., NARBUTOWICZ B., SOLDAJ H., 1966, Wrażliwość na Nigram drobnoustrojów wywołujących zakażenia drog moczowych. Wiad. lek. 19, 24 : 1951-1957.
- HELLER C. S., SEVAG M. G., 1966, Prevention of the emergence of drug resistan-

- ce in bacteria by acridines, phenothiazines, and dibenzocycloheptenes. Appl. Microbiol. 14, 6 : 879-885.
- KARPOV A. I., 1959, Primenenije rivanola pri ponosach teljat. Veterinarija 36, 1 : 53.
- MARWYCK C. van, WARNECKE B., 1966, Nalidixinsäure im Antibiogramm. Arzneimittel-Forschung 16 : 494-497.
- MITSUHASHI S., 1965, Transmissible drug resistance factor R. Gunma J. med. Sc. 14, 1 : 169-209.
- MITSUHASHI S., HARADA K., KAMEDA M., 1961, On the drug-resistance of enteric bacteria. 6) Spontaneous and artificial elimination of transmissible drug-resistance factors. Japan. J. exp. Med. 31, 2 : 119-123.
- MITSUHASHI S., TAKAHASHI H., 1964, Drug resistance of enteric bacteria. Stability of the transmissible drug - resistance (R) factor in the host cell. Gunma J. med. Sc. 13, 1 : 129-134.
- NAKAMURA H., 1967, Changes in sensitivity to acriflavine of *Escherichia coli* grown in media of different glucose contents. J. gen. Microbiol. 49 : 443-449.
- NEZVAL J., RÝC M., MATERNOVÁ Z., 1967, The prophylactic effect of EDTA, QAC, Atebrin and other substances on the increasing resistance of *Ps. aeruginosa* to neomycin. Scripta med. Fac. med. Univ. Brunensis Purkynianae 40 : 219-232.
- NURMUCHAMEDOVA M., 1964, Primenenije někotorych terapevtičeskich sredstv pri dispepsii teljat. Materialy vsesojuznoj konferencii po bolezňjam molodňjaka sel'skchozjajstvennych životnych i ptic. Moskva, s. 129.
- PADĚJSKAJA E. N., PERŠIN G. N., 1966, Srovnitělnaja aktivnost' Nėgrama, levomicetina i biomicina pri ostrých baktėriálních infekcijach bělych myšej. Antibiotiki 11 : 141-148.
- PLANELES CH. CH., ANDREJEVA A. M., MOROZ A. F., 1968, Charakter dějstvija nalidixisovoj kisloty (Negrama) na štam kišečnoj paločki 613. Antibiotiki 13, 7 : 617-620.
- QUISNO R., GIBBY I. W., FOTER M. J., 1946, The effect of agar upon the germicidal potency of the quaternary ammonium salts. J. Bact. 51 : 602.
- RITZERFELD W., LIEDTKE W., 1965, Untersuchungen *in vitro* mit Nalidixinsäure. Arzneimittel-Forschung 15 : 691-693.
- SEDLÁK J., RISCHE H., 1961, Enterobacteriaceae-Infektionen, Leipzig.
- SEVAG M. G., 1964, Prevention of the emergence of antibiotic-resistant strains of bacteria by Atabrine. Archs. Biochem. Biophys. 108 : 85-88.
- SEVAG M. G., DRABBLE W. T., 1962, Prevention of the emergence of drug-resistant bacteria by polyamines. Biochem. biophys. Res. Commun. 8, 6 : 446-452.
- SEVAG M. G., ASHTON B., 1964a, Evolution and prevention of drug-resistance. Nature 203, 4952 : 1323-1326.
- SEVAG M. G., ASHTON B., 1964b, Prevention of antibiotic and sulfonamide resistance by Atabrine. Antimicrob. Agents Chemother. : 410-414.
- SMEKAL E., NEZVAL J., TÁBORSKÝ I., RÝC M., 1966, Effect of Atabrine on the antibacterial activity of neomycin against *Pseudomonas aeruginosa*. J. Hyg. Evidem. Microbiol. Immun. Prague 10 : 346-354.
- SMITH D. H., cituje ELLIOTT R. F., 1968, Review of FDA symposium on the use of medicated animal feeds. Agricultural Division, American Cyanamid Company, Princeton, New Jersey.
- ŠMEJKAL F., 1968a, Potenciace protibakteriální účinnosti neomycinu Septonexem. Čsl. Farmacie 17, 8 : 383-387.
- ŠMEJKAL F., 1968b, Inhibiční účinnost Septonexu na tvorbu rezistence kmenů *Staphylococcus pyogenes aureus* v prostředí neomycinu. Čsl. Farmacie 17, 8 : 388-391.
- VONDRÁŠKOVÁ M., STÁRKA J., 1966, Multiply resistant strains of *Escherichia coli* isolated from the urinary tract. J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immun. Prague 10 : 174-177.
- VÝMOLA F., HEJZLAR M., 1964a, Difúzní disková metoda pro určování citlivosti mikrobů na antibiotika. Zprávy technicko-poradenské služby Spolana 6, 22 a 24 : 15-27.
- VÝMOLA F., HEJZLAR M., 1964b, Kvantitativní zkoušky citlivosti mikrobů na antibiotika. Čs. Evidem. Mikrob. Immun. 13 : 112-120.
- VÝMOLA F., NEZVAL J., RÝC M., TÁBORSKÝ I., PILLICH J., PÁČOVÁ Z., 1968, Prevention of the emergence of drug resistance in *Pseudomonas aeruginosa* by EDTA. Scripta med. Fac. med. Univ. Brunensis Purkynianae 41, 7-8 : 411-422.

- WALTON J. R., 1968, Infectious drug resistance. Vet. Rec. 82 : 448-454.
 WARREN G. H., GREGORY F. J., HEALY E. H., FLINT S. F., 1967, Effect of mixtures of atabrine and antibacterial agents on the emergence of resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. Nature 215 : 526-527.
 WATANABE T., FUKASAVA T., 1961, Episome — mediated transfer of drug resistance in Enterobacteriaceae. II. Elimination of resistance factors with acridine dyes. J. Bact. 81 : 679-683.

Došlo dne 21. 5. 1970

БАРТОШ Я. (Научно-исследовательский ветеринарный институт, Брно, Чехословакия). Бактериостатическая эффективность некоторых веществ, могущих ограничивать стойкость в отношении антибиотиков и химиотерапевтических средств. Вет. Мед. (Прага) 15 (10) : 613-620, 1970.

Изучалась бактериостатическая эффективность пяти веществ, которые могут ограничивать устойчивость против антибиотиков и химиотерапевтических средств на 77 штаммах *E. coli*, происходящих из телят с поносом в трех сельскохозяйственных предприятиях. Минимальные тормозящие концентрации колебались в следующих пределах: налидиксовая кислота 1—8 $\mu\text{g/ml}$, четыре штамма были устойчивыми: (MIC 4096 μg) мл, хлорпромазин 64—256 $\mu\text{g/ml}$; Септонекс 32—512 $\mu\text{g/ml}$ акрифлавин 8—1024 $\mu\text{g/ml}$; Риванол 256—1024 $\mu\text{g/ml}$; С точки зрения возможного бактериостатического действия в одном и двух литрах жидкости могут быть приемлемы дозы налидиксовой кислоты и Риванола, которые рекомендуется испытать *in vivo* непосредственно на телятах.

поносы телят; *E. coli*; чувствительность; налидиксовая кислота; хлорпромазин; Септонекс; акрифлавин; Риванол

BARTOŠ J. (Research Institute of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *The Bacteriostatic Effectiveness of Certain Substances that Might Limit the Resistance to Antibiotics and Chemotherapeutics*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 613-620, 1970.

Investigated was the bacteriostatic effectiveness of five substances that might limit the resistance to antibiotics and chemotherapeutics in 77 strains of *E. coli*, coming from calves suffering from diarrhoea from three farms. The minimum inhibitive concentrations ranged between the following limits: nalidixic acid 1-8 $\mu\text{g/ml}$, four strains were resistant (MIC 4096 $\mu\text{g/ml}$); chlorpromazine 64-256 $\mu\text{g/ml}$; Septonex 32-512 $\mu\text{g/ml}$; acriflavine 8-1024 $\mu\text{g/ml}$; Rivanol 256-1024 $\mu\text{g/ml}$. With regard to the possible bacteriostatic effect in one and two litres of the liquid content might be acceptable doses of nalidixic acid and Rivanol, which it would be suitable to test *in vivo* directly in calves.

diarrhoea of calves; *E. coli*; sensitivity; nalidixic acid; chlorpromazine; Septonex; acriflavine; Rivanol

BARTOŠ J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). *Bakteriostatische Wirkung einiger Stoffe, die die Resistenz zu Antibiotika und Chemotherapeutika beschränken könnten*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 613-620, 1970.

Es wurde die bakteriostatische Wirkung von fünf Stoffen, die die Resistenz gegen Antibiotika und Chemotherapeutika, bei 77 Stämmen *E. coli*, die aus Kälbern mit Durchfall aus drei landwirtschaftlichen Betrieben stammen, beschränken könnten, verfolgt. Die minimalen Inhibitionskonzentrationen bewegten sich in folgendem Ausmaß : Nalidixsäure 1—8 $\mu\text{g/ml}$, vier Stämme waren resistent (MIC 4096 $\mu\text{g/ml}$); Chlorpromazin 64—256 $\mu\text{g/ml}$; Septonex 32—512 $\mu\text{g/ml}$; Akriflavin 8—1024 $\mu\text{g/ml}$; Rivanol 256—1024 $\mu\text{g/ml}$. Vom Gesichtspunkt der bakteriostatischen Wirkung in einem und in zwei Litern flüssigen Gehaltes könnten aufnehmbare Gaben von

Nalidix- und Rivanolsäuren sein, die *in vivo* direkt an den Kälbern geprüft werden sollten.

Durchfall bei Kälbern; *E. coli*; Empfindlichkeit; Nalidixsäure; Chlorpromasin; Septonex; Akriflavin; Rivanol

Adresa autora:

MVDr. Jaroslav Bartoš, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno-Medlánky

VZTAH PUFROVACÍ KAPACITY KRVÉ A MLÉKA KRAV V LAKTAČNÍM OBDOBÍ*)

M. Lebeda, A. Kučera, J. Bouda

Vysoká škola veterinární, katedra patologické fyziologie, Brno

LEBEDA M., KUČERA A., BOUDA J. Vztah pufovací kapacity krve a mléka krav v laktančním období. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 621-631, 1970.

U 15 krav červenostrakatého plemene byla sledována během laktace pufovací (nárazníková) kapacita krve a mléka a pH krve a mléka ve 14denních intervalech. Pufovací kapacita krve a mléka byla zjišťována potenciometrickou titrací podle Lebedy a Buše (1966). pH vzorků krve bylo měřeno na Astrupově přístroji, pH mléka na pH-metru Radelkis. pH vzorků krve i mléka bylo měřeno při teplotě 38 °C. Byla zjištěna nevýrazná korelace ($r = +0,106$) mezi pufovací kapacitou krve a mléka. Stochastická závislost mezi pH krve a mléka nebyla prokázána ($r = +0,0143$). Průměrná hodnota pufovací kapacity krve ve sledovaném laktančním období činila 79,31 mg% NaOH (průměrná minimální hodnota činila 61,16, maximální 142,70). Průměrná hodnota pufovací kapacity mléka ve stejném období činila 91,33 mg% NaOH (průměrná minimální hodnota činila 77,67, maximální 112,70). Po převážnou část laktančního období byla pufovací kapacita mléka vyšší v průměru o 22,5 mg% NaOH než hladina pufovací kapacity krve. Průměrná hodnota pH krve ve sledovaném laktančním období činila 7,399 (průměrná minimální hodnota činila 7,338, maximální 7,419). Průměrná hodnota pH mléka ve stejném období činila 6,457 (průměrná minimální hodnota činila 6,380, maximální 6,590). Pufovací kapacita krve a mléka v prvních šesti týdnech po porodu výrazně klesaly, pokles pufovací kapacity krve pokračoval i ve druhé a třetí třetině laktace. Shodný pohyb pufovací kapacity krve a mléka byl zaznamenán jen v období zimního krmení od ledna do května ($r = +0,47$). V práci předkládáme mechanismy zjištěných změn.

krávy; pufovací kapacita (PK) krve a mléka; pH krve a mléka; krmení; laktace

Reakce mléka se vyjadřuje jednak jako celková (titrační, potenciální) kyselost, která je pojmem konvencionálním, jednak jako aktuální (aktivní) kyselost, která je založena na koncentraci vodíkových iontů a vyjadřuje se hodnotou pH.

Aktuální reakce bývá u normálního čerstvého kravského mléka obvykle v hranicích pH 6,4 až 6,8, nejčastěji však v mezích pH 6,5 až 6,6. Mléko je tedy slabě kyselé (Prokš 1964).

Tabulka I uvádí hodnoty pH čerstvého kravského mléka, udávané některými jinými autory.

Aktivní kyselost mléka nesouhlasí s jeho titrační kyselostí, to znamená, že změna titrační kyselosti mléka nemá za následek stejnou změnu aktivní (aktuální

*) Práce byla přednesena 23. října 1969 v Brně na mezinárodním symposiu „Acid-base Regulations and their Disturbances in Farm Animals“

I. Údaje některých autorů o pH čerstvého kravského mléka

Autor	pH čerstvého kravského mléka
Zajkovskij (1953)	6,30–6,85
Boháč, Kněz, Řehák (1959)	6,50–6,60
Dušek, Semjan, Kažimír (1962)	6,40–6,80
Hökl, Štěpánek (1962)	6,68
Šebela, Dušek, Pavel (1964)	6,50–6,60
Jenness, Shipe, Whitnah (1965)	6,50–6,70
Kirchgessner, Friesecke, Koch (1965)	6,50–6,70
Dilanjan (1967)	6,30–6,90
Jenness, Patton, (1967)	6,50–6,70
Meluzin (1968)	6,64–6,76

reakce kyselosti (Dušek, Semjan, Kažimír 1962).

Přidáme-li k mléku poměrně značné množství kyseliny nebo zásady, nebo zředíme-li je vodou, změním výrazně jeho titrační kyselost; jeho kyselost aktivní se však téměř nezmění. Mléko má velkou ústojnou (pufrovací) schopnost, danou přítomností bílkovin a fosfátů. Bílkoviny jsou amfoterní elektrolyty obsahující kyselé karboxylové skupiny a vedle nich i zásadité aminoskupiny. Přidáme-li k mléku zásadu, váže se (její hydroxylový iont) na karboxylové skupiny, přidáme-li kyselinu, váže se (její protón) na aminoskupiny. Disociace bílkoviny je velmi nepatrná a nemá praktický význam, a proto se přidáním kyseliny nebo zásady nemůže výrazně změnit aktivní kyselost mléka. Jakmile však dojde k neutralizaci veškerých karboxylových

skupin nebo aminoskupin bílkovin, projeví se každý další přídavek kyseliny nebo zásady výraznou změnou aktivní kyselosti. Ústojná schopnost fosfátů spočívá v přeměně sekundárních fosfátů v primární a v disociaci $H_2PO_4^-$ na H^+ a HPO_4^{2-} (Prokš 1964).

Čerstvé mléko s vysokou titrační kyselostí může mít relativně vysoké pH a naopak s nízkou titrační kyselostí nízké pH (Dilanjan 1967).

Davis (1955) cit. Boháč a kol. (1959) udává vztah mezi titrační kyselostí smíchaného stájového mléka a mezi pH (viz tab. II).

II. Vztah mezi °SH, pH a obsahem kyseliny mléčné (Boháč a kol. 1959 podle Davise)

Procento kyseliny mléčné	°SH přibližně	pH
0,14	6,2	6,60
0,19	8,3	6,20
0,24	10,5	5,94
0,34	14,9	5,60
0,44	19,3	5,30
0,54	23,8	5,04
0,64	28,2	4,80

Ústojná schopnost mléka má velký význam v mlékařství, neboť umožňuje život takových mikroorganismů, které nesnášejí vysokou aktivní kyselost.

Prokš (1964) uvádí, že ústojná schopnost mléka se vyjadřuje počtem mililitrů 0,1 N kyseliny nebo zásady, jichž je třeba ke změně pH na určitou hodnotu.

Pufrovací kapacita mléka se určuje množstvím zásady nebo kyseliny, které je nutno přidat pro posunutí pH o jednu jednotku (Dilanjan 1967).

Ústojná schopnost mléka vůči kyselinám je silnější než vůči zásadám a je nejvýraznější v rozmezí pH 4 až 6. Ústojnou schopnost vyjadřuje van

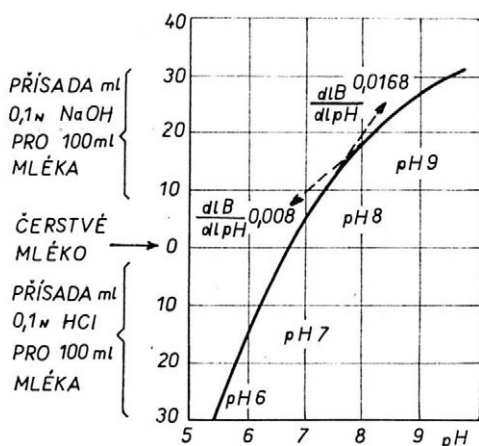
Slyke pojmem pufrovací index (diferenciální kvocient) (Prokš 1964, Dilanjan 1967). Znázorníme-li graficky změnu pH mléka přísadou kyselin nebo alkálií, dostaneme přibližně křivku podle obr. 1.

