ACTA VETERINARIA

ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

T. KÁDÁR, J. KOVÁCS, R. MANNINGER,
J. MÉSZÁROS, S. MÉSZÁROS, J. MOCSY. J. SÁLYI

REDIGIT

A. KOTLÁN

TOMUS XIV FASCICULUS 1

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST
1964

ACTA VETERINARIA

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTŐSÉG: BUDAPEST VII., LANDLER J. U. 2. KIADÓHIVATAL: BUDAPEST V., ALKOTMÁNY U. 21.

Techn. szerk.: KOBULEJ TIBOR

Az *Acta Veterinaria* német, angol, francia és orosz nyelven közöl állatorvostudományi értekezéseket.

Az *Acta Veterinaria* változó terjedelmű füzetekben jelenik meg, több füzet alkot egy kötetet.

A közlésre szánt kéziratok a következő címre küldendők:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztőségi és kiadóhivatali levelezés.

Az *Acta Veterinaria* előfizetési ára kötetenként belföldre 80 Ft, külföldre 110 Ft. Megrendelhető a belföld számára az „*Akadémiai Kiadó*"-nál (Budapest V., Alkotmány utca 21. Bankszámla 05-915-111-46), a külföld számára pedig a „*Kultúra*" Könyv- és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest I., Fő utca 32. Bankszámla 43-790-057-181 sz.) vagy annak külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

Die *Acta Veterinaria* veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereiche der Veterinärwissenschaften in deutscher, englischer, französischer und russischer Sprache.

Die Acta Veterinaria erscheinen in Heften wechselnden Umfanges. Mehrere Hefte bilden einen Band.

Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind an folgende Adresse zu senden:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

An die gleiche Anschrift ist auch jede für die Redaktion und den Verlag bestimmte Korrespondenz zu senden.

Abonnementspreis pro Band: 110 forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Außenhandels-Unternehmen »*Kultúra*« (Budapest I., Fő utca 32. Bankkonto Nr. 43-790-057-181) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.

INDEX AUTORUM

BALLA, L. and SIMONYI, E.: Comparison of the Virulence of Fowl-Pox Virus Strains by the Intravenous, Cutaneous and Contact Routes of Infection 1

BAMBERGER, K.: Survey on the Experimental and Literary Basis of the Control of Avian Leucotic Complex in Hungary 253

BARTHA, A. and ÁLDÁSY, P.: Isolation of Adenovirus Strains from Calves with Virus Diarrhoea 239

ДАШ, М.: К вопросу изучения морфологической изменчивости Piroplasma caballi (Nutall et Strickland, 1910) в трупе 145

FEHÉR, GY. und FRAU HARASZTI, J.: Beiträge zur Morphologie und zu den altersbedingten Veränderungen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen 347

FEHÉR, GY. und GYŰRŰ, F.: Kalb mit doppeltem Gesicht (Diprosopus, Tetraophthalmus Diotus, Trignatus, Tetracornus) 419

GÁSPÁR, S. N.: Demonstration of a Detoxication End Product in the Genital Secretion of Cows 139

HARASZTI, J.: Beiträge zur Ätiologie des blutigen Östrus von Jungkühen 197

HORVÁTH, Z. und PAPP, L.: Liegt bei anämischen Ferkeln Dysproteinämie vor? 287

HORVÁTH, Z. and KARSAI, F.: Demonstration of Renal Dysfunction in Cattle by Phenol-Red Clearance 161

HORVÁTH, Z., KARSAI, F. and PAPP, L.: Studies on the Iron Concentration and Iron-Binding Capacity of the Pigs' Blood Plasma 179

KASSAI, T.: The Occurrence of *Protostrongylus brevispiculum* Mikačić, 1940 in Hungary 83

KOJNOK, J.:Versuche zur aktiven Immunisierung von Rindern, Hunden und Nerzen gegen die Aujeszkysche Krankheit 281

KOVÁCS, GY., GLÓSZ, L. und GERTNER, M.: Die Röntgenanatomie der Hirnschädelknochen des Pferdes. I. 309

KOVÁCS, A. B., HÁMORI, D. und SOMOGYVÁRI, K.: Vorkommen, Pathologie, Klinik und Therapie der Zwischenklauengewebsvermehrung bei Rindern 369

KUCSERA, GY.: *Erysipelothrix rhusiopathiae*-Stämme eines Serotyps und ihre Bedeutung in der Serodiagnostik der Rotlaufbakterien 203

KUCSERA, GY.: Die Wirksamkeitsprüfung der Rauschbrand-Vakzine 205

LAMI, GY.: Die Untersuchung der Leberfunktion bei den mit Dextran behandelten Pferden 113

ЛАМИ, ДЬ.: Об уровне современных заменителей плазмы в крови. I. Формирование уровня декстрана в плазме 227

ЛАМИ, ДЬ.: Кумуляция поливинилпирролидона в печени и селезенке 105

LAMI, GY.: The Effect of Parenterally Administered Histamine and Collargol on the Accumulation of Dextran and Polyvinylpyrrolidon in the Liver and in the Spleen 117

ЛАМИ, ДЬ.: Данные к выделению декстрана с мочей 151

ЛАМИ, ДЬ.: Об уровне современных заменителей плазмы в крови. II. Формирование уровня поливинилпирролидона в крови 299

MARKOVITS, P. and TÓTH, B.: The Propagation of Newcastle Disease Virus (NDV) in Tissue Cultures. III. Cultivation of Certain NDV Vaccine Strains in Cultures of Mammal Origin 63

MÁRKUS, J., KOVÁCS, GY. and FÉSÜS, L.: The Frequency of Genes Controlling β-Globulin Types of Blood Sera in Hungarian Spotted Cattle 437

MISRA, M. S. and KEMÉNY, A.: Studies on the Oviduct and Serum of Fowls. I. Oxygen Uptake, Alkaline Phosphatase Activity, Concentration of Phosphorus, Calcium and Magnesium in Adult Hungarian Yellow Hens 389

MISRA, M. S. and KEMÉNY, A.: Studies on the Oviduct and Serum of Fowls. II. Oxygen Uptake by the Regions of the Oviduct and Effect of Calcium Ion on it, the Concentration of Inorganic Phosphorus, Calcium and Magnesium and the Level of Alkaline Phosphatase Activity in Serum of Hungarian Yellow Pullets 443

MOLNÁR, K.: Zwei neue monogenetische Egelarten 247

MOLNÁR, K.: Über die Parasitenfauna der Fische in Ungarn. II. Bekannte und neue *Dactylogyrus*-Arten an einheimischen Fischen 455

OLÁH, P. and PALATKA, Z.: Haemolytic Properties of Organ Extracts from Chickens Infected with Newcastle Disease Virus 383

PALYUSIK, M.: Preparation of Experimental Vaccine against the Chronic Paratyphoid of Pigs. I. Comparative Studies of Different *Salmonella typhi-suis* Vaccines in Mice and Rabbits 71

PALYUSIK, M.: Preparation of Experimental Vaccine against the Chronic Paratyphoid of Pigs. II. Laboratory Tests in Pigs on a Formolized Aluminium Hydroxide-Adsorbed Vaccine Prepared from *Salmonella typhi-suis* 77

PALYUSIK, M.: Preparation of Experimental Vaccine against Chronic Paratyphoid of Pigs. III. Field Trials with Formolized Aluminium-Hydroxide-Adsorbed *Salmonella typhi-suis* Vaccine 211

ROMVÁRY, J.: Respiratory Disease Caused in Suckling Calves by a PLV Virus 469

SIMONYI, E., BOGNÁR, K., KUCSERA, G. and REGŐS, J.: Comparative Studies on the Potency of Different Crystal-Violet Swine-Fever Vaccine Batches 51

STÜTZEL, M., N. GÁSPÁR, SUSAN, KEMÉNY, A. and BOLDIZSÁR, H.: Studies on the Thyroid Gland with Radio-Iodine, V. The Influence of Feeding with Antibiotics on the Tissue Metabolism of Chickens 171

SZABÓ, I. and SZÉKY, A.: The Incidence of Regional Ileitis in Pigs and in a Rabbit 219

SZÉKY, L., CSONTOS, L. und FLÓRIÁN, E.: Ein Fall von generalisierter Cryptococcosis beim Hund 127

СПАССКАЯ, Л. П.: Цестоды птиц Тувы. VII. Hymenolepididae 19

СПАССКАЯ, Л. П.: К фауне птиц Тувы 35

TAKÁCS, J.: Hygiene and Microbiological Qualification of Sausages 15

TÓTH, B., GÉCZY, G. LAKITS, G. and BARSY, G.: Characteristic Feathering Disorder Observed in Chickens Fed with Vitamin D_3 Deficient Diet 57

TÓTH, B. and MARKOVITS, P.: Studies on the Immunogenicity of Newcastle Disease Vaccine Strains in Growing Chickens 339

URBÁNYI, L.: Zur Frage der Karotinversorgung von Rindern 267

URBÁNYI, L.: Weitere Untersuchungen über die Rachitis der jungen Mastbullen 273

VARGA, I.: Immunization Experiments with Irradiated Larvae. I. Studies on the Effect of X-rays on Eggs and Larvae of *Ascaridia galli* 95

VARGA, I.: ImmunizationExperiments with Irradiated Larvae. II. The Resistance-inducing Effect of Treatment with Irradiated Larvae of *Ascaridia galli* in Chickens 399