Z křivky je zřejmé, že menší množství alkálií v blízkosti pH 8 stačí, aby byla vyvolána výrazná změna pH. V této oblasti je ústojná schopnost nejmenší (P r o k š 1964).

V literatuře nejsou údaje o vztahu mezi pufrovací kapacitou krve a mléka ani údaje o pufrovací kapacitě mléka krav v průběhu laktace či z hlediska dalších vlivů.

Rovněž nejsou v dostupné literatuře údaje o vztazích mezi pH krve a pH mléka zdravých či nemocných krav s výjimkou disertační práce W u l f o v y (1967), která nám však není v současné době dostupná.

Problematika pH a nárazníkových vlastností krve skotu byla shrnuta v řadě již publikovaných prací (L e b e d a, B u š 1966; B u š 1967; L e b e d a a kol. 1970a, b).



MATERIÁL A METODY

1. Graf změn pH mléka přísadou kyselín nebo zásad (podle Prokš 1964)

Pufrovací kapacita (PK) krve a mléka a pH krve a mléka během laktace byly sledovány u 15 krav červenostrakatého plemene na školním statku v Žabčicích.

Na začátku sledování (konec ledna 1968) byly krávy v průměru 47 dnů po otelení (rozmezí 9–79 dnů), 5 krav bylo ve druhé laktaci, 7 krav ve třetí a 3 krávy ve čtvrté laktaci.

V předcházející laktaci činila průměrná nádoj sledovaných krav 2684 litrů (nejméně 2330 – nejvíce 3632 litrů).

Všechny sledované krávy byly ve velmi dobrém výživném stavu, bez klinických projevů jakéhokoliv onemocnění.

Způsob krmení krav byl přechodem mezi krmením skupinovým a individuálním (jadrný přídatek byl doplňován mimo základní krmnou dávku v množství 0,45 kg/litr mléka podle užítkovosti). Jakost zkrmovaného krmiva včetně siláže a sena byla velmi dobrá.

Skladba zimní a letní krmné dávky je uvedena v tabulce III.

V tabulce III uvedenou zimní krmnou dávkou byly krávy krmeny (s menšími změnami v březnu a dubnu) až do 5. května, kdy bylo započato s krmením zelenou pící. Nejdříve byly zkrmovány ozimé směsky (čistě žito, ozimá pšenice s vikví) spolu s krmnou směsí pro dojnice. Od 10. června do 5. července byly zkrmovány jarní směsky (oves jarní s vikví a hrachem) s tím, že v době seče vojtěška tvořila část (maximálně 15 kg) z uvedené celkové dávky 50 kg zelené píce.

Od druhé poloviny července až do 20. září bylo krmeno letní směskou (kukuřice s bobem a peluškou). Množství a další skladba krmné dávky zůstala nezměněna (nebyla však zkrmována sláma). Na konci září a na začátku října byla zkrmována zelená kukuřice (40 kg) s menším množstvím zelené vojtěšky (10 kg). Od 10. října do konce první třetiny listopadu byly se zelenou kukuřicí (30 kg) zkrmovány skrojky z cukrovky a krmné řepy (20 kg). Potom až do

konce listopadu byla zkrmována siláž z ozimých směsek (30 kg) a krmná řepa (10 kg). Ostatní skladba krmné dávky v období od konce září do konce listopadu byla nezměněna. Od začátku prosince až do konce února 1969 se skládala krmná dávka z vojtěškového sena (1 kg), krmné slámy (3 kg), krmné řepy (15 kg), kukuřičné siláže (10 kg), skrojko-řízkové siláže (10 kg) a směsi pro dojnice (2 kg).

III. Skladba zimní a letní dávky dojníc

Krmná dávka krav			
zimní (do 5. května)		letní (od 5. května)	
Seno	2 kg	Zelená píce	50 kg
Krmná sláma	3 kg	Krmná sláma	1 kg
Skrojko-řízková siláž	10–20 kg	Směs pro dojnice	2 kg
Krmná řepa	5–10 kg	Minerální přísada	
Směs pro dojnice	2–3 kg		
Melasa tekutá	0,5 kg		
Minerální přísada			

Průměrné vzorky mléka v množství asi 200 ml byly odebírány vždy při ranním dojení. Z odebíraných vzorků mléka byly okamžitě pipetovány 2 ml mléka do 10 ml 0,1 N kyseliny solné a tak byly připraveny vzorky mléka k potenciometrické titraci v laboratoři. Vzorkovnice s mlékem byly potom ihned zchlazovány v ledové vodě.

Bezprostředně po skončení dojení a odběru vzorků mléka byla odebírána krev z *v. jugularis* na heparin a byly pipetovány 2 ml krve do 10 ml 0,1 N HCl.

Pro účel měření pH krve byla krev ještě odebírána přímo od heparinizovaných, suchých injekčních stříkaček o obsahu 1 cm. Stříkačky byly ihned neprodyšně uzavřeny a uloženy do ledové vody.

pH krve jsme měřili na Astrupově přístroji a pH mléka v komůrce pH-metru Radelkis. V obou případech do tří hodin po odběru a při teplotě 38 °C.

Pufrovací kapacita (PK) již ve stáji připravených vzorků krve a mléka byla zjišťována potenciometrickou titrací podle Lebedy a Buše (1966) do skutečného, aktuálního pH vzorků krve a mléka.

Výsledky měření byly zhodnoceny t- testem (Myslivec 1957).

VÝSLEDKY

Výsledky bylo hodnoceno podle dvou základních kritérií:

1. podle doby po otelení,
2. podle způsobu krmení, tj. podle vlivu sezónních.

Při hodnocení podle stadia laktace činil časový rozdíl od doby otelení mezi kravami zařazenými do téže skupiny maximálně sedm dní.

Krávy byly sledovány až do zaprahnutí.

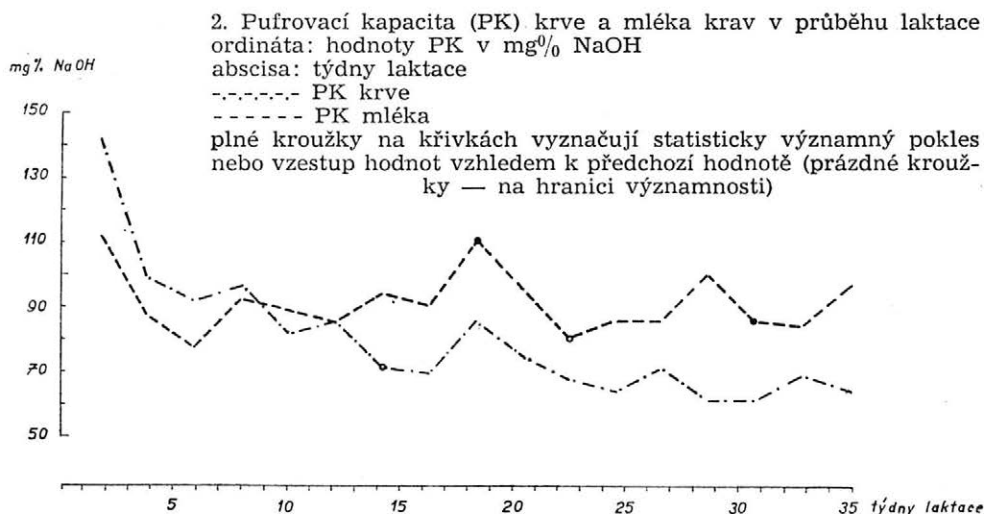
V průběhu laktace byla zjištěna nevýrazná kladná korelace ($r = +0,106$) mezi pufrovací kapacitou krve a mléka. Nebyla prokázána korelace mezi pH krve a pH mléka ($r = +0,0143$).

Průměrná hodnota pufrovací kapacity krve v průběhu laktace činila 79,81 mg% NaOH (průměrná minimální hodnota činila 61,16 – maximální 142,70 mg% NaOH).

Průměrná hodnota pufrovací kapacity mléka činila ve stejném období 91,33 mg% NaOH (průměrná minimální hodnota činila 77,67 – maximální hodnota 112,70 mg% NaOH).

Pufrovací kapacita obou tekutin zřetelně klesala v prvních šesti týdnech laktace z průměrných hodnot 142,7 mg% NaOH (u krve) a 112,7 mg% NaOH (u mléka), které představovaly zjištěná maxima — na hodnoty podstatně nižší (92 a 78 mg% NaOH); pokles u krve byl vysoce významný ($P < 0,01$). V dalším období laktace PK mléka opět stoupla a dosáhla druhého maxima 110,5 mg% NaOH v 19. týdnu laktace. Tento vzestup byl signifikantní a byl doprovázen analogickým výkyvem PK krve. Až na uvedený vzestup se PK mléka pohybovala po skončení počátečního poklesu hodnot kolem střední hodnoty 91,33 mg% NaOH. Signifikantní změny PK byly ojedinělé.

PK krve jevila v celém průběhu laktačního období klesající tendenci, přičemž největší a vysoce významný ($P < 0,001$) pokles byl zaznamenán v první třetině laktace. Ve druhé a třetí třetině laktace byla PK krve zřetelně a trvale nižší než PK mléka (viz obr. 2).



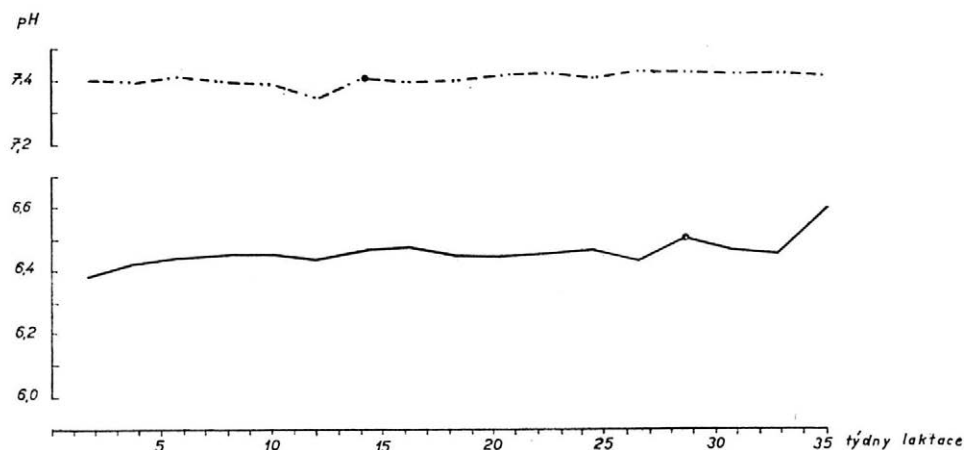
Průměrná hodnota pH krve ve sledovaném období činila 7,399 (průměrná minimální hodnota činila 7,338 — maximální 7,419).

Průměrná hodnota pH mléka ve stejném období činila 6,457 (průměrná minimální hodnota činila 6,380 — maximální 6,590). Variabilita pH mléka byla 2,5krát větší než variabilita pH krve.

S výjimkou poklesu pH krve v 12. týdnu, který se projevil mírněji i v pH mléka, bylo pH krve velmi stabilní.

Křivka průměrného pH mléka jeví v první třetině laktace mírný vzestup, ve druhé třetině je více méně stabilní a ve třetí třetině opět výrazněji stoupá, zvláště pak před zaprahnutím (viz obr. 3).

Při hodnocení výsledků podle kritéria sezónnosti (tj. skladby krmné dávky) byly zaznamenány větší změny PK i pH krve a mléka než při hodnocení podle stadia laktace (viz obr. 4). I zde se projevil v prvních dvou měsících pokles PK krve a mléka; nebyl však tak plynulý jako při hodnocení podle kritéria délky laktace. V dubnu došlo k značnému vzestupu PK mléka a k méně výraznému zvýšení PK krve. Počínaje červencem stoupala PK mléka trvale až do září a po přechodu na zimní krmení opět klesla. PK mléka dosáhla svého minima v prosinci (průměrná hodnota 58 mg% NaOH). Potom PK mléka opět trvale stou-



3. pH krve a mléka krav v průběhu laktace

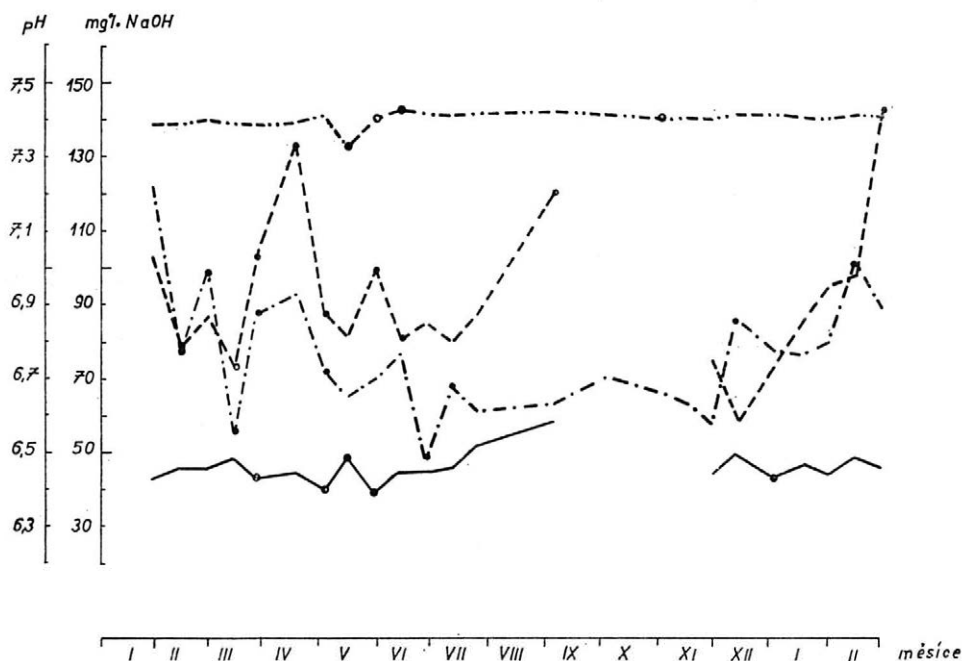
ordináta: hodnoty pH

abscisa: týdny laktace

----- pH krve

———— pH mléka

ostatní označení jako u obr. 2



4. PK a pH krve a mléka krav v průběhu roku

ordináty: hodnoty pH a PK krve a mléka v mg % NaOH

abscisa: měsíce roku

ostatní označení jako u obr. 2, a 3

pala až do konce února, kdy dosáhla maxima 141,40 mg% NaOH. PK krve se v období letního krmení udržovala na relativně stálých hodnotách, nižších než v období zimním. Od konce listopadu do února opět stoupala.

Paralelní pohyb PK obou tekutin byl zjištěn od ledna do konce května ($r = +0,47$).

Aktuální pH krve bylo v první fázi zimního krmení relativně nižší, v dubnu se zvýšilo, ale po přechodu na zelené krmení signifikantně kleslo a opět se významně zvýšilo v červnu. V období letního krmení se téměř nezměnilo a po přechodu na zimní krmení opět signifikantně pokleslo a v období zimního krmení se již podstatně neměnilo.

Aktuální pH mléka kolísalo od února do července v obou směrech, maxima (6,58) dosáhlo na začátku září a pak klesalo a dosáhlo minima (6,43) koncem prosince.

DISKUSE

Srovnání průměrných hodnot puřovací kapacity krve, zjištěných v našem sledování skupiny dojníc, s průměrnými hodnotami udávanými a zjištěnými u dojníc jinými autory (Lebeda, Hrevuš 1963; Grim, Hlavizna 1963) ukazuje, že naše hodnoty jsou poněkud nižší. Tento rozdíl však je zdánlivý, neboť Lebeda a Buš (1966) prokázali, že nárazníková kapacita krve skotu je závislá na pH a že rozdíly hodnot PK krve zjišťované v pH 7,00 proti hodnotám zjišťovaným v pH 7,54 jsou o 34,9 % vyšší. Ve shora citovaných pracích Lebedy a Hrevuše (1963), Grima a Hlavizny (1963) byla PK krve určována při titraci končící v pH 7,00, zatímco v této práci končila titrace v přirozeném pH krve, tj. v průměru v pH 7,40.

Průměrná hodnota pH krve námi zjištěná se shoduje s údaji o pH krve skotu udávanými jinými autory (Kutas 1966; Lebeda, Bouda 1969; Valge, Pedaja 1969).

Získané hodnoty pH mléka se obecně shodují s údaji literatury shrnutými v tab. I. Skutečnost, že někteří autoři zde uvedení udávají rozsah fyziologického kolísání pH mléka poněkud vyšší než je námi zjištěná průměrná hodnota (6,457), souvisí s tím, že hodnoty uvedené v tabulce byly získány při teplotě laboratoře, zatímco naše hodnoty byly získány při teplotě těla. Protože pH je obecně závislé na teplotě a u mléka je tato závislost vyšší než u některých čistých nárazníků, např. fosfátového nebo ftalátového (Jenness, Shipe, Whitham 1965), musí být hodnoty získané při teplotě 38 °C nižší než při teplotě laboratoře (viz tab. IV.).