VARGA, I.: Immunization Experiments with Irradiated Larvae. III. The Effect of X-rays upon Eggs and Larvae of *Syngamus trachea* 411

ACTA VETERINARIA

ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

T. KÁDÁR, J. KOVÁCS, R. MANNINGER,
J. MÉSZÁROS, S. MÉSZÁROS, J. MÓCSY, J. SÁLYI

REDIGIT

A. KOTLÁN

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST
1964

INDEX

BALLA, L. and SIMONY, E.: Comparison of the Virulence of Fowl-Pox Virus Strains by the Intravenous, Cutaneous and Contact Routes of Infection 1

TAKÁCS, J.: Hygienic and Microbiological Qualification of Sausages..... 15

Спасская, Л. П.: Цестоды птиц Тувы. VII. Hymenolepididae 19

Спасская, Л. П.: К фауне птиц Тувы 35

SIMONYI, E., BOGNÁR, K., KUCSERA, G. and REGŐS, J.: Comparative Studies on the Potency of Different Crystal-Violet Swine-Fever Vaccine Batches 51

TÓTH, B., GÉCZY, G., LAKITS, G. and BARSY, G.: Characteristic Feathering Disorder Observed in Chickens Fed with Vitamin D_3 Deficient Diet..... 57

MARKOVITS, P. and TÓTH, B.: The Propagation of Newcastle Disease Virus (NDV) in Tissue Cultures. III. Cultivation of Certain NDV Vaccine Strains in Cultures of Mammal Origin..... 63

PALYUSIK, M.: Preparation of Experimental Vaccine Against the Chronic Paratyphoid of Pigs. I. Comparative Studies of Different *Salmonella typhi-suis* Vaccines in Mice and Rabbits 71

PALYUSIK, M.: Preparation of Experimental Vaccine Against the Chronic Paratyphoid of Pigs. II. Laboratory Tests in Pigs on a Formolized Aluminium Hydroxide-Adsorbed Vaccine Prepared from *Salmonella typhi-suis* 77

KASSAI, T.: The Occurrence of *Protostrongylus brevispiculum* Mikačić, 1940 in Hungary 83

VARGA, I.: Immunization Experiments with Irradiated Larvae. I. Studies on the Effect of X-rays on Eggs and Larvae of *Ascaridia galli* 95

Лами, Дь.: Кумуляция поливинилпирролидона в печени и селезенке 105

LAMI, GY.: Die Untersuchung der Leberfunktion bei den mit Dextran behandelten Pferden 113

LAMI, GY.: The Effect of Parenterally Administered Histamine and Collargol on the Accumulation of Dextran and Polyvinylpyrrolidon in the Liver and in the Spleen 117

SZÉKY, L., CSONTOS, L. und FLÓRIÁN, E.: Ein Fall von generalisierter Cryptococcosis beim Hund..... 127

N. GÁSPÁR, SUSAN: Demonstration of a Detoxication End Product in the Genital Secretion of Cows 139

Даш, М.: К вопросу изучения морфологической изменчивости Piroplasma caballi (Nutallet Strickland, 1910) в труде 145

Лами, Дь.: Данные к выделению декстрана с мочей 151

HORVÁTH, Z. and KARSAI, F.: Demonstration of Renal Dysfunction in Cattle by Phenol-Red Clearance 161

STÜTZEL, M., N. GÁSPÁR, SUSAN, KEMÉNY, A. and BOLDIZSÁR, H.: Studies on the Thyroid Gland with Radio-Iodine. V. The Influence of Feeding with Antibiotics on the Tissue Metabolism of Chickens 171

HORVÁTH, Z., KARSAI, F. and PAPP, L.: Studies on the Iron Concentration and Iron-Binding Capacity of the Pigs' Blood Plasma 179

HARASZTI, J.: Beiträge zur Ätiologie des blutigen Östrus von Jungkühen 197

KUCSERA, GY.: Die Wirksamkeitsprüfung der Rauschbrand-Vakzine 205

PALYUSIK, M.: Preparation of Experimental Vaccine against Chronic Paratyphoid of Pigs. III. Field Trials with Formolized Aluminium-Hydroxide-Adsorbed Salmonella typhi-suis Vaccine 211

SZABÓ, I. and SZÉKY, A.: The Incidence of Regional Ileitis in Pigs and in a Rabbit ... 219

Лами, Дь.: Об уровне современных заменителей плазмы в крови. I. Формирование уровня декстрана в плазме 227

BARTHA, A. and ÁLDÁSY, P.: Isolation of Adenovirus Strains from Calves with Virus Diarrhoea 239