Závislost pH na teplotě je známá i u krve. pH v celé krvi stoupá o 0,015 jednotky při snížení teploty o 1 °C (Gambino a kol. 1966).

Experimentálně je prokázáno, že puřovací kapacita krve některých druhů hospodářských zvířat podléhá změnám nejen za patologických procesů, ale i pod vlivem různých fyziologických momentů. Jsou to zejména kvantita a kvalita krmiv i samotný příjem krmiv a jejich trávení, fáze pohlavního cyklu včetně laktace (Beck 1952).

I když bereme v úvahu, že při hodnocení výsledků podle doby trvání laktace se do jisté míry uplatňovaly i vlivy sezónní, můžeme jednoznačně konstatovat, že PK krve a mléka jeví v prvních šesti týdnech po porodu zřetelný pokles. V dalším vývoji se PK mléka udržuje na vyšší úrovni než PK krve, která, i při existujících výkyvech, jeví s pokračující laktací a novou graviditou klesající

IV. pH mléka a fosfatového a ftalátového pufru při různých teplotách (Jenness, Shipe, Whitnah 1965)

Teplota °C	pH			
	odstředěné mléko	ftalát		fosfát
20	6,64	3,93	4,00	6,88
30	6,55	3,97	4,01	6,85
40	6,45	3,99	4,03	6,84
50	6,34	4,02	4,06	6,83
60	6,23	4,07	4,10	6,84

tendenci. Tento jev si lze vysvětlit zvýšenou intenzitou metabolismu matky při výstavbě tkání embrya a plodu, spojenou s cirkulačními potížemi vyvolanými tlakem dělohy na okolní tkáně a orgány, která může zvyšovat množství intermediárních kyselých metabolitů a tím snižovat koncentraci nárazníkových bází. Již sama skutečnost, že gravidní dojnice vylučuje s mlékem značné množství nárazníkových bází a zároveň je musí dodávat i plodu, svědčí o značné acidobazické zátěži matky. Navíc zde přistupují plynné a metabolické produkty plodu, které

jsou vylučovány organismem matky. Analýzy u koz a bahnic a jejich plodů ukázaly jednoznačně, že (HCO_3^-) a pH jsou v krvi plodu podstatně nižší a pCO_2 naopak vyšší než v krvi matky (Blechner a kol. 1960).

Při hodnocení PK mléka vzhledem k PK krve je třeba brát v úvahu relativitu hodnot ve vztahu k rozdílnému pH, v němž končí titrace mléka a krve. Pro mléko platí v podstatě tytéž zákonitosti (Lebeda, Kučera 1970), které zjistili Lebeda a Buš (1966) u krve skotu.

To znamená, že při titraci obou tekutin do téhož pH by PK mléka byla podstatně nižší (nebo PK krve vyšší) a pak by byla ještě více zvýrazněna nižší PK mléka v prvních osmi týdnech laktace a naopak by se zmírnila nebo by zcela vymizela převaha PK mléka ve druhé a třetí fázi laktace (obr. 2). Totéž platí pro vztah obou hodnot v obrázku 4.

Pokles PK mléka v prvních šesti týdnech po porodu je v prvních 14 dnech vysvětlitelný přeměnou mleziva ve zralé mléko s podstatně nižším obsahem bílkovin a fosfatů (Kolb 1967). Objasnění poklesu v dalších týdnech by vyžadovalo analýzu obsahu bílkovin a fosfatů jakožto hlavních nárazníkových bází mléka. Totéž platí i pro krev, kde je ovšem třeba sledovat i další nárazníkové báze. Tyto analýzy budou předmětem jiné práce.

Z obrázku 4 je zřejmé, že v období zimního krmení existuje zřetelná paralelnost průběhu křivek průměrných hodnot PK krve a mléka (viz fázi od ledna do května), která mizí v období zeleného krmení a znovu — i když méně zřetelně — se objevuje v dalším zimním období. Zde je ovšem nutné brát v úvahu i vliv gravidity, která byla v druhém zimním období u jednotlivých krav rozdílně pokročilá, ačkoli na začátku sledování bylo stádo z tohoto hlediska homogenější.

U dojnic námi sledovaných se neprojevil negativní vliv zimní krmné dávky na vyšší pufrovací kapacity krve a mléka, tak jak to uvádějí Lebeda a Hrevuš (1963), kteří zjistili opakovaně nejnižší hodnoty PK celé krve v dubnu před přechodem a v době přechodu na zelené krmení. Diferenci je možné vysvětlit tím, že krmná dávka nyní vyšetřovaných krav obsahovala podstatně menší množství siláže a byla biologicky lépe vyvážená.

Literatura

BECK F., 1952, Untersuchungen über den Gehalt des Blutplasmas an Alkalireserve bei klinisch gesunden Schlachtschweinen, Disert. práce Vysoké školy veterinární v Hannoveru.

- BLECHNER J. N., MECHIA G., BARRON D. H., 1960, A study of the acid-base balance of fetal sheep and goats. *Quart. J. Exptl. Physiol.* 45, 1 : 60-71.
- BOHÁČ V., KNĚZ V., REHÁK J., 1959, Význam měření kyselosti mléka a mléčných výrobků. SNTL, Praha, 192 s.
- BUŠ A., 1967, Acidobazické poměry v krvi telat za odlišných podmínek krmení. Kandidátská disertační práce, Brno.
- DAVIS J. G., 1955, A Dictionary of Dairying. Londýn.
- DILANJAN Z. CH. 1967, Moločnoje delo. Kolos, Moskva, 296 s.
- DUŠEK B., SEMJAN Š., KAŽIMÍR L., 1962, Mlieko a mliečne výrobky. SVPL, Bratislava, 368 s.
- GAMBINO S. R., ASTRUP P., BATES R. G., CAMPBELL E. J., CHINARD F. P., NAMAS G. G., SIGGAARD-ANDERSEN O., WINTERS R., 1966, Report of the ad hoc committee on methodology. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 133, 1 : 259-267.
- GRIM J., HLAVIZNA J., 1963, Vliv krmné dávky na alkalickou rezervu krve a hladinu krevních bílkovin u dojnic. *Sborník VŠZ v Brně*, ř. B, 11, 4 : 517-526.
- HÖKL J., ŠTĚPÁNEK M., 1962, Hygiena potravin II. Mléko a mléčné výrobky. SZN, Praha, 426 s.
- JENNESS R., SHIPE W. F., WHITNAH C. H., 1965, Acid-Base Equilibria. In: *Fundamentals of Dairy Chemistry*. Westport, The AVI Publishing Comp., 827 s.
- JENNESS R., PATTON S., 1967, Grundzüge der Milchchemie. BLV, München, Basel, Wien, 411 s.
- KIRCHGESSNER M., FRIESECKE H., KOCH G., 1965, Fütterung und Milchzusammensetzung. BLV, München, Basel, Wien, 292 s.
- KOLB E., 1967, Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. Jena, 989 s.
- KUTAS F., 1966, A szarvasmazha sav-bázis egyensúlyának vizsgálatára acidosisban és alkalosisban a vér analízise alapján. *Mag. All. Lapja* 21 : 112-115.
- LEBEDA M., HREVUŠ R., 1963, Vliv zimní a letní krmné dávky na alkalickou rezervu krve dojnic. *Vet. Med. (Praha)* 8, 5 : 349-354.
- LEBEDA M., BUŠ A., 1966, Dependence of Buffer Capacity of Calf Blood and Blood Serum on pH. *Sborník VŠZ v Brně*, ř. B, 14, 4 : 457-465.
- LEBEDA M., BOUDA J., 1969, Použitelnost Siggaard-Andersenova nomogramu pro venózní krev skotu. *Vet. Med. (Praha)* 14, 1 : 75-80.
- LEBEDA M., BOUDA J., KUČERA A., 1970a, Response of cattle to acute acid-base loads. *Acta veterinaria (Brno)*, 39, v tisku.
- LEBEDA M., BOUDA J., KUČERA A., 1970b, Acid-base response of cattle to chronic acidic and alkalic loads. *Acta veterinaria (Brno)*, 39, v tisku.
- LEBEDA M., KUČERA A., 1970, Závislost nárazníkové kapacity mléka krav na pH. V tisku.
- MELUZÍN J., 1968, Studium kolísání nativní kyselosti mléka během ročního období v určené výrobní oblasti. Diplomová práce, Brno, 69 s.
- MYSLIVEC V., 1957, Statistické metody zemědělského a lesnického výzkumnictví. SNZL, Praha, 555 s.
- PROKŠ J., 1964, Mlékařství. I. díl. SNTL, Praha, 224 s.
- ŠEBELA F., DUŠEK B., PAVEL J., 1964, Mlékařství. SZN, Praha, 328 s.
- VALGE L., PEDAJA M., 1969, The Acid-Base Metabolism of Dairy Cows in Large-Scale Farming of the Estonian SR and Possibilities of Regulation. Referát na mezinárodním symposiu „Acid-base regulations and their disturbances in farm animals“. Brno, 23.-25. říjen 1969.
- WULF E., 1967, pH Bestimmung in Milch und Blut von eutergesunden und euterkranken Kühen. Diss. Humboldt-Universität Berlin, Veterinärmed. Fak., 94 s.
- ZAJKOVSKIJ A. S., 1953, Chemie a fyzika mléka a mléčných výrobků. SNTL, Praha, 360 s.

Došlo dne 20. 5. 1970

ЛЕБЕДА М., КУЧЕРА А., БОУДА Й. (Ветеринарный институт, Брно, Чехословакия). Отношение между буферной емкостью крови и молоком коров в лактационный период. *Вет. Мед. (Прага)* 15 (10) : 621-631, 1970.

У 15 красно-пестрых коров в период лактации изучали буферную емкость крови и молока, pH крови и молока в 14-дневных интервалах. Буферная емкость молока и крови изу-

чалась при помощи потенциметрического титрования по Лебеде (1966). pH образцов крови измерялась на аппарате Аструпа, а pH молока — на pH-метре Раделкис. pH образцов крови и молока измеряли при температуре 38 °C. Установлена слабая положительная корреляция ($r = +0.106$) между буферной емкостью крови и молока. Не доказано стохастической связи между pH молока и крови ($r = +0.0143$). В изучаемый период буферная емкость крови = 79.81 мг% NaOH (средняя миним. величина = 61.16, а максим. = 142.70). Средняя величина буферной емкости молока в тот же период = 91.33 мг% NaOH (средняя миним. величина = 77.67, а максим. = 112.70). Для преобладающей части лактационного периода емкость молока была в среднем на 22.5 мг% NaOH больше, чем у крови. Средняя величина pH крови в этот период = 7.399 (средняя миним. величина = 7.338, а максим. = 7.419). Средняя величина молока в тот же период = 6.457 (средняя миним. величина = 6.380, а максим. = 6.590). Буферная емкость молока и крови в первые 6 недель после отела резко сокращалась, продолжая падать также во 2-й и 3-й трети лактации. Подобное движение буферной емкости молока и крови отмечено лишь в период зимнего кормления, с января по май ($r = +0.47$). Сбуждаются механизмы установленных изменений.

коровы; буферная емкость (БЕ) крови и молока; кормление; лактация

LEBEDA M., KUČERA A., BOUDA J. (University of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *Relation between the Buffer Capacity of Blood and Milk in Cows during the Lactation Period*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 621-631, 1970.

Fifteen cows of the red-pied breed were examined for the buffer capacity of blood and milk and for pH during lactation in the intervals of 15 days. The buffer capacity of blood and milk was determined through potentiometric titration according to Lebeda (1966). The pH of blood samples was measured in the Astrup apparatuses, and that of milk was examined by means of the Radelkis pH-meter. The measurement of the blood and milk pH was taken at the temperature of 38 °C. A slight positive correlation ($r = +0.106$) was between the buffer capacity of blood and that of milk. No stochastic bond between the milk and blood pH's was proved ($r = +0.0143$). The average value of the buffer capacity of blood was 79.81 mg % NaOH for the lactation period under study (the average minimum value being 61.16, and the maximum reaching 142.70). The average value of the buffer capacity of milk for the same period of time was 91.33 mg % NaOH (the average minimum and maximum values being 77.67, and 112.70, respectively). In a larger of the lactation period, the buffer milk capacity was higher by 22.5 mg % NaOH, on an average, than that of blood. The average pH value of blood was 7.399 during the lactation period under study (the average minimum and maximum values being 7.338, and 7.419, respectively). The average value of pH in milk was 6.457 in the same period (average minimum being 6.380, maximum 6.590). The buffer capacity of blood and milk markedly decreased in the first six weeks after parturition; the decreasing trend in the buffer capacity of blood continued also in the second and third thirds of lactation. A congruent course of the buffer capacity of blood and milk was observed only in the period of winter feeding from January to May ($r = 0.47$). The mechanisms of the changes observed are being discussed.

коровы; буферная емкость крови и молока (БЕ); pH крови и молока; кормление; лактация

LEBEDA M., KUČERA A., BOUDA J. (Hochschule für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). *Beziehung der Pufferkapazität von Blut und Milch bei Kühen in der Laktationsperiode*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 621-631, 1970.

Bei 15 Kühen der rotbunten Rasse wurde während der Laktation die Pufferkapazität von Blut und Milch und pH-von Blut und Milch in 14-tägigen Intervallen verfolgt. Die Blut- und Milchpufferkapazität wurde mittels der potentiometrischen Titration nach Lebeda (1966) festgestellt. Die pH-Blutproben wurden am Astrupgerät, die pH-Milchproben am pH-Meter Radelkis gemessen. Das Messen der Blut- und Milch-pH-Proben wurde bei einer Temperatur von 38 °C durchgeführt. Es wurde eine unausgeprägte positive Korrelation ($r = +0.106$) zwischen der Pufferkapazität von Blut und Milch festgestellt. Eine stochastische Gebundenheit zwischen pH von Blut und Milch wurde nicht nachgewiesen ($r = +0.0143$). Der durch-

schnittliche Wert der Puffer-Blutkapazität betrug in der verfolgten Laktationsperiode 79,81 mg % NaOH (der durchschnittliche minimale Wert betrug 61,16, der maximale 142,70). Der durchschnittliche Wert der Puffer-Milchkapazität betrug in demselben Zeitraum 91,33 mg % NaOH (der durchschnittliche minimale Wert betrug 77,67, der maximale 112,70). Im überwiegenden Laktationszeitraum war die Puffer-Milchkapazität im Durchschnitt um 22,5 mg % NaOH höher als der Puffer-Blutkapazitätspegel. Der durchschnittliche pH-Blutwert betrug in der verfolgten Laktationsperiode 7,399 (der durchschnittliche minimale Wert betrug 7,338, der maximale 7,419). Der durchschnittliche pH-Milchwert betrug in demselben Zeitraum 6,457 (der durchschnittliche minimale Wert betrug 6,380, der maximale 6,590). Die Pufferkapazität des Blutes und der Milch wurde in den ersten 6 Wochen nach der Geburt bedeutend herabgesetzt, die Herabsetzung der Pufferblutkapazität schritt auch im 2. und 3. Drittel der Laktation fort. Eine übereinstimmende Bewegung der Blut- und Milchpufferkapazität wurde nur im Zeitraum der Winterfütterung von Januar bis Mai verzeichnet ($r = +0,47$). Die Mechanismen der festgestellten Änderungen werden diskutiert.

Kühe; Pufferkapazität (PK) des Blutes und der Milch; pH von Blut und Milch; Fütterung; Laktation

Adresa autorů:

Prof. MVDr. M. Lebeda, CSc., MVDr. A. Kučera, MVDr. J. Bouda, Vysoká škola veterinární, Brno, Palackého 1—3

**Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI
na úseku veterinářství**

C 14.023

Business management practices in 58 veterinary practices. New York (Ithaca), Cornell Agric. exp. station. 1967-68. (1968). A. E. Res. 267. 49 s. 26 tab. (Veterinári — organizace a činnost — USA — ročenky)

C 14.023

Time spent on management and related activities in 44 veterinary practices.
New York (Ithaca), Cornell Agric. exp. station. 1968. (1968). A. E. Res. 265.
40 s. 15 tab. (Veterinári — organizace práce — USA — ročenky)

C 14.023

Partnership arrangements in 25 veterinary practices. New York (Ithaca), Cornell Agric. exp. station 1968. (1968). A. E. Res. 266. 22 s. 1 tab. (Veterinári — spolupráce — USA — ročenky)

D 57.433

Veterinärrecht. Bearb. Heinz Adomeit. Weimar, Staatsverlag der Deutschen Demokratischen Republik. Nachtrag 1. 1968 214 s. 2. 1968. 194 s. 3. 1968. 134 s. 5. 1968. 186 s. (Veterinární zákony — NDR)

Carthy J. D.

D 57.211/3

The study of behaviour. Studies in biology no. 3. London, Inst. of biology's 1967. 57 s. obr. (Chování zvířat — brožury)

D 57.211/3

Povedenije životnych i problema odomašnivaniya. Trudy Moskovskogo obščestva ispytatelej prirody Tom 35. Moskva, Nauka 1969. 103 s. tab. mv. (Chování zvířat — sborníky — SSSR)

Schyia D.