MOLNÁR, K.: Zwei neue monogenetische Egelarten 247

BAMBERGER, K.: Survey on the Experimental and Literary Basis of the Control of Avian Leucotic Complex in Hungary 253

URBÁNYI, L.: Zur Frage der Karotinversorgung von Rindern 267

URBÁNYI, L.: Weitere Untersuchungen über die Rachitis der jungen Mastbullen..... 273

KOJNOK, J.: Versuche zur aktiven Immunisierung von Rindern, Hunden und Nerzen gegen die Aujeszkysche Krankheit 281

HORVÁTH, Z. und PAPP, L.: Liegt bei anämischen Ferkeln Dysproteinämie vor?..... 287

KUCSERA, GY.: *Erysipelothrix rhusiopathiae*-Stämme eines neuen Serotyps und ihre Bedeutung in der Serodiagnostik der Rotlaufbakterien 293

Лами, Дь.: Об уровне современных плазмозаменителей в крови. II. Формирование уровня поливинилпирролидома в крови 299

KOVÁCS, GY., GLÓSZ, L. und GERTNER, M.: Die Röntgenanatomie der Hirnschädelknochen des Pferdes. I. 309

TÓTH, B. and MARKOVITS, P.: Studies on the Immunogenicity of Newcastle Disease Vaccine Strains in Growing Chickens 339

FEHÉR, GY. und Frau HARASZTI, A.: Beiträge zur Morphologie und zu den altersbedingten Veränderungen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen von Stieren 347

B.-KOVÁCS, A., HÁMORI, D. und SOMOGYVÁRI, K.: Vorkommen, Pathologie, Klinik und Therapie der Zwischenklauengewebsvermehrung bei Rindern..... 369

OLÁH, P. and PALATKA, Z.: Haemolytic Properties of Organ Extracts from Chickens Infected with Newcastle Disease Virus 383

MISRA, M. S. and KEMÉNY, A.: Studies on the Oviduct and Serum of Fowls. — I. Oxygen Uptake, Alkaline Phosphatase Activity, Concentration of Phosphorus, Calcium and Magnesium in Adult Hungarian Yellow Hens 389

VARGA, I.: Immunization Experiments with Irradiated Larvae. — II. The Resistance-inducing Effect of Treatment with Irradiated Larvae of *Ascaridia galli* in Chickens 399

VARGA, I.: Immunization Experiments with Irradiated Larvae. — III. The Effect of X-rays upon Eggs and Larvae of *Syngamus trachea*..... 411

FEHÉR, GY. und GYŰRŰ, F.: Kalb mit doppeltem Gesicht (Diprosopus, Tetraophthalmus, Diotus, Trignatus, Tetracornus) 419

MÁRKUS, J., KOVÁCS, GY. and FÉSŰS, L.: The Frequency of Genes Controlling Serum β-Globulin Types in Hungarian Spotted Cattle 437

MISRA, M. S. and KEMÉNY, A.: Studies on the Oviduct and Serum of Fowls. — II. Oxygen Uptake by the Regions of the Oviduct and Effect of Calcium Ion on it, the Concentration of Inorganic Phosphorus, Calcium and Magnesium and the Level of Alkaline Phosphatase Activity in Serum of Hungarian Yellow Pullets 443

MOLNÁR, K.: Über die Parasitenfauna der Fische in Ungarn. — II. Bekannte und neue *Dactylogyrus*-Arten an einheimischen Fischen 455

ROMVÁRY, J.: Respiratory Disease Caused in Suckling Calves by a PLV Virus 469

COMPARISON OF THE VIRULENCE OF FOWL-POX VIRUS STRAINS BY THE INTRAVENOUS, CUTANEOUS AND CONTACT ROUTES OF INFECTION

By

L. BALLA and ELISABETH SIMONYI

State Institute for the Control of Veterinary Serobacteriological Products (Director: ELISABETH SIMONYI) Budapest

(Received April 10, 1962)

The routine production of fowl-pox virus vaccines has necessitated a regular testing for virulence and immunogenicity of the vaccine strains used. The preparation of suitable vaccines should be based on the thorough knowledge and regular control of the above two properties, which, as a rule, are but inadequately recognizable by the routine cutaneous method of vaccine control.

Recently, besides cutaneous and contact infections, the administration of vaccine strains by the intramuscular, intravenous or intracerebral routes was also attempted (MAYR, 1960). Out of these methods the intravenous injection of fowl-pox virus strains proved most suitable for testing the virulence and immunogenicity of vaccine strains.

Since certain modifications of the control methods seemed to be necessary also in Hungary, in 1959 and 1960 experiments were performed with the aim to investigate the virulence and immunogenicity of several fowl-pox virus strains, respectively. From July, 1960, on we applied also the intravenous method of infection. One of us (BALLA, 1961) published a preliminary report on the immunogenic properties of the fowl-pox virus vaccines used in Hungary.

In the present paper we report on the results of virulence tests performed on different fowl-pox virus strains by the intravenous method as well as on the comparison of the latter with the other routes of infection and its value in vaccine control tests.

The method based on the intravenous infection of day-old chicks was developed by MAYR (1960). As inocula he used different fowl-pox virus strains propagated in the chorioallantoic membrane of chick embryos or in chick-embryo fibroblast cultures. This method proved suitable for the differentiation of fowl-pox virus from both pigeon- and canary-pox virus strains and enabled the demonstration of differences in the virulence of the individual fowl-pox virus strains. HAMMAN (1960) used the intravenous method for testing the immunogenicity of pox vaccines. She found that the intravenous administration of lyophilized infectious material prepared from hen's skin with pox scabs, elicited severe pox infection in 75 per cent, while a mild one in 18.1 per cent of susceptible pullets. The percentage of generalization, and of morbidity was considerably lower, *i.e.* 39 and 48 per cent, among animals exposed to cutaneous and contact infections, respectively. BAMBERGER and SZAKMÁRY (1961) applied the intravenous infection of day-old chicks mainly for virulence tests of turkey-pox virus vaccine strains. They found that in day-old chicks intravenously administered turkey-pox virus caused generalization at a lower rate (30—40 per cent) than did the fowl pox virus strains (vaccine strains of reduced virulence) used by MAYR.

Experimental

The aims of our experiments may be summarized as follows:

1. Determination of the virulence of various fowl-pox virus strains, among others of the vaccine strains presently used in Hungary, by means of infecting pullets, chicks and pigeons by different routes, in particular, intravenously.

2. Comparison of parallel intravenous and cutaneous tests with regard to estimating the value of the former in the routine safety testing of pox vaccines.

Materials and methods

In our experiments the following virus strains were used: 1. a remarkably virulent strain of fowl-pox virus isolated by us from a group of poultry succumbed with pox epidemic; 2. a turkey-pox vaccine strain; 3. a pigeon-pox vaccine strain. Prior to intravenous administration to the experimental animals, all strains were carried through a passage in the chorio-allantoic membrane of chick embryos. The fowl-pox virus strain was also propagated in the hen's skin.

The intravenous injections were made by the method of MAYR, modified slightly in our institute, as follows: For the preparation of inocula we used poultry-skin or chorio-allantoic membranes with high virus content, either freshly harvested or after storage at $-20°$ C for not longer than 3 months. After the addition of 10fold to 40fold volumes of saline to the virus material, a coarse suspension was prepared in a Turmix-type homogeniser. The suspension was centrifuged at 4000 rpm and filtered twice through Macheray-Nagel filter-paper No. 214. The hardly opalescent filtrate was given to chicks in doses 0.6 to 1.2 ml, to pullets and hens 2—4.5 ml, to pigeons and wild pigeons 1.5—3 ml, by the intravenous route. It was injected into the v. ulnaris cutanea or the v. tibialis posterior, or, if necessary, into the right jugular vein.

As found already by MAYR, day-old chicks and the majority of 1—3 weeks old chicks as well, exhibited very high susceptibility, in particular to high virus concentrations. The injection of the virus material was often followed by fatal shock even after cautious slow administration. For this reason, in intravenous injection tests we preferred the use of 4—5 weeks old chicks and of pullets. In order to prevent injection shocks, virus material was injected in at least two portions, and very slowly.

Parallel to intravenous injection, the cutaneous method was regularly applied by rubbing the virus material into the feather follicles or the scarified skin of the wattle.

Pullets and chicks were frequently exposed to massive contact infection exceeding the exposure possible under natural conditions. This was achieved by keeping the pullets together with poultry suffering from pox infection, in a closed pen with 8—10 m^2 floor.

1. *Comparative studies on different virus strains*

In 4 series of experiments virus strains were tested each by intravenous administration to 40 susceptible pullets and 40 chicks. Further to this, the pigeon-pox and fowl-pox virus strains were given each intravenously to 35

pigeons and 25 wild pigeons, and the turkey-pox virus strain to 15 pigeons and 8 wild pigeons. Simultaneously, a total of 40 pullets and chicks, and 20 to 25 pigeons and wild pigeons were infected by the cutaneous route. In the course of our studies on the immunogenicity of vaccine strains and during the official safety testing of pigeon- and turkey-pox vaccines, we observed the behaviour of the different strains in a large number of susceptible chickens and pigeons.

Fig. 1. Pox lesions apparent on the skin and mucosa of the head of a pullet, on the 15th day after intravenous administration of fowl-pox virus

With fowl-pox virus a total of 96 susceptible chickens were infected intravenously, 130 by the cutaneous method, and 88 were exposed to contact infection. Turkey-pox virus was rubbed into the feather follicles of a total of 68 pullets, while 24 pullets were infected by the wing-stab method. To observe the dissemination of turkey-pox virus, 18 pullets were exposed to contact infection.