E 33.351/94

Untersuchungen über Beziehungen zwischen Blutgruppenfaktoren und Nachkommenverlusten beim Deutschen Schwarz- und Rotbunten Niederungsind.
Inaug.-Diss. d. Veterinärmedizin. Fak. d. J. Liebig-Univ. zu Giessen, Giessen, Tierärztl. Institut d. Georg-August-Univ. Göttingen 1969. 71 s. 17 tab. (Skot německý černostrakatý a červenostrakatý nížinný — krevní skupiny — potomstvo — úhyny — vztahy — výzkum — NSR)

Poncelet J. L.

D 38.168/1969/74

Syndromes hémorragiques chez les bovins. Thèse devant la Fac. mixte de médecin et de pharmacie de Toulouse. École nation. vétér. 1969. 74. Toulouse, École nationale vétér. 1969. 111 s. (Krevní srážlivost — výzkum — Francie)

Kraan W. J.

D 51.973/36

Nierfunctieonderzoek bij de hond. En experimenteel onderzoek naar de bruikbaarheid van het p-aminohippuuzuur. Proefschrift de Univ. te Utrecht. (Souhrn angl.) Rotterdam, Drukkerij Bronder-Offset N. V. 1969. 151 s. 6 obr. 16 tab. (Ledviny — činnost — stanovení — kyselina P-aminohippurová — použití — význam — pes)

STUDIUM ANTIGENŮ NA FETÁLNÍCH ERYTHROCYTECH PRASAT

J. Linhart, J. Podaný

Plemenářský vývojový ústav, Hradištko p. Med.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

LINHART J., PODANÝ J. *Studium antigenů na fetálních erythrocytech prasat.* Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 633-639, 1970.

Během fetálního období byl studován vývoj erythrocytárních antigenů u prasat pomocí monospecifických sér. Kromě antigenu A^A, který nebyl zjištěn během ontogenetického vývoje na erythrocytech, bylo 37 ostatních antigenů prokázáno již během fetálního období. Ve stáří 63 dní byla zjištěna poněkud slabší aglutinovatelnost červených krvinek, ovšem reakce byly dostatečně silné a stačilo makroskopické posouzení ke spolehlivému určení pozitivních a negativních reakcí. Ve frekvenci krevně skupinových faktorů a alel u fétů nebyly odchylky proti frekvenci zjišťované během postnatálního období, kromě již zmíněného faktoru A^A. Informace o výskytu antigenů během ontogeneze může přispět k objasnění některých imunobiologických souvislostí mezi zárodkem a matkou ve vztahu k hemolytickému onemocnění u prasat.

erythrocytární antigeny; fety prasat; absence A^A antigenu; genová frekvence

V posledních deseti letech byl zaznamenán intenzivní rozvoj v imunogenetice prasat. Především byly rozpracovány otázky týkající se erythrocytárních antigenů ve vztahu k paternitě, objasnění některých biologických zákonitostí v procesu rozmnožování, homogenitě a heterogenitě populací a plemen.

Poněkud menší pozornost byla věnována vývoji erythrocytárních antigenů u tohoto druhu hospodářských zvířat během ontogeneze. Předpokládáme, že řešení této problematiky by přispělo k objasnění imunobiologických vztahů mezi plodem a matkou.

V humánní medicíně je dnes v tomto směru známá celá řada pojednání (Kemp 1930, Moureau 1935, Constandoulakis a Kay 1962, Constandoulakis a kol. 1963, Szulman 1964, Bergström a kol. 1967 a další), která se zabývají vývojem, silou a projevem erythrocytárních antigenů během embryonálního období, zvláště pak ve vztahu k hemolytické anemii u novorozenat.

Obdobné studie vykonali u skotu Stormont a kol. (1958), Schmid a Buschmann (1962), u králíků Keeler a Castle (1934), u myši Mitchison (1953), Möller (1962), Klein (1965), u slepic Mc Dermid (1964) a Drobná (1967).

U prasat jsme v dostupné literatuře, kromě Andresena (1963), nenalezli podrobnější údaje v tomto směru. Považovali jsme proto za účelné se touto problematikou zabývat poněkud hlouběji.

MATERIÁL A METODY

Erytrocyty. Fěty v 63, 93, 100, 103, 105, 108 a 112 dnech stáří byly získány od březích prasnic hysterotomicky. Krev byla odebírána do sterilních zkumavek po usmrcení fětů dekapitací. Ke konzervaci krve bylo použito anti-koagulačního roztoku podle *Andresena* (1963). Suspenze erytrocytů byly připravovány bezprostředně před testací.

Antiséra. Ke stanovení krevního systému A bylo použito sér anti-Ac a anti-Ap. Ta byla získána od A negativních prasat, v jejichž séru byla jako „přirozené“ protilátky.

Ostatní testovací séra anti-Bb, Ca, Da, Db, Ea, Eb, Ed, Ee, Ef, Eg, Fa, Fb, Ga, Gb, Ha, Hb, Hc, Ia, Ib, Ja, Ka, Kb, Kc, Kd, Ke, La, Lb, Lc, Lg, Ld, Lf, Li, Lj, Lh, Ll, Lk, Ma, Mc, Na, Nb a Oa byla získána izoimunizací.

Sérologické testy. Při určování krevně skupinových faktorů jsme používali tři sérologické testy. Všechny probíhaly v sérologických zkumavkách. Erytrocyty byly před vlastním použitím třikrát promývány fyziologickým roztokem. Přímý aglutinační test a nepřímý Coombsův test byly dělány a hodnoceny podle *Andresena* (1963). Některá testséra byla použita v modifikovaném dextran testu podle *Hojného a Hály* (1965)..

Erytrocyty všech fětů byly vždy testovány současně s erytrocyty rodičovských zvířat izoimunními séry příslušného ředění, kterých používáme v laboratoři běžně k testaci.

VÝSLEDKY A DISKUSE

U 80 fětů různého stáří byly současně určovány krevně skupinové faktory náležející k 15 genetickým systémům krevních skupin. Počet fětů získaných z různých typů páření, jejichž erytrocyty reagovaly pozitivně s příslušnými antiséry, je uveden podle stáří v tabulce I.

Vzhledem k nízké genové frekvenci nebylo možno na našem materiálu prokázat antigeny Kd, Ke, Lk, a Mc. Stejně i antigeny Ba, Eh, Ei, a Ob nebyly prokázány, protože se nám dosud nepodařilo připravit příslušnou protilátku k jejich detekci.

V tabulce II je uveden titr u dvou náhodně vybraných protilátek anti-Db a anti-Lh s erytrocyty otce, matky a jejich pěti potomků (fěty ve stáří 105 dnů).

Zajímavý výsledek byl zjištěn při detekci antigenu A^A u fětů rozličného stáří. Ačkoliv potomci (fěty) pocházeli z různých typů páření ($A^A \times A^A$, $A^A \times a^O$, $a^O \times a^O$), v žádném případě nebyl prokázán A^A antigen na jejich erytrocytech.

K obdobným výsledkům dospěli *Schmid a Buschmann* (1962), kteří neprokázali J antigen na erytrocytech fětů u skotu.

Zjištěné výsledky výše uvedenými autory u skotu a naše výsledky u prasat podporují hypotézu *Stormonta* (1949) o J substanci skotu a *Andresena* (1962) a A substanci prasat. Substance se podle uvedených autorů vyskytují primárně v séru a teprve sekundárně se objevují na krvinkách.

Antigen A^A se nám podařilo prokázat až na erytrocytech v prvních týdnech postnatálního života.

Naproti tomu v dalších krevně skupinových systémech C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, N a O jsme u prasat prokázali zřímé antigeny již ve stáří 63 dny po oplození.

I. Reakce monospecifických antisér s erytrocyty fétů, pocházejících z různých typů páření

Féty		anti-A	anti-Bb	anti-Ca	anti-Da	anti-Db	anti-Ea	anti-Eb	anti-Ed	anti-Ee	anti-Ef	anti-Eg	anti-Fa	anti-Fb	anti-Ga
počet	stáří dnů	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F
12	63	— — 0	— — 0	+ — 5	+ — 3		— — 0	— + 4	+ + 12	+ + 12	— — 0	+ + 12	+ — 7		+ — 12
6	93	+ — 0	— + 3	— — 0	— — 0		— — 0	+ + 5	+ + 6	+ + 6	— — 0	+ + 6	— — 0		+ + 6
3	93	+ + 0	— — 0	— — 0	— — 0		— — 0	+ + 3	+ + 3	+ + 3	— — 0	+ + 3	— — 0		+ + 3
2	100	— — 0	— — 0	— — 0	— — 0		— — 0	+ + 2	+ + 2	+ + 2	— — 0	+ + 2			+ — 1
6	100	— + 0	— — 0	— — 0	— — 0		— — 0	+ + 6	+ + 6	+ + 6	— — 0	+ + 6			+ + 6
11	103	+ — 0	+ — 5	— — 0	— — 0		— — 0	+ + 1	+ + 3	+ + 3	+ — 0	+ + 11	— — 0	+ + 11	+ + 11
3	105	+ + 0	— — 0	— — 0	— — 0		— — 0	+ + 1	+ + 3	+ + 3	+ — 3	+ + 3			+ — 3
8	105	+ — 0	— — 0	— — 0	— — 0		— — 0	+ + 8	+ + 8	+ + 6	+ — 6	+ + 8			+ — 8
9	105	+ + 0	— — 0	— — 0	— — 0	+ + 9	— — 0	+ + 9	+ + 9	— — 0	— — 0	+ + 9	— — 0	+ + 9	+ + 9
4	108	+ + 0	— — 0	— — 0	— — 0		+ — 3	+ + 4	+ + 4	+ — 3	— — 0	+ + 4			+ + 3
8	108	+ — 0	— — 0	— — 0	— — 0		+ — 2	+ + 6	+ + 8	+ + 8	— — 0	+ + 8			+ — 5
4	112	+ — 0	+ — 0	— — 0	— — 0		— — 0	+ + 4	+ + 4	+ + 3	— — 0	+ + 4			+ + 4
4	112	+ — 0	— — 0	— — 0	— — 0		— + 1	+ — 2	+ + 4	+ + 4	— — 0	+ + 4			+ + 4
Počet pozitivních		0	8	5	3	9	6	62	80	59	9	80	7	20	75
Počet sledovaných		80	80	80	72	9	80	80	80	80	80	80	41	20	80

Tab. I pokračování

Féty		anti-Gb	anti-Ha	anti-Hb	anti-Hc	anti-Ia	anti-Ib	anti-Ja	anti-Ka	anti-Kc	anti-Ke	anti-Kd	anti-Kb	anti-La	anti-Lb
počet	stáří dnů	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F
12	63	— + 12	— + 9	+ + 12		+ + 12	— + 3	+ + 12	— — 0	— — 0	— — 0	— — 0	+ + 5	+ — 6	+ + 12
6	93	— — 0	+ — 4	— — 0		+ + 6	— — 0	+ + 6	— — 0	— — 0	— — 0	— — 0	+ + 6	— — 0	+ + 6
3	93	— — 0	+ + 3	— — 0		+ + 3	+ + 2	+ + 3	— + 1	— + 1	— — 0		+ + 3	— + 3	+ + 3
2	100	+ + 2	+ + 2	+ + 2		+ + 2	+ + 0	+ + 2	— — 0	— — 0	— — 0		+ + 2	— — 0	+ + 2
6	100	+ — 3	+ + 6	+ — 6		+ + 3	+ + 4	+ + 6	— + 4	— + 4	— — 0	— — 0	+ + 2	+ — 6	+ — 6
11	103	— — 0	+ — 6	— — 0	+ + 6	+ + 11	+ — 5	+ — 3	+ — 3	+ — 3	— — 0		+ + 8	— — 0	+ + 11
3	105	— + 3	+ + 2	+ — 1		+ + 3	+ + 2	— + 3	— — 0	— — 0	— — 0		+ + 3	— — 0	+ + 3
8	105	— + 8	+ + 8	— — 0		+ — 4	+ + 8	— + 8	— + 7	— + 7	— — 0	— — 0	— — 0	— — 0	+ + 8
9	105	— + 4	+ + 3	— — 0		+ + 9	+ — 3	+ + 6	+ + 6	+ + 6	— — 0		+ + 5	+ — 9	+ — 9
4	108	+ + 4	+ — 2	— — 0		+ + 4	— — 0	+ + 4	+ + 4	+ + 4	— — 0		+ + 3	+ + 4	+ — 4
8	108	+ + 8	+ + 6	+ + 5		+ + 8	+ — 2	+ + 8	+ + 4	+ + 4	— — 0	— — 0	+ + 7	+ — 1	+ + 8
4	112	+ — 1	+ — 3	— — 0		+ + 4	— — 0	+ — 1	+ — 1	+ — 1	— — 0	— — 0	+ + 4	— — 0	+ + 4
4	112	+ — 2	+ + 4	— — 0		+ + 4	— — 0	+ + 4	+ + 4	+ + 4	— — 0	— — 0	+ — 1	— + 4	+ — 4
Počet pozitivních		47	58	26	6	73	29	52	34	34	0	0	49	33	80
Počet sledovaných		80	80	80	11	80	80	52	80	80	80	48	80	80	80

Pokračování tab. I.

Fěty		anti-Lc	anti-Lg	anti-Ld	anti-Lf	anti-Li	anti-Lh	anti-Lj	anti-Ll	anti-Lk	anti-Ma	anti-Mc	anti-Na	anti-Nb	anti-Oa
počet	stáří dnů	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F	♀×♂F
12	63	— — 0	— — 0	++ 12		++ 12	+ — 7		+ — 7	— — 0	— — 0		— — 0	++ 12	+ — 5
6	93	+ — 6	+ — 6	++ 6		++ 6							— + 3		— — 0
3	93	+ — 3	+ — 3	++ 3		+ — 3							— + 2		— — 0
2	100	+ — 1	+ — 1	++ 2		++ 2	— — 0			— — 0	— — 0		— — 0	++ 2	+ — 1
6	100	++ 1	++ 1	++ 6		+ — 6	— + 6			— — 0	— — 0		— + 2	++ 6	+ — 4
11	103	+ — 3	+ — 3	++ 11	++ 11	++ 11	— — 0				— — 0	— — 0	++ 9	++ 5	— — 0
3	105	— — 0	— — 0	++ 3		++ 3					— — 0		— — 0	++ 3	— — 0
8	105	— + 8	— + 8	+ — 8		++ 8					— — 0		— + 3	++ 8	— — 0
9	105	+ — 6	+ — 6	++ 9	+ — 3	+ — 9	— + 9			— — 0	— — 0	— — 0	++ 9	+ — 4	— — 0
4	108	+ — 4	+ — 4	++ 4		+ — 4	— + 4				— — 0		++ 4	— — 0	— — 0
8	108	+ — 7	+ — 7	++ 8		++ 8	+ — 1				— — 0		+ — 8	— + 8	— — 0
4	112	+ — 2	+ — 2	++ 4		++ 4	— — 0	— — 0	— — 0	— — 0	+ — 2	— — 0	— + 0	++ 3	— — 0
4	112	+ — 3	+ — 3	++ 4		+ — 4	— + 4	— + 4	— + 4	— — 0	— — 0	— — 0	— + 4	++ 4	— — 0
Počet pozitivních		44	44	80	14	80	31	4	11	0	2	0	44	55	10
Počet sledovaných		80	80	80	20	80	60	8	20	35	71	28	80	71	80

F = počet pozitivních fětů z jednotlivých typů páření

II. Titr protilátek anti-(Db) a anti-Lh s erytrocyty otce, matky a jejich potomků (fěty 105 dnů stáří)

Protilátky	anti-(Db)								anti-Lh					
	titr erytro-cyty	N	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	N	1:2	1:4	1:8	1:16
Otec K 7	++++	++++	++++	++++	++++	++	±	—	—	++++	++++	+++	+	—
Matka 58	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+	—	—	—	—	—	—	—
Féty: 1	++++	++++	++++	++++	++++	+++	±	—	—	++++	++++	+++	+	—
2	++++	++++	++++	++++	++++	++	—	—	—	++++	++++	+++	±	—
5	++++	++++	++++	++++	++++	++	—	—	—	++++	++++	++	—	—
7	++++	++++	++++	++++	++++	+++	±	—	—	++++	++++	+++	±	—
9	++++	++++	++++	++++	++++	++	—	—	—	++++	++++	++	—	—

Poněkud slabší aglutinovatelnost byla pozorována u fětů ve stáří 63 dny, ovšem reakce antigen - protilátka se projeví dostatečně silně a stačilo pouhé makroskopické posouzení, aby mohly být spolehlivě určeny pozitivní a negativní případy.

Briles a kol. (1948), kteří k obdobným výsledkům dospěli u kuřat, tuto skutečnost vysvětlují zvyšováním kvalitativně nových reaktivních buněk nahrazujících přítomné nereaktivní buňky na počátku vývoje.

U lidských fetálních erytrocytů k podobnému závěru dospěli Kissmayer-Nielsen (1960) a Toivanen a Hirvonen (1969).

Erytrocyty fětů, získané ve stáří okolo 100 dní, se v síle reakcí znatelně neliší od erytrocytů získaných od zvířat během postnatálního období.

Zjištěná frekvence krevně skupinových faktorů a příslušných alel, prokázaných na erytrocytech fětů u prasat, nevykazovala nepravidelnosti proti frekvenci očekávané, kromě zmíněného A faktoru.

Úloha jednotlivých antigenů při studiu hemolytické žloutenky u prasat bude předmětem dalšího sdělení.