A) *Fowl-pox virus.* After injecting intravenously large doses of virus of relatively high titre (minimum 10^{-2} when titrated by the cutaneous method), the earliest pox nodules of poppy-seed size appeared on the oral and pharyngeal mucosa and on the tongue of every animal between the 4th and 7th days. As a rule, during the successive 1—3 days pox eruptions of poppy-seed or millet size appeared on the comb and wattle, on the eyelids, and also on the skin around the beak. In the course of the next few days the nodules in the mucosa and skin increased considerably in both number and size (Fig. 1). Besides the sites commonly affected by natural pox infection, severe lesions occurred in other areas of the skin and mucosa. Frequently confluent nodules, turning rapidly to scabs, appeared on the skin squama of the legs in chicks 5—7 days, in pullets 10—12 days, after infection. These nodules, occurring

often in large masses, caused severe deformation of the legs, particularly in chickens (Fig. 2). Not infrequently nodules were observable also on the feathered skin, namely on the head. From the 10th to 13th day on the considerable thickening of the gland wall and the stagnation of glandular secretion caused in many chickens an enlargement of the coccigeal gland sometimes even to

Fig. 2. Confluent nodules causing marked deformation of the leg of a chick infected with fowl-pox virus 10 days earlier intravenously

hazelnut size. Subsequently the enlarged and reddened gland necrotized (Fig. 3). At the necropsy of hens and chicks died of severe avian diphtheria after vaccination, distinct lesions were frequently found on the mucosa of the gullet and most often in the crop, where papilla-like proliferations of the mucous membrane or, those resembling the boutons of swine fever, and sometimes also diphtheroid formations with concentric patterns were visible (Figs. 4, 5). (Diphtheroid lesions occurred rarely and were mild in the crop mucosa of animals infected by other routes with the fowl-pox virus or by any route with the turkey-pox virus.)

In areas of the feathered skin denuded simultaneously to vaccination or a few days afterwards (in the following: de-feathered skin) more or less follicles exhibited characteristic swelling and scab formation even if the inoculum was relatively highly diluted. Swelling of feather follicles was observable also in cases when only few or no lesions developed on the skin and mucosa. Upon injecting massive doses of virus material, from the 5th to 7th day on

severe skin lesions, similar to the most marked reaction elicited by cutaneous infection, developed in the de-feathered skin.

The mortality rates resulting from pox artifically induced by the intravenous injection of fowl-pox virus were 57.3 per cent and 85.7 per cent, in

Fig. 3. Swollen coccigeal gland of a chick infected intravenously with fowl-pox virus 17 days earlier

chicks and pullets, respectively. The severely ill, often extremely cachectic pullets died between the 15th and 35th days whereas chicks succumbed between the 13th and 20th days after infection.

Generalisation of pox infection, *i.e.* the appearance of secondary eruptions, was observed in 93.9 per cent of the pullets infected by the cutaneous route,

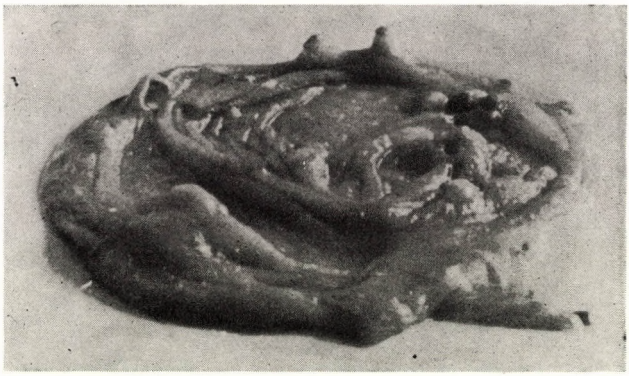


Fig. 4. Papilla-like proliferations found on the crop mucosa of a pullet infected with fowl-pox virus intravenously

and in 100 per cent of those exposed to contact infection. The frequently severe lesions were mostly restricted to the skin appendages and mucous membranes of the head. The latency period of generalized pox induced by cutaneous or contact infection was 6 to 9 days longer than that of the condition

elicited by intravenous infection. The mortality resulting from cutaneous or contact infection was 36.9 per cent and 44.3 per cent, respectively. In most of the fatal cases death occurred between the 20th and 35th days. The local reaction of the cutaneous infection was very severe. From the 10th to 12th day on, the proliferated epithelium of the swollen feather follicles and scarified wattles were developed into a penetrative, often coherent, armour-like necrotic scabs. The local reaction healed in 4 to 5 weeks after rubbing in the infectious material, by cicatrizing the feather follicles. The infected area remained

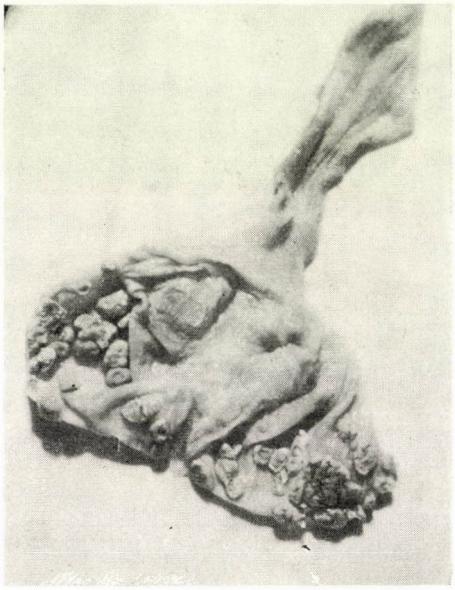


Fig. 5. Diphtheroid lesions resembling the boutons of hog cholera on the crop mucosa of a chick infected with fowl-pox virus intravenously

permanently unfeathered. The majority of the cutaneously-infected chicks died. Very young chicks, infected at the age of several days or 1—3 weeks, mostly died soon (between the 10th and 15th days), after developing a severe local reaction but before appearance of secondary symptoms.

In pigeons and wild pigeons no pox lesions could be elicited even by giving them massive doses of fowl-pox virus by the intravenous route. Upon cutaneous infection with pigeon-pox virus, performed 2—3 weeks after the administration of fowl-pox virus, scab formation was as severe as usual. Rubbing of fowl-pox virus into the feather follicles of pigeons gave rise neither to local reaction (or, at most, to a hardly observable swelling of a few feather follicles) nor to immunity against pigeon-pox virus.

B) *Turkey-pox virus.* Following the intravenous administration of a massive dose of turkey-pox virus (BAMBERGER, SZAKMÁRY and KAKUK, 1957),

81.5 per cent and 78.8 per cent of chicks and pullets, respectively, developed nodules considerably milder ones than fowl-pox virus did, between the 8th and 14th days after infection. As a rule, few small and benign, rapidly (in 5—12 days) disappearing eruptions and diphtheroid lesions occurred on the wattle and comb, around the beak, and in the mouth (Fig. 6). On the squama of the leg skin nodules, much less severe than those produced by fowl-pox

Fig. 6. A single pox nodule on the head of a pullet given "turkey-pox virus" by the intravenous route

virus, appeared in almost every chick and, less frequently, also in pullets; the nodule formation sometimes resulted in a moderate deformation of the leg of chicks (Fig. 7). In chicks eruptions often were first apparent on the legs and, not infrequently, nodules were not observed elsewhere. Out of the chicks infected at 4—5 weeks of age and showing the symptoms of avian diphtheria subsequently only few died, between the 20th and 40th days after infection.

Some of the feather follicles were affected in every case from the 7th day after intravenous infection in the denuded areas. The number of follicle "takes" was lower upon injection of massive doses of turkey-pox virus than following the injection of low-titre fowl-pox virus material. Necrosis or scab-formation were scarcely observable on the swollen feather follicles.

As a result of cutaneous infection performed by rubbing infectious material into the feather follicles, swelling of follicles was developed into marked scab formation and necrosis from the 10th to 12th day on. Except for chicks

and pullets in poor physical condition, the necrotic skin reaction was generally somewhat milder than the local reaction elicited by infection with fowl-pox virus. In 63.5 per cent of the pullets and 4—5 weeks old chickens only several, small and benign, secondary lesions appeared in the skin and in the mucous membranes after rubbing of turkey-pox virus into the feather follicles, from the 12th to 17th day on. Severe, occasionally fatal, avian diphtheria was developed only infrequently, in particular by animals in poor physical condi-

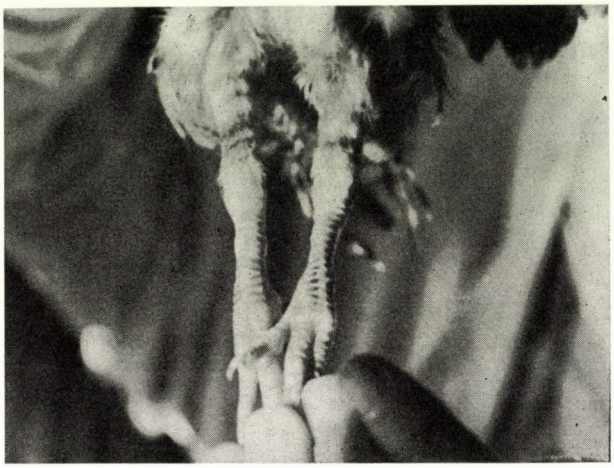


Fig. 7. Nodule formation causing slight deformation of the leg of a chick infected with "turkeypox" virus intravenously