Literatura

- ANDRESEN E., 1962, Blood groups in pigs. Ann. N. Y. Acad. Sci. 97 : 205—225.
 ANDRESEN E., 1963, A study of blood groups of the pigs. Muksgaard-Copenhagen : 229 s.
 BERGSTRÖM H., NILSSON L. A., NILSSON L., RYTTINGER L., 1967, Demonstration of Rh antigens in a 38-day-old fetus. Amer. J. Obstet. Gynec. 99 : 130—133.
 BRILES W. E., Mc GIBBON W. H., IRWIN M. R., 1948, Studies of time of development of cellular antigens in the chicken. Genetics 33 : 97.
 CONSTANDOULAKIS M., KAY H. E. M., 1962, A and B antigens of the human foetal erythrocyte. Brit. J. Haemat. 8 : 57—63.
 CONSTANDOULAKIS M., KAY H. E. M., GILES C. M., PARKIN D. M., 1963, Observations on the Az gene and H antigen in foetal life. Brit. J. Haemat. 9 : 63—67.
 DROBNÁ V., 1967, Niektoré údaje o vývoji antigénov krvných skupín u kurčiat. Vědecké práce VÚCHH Ivanka pri Dunaji : 187—196.
 HOJNÝ J., HÁLA K., 1965, Blood group system O in pigs. Proc. 9th Europ. Anim. Blood Group Conf. Prag : 498 s.
 KEELER C. E., CASTLE W. E., 1934, Blood group inheritance in rabbits. J. Hered. 25 : 433—439.
 KEMP T., 1930, Über den Empfindlichkeitsgrad der Blutkörperchen gegenüber Iso-

- hämagglutinin im Fötalleben und im Kindersalter beim Menschen. Acta path. microbiol. scand. 7 : 28—30.
- KISSMEYER-NIELSEN F., 1960, A further example of anti-Lu^b as a cause of a mild haemolytic disease of the newborn. Vox Sang. 5 : 532-537.
- KLEIN J., 1965, The ontogenetic development of H₂ antigens in vivo and in vitro. Proc. 9th Europ. Anim. Blood Group Conf. Prag : 498 s.
- Mc DERMID M., 1964, Immunogenetics of the chickens. Vox Sang. 9 : 249-267.
- MITCHISON N. A., 1953, Contribution à l'étude des facteurs d'individualisation du sang humain et leurs applications en médecine légale. 2a mémoire. Les groupes M et N d'hémoagglutination de Landsteiner et Levine. Rev. belge Sci. méd. 7 : 540-588.
- MÖLLER G., 1962, The differentiation of H₂ isoantigens in newborn and embryonic mice. Transpl. Bull. 29 : 144.
- SCHMID D. O., BUSCHMANN H., 1962, The detection of blood factors and serum transferins in fetal blood of cattle. Ann. N. Y. Acad. Sci. 97,1 : 281-294.
- STORMONT C., 1949, Acquisition of the J substance by the bovine erythrocyte. Proc. Nat. Acad. Sci. 35 : 232-237.
- STORMONT C., LOGAN M., SUZUKI Y., 1958, A comparison of maternal-fetal blood types in cattle. Transp. Bull. 5,3 : 133-137.
- SZULMAN A. E., 1964, The histological distribution of the blood group substances in man as disclosed by immunofluorescence. III. The A, B and H antigens in embryos and fetuses from 18 mm in length. J. exp. Med. 119 : 503-516.
- TOIVANEN P., HIRVONEN T., 1969, Fetal development of red cell antigens K, k, Lu^a, Lu^b, Fy^a, Fy^b, vel and Xg^a. Scand. J. Haemat. 6 : 49-55.

Došlo dne 24. 6. 1970

ЛИНГАРТ Й., ПОДАНЫ Й. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия). Изучение антигенов на фетальных эритроцитах свиней. Вет. Мед. (Прага) 15 (10) : 633-639, 1970.

В ходе фетального развития изучалось развитие эритроцитарных антигенов у свиней при помощи моноспецифических сывороток. Кроме антигена A^A, не установленного в процессе онтогенетического развития эритроцитов, остальные 37 антигенов выявлены уже в фетальный период. В возрасте 63 дней установлена несколько пониженная способность к агглютинированию красных телец, но реакции были достаточно сильными, и микроскопическая оценка надежно определяет положительные и отрицательные реакции. Частота кровяных групп факторов и аллель у фетов не показывает никаких отклонений от частоты в послеродовой период за исключением упомянутого фактора A^A. Информация о появлении антигенов в процессе онтогенеза может помочь объяснению некоторых иммунологических зависимостей между зародышем и матерью в отношении гемолитических заболеваний свиней.

эритроцитарные антигены; феты свиней; отсутствие A^A антигена; частоты ген

LINHART J., PODANY J. (Research Institute of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). Investigation of Antigens on Fetal Erythrocytes in Pigs. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 633-639, 1970.

The development of erythrocytic antigens in pigs was investigated with the help of monospecific sera during the foetal period. With the exception of antigen A^A which was not found on erythrocytes during the ontogenetic development, the other 37 antigens were proved already during the foetal period. At the age of 63 days a slightly weaker agglutinability of red corpuscles was ascertained, but the reactions were sufficiently strong and a macroscopic appreciation was sufficient to determine reliably the positive and negative reactions. The frequency of blood group factors and alleles in foetuses showed no deviations compared to the frequency investigated during the postnatal period, with the exception of the mentioned factor A^A. The confirmation on the occurrence of antigens during ontogenesis can help in clearing some immunobiologic connections between the embryo and mother in relation to haemolytic disease in pigs.

erythrocytic antigens; foetuses of pigs; absence of A^A antigen; frequency of gens

LINHART J., PODANÝ J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). *Studium der Antigene an den fötalen Erythrozyten bei Schweinen*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 633-639, 1970.

Während der Fötalperiode wurde die Entwicklung der Erythrozytenantigene bei Schweinen mittels monospezifischen Seren studiert. Außer dem Antigen A^A, das während der ontogenetischen Entwicklung an den Erythrozyten nicht festgestellt wurde, wurden 37 übrige Antigene schon während der Fötalperiode nachgewiesen. Im Alter von 63 Tagen wurde eine etwas schwächere Agglutination der roten Blutkörperchen festgestellt, die Reaktionen waren jedoch genügend stark und es genügte eine makroskopische Beurteilung zur verlässlichen Bestimmung von positiven und negativen Reaktionen. Die Frequenz der Blutgruppenfaktoren und Allelen bei Föten wies keine Abweichungen gegenüber der während der postnatalen Periode festgestellten Frequenz auf, außer dem schon erwähnten Faktor A^A. Die Information über das Vorkommen von Antigenen während der Ontogenese kann zur Klärung einiger immunobiologischen Abhängigkeiten zwischen dem Embryo und der Mutter in Beziehung zur hämolytischen Erkrankung bei Schweinen beitragen. Erythrozytenantigene; Föten bei Schweinen; Absenz des A^A Antigens; Genfrequenz

Adresy autorů:

Ing. J. Linhart, CSc., Plemenářský vývojový ústav, odd. krevních skupin prasat, Hradištko n. Med., MVDr. J. Podaný, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno - Medlánky

**Výběr z nových přírůstků
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI ÚZPV
na úseku veterinářství**

Février P. M.

D 38.168/1969/28

La phenolsulfonephtaleine P.S.P.) et son utilisation dans l'exploitation de la fonction tubulaire rénale chez les animaux domestiques. Thèse devant la Fac. mixte de médecine et de pharmacie de Toulouse. École nat. vétér. 1969. 28. Toulouse, École nation. vétér. 1969. 103 s. (Ledviny — činnost — hospodářská zvířata — výzkum — phenolsulfonphtalein — použití — Francie)

L'acetyl-digitoïne alpha, ses résultats dans le traitement des tachycardies chez
Paoli D. G.

D 38.168/168/36

les carnivores domestiques. Thèse devant la Fac. mixte de médecine et de pharmacie de Toulouse. École nation. vétér. 1968. 36. Toulouse, École nation. vétér. 1968. 67 s. obr. (Srdeční nemoci — tachykardie — pes — léčení — acetyl-digitoxin — výzkum — Francie)

Morel G. J.

D 38.168/1968/12

Contribution à l'étude du traitement des lymphangites aiguës banales des membres des grands animaux domestiques par un antihistaminique de synthèse le 6847 RP. Thèse devant la Fac. mixte de médecine et de pharmacie de Toulouse. École nationale vétérinaire Année 1968, No. 12. Toulouse, École nationale vétér. 1968. 47 s. (Antihistaminika — lymphangitis — výzkum — Francie)

Erüning G.

E 32.497/290

Untersuchungen über die Wirkung von Furosemid (Lasix (R) — Hoechst) beim Rind. Inaug.-Diss. d. Tierärztl. Hochschule Hannover. Hannover, Klinik f. Rinderrkrankheiten 1969. 31 s. 3 obr. 6 tab. (Močopudné přípravky — Furosemid — skot — výzkum — NSR)

Walser K.

D 57.715

Melkmaschine und Mastitis. Untersuchungen über die Beeinflussung der Euter-gesundheit durch die Melkmaschine. Berlin, P. Parey 1966. 110 s. 50 obr. 15 tab. (Mastitis — dojení — vztahy — výzkum — NSR)

C 16.185/789

Contagious pleuropneumonia. Still a threat to U. S. cattle. PA 769, 1967. Washington, U. S. Depart. of agricul. 1967. 8 s. bar. obr. (Plicní nákaza skotu — USA — letáky)

Överäs J

D 34.761/suppl/28

Studies on Eperythrozoon ovis — infection in sheep. Acta veterinaria Scandinavica Suppl. 28. Oslo, State veter. res. station for small ruminants 1969. 148 s. 38 obr. 23 tab? (Ovce — nemoci nakažlivé — eperythrozoonosis — výzkum — Norsko)

KVANTITATIVNÍ HISTOMORFOLOGICKÁ ANALÝZA VYVÍJEJÍCÍHO SE VARLETE KANEČKŮ JAKO PODKLAD DIFERENCIACE VÝVOJOVÝCH ANOMÁLIÍ

Z. Věžník, V. Kummer

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

VĚŽNÍK Z., KUMMER V. *Kvantitativní histomorfologická analýza vyvíjejícího se varlete kanečků jako podklad diferenciace vývojových anomálií.* Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 641-651, 1970.

Cytodiferenčním vyšetřením parenchymu varlete kanečků od 75 dní intrauterinního vývoje do 130 dní stáří po narození byla stanovena detailní buněčná charakteristika zárodečných listů a intersticia a byly stanoveny základní vývojové fáze typizované maximem rozvoje intersticiální složky (17 dní po narození) výraznou hiperemií intersticia (80 dní po narození), předcházející vlastní rozvoj tubulární složky respektive spermatogenetického epitelu. První fáze puberty mohla být ohraničena od 80. do 115. dne stáří a je charakterizována rozvíjející se spermatogenezí. Druhá fáze puberty je ohraničena od 115. do 130. dne po narození a je typická obrazem luminizace varletních tubulů a dokončením spermatogenního cyklu. Použitá Chalkleyova metoda dovolila citlivě diferencovat buněčné poměry u základního souboru sledovaných zvířat ve srovnání s jedinci experimentálně ovlivněnými SBK, u nichž byl zjištěn stimulační vliv podané dávky, stejně jako rozdíly u jedinců vývojově abnormálních.

kanec; varle; vývoj; histomorfologie; buněčná diferenciace

Otázky hypogonadismů jsou otevřeným problémem, který se dostává se zaváděním umělé inseminace a využitím plemeníků ve větší míře do popředí a do významné pozice. Jejich odhalování je velmi vážným úkolem a zavedení např. bioptické techniky k diagnostice hypoplatických varlat v r. 1951 Lagerlöfem přineslo významné úspěchy.

Přední místo v upřesnění diagnostických závěrů patří dosud stále morfologickým metodám, ať již intravitální technikou, nebo i vyšetřením orgánů po odporažení jedinců. Podkladem pro posouzení obrazu hypogonadismu je znalost morfologických variací ve vývoji varlete, tedy vazba na dynamiku morfologických změn všech stavebních součástí parenchymu varlete.

U kanců se touto otázkou zabýval poměrně nevelký počet autorů, a proto jsme byli odkázáni na srovnání literárních údajů týkajících se této otázky v širší míře: Charny, Conston, Meranze (1952), Sniffen (1952); Fosslund (1954), Santamarina, Reece (1957), Dutt, Barnhart (1959), Knudsen, Bryne (1960), Mancini, Narbaitz, Lavieri (1960), Fosslund, Schultze (1961), Sapsford (1962), Santamarina, Reece (1964).

Věnovali jsme v této studii pozornost především těm otázkám, jejichž řešení je pro rutinní diagnostiku významné a které podle literárních údajů byly sporné

nebo ne zcela dořešené. Hlavní záměr spočíval v poskytnutí výchozích hodnot pro porovnání obrazu parenchymu varlat kanečků, u nichž bylo možno předpokládat normální vývoj na základě prověření rodičů s jedinci, kteří pocházeli z vrhů vykazujících významný podíl anomálií ve vývoji pohlavního aparátu.

MATERIÁL A METODY

Materiálem pro tuto studii byla varlata fétů získaných hysterotomií a selat po narození. Rozmezí stáří sledovaných jedinců bylo od 74 dnů intrauterinního vývoje do porodu a od porodu do 130 dnů věku.

Toto období bylo rozděleno na časové úseky, které z části byly stanoveny experimentem, z části byly získány použitím vhodného materiálu z pokusných prací, které nebyly přímo zaměřeny k tomuto účelu. Sledované období bylo rozčleněno do 20 stadií, ve kterých byli minimálně posouzeni vždy dva jedinci. Bylo použito zvířat, která pocházela ze tří lokalit, kde nám podmínky odchovu byly známy a byly na dobré úrovni. Celkem bylo vyšetřeno 86 zvířat, z toho v oblasti intrauterinního vývoje 47, v postnatální fázi 39. V postnatálním období bylo využito bratrů (ve čtyřech vrzích), u nichž byla provedena v časových odstupech kastrace, nebo byla získána varlata po vykvrvení jedinců.

Varlata byla odebírána při laparotomickém získávání plodů, nebo u selat po porodu těsně po jejich utracení, popřípadě po kastraci. Orgány byly okamžitě fixovány ve fixačním Bouinově roztoku, a to u menších orgánů po jejich longitudinálním průřezu, z větších pak byly odňaty menší části tkáně. Preparáty byly pořízeny klasickou parafinovou metodou a barveny přehlednou rutinní technikou haematoxylin-eosinem. Planimetricky byly posuzovány vždy dva řezy z jednoho varlete, tedy čtyři řezy z jednoho jedince.

K hodnocení materiálu jsme použili planimetrické detekční metody podle Chalkleyho, která dovoluje kvantitativní cytomorfoloickou analýzu. Metoda spočívá v úpravě okuláru opatřením zorného pole pěti detekčními ukazovátky. U hrotů těchto ukazovátek se odečítají typizované buněčné elementy a řadí se do kategorií. V této práci jsme na základě našich dřívějších zkušeností odečítali 80 zorných polí, tj. 400 buněčných elementů pro jednoho jedince. Získali jsme tedy pro jednu věkovou skupinu 800 buněčných elementů, což překračuje o 100 elementů statistickou analýzou prokázaný dostatečný počet (Rosen-Runge 1956, 1957).

Dále byl měřen průměr semenotvorných kanálků měřicím okulárem s mikrometrem a konečně počítán buněčný diferenciální počet z germinativního epitelu a provedena jeho typizace.

VÝSLEDKY

V první části této studie popíšeme histologický obraz parenchymu varlat kanečků v jednotlivých stádiích vývoje, tak jak je bylo možno stanovit.

Fétus stáří 75 dní: Semenotvorné kanálky, které vykazují průměr 49,0 μm , jsou uspořádány radiálně kolem *rete testis* a zachovávají přímý směr svého průběhu až do subkapsulární části parenchymu, kde se stáčí. Kanálky jsou aluminózní, vyplněné výstelkou tvořenou epitelem skládajícím se ze dvou buněčných typů. Menší, poněkud tmavěji zbarvená jádra jsou uspořádána větší měrou

u bazální membrány a jen ojediněle je nacházíme vcestovalé do středu kanálků. Jádra jsou tmavší v důsledku hustší skladby chromatinu. Jejich cytoplazmu nelze ohraničit; vytváří syncytiální výplň zárodečných lišt. U těchto tmavých buněk se lze sporadicky setkat s amitotickým buněčným dělením.

Druhý typ — velké světlé buňky — Abdel-Raoufem nazvané gonocyty, jsou elementy, jejichž jádra s volně rozloženým chromatinem dosahují dvou až trojnásobné velikosti jader tmavých buněk. Nacházíme je jak v řadě tmavších elementů u bazální membrány, tak — a to častěji — ve středu kanálků. Ojediněle lze pozorovat mitotické konfigurace jader velkých světlých elementů.

Mimo tento výše popsaný typ velkých světlých buněk, který můžeme pokládat za základní gametopoetickou řadu, setkáváme se s velkými buňkami, u nichž je výraznější eosinofilie cytoplazmy, výraznější tince a jejichž jádra jsou o něco menší s hustější strukturou chromatinu. Pouze u tohoto typu buněk jsme se v tomto stadiu setkali s obrazem jejich degenerace projevující se vakuolizací, rozpojením cytoplazmy a karyopyknózou. Frekvence tohoto nálezu je však poměrně malá.

Čtyř stáří 95, 103 a 113 dní: U těchto jedinců byla naměřena střední hodnota průměru kanálků $47,9\ \mu\text{m}$. Ve sledovaném období dochází ve skladbě parenchymu ke změnám, charakteristickým pro diferenciaci intersticia, takže z 18 % epiteloidních buněk intersticia ve stáří 75 dnů dosahuje podíl těchto elementů ve kvantitativním rozboru 113. dne 43 %. Semenotvorné tubuly nevykazují v tomto vývojovém stupni ani v utváření, ani v diferenciaci výstelky výraznější progres.

Tri dny po narození: V této fázi byl průměr kanálků $43,1\ \mu\text{m}$. Parenchym vykazuje zřetelně převahu intersticiální složky, která je tvořena diferencovanými Leydigovými buňkami, u nichž cytoplazma již nejeví lazurní homogenní strukturu, ale četnou vakuolizaci až pěnivost. Semenotvorné kanálky se stácejí, vytvářejí konvoluty a pakety, dosud nevýrazně naznačující budoucí strukturu pyramid. Ve výstelce kanálků dochází k výrazné mitotické aktivitě velkých světlých elementů, u nichž se současně setkáváme s výrazným procentem jedinců, kteří prodělávají degenerativní změny různého stupně a typu. Velké světlé buňky vykazují často vakuolizaci až halonizaci kolem jádra, které nemusí být výrazně změněno, často však vykazuje změny charakteru karyopyknózy, ale na druhé straně i karyolýzy. Toto stadium je také nejbohatší na přítomnost velkých eosinofilně zbarvených buněk, jejichž naprostá většina je ve stadiu karyopyknózy a cytoplasmatických změn, charakterizovaných většinou kondenzací cytoplazmy kolem jádra, takže dochází k obrazu buněčné separace. U tmavých buněk se stále setkáváme s amitotickým dělením. Výrazněji vystupují do popředí tzv. kyjovité útvary těchto elementů. Poprvé se v tomto vývojovém stadiu mohou v kanálcích nalézt mezi tmavými elementy buňky, jejichž charakter již dosahuje diferencovaného výrazu Sertoliho buňky, dosud však s hustou strukturou chromatinu.

12. až 17. den po narození dosahuje střední hodnota průměru kanálků $43,8\ \mu\text{m}$. V tomto období dosáhl planimetrický podíl intersticiální složky nad podílem semenotvorných kanálků svého maxima (tj. 80 %). Leydigovy elementy vykazují variabilitu v barvitelnosti a struktuře cytoplazmy a je možno konstatovat, že naprostá převaha buněčné skladby intersticia je tvořena epiteloidními elementy typu Leydigových buněk. Semenotvorné kanálky, ač zjevně dochází k jejich protažení, zachovávají svůj nediferencovaný vzhled a tvar z předchozího období (obr. 1).

22. den po narození: Kanálky vytvářejí výraznější útvary struktury pyramid a je zjevnější jejich stáčení. Střední průměr činí $46,0\ \mu\text{m}$. V tomto období

je na první pohled patrná četná výrazná vakuolizace a halonizace velkých světlých elementů, provázená degenerativními změnami jejich jader. Některé úseky kanálků vykazují v důsledku degenerativních změn velkých buněk až pěnovitou strukturu, místy ztrátu homogenity a náznak pseudoluminizace. V intersticiu je stále nápadná rozdílná tinnice Leydigových elementů, z nichž jde usuzovat na určitou úroveň funkčních změn.

25. den po narození: Průměr kanálků je 45,5 μm . Obraz oproti předchozímu stadiu je změněn v něco zvýšené aktivitě tmavých buněk výstelky kanálků, kterých přibývá, což je patrné na častém vystupování těchto buněk z řady, kompresivních změnách jejich jader, častém nálezu kyjovitých formací a nálezu mitotických a amitotických obrazů dělení. Velké světlé elementy nacházíme ve sníženém počtu v konfiguracích mitotických, vezikulárních klidových jader i v degeneraci. Počet eosinofilních buněk se snížil, ojedinělý je nález dvoujaderných buněk.

30, 40, 50 dní po narození: Střední hodnota průměrů kanálků činí 50,1 μm . V tomto vývojovém období dochází postupně ke zmnožení a výraznějšímu svínování tubulů, takže podíl intersticiální tkáně a semenotvorných tubulů postupně snižuje převahu intersticia z předchozích období. Lze pozorovat mitotickou aktivitu tmavých elementů i mitózu světlých buněk (obr. 2). V tomto vývojovém období vystupuje do popředí postupně v diferenciaci útvarů nový typ buňky menšího jádra než bylo jádro základního typu, ale s hustší stavbou chromatinu. Tyto elementy nacházíme jak při bazální membráně, tak v propagaci směrem do středu kanálků, a to poměrně často. Ve 40. a 50. dni provází nález těchto útvarů větší množství abortivních forem, jejichž světlé jádro je z největší míry v karyolytickém stavu. Velké světlé buňky jsou nápadně vakuolizací cytoplazmy a častými formami degenerace jádra, mnohdy obrazem prázdného karyoplazmatu s excentricky uloženým granulem chromatinové hmoty. Nález kyjovitých formací u tmavých buněk se stává vzácnější.

V období 60 až 80 dní stárí je střední hodnota průměrů kanálků 55,1 μm . V tomto stadiu vystupuje výrazně do popředí lýze jader velkých elementů s vakuolizací cytoplazmy, zatím co hustší jádra velkých buněk s menším množstvím plazmatu jsou vnořována k bazi kanálků. Stále ještě nacházíme karyopyknotické eosinofilně se barvící velké buňky. Tento stav se k 80. dni poněkud mění v tom smyslu, že tmavší elementy vystupují opět ve větším množství a nacházejí se častěji nad řadou dosud indiferentních tmavých buněk. Vakuolizace cytoplazmy a lýza jader velkých světlých elementů je stále patrná, i když jsou zřetelně zachovávány integritní buňky tohoto základního typu. Od 60. dne vystupuje zřetelně zvýšená vaskularizace intersticia, která v 80. dni dosahuje výrazné aktivní hyperemizace. Současně se v tomto období zvyrazňuje kresba a stavba *membrana propria* kanálků, která je přesněji ohraničená od intersticia a je tvořena tenkou vrstvou plochých fibrocytů.

Ve stárí 90 dní vykazoval průměr kanálků 67,7 μm . V tomto vývojovém stepu na sebe hlavně upozorňuje rozvoj spermatogenetické řady, představovaný nejen buňkami charakteru diferencovaných spermatogonií, ale mitotickými a místy meiotickými konfiguracemi jader spermatocytárních typů. Výrazná hyperemizace, tak typická pro prošlé poslední období, postupně ustupuje. Epiteloidní intersticiální elementy tvoří mezi jednotlivými kanálky pravidelnou trabekulární stavbu bohatě vaskularizovanou. Tyto buňky jeví výraznou tonizaci.

Stárí 100 dní. Průměr činí 68,8 μm , obraz rozvoje spermatogenetické vlny pokračuje. Kanálky vykazují při bázi poměrně uspořádanou řadu buněk, jejichž diferenciace postupuje směrem k charakteristice Sertoliho elementu, ač do-

sud nemá vezikulární formu jader a jejich protáhlost. Směrem ke středu kanálku je nález bohatý na spermatocytární elementy a v řadě kanálků je naznačena středová rozpojenost plazmatu s náznakem luminizace, která je v některých kanálcích zcela vytvořena. Intersticiium má zřetelnou tonizaci a tinkci epiteloidních elementů (obr. 3).

U jedinců ve stáří 115 dní byl naměřen průměr semenotvorných kanálků 112,6 μm . Období je charakterizováno ukončením rozvoje germinativní výstelky kanálků a je možné se setkat se spermatogenetickou vlnou, jejíž jednotlivé vývojové stupně typizují obraz jednotlivých kanálků (obr. 4).

Poslední skupina, tvořená jedinci ve stáří 130 dní, vykazovala obraz funkčního parenchymu varlete lišícího se od předchozího sledovaného období zvětšením průměrů kanálků, který dosáhl ve střední hodnotě 158,3 μm , a zvýšením počtu vyšších linií germinativního epitelu, prokazujícího zvyšující se spermatopoetickou aktivitu.

Uplatnění těchto morfodynamických kritérií, hodnotících vývoj samčí gonády, jsme potvrdili v komparativním experimentu, kde jsme v předchozí stati získané hodnoty srovnali s histologickým obrazem gonád experimentálních jedinců poskytnutých nám k tomuto srovnání dr. Lojdou, CSc., a dr. Dvořákem, CSc., z jejich výzkumného materiálu.

I. Sele — stáří šest dní (č. p. 2058) — hermafrodit

Chalkley metoda %	Leydigovy buňky	Ostatní intersticiium	<i>Membrana propria</i>	Tmavé buňky germinativní	Světlé buňky germinativní	Plazmatický kanálek	Prostor	Průměr kanálku v μm
Č. p. 2058	16,75	23,00	8,00	31,25	—	18,00	—	49,50
Prům. hodnoty pro 6 dnů	57,50	8,00	9,50	17,75	2,75	3,50	1,00	43,30

Z rozboru v tabulce I je patrné, že parenchym gonády srovnávaného jedince vykazuje výraznou insuficienci, a to jak ve složce inkreční, tak v diferenciaci a genetickém základě pro výstelku spermatogenetického epitelu. Intersticiální komponenta parenchymu varlete vykazuje jednak absolutní zmenšení v planimetrické porovnávací technice, jednak nedostatečnou diferenciaci vyjádřenou poměrem epiteloidních elementů a indiferentních buněk lymfoidního typu nebo typu fibroblastického. Výstelka germinativních lišt je tvořena indiferentními nediferencovanými tmavými buňkami. Zcela chybí velké světlé elementy a jakékoliv další buněčné varianty této linie. V důsledku složení výstelky germinativních lišt tohoto typu vystupuje do popředí přítomnost cytoplazmatických praporečů tmavých buněk, tvořících solidnost kanálků, ač místy je zřejmá jejich rozpojenost vznikající degenerativními pochody některých buněčných jedinců, zřejmých z pyknóz jejich jader.

II. Sele — stáří 90 dní (č. p. 2053) — případ testikulární feminizace

Chalkley metoda %	Leydigovy buňky	Ostatní intersticiium	<i>Membrana propria</i>	Tmavé buňky germinativní	Spermatogonie	Spermatocyty	Plazmatický kanálek	Prostor	Průměr kanálku v μm
Č. p. 2053	18,50	11,00	9,00	33,75	0,50	/	27,25	/	54,40
Prům. hodnoty pro 90 dnů	31,75	5,75	7,25	24,00	9,25	6,25	15,50	0,25	67,70

III. Skupina selat — stáří 100 dní — ovlivněná aplikací SBK. Aplikováno po 20 ml SBK s. c. deset, sedm, čtyři a jeden den před porážením

Chalkley metoda %	Leydigovy buňky	Ostatní intersticiium	<i>Membrana propria</i>	Tmavé buňky germinativní	Spermatogonie	Spermatocyty	Plazmatický kanálek	Prostor	Průměr kanálku v μm
SBK	37,50	5,25	6,50	23,25	5,75	11,75	9,75	0,25	67,00
Prům. hodnoty pro 100 dnů	27,00	7,75	6,75	21,00	12,25	8,25	16,50	0,50	68,80

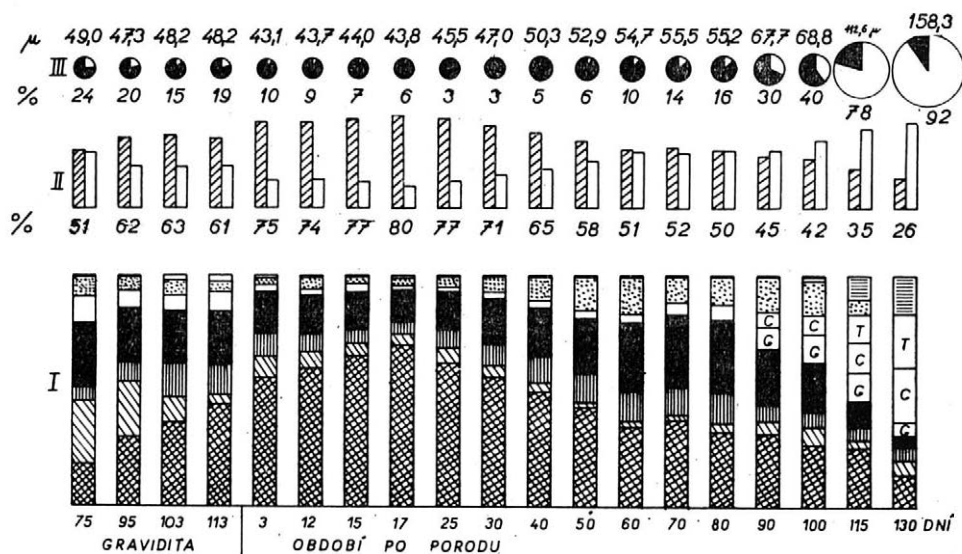
Obdobný případ můžeme konstatovat při posouzení dalšího jedince (tab. II). I zde je zřejmá insuficience jak intersticiální, tak tubulární složky. Proti předchozímu případu nacházíme v kanálkách, i když v malém procentu, zástupce linie velkých světlých buněk, které můžeme považovat za základ spermatogenetické řady. Ovšem jejich výskyt je nejen malý, ale svou diferenciací a stupněm vývoje nejsou adekvátní odpovídajícímu stáří.

Kvantitativní cytomorfologickou analýzou jsme si chtěli potvrdit vliv SBK na varle ve vývoji a současně úroveň uvedeného metodického postupu. Z tabulky III je zřejmá kladná odpověď na obě tyto otázky. Parenchym gonády skupiny selat po aplikaci SBK vykazoval v průměru vyšší responzi ve složce intersticiální, ač ani zvýšení aktivity spermatopoetického systému není možno zanedbat. Je zřejmé, že intersticiium po stimulaci reaguje funkční aktivací indifferenčních složek, jak je patrné ze srovnání; současně lze usuzovat na reverzibilitu v kvalitativně nižší formu dediferencovaných epiteloidních elementů. K obdobným výsledkům dospěl i Santamarina a kol. (1964) u nedospělých býčků.

Úvodem rozboru našich výsledků je nutno poukázat, že v literatuře zdaleka nepanuje jednotnost, co se týče původu spermatogenetické řady. Hargitt, jak uvádí Santamarina a Reece (1957), tvrdí, že všechna embryonální varlata savců, která byla dosud studována, obsahovala jak velké světlé buňky, tak malé buňky tmavé. Podle Areyho, kterého citují titíž autoři, dávají velké světlé elementy definitivní vznik spermatogoniím, kdežto menší tmavé buňky považuje za indiferentní. Podle názoru Frankenbergera (1952) jsou indiferentní buňky základem buněk Sertoliho. S tímto názorem se setkáváme i v řadě dalších prací, např. Mancini a kol. (1952, 1960). Santamarina a Reece však z dalšího studia literatury vyvozují, že velké buňky nemají nic společného s definitivním zárodečným epitelem. Tento názor pak dokazují i ve své práci. Jako hlavní motiv svého důkazu předkládají pozorování, kde po podání thyreoproteinu zmizely z kanálků velké buňky a buňky ležící u bazální membrány podlehly částečně degeneraci. Později mezi degenerovanými buňkami při bazální membráně vznikly dva druhy buněk, které se jasně rozlišovaly v typ Sertoliho a typ první generace spermatogonií. V celé práci se však nelze setkat s dokladem, který by vymezil buněčný typ autory sledovaný ve smyslu uceleného samostatného elementu. V našem pozorování se nám nepodařilo ve sledovaném období zachytit jiný buněčný typ, než linii velkých buněk, který by bylo možno považovat za samostatnou jednotku. Tak zvané tmavé buňky, které jsme označili stejným způsobem pro kontinuálnost těchto názorů, vystupovaly jako syncytiální útvar vytvářející do 100. dne stáří zvířat solidní zárodečné pruhy, které až později postupně luminizovaly, aby vytvořily semenotvorné kanálky. Jediný element, který prodělával dynamické změny a u něhož jsme se mohli setkat s víceméně pravidelnou mitotickou aktivitou, byly v literatuře všeobecně označované „velké světlé buňky“, gonocyty.

Linie velkých buněčných elementů prodělávala v námi sledovaném období řadu změn, které jsme popsali v jednotlivých vývojových stádiích. Stojí za pozornost si povšimnout nápadné morfologické shody námi popsaných změn s typizací jednotlivých vývojových fází základní spermatogonie, jak ji uvádí Mancini a kol. (1960). Za bazální buněčný typ považuje Mancini okrouhlou buňku s kulatým větším jádrem a s jemnou granulací chromatinu. Cytoplazma této buňky je poměrně rozsáhlejší a směrem k membráně prořídla. Vedle tohoto typu (stejně jako i my) se setkal u fétů s buněčným typem, který označuje spermatologie E; od předchozího se liší menším hustším jádrem a výraznou eosinofilní cytoplazmou. Také degenerativní pochody, které jsme mohli na této buněčné linii v našich materiálech pozorovat, jsou ve svém popisném obraze velmi podobné s typy popsanými Mancinim a kol. (1960). Degenerace s jadernou pyknózou eosinofilních velkých útvarů, se kterou jsme se setkali v nejvýznamnější frekvenci v období tří dnů po narození, je Mancinim označována jako typ P. Není bez zajímavosti, že i v jeho materiálu, ač se vývojová dynamika značně liší, setkáváme se s tímto typem po narození a ve stadiu laktace do 45 dnů. V období postupného vývoje semenotvorné výstelky jsme se setkali s větším buněčným útwarem, který měl jádro poněkud hustší než základní typ a který postupně involvoval někdy jadernou lýzí, někdy degenerací s jadernou pyknózou. Výraznou hypertrofii, kterou popisuje Mancini pro tento pomnožovací typ, jsme zaznamenali jen ojediněle. Buněčný rozpad a zánik řadí do involučního typu a označuje jej písmenem I. Jeden z posledních elementů, které Mancini popisuje, jsou dvoujaderné typy velkých

buněk, označované *Bi* (binucleated spermatogonia). I tento typ jsme mohli v našich materiálech zaznamenat, a to u velkých elementů bazofilně i eosinofilně se barvících (obr. 10).



11. Přehledné grafické vyjádření kvantitativních poměrů mezi jednotlivými sledovanými složkami parenchymu varlete

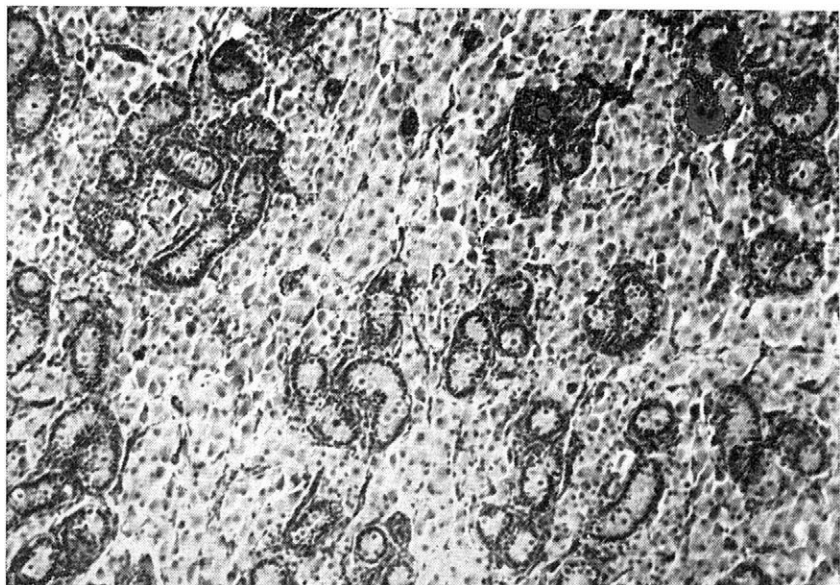
- I. Kvantitativní cytomorfologická analýza parenchymu varlete

křížkované	epiteloidní elementy
šikmo čárkované	ostatní intersticiální složky
svisle čárkované	membrána propria
tmavé	tmavé buňky indiferentní
světlé	velké světlé buňky — gonocyty
tečkované	plazmatický kanálek
vodorovně čárkované	lumen
G	spermatogonie
C	spermatocyty
T	spermatidy
- II. Srovnání poměru intersticia a tubulární složky parenchymu v průběhu sledovaného období

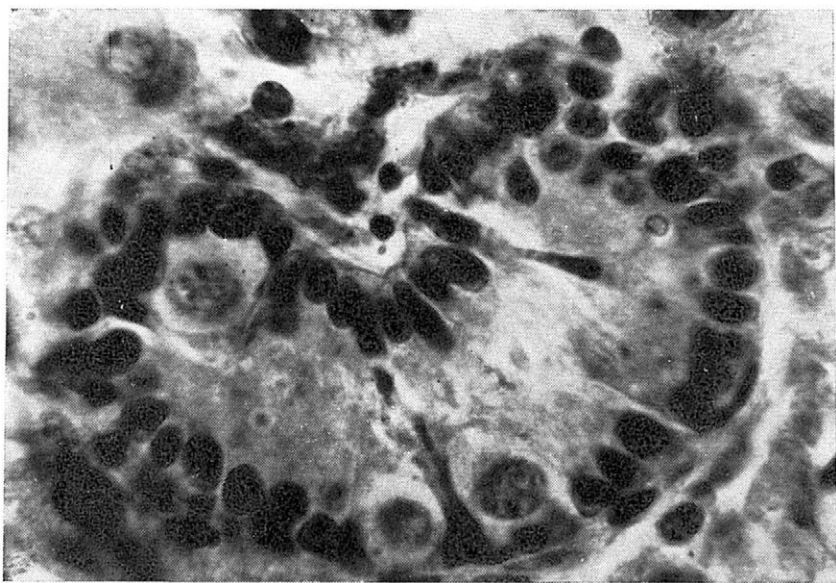
čárkované obdélníky	intersticiium
bílé obdélníky	tubulární složka
- III. Vyjádření nárůstů průměrů semenotvorných kanálků a vyznačení procentuálního zastoupení základních buněčných typů epitelu kanálků

černé	tmavé buňky indiferentní
bílé	velké světlé buňky — gonocyty

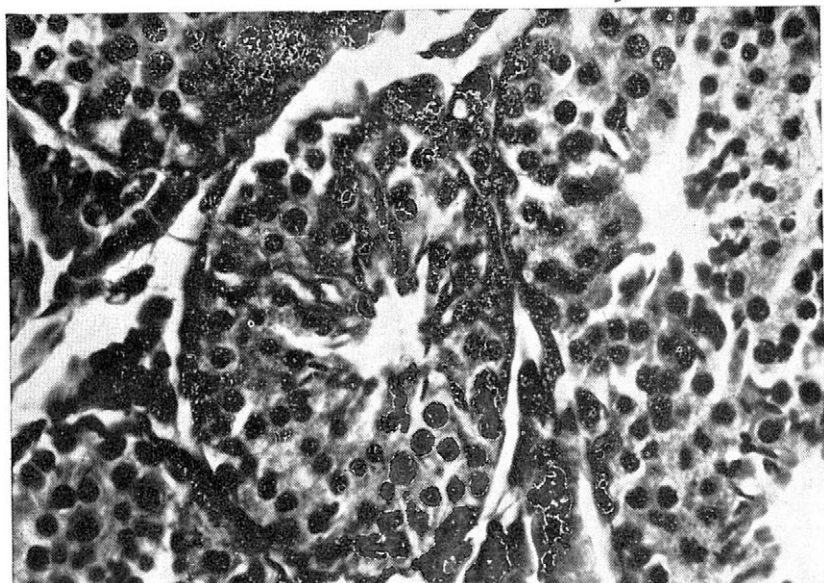
Zajímavou shodu jsme pozorovali také ve variacích průměrů průměru zárodečných listů. V našich sledováních (obr. 1) je zřejmé, že v poporodní fázi dochází ke zmenšení průměru těchto solidních zárodečných pruhů a teprve v 17 dnech po narození začne se průměr kanálků zvětšovat. Před obdobím puberty — asi 20 až 30 dnů, se udržuje průměr kanálku na stejné úrovni, aby v pubertě došlo k jeho prudkému zvětšení. Tyto nálezy se zdají kopírovat průběh



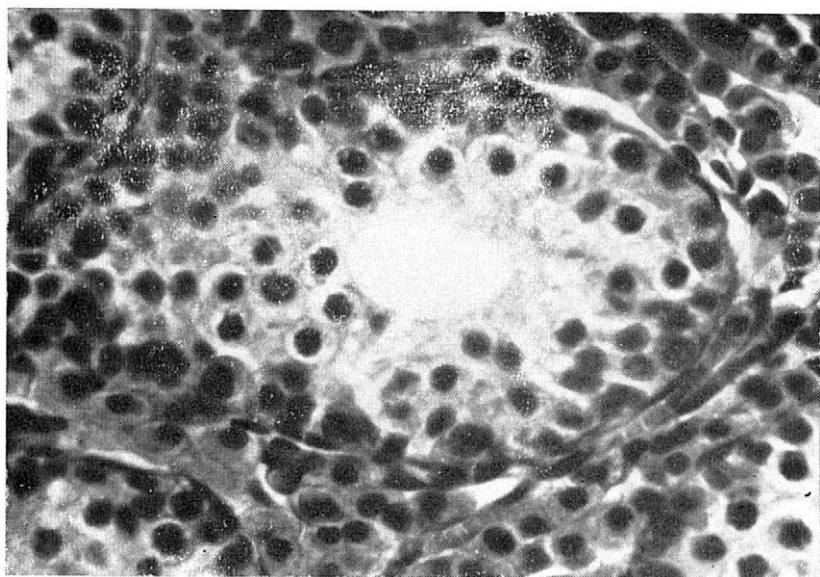
1. Parenchym varlete 17 dní po narození. Výrazné je zmnožení epitelioidních elementů intersticia



2. Zárodečná lišta s typickou epiteliální skladbou a obrazem amitotického dělení jader tmavých indiferentních elementů



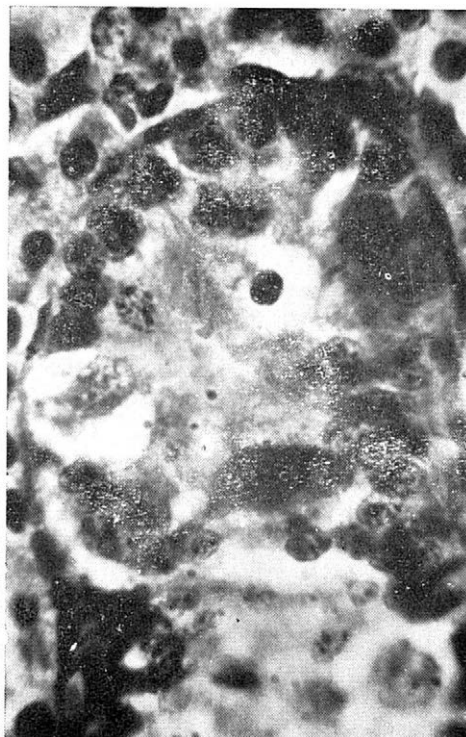
3. Luminizace lišt a tvorba semenotvorných kanálků se spermatogenní vlnou ve stadiu spermatocytů. Stáří 100 dní



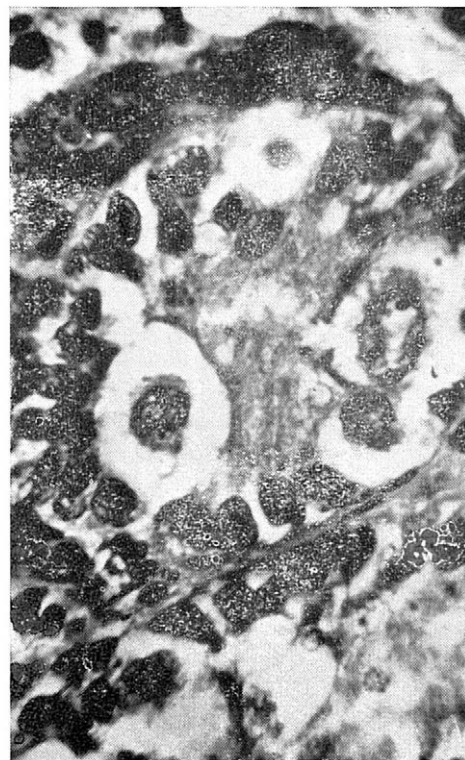
4. Parenchym varlete ve stáří 115 dní s ukončeným spermatogenetickým cyklem



5. Kromě indiferentních buněk výstelky jsou na snímku zřejmá dvě stadia velkých světlých buněk, stadium populační a stadium involuční



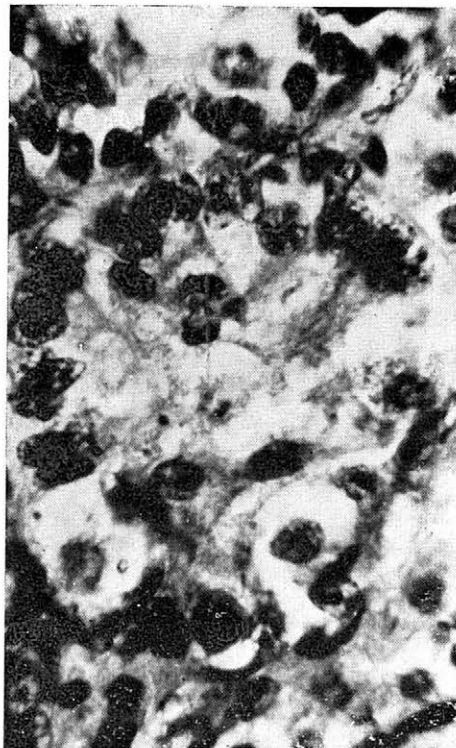
6. Obraz involuce velké světlé buňky s pyknózou jádra.



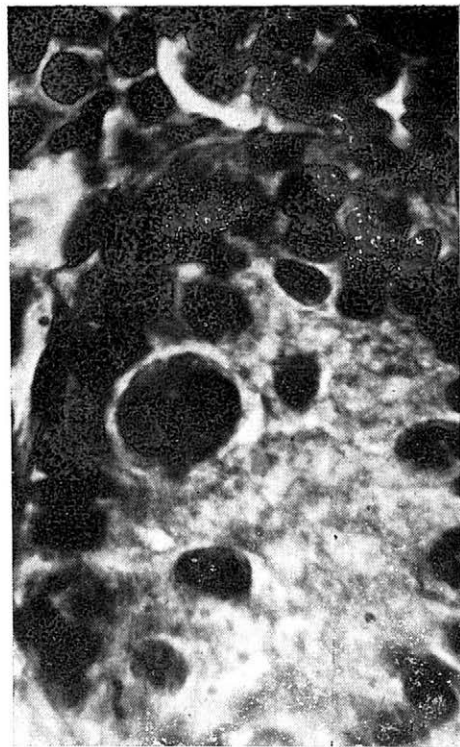
7. Lytické změny jádra u velkých světlých elementů



8. Populační fáze velkých světlých elementů s jadernou mitózou, vedle velký světlý eosinofilní element



9. Mitóza velké buňky a involuce velkých světlých elementů včetně eosinofilního



10. Dvoujaderný eosinofilní element

změn průměrů kanálků, které uvádí Mancini a kol. (1960). Do určité míry je podobná i relace v mikrometrických hodnotách.

Vrátíme-li se k významu velkých světlých buněk v parenchymu vyvíjejícího se varlete, není možno opomenout Lagerlöfovy (1961) studie, v nichž bioptickým vyšetřením diagnostikoval hypoplasii gonád při absenci těchto buněčných elementů. K těmto poznatkům dojde jistě každý při srovnání se selaty, u nichž nedošlo k normálnímu vývoji varlat a u nichž byl právě tento buněčný typ buď v absenci anebo ve velmi nízké frekvenci.

Ve sledovaném období jsme nemohli prokázat bifazitu rozvoje epitelioidních elementů v intersticiu. Poměr intersticiální a tubulární složky, jak je zřejmé z grafického vyjádření, setrvává ve prospěch intersticia až těsně do předpubertálního období. Zajímavé pozorování jsme mohli uskutečnit v období maximálního rozvoje intersticiální složky, tj. asi od 17. dne, kdy jsme se mohli přesvědčit o tvorbě malých epitelioidních elementů diferenciací z mezenchymálních složek v subkapsulární oblasti, odkud tyto drobné epitelioidní útvary postupovaly v pruzích kolem cévních systémů do interkanalikulárních prostorů, kde se zvětšovaly. Tento obraz v ustupující výraznosti byl přítomen i při relativním poklesu křivky prevalence intersticia až do 50. dne. Mohli jsme potvrdit názory i jiných autorů (Hooker 1944) o postupném úbytku intersticiálních epitelioidních elementů, který je nutno považovat jednak z části za skutečný formou dediferenciace v níže diferencované buňky mezenchymálního základu, jednak jen za relativní, vyvolaný morfodynamickými změnami růstu varlete.

Závěrem lze konstatovat, že ve stáří 75 dní intrauterinního vývoje je výstelka zárodečných listů tvořena dvěma buněčnými typy, z nichž tzv. „velké světlé buňky“, gonocyty, musíme považovat za základní typ spermatogenní řady, zatímco indiferentní tmavé elementy se diferencují v Sertoliho buňky.

Vývojová fáze v období prenatalním a postnatálním prokázala řadu obdobných obrazů s vývojem varlete člověka a při typizaci jednotlivých vývojových forem spermatogenetické řady lze užít obdobné symboliky.

Prepubertální fáze končí průměrně 80. dne a období do 100. dne můžeme označit jako první fázi puberty s iniciálními znaky rozvíjející se spermatogeneze. Druhá fáze puberty je ohraničena počátkem luminizace tubulů a ukončuje ji pohlavní dospělost se schopností ejakulace (115–130 dní stáří).

Kvantitativní cytologická analýza poskytla dostatečně přesné informace vhodné pro diferenciální diagnostiku jemných vývojových anomálií.

Případy vývojových anomálií, použitých jako srovnávací materiál, absenci popřípadě vývojovou insuficienci velkých světlých buněk dokresluje funkční význam a pozici těchto elementů ve spermatogenezi.

Literatura

- ABDEL-RAOUF M., 1960, The postnatal development of the reproductive organs in bulls with special reference to puberty. *Acta endocr.*, Copenhagen, 34:49.
DUTT R. H., BARNHART C. E., 1959, Effect of plane of nutrition upon reproductive performance of boars. *J. Anim. Sci.* 18:3-13.
FOSSLAND R. G., 1954, Histological development in the postnatal bovine testis. *J. Dai. Sci.* 37:669.
FOSSLAND R. G., SCHULTZE A. B., 1961, A histological study of the postnatal development in the bovine testis. *Research Bulletin* 199:3-16.
FRANKENBERGER Z., 1952, Embryologie. Zdravotnické nakladatelství Praha.
HOOKER C. W., 1944, The post-natal history and function of the interstitial cells of the testes of the bull. *Am. J. Anat.* 74:1-37.

- CHARNY CH. V., CONSTON A. S., MERANZE D. R., 1952, Testicular development histology. Ann. N. Y. Acad. Sci. 55 : 597-608.
- KNUDSEN O., BRYNE N., 1960, The spermiocytogenesis of the bull. Acta vet. scand. 1 : 140-160.
- LAGERLÖF N., 1951, Hereditary forms of sterility in swedish cattle breeds. Fert. Steril. 2 : 230.
- MANCINI R. E., NOLAZCO J., De La BALZE F. A., 1952, Histochemical study of normal adult human testes. Anat. Rec. 114 : 127-142.
- MANCINI R. E., NARBAITZ R., LAVIERI J. C., 1960, Origin and development of the germinative epithelium and Sertoli cells in the human testis; cytochemical and quantitative study. Anat. Rec. 136 : 477-483.
- ROOSEN - RUNGE E. C., 1956, Quantitative investigations on human testicular biopsies I. Fert. Steril. 7 : 3, 251.
- ROOSEN - RUNGE E. C., 1957, Quantitative investigations on human testicular biopsies II. Fert. Steril. 8 : 3, 203.
- SANTAMARINA E., REECE R. P., 1957, Normal development of germinal epithelium and seminiferous tubules in the bull. Am. J. Vet. Res. 18 : 261-278.
- SANTAMARINA E., REECE R. P., 1964, Response of the sexually immature bovine testis to pregnant mare serum. Am. J. Vet. Res. 25 : 1601-1616.
- SAPSFORD C. S., 1962, The development of the testis of the merino ram, with special reference to the origin of the adult stem cells. Austr. J. Agric. Res. 13 : 487-505.
- SAPSFORD C. S., 1962, Changes in the cells of the sex cords and seminiferous tubules during the development of the testis of the rat and mouse. Austr. J. of zool. 10 : 178-195.
- SNIFFEN R. C., 1952, Histology of the normal and abnormal testis at puberty. Ann. N. Y. Acad. Sci. 55 : 609-618.

Došlo dne 24. 6. 1970

BEŽNÍK Z., KUMMER V. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия). Количественный гистоморфологический анализ развивающегося семенника хрячков как основа для дифференцирования аномалий развития. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 641-651, 1970.

Путем цитодифференциального исследования паренхимы семенника хрячков в возрасте от 75 дней внутриутробного развития до 130-дневного возраста после рождения была сделана подробная клеточная характеристика эмбриональных рек и интерстиция, определены основные фазы развития, типизированные максимумом развития интерстициального компонента (спустя 17 дней после рождения), отчетливой гиперемией интерстиция (спустя 80 дней после рождения), предшествующей собственно развитию тубулярного компонента или же сперматогенетического эпителия. Первые фазы полового развития проходят между 80 и 115 днями возраста и характеризуются развивающимся сперматогенезом. Вторая фаза проходит между 115 и 130 днями возраста и отличается картиной луминизации семенных тубулов и завершением сперматогенного цикла. Примененный метод Чалкля позволил чувствительно дифференцировать клеточные отношения у основной группы изучаемых животных от особей, экспериментально обработанных SBK, у которых установлено стимулирующее влияние введенной дозы, а также различия у аномально развитых особей.

хряк; семенник; развитие; гистоморфология; клеточная дифференциация

VĚŽNÍK Z., KUMMER V. (Research Institute of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). Quantitative Histomorphological Analysis of the Developing Testis of Barrows as a Base for Differentiating Development Anomalies. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 641-651, 1970.

In a cytodifferentiating examination of the parenchyma of testis in barrows of 75 days of intrauterine development up to 130 days of age after birth a detailed cell characteristics of the germinal streaks and of the interstitium was determined, and

the basic stages of development typified by the maximum of development of the interstitial component (17 days after birth), by an expressive hyperemia of the interstitium (80 days after birth) preceding the proper development of the tubular component, i. e. of the spermatogenous epithelium, were determined. The first stage of puberty could be limited from 80 to 115 days of age and it is characterized by the developing spermatogenesis. The second stage of puberty is limited from 115 to 130 days after birth and it is typical for the picture of luminization of testicular tubules and the finishing of the spermatogenous cycle. The Chalkley's method used allowed to differentiate carefully the cell relations in the basic group of animals observed, compared to individuals influenced experimentally by SBK, in which a stimulating influence of the given dose was found, as well as the differences in individuals not normal in development.

boar; testis; development; histomorphology; cell differentiation

VĚŽNÍK Z., KUMMER V. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). *Quantitative histomorphologische Analyse des sich entwickelnden Hodens bei Jungebern als Unterlage der Differenzierung der Entwicklungsanomalien*. Vet. Med. (Praha) 15 (10) : 641-651, 1970.

Mittels Zytodifferentiationsuntersuchung des Hodenparenchyms bei Jungbern ab 75 Tagen der intrauterinen Entwicklung bis zum Alter von 130 Tagen nach der Geburt wurde eine Detailzellencharakteristik der embryonalen Leisten und des Interstitiums und Grundentwicklungsphasen typisiert durch das Maximum der Entwicklung der interstitiellen Komponente (17 Tage nach der Geburt) durch eine ausgeprägte Hyperämie des Interstitiums (80 Tage nach der Geburt), dem die eigene Entwicklung der tubulären Komponente resp. spermatogenetischen Epithels vorhergehend, bestimmt. Die erste Pubertätsphase konnte im Alter von 80 bis 115 Tagen begrenzt werden und wird durch die sich entwickelnde Spermatogenese charakterisiert. Die zweite Pubertätsphase wird vom Alter von 115—130 Tagen nach der Geburt begrenzt und ist durch das Luminisationsbild der Hodentubulen und Beendigung des spermatogenen Zyklus typisch. Die angewandte Methode nach Chalkley erlaubte die Zellenverhältnisse beim Grundgesamtheit der beobachteten Tiere im Vergleich zu den Einzeltieren, die experimentell durch SBK beeinflusst wurden und bei denen ein Stimulationseinfluß der verabreichten Gabe festgestellt wurde, gleich wie die Unterschiede bei den entwicklungsgemäß anormalen Einzeltieren, empfindlich zu differenzieren.

Eber; Hode; Entwicklung; Histomorphologie; Zellendifferenzierung

Adresa autorů:

MVDr. Z. Věžník, CSc., MVDr. V. Kummer, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno - Medláňky

Výběr z nových přírůstků
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI
na úseku veterinářství

Dam A. D 30.900/459
Studies on the gammaglobulin levels in sera of calves from herds with colisepticaemia as a problem, and some investigations on the content of specific antibodies in colostrum. København, Statens veter. serum-labor. 1963. Meddelelser 459. S. 449-457. tab. (Kolibacilosa telat — *Escherichia coli* — krevní serum — gammaglobulin — vztahy — výzkum — metody — elektroforesa papírová / Protílátky proti kolibacilóze — mlezivo — dojnice — vakcinace — *Escherichia coli* — výzkum — Dánsko)

Radomiński W. D 39.621/1969/3
Kolibakterioza cielat. Produkcja zwierzęca i weterynaria Nr 3/1969. Warszawa, Centr. bibl. roln. 1969. 6 s. (Kolibacilóza telat — *Escherichia coli* — letáky)

C 11.115/14
Respiratornyje virusy i kletka. Trudy Inst. mikrobiologii i virusologii 14. Alma-Ata, Nauka 1969. 127 s. obr. (Viry, živočišné — sborníky — SSSR — Kaz. SSR)

Farbos D. M. D 38.168/1968/52
Contribution à l'étude d'un nouvel antibiotique: La Tylosine. Dans le traitement de certaines viroses canines. Thèse devant la Fa. mixte de médecine et de pharmacie de Toulouse, École nation. vétér. 1968. 52 Toulouse, École nationale vétér. 1968. 64 s. tab. (Virové nemoci — pes — léčení — antibiotika — Tylosin — výzkum — Francie)

Wirkung von Iosan gegen das Virus der Maul — und Klauenseuche. Basel, CIBA 1968. 4 s. (Slintavka a kulhavka — ochrana — desinfekční přípravky — Iosan — výzkum — Švýcarsko)

Pradalle H. P. D 38.168/1968/1964
Diagnostic de la piroplasmose canine par la fluorescence. Thèse devant la Fac. mixte de médecine et de pharmacie de Toulouse. École nationale vétér. 1968. 64. Toulouse, École nationale vétér. 1968. 54 s. (Piroplazmóza — pes — diagnóza — metody — výzkum — Francie)

Markov A. A., Grobov O. F., Timofejev B. A., E 32 262/440
Beznoitioz životnych. Obzor literatury 440. Moskva, VINTISCH 1969. 61 s. 9 obr. (Besnoitiosis — hospodářská zvířata — studijní zprávy — SSSR)

Hammond D. K., Worley D. E. C 2.511/480
Regional research in nematode parasites of ruminants in the Western United States — A 10-year summary, 1958-1968. Bulletin 480. Logan, Utah Agric. exp. station 1969. 25 s. (Hádátka — cizopasnici — hospodářská zvířata — přezvýkavci — ochrana — metody — výzkum — USA — západ)

Kessler W. E 32.497/243
Die Wirkung neuerer Anthelmintika auf 3. parasitische Larven von Ancylostoma caninum ERCOLANI 1859 (Ancylostomidae) in der Maus. Inaug.-Diss. d. Tierärztl. Hochschule Hannover. Hannover, Inst. f. Parasitologie 1969. 35 s. 2 obr. 6 tab. (Měchovec psi — cizopasník — pes — anthelmintika — vliv — výzkum — myši)

Kleinschmidt H. E 32.497/245
Die Wirksamkeit mehrerer Anthelmintika auf den Spulwurmbefall des Huhnes. Inaug.-Diss. d. Tierärztl. Hochschule Hannover. Hannover, Inst. für Parasitologie 1969. 43 s. 13 tab. (Škrkavka slepičí — cizopasník — kuřata — anthelmintika — vliv — výzkum — NSR)

Věžník Z.: Využití morfologických ukazatelů ke kvalitativnímu hodnocení ejakulátů	571
Blažek K., Kazda V.: Léčebný účinek metrifonátu (DTHP) čs. výroby a přípravku MS 1 na demodikózu psů	579
Pavlíček J.: Reakce psů na různé aplikační způsoby metrifonátu (trichlorfonu)	589
Konrád J., Blažek K., Pavlíček J.: Zhodnocení některých biochemických nálezů v průběhu aplikace metrifonátu (DTHP) čs. výroby u psů	599
Krupička V., Šmíd B., Valíček L., Pleva V.: Izolace a průkaz viru herpesvirové infekce holubů na chorioalantoidních blanách kuřecích embryí	609
Bartoš J.: Bakteriostatická účinnost některých látek, které by mohly omezovat rezistenci k antibiotikům a chemoterapeutikům	613
Lebeda M., Kučera A., Bouda J.: Vztah nárazníkové kapacity krve a mléka krav v laktacním období	621
Linhart J., Podaný J.: Studium antigenů na fetálních erythrocytech prasat	633
Věžník Z., Kummer V.: Kvantitativní histomorfologická analýza vyvíjejícího se varlete kanečků jako podklad diferenciace vývojových anomálií	641

СОДЕРЖАНИЕ

Вежник З.: Использование морфологических показателей для качественной оценки эякулятов	577
Блажек К., Казда В.: Лечебный эффект (ДТНР) чехословацкого производства и препарата MS 1 на демодекоз собак	586
Павличек Й.: Реакция собак на разные способы применения метрифоната (трихлорфона)	596
Конрад Й., Блажек К., Павличек Й.: Оценка некоторых биохимических результатов исследования применения метрифоната (ДТГП) чехословацкого производства у собак	606
Крупичка В., Шмид Б., Валичек Л., Плева В.: Изолирование и доказательство вируса инфекции герпесвируса у голубей на хориоаллантоисных пленках куриных эмбрионов	612
Бартош Я.: Бактериостатическая эффективность некоторых веществ, могущих ограничивать стойкость в отношении антибиотиков и химиотерапевтических средств	619
Лебеда М., Кучера А., Боуда Й.: Отношение между буферной емкостью крови и молоком коров в лактационный период	629
Лингарт Й., Поданы Й.: Изучение антигенов на фетальных эритроцитах свиней	638
Вежник З., Куммер В.: Количественный гистоморфологический анализ развивающегося семенника хрячков как основа для дифференцирования аномалий развития	650

CONTENT

Věžník Z.: Utilization of Morphological Indices for a Qualitative Evaluation of Ejaculates	577
Blažek K., Kazda V.: Curative Effect of Metriphosphate (DTHP) of Czechoslovak Production and of the Preparation MS 1 on Demodicosis of Dogs	586
Pavlíček J.: Reaction of Dogs to Different Ways of Applying Metriphosphate (Trichlorphone)	596
Konrád J., Blažek K., Pavlíček J.: Evaluation of Some Biochemical Findings During Application of Metriphosphate (DTHP) of Czechoslovak Production to Dogs	607
Krupička V., Šmíd B., Valíček L., Pleva V.: Herpes Virus Infection of Pigeons: Isolation and Proof of the Virus on Chorioallantoid Membranes of Chicken Embryos	612
Bartoš J.: The Bacteriostatic Effectiveness of Certain Substances that Might Limit the Resistance to Antibiotics and Chemotherapeutics	619
Lebeda M., Kučera A., Bouda J.: Relation between the Buffer Indices of Blood and Milk in Cows during the Lactation Period	630
Linhart J., Podaný J.: Investigation of Antigens on Fetal Erythrocytes in Pigs	638

INHALT

Věžník Z.: Ausnützung der morphologischen Kennziffern zur qualitativen Bewertung der Ejakulate	578
Blažek K., Kazda V.: Heilwirkung des Metriphonats der tschechoslowakischen Erzeugung und des Präparats MS 1 auf Hundedemodikose	587
Pavlíček J.: Reaktion der Hunde auf verschiedene Applikationsmethoden von Metriphonat (Trichlorphon)	597
Konrád J., Blažek K., Pavlíček J.: Bewertung einiger biochemischen Befunde im Laufe der Applikation von Metriphonat (DTHP) von tschechoslovakischer Erzeugung bei Hunden	607
Krupička V., Šmíd B., Valíček L., Pleva V.: Isolation und Virusnachweis der Herpesvirusinfektion bei Tauben an den chorioallantoiden Membranen der Kückenembryen	612
Bartoš J.: Bakteriostatische Wirkung einiger Stoffe, die die Resistenz zu Antibiotika und Chemotherapeutika beschränken könnten	619
Lebeda M., Kučera A., Bouda J.: Beziehung der Pufferkapazität von Blut und Milch bei Kühen in der Laktationsperiode	630
Linhart J., Podaný J.: Studium der Antigene an den fötalen Erythrozyten bei Schweinen	639
Věžník Z., Kummer V.: Quantitative histomorphologische Analyse des sich entwickelnden Hodens bei Jungebern als Unterlage der Differenzierung der Entwicklungsanomalien	651

TABLE DES MATIÈRES

Věžník Z.: Utilisation des indices morphologiques à l'évaluation qualitative des éjaculats (res. An/577, Al/578).	
Blažek K., Kazda V.: Effet curatif du métriphonate (DTHP) de production tchécoslovaque et de la préparation MS 1 sur la démodicose des chiens (587).	
Pavlíček J.: Réponse des chiens aux modes différents d'application du métriphonate (trichlorphone) (597).	
Konrád J., Blažek K., Pavlíček J.: Evaluation de certaines constatations biochimiques au cours de l'application du métriphonate (DTHP) de production tchécoslovaque aux chiens (607).	
Krupička V., Šmíd B., Valíček L., Pleva V.: Pigeons atteints de herpès à virus: Isolation et preuve du virus sur les membranes chorio-allantoïdes des embryons de poulets (res. An, Al/612).	
Bartoš J.: Efficacité bactériostatique de certaines substances qui pourraient restreindre la résistance aux antibiotiques et aux chimiothérapeutiques (res. An, Al/619).	
Lebeda M., Kučera A., Bouda J.: Rapport-entre la capacité tampon du sang et du lait des vaches dans la période de lactation (res. An, Al/630).	
Linhart J., Podaný J.: Etude des antigènes sur les érythrocytes foetaux des porcs (res. An/638, Al/639).	
Věžník Z., Kummer V.: Analyse quantitative histomorphologique d'un testicule de verrats en voie de développement en tant que base de différenciation des anomalies d'évolution (res. An/650, Al/651).	