tion. As a result of infection by the follicle method, chicks aged several days or 1—2 weeks developed secondary nodules as soon as about the 12th day, and most of them died of the severe local reaction or of generalized pox. Generally, the penetrative necrosis and scab-formation in the feather follicles as well as the secondary eruptions appeared 2—3 days later than after cutaneous administration of fowl-pox virus. When using the wing-stab method we observed secondary lesions much less frequently, *e.g.* in 29.1 per cent of the infected pullets; the lesions were mild.

Out of the 18 pullets exposed to contact infection by keeping them together with the animals infected by the intravenous and cutaneous route, small benign eruptions were found on the skin or mucosa of a total of 13 animals (72.2 per cent).

The pigeons and wild pigeons given turkey-pox virus intravenously exhibited no pox eruptions. When rubbed into the feather follicles of these animals, the turkey-pox virus elicited a conspicuous local reaction, which, unlike that caused by pigeon-pox virus, did not necrotize and healed relatively easily.

C) *Pigeon-pox virus.* As a result of the intravenous administration of massive doses of pigeon-pox virus, every infected pigeon developed marked symptoms of pox or avian diphtheria, mostly from the 7th to 10th day on after infection (Fig. 8). As a rule, in wild pigeons the lesions appeared 2—4 days later. Except for the lesions of the crop mucosa and coccigeal gland, the symptoms were the same as those developed by pullets and chicks upon infection with fowl-pox virus. In the de-feathered skin swelling and necrosis of the

Fig. 8. Eruptions on the skin and mucosa of the head of a pigeon, 16 days after the intravenous administration of pigeon-pox virus

follicles occurred after intravenous infection even in cases when the skin and the mucosa were free of lesions elsewhere.

In contrast to the findings of MAYR (1960) and BAMBERGER and SZAKMÁRY (1961), several chicks developed some extremely mild pox lesions after the intravenous administration of pigeon-pox virus. Following intravenous injection of massive doses, 33 per cent of the infected chicks developed on the legs a few hardly visible nodules of poppy-seed or millet size and without any tendency for scab-formation. From the removed nodules the pigeon-pox virus could repeatedly be recovered by cutaneous administration to susceptible animals. Pullets did not develop even such mild lesions. In the de-feathered areas pullets and chicks exhibited a relatively low number of swollen follicles, from the 6th or 7th day on after infection. The appearance of such swollen follicles was identical with the local reaction elicited by rubbing of pigeon-pox vaccine into the feather follicles. It should be noted that the swollen follicles of the chickens infected with pigeon-pox virus are usually larger in size and rounder in shape, than those produced by the fowl-pox or turkey-pox virus; they are also more reddened and shiny than the latter, heal without scab-

formation and disappear in about 3 weeks after the cutaneous administration of the virus.

The pullets and chicks injected intravenously with pigeon-pox virus were found more or less immune to pigeon-pox or turkey-pox virus administered later by the intravenous route or into the feather follicles.

2. *The sensitivity of the intravenous method of infection and the detection of contaminating virus by intravenous injection*

Parallel virus titrations by the intravenous and cutaneous methods. Extracts of fowl-pox virus prepared from skin and membrane specimens by grinding, centrifugation, and filtration were titrated in parallel intravenous and cutaneous tests in three series of experiments. The virus material eliciting local reaction even in 10^{-3} to 10^{-4} dilutions when rubbed into the feather follicles gave rise to pox lesions only up to 10^{-2} when administered by the intravenous route. Following the injection of higher dilutions the first pustules appeared only after a prolonged latency and the lesions of the skin and mucous membrane were mostly milder and smaller than those elicited by the undiluted virus. Frequently only a few small diphtheroid lesions were observable or a moderate follicle reaction occurred in the de-feathered areas.

B) *Detection of contaminating virus.* In five experiments pullets were infected intravenously with mixtures of pigeon-pox and fowl-pox viruses. The inocula used in the 5 experiments contained fowl-pox virus at ratios 1/10, 1/25, 1/30, 1/50 and 1/100, respectively. Except for the pool containing fowl-pox virus at a ratio of 1/100, the presence of the virulent virus was demonstrable by the appearance of lesions on the skin and mucosa. As a result of the relatively low concentrations of fowl-pox virus present in the inocula, some of the infected animals exhibited only mild diphtheroid lesions and no pox nodules after a latency period of 7 to 10 days. In the de-feathered areas a variable number of feather follicles exhibited characteristic pox reaction from the 5th to 7th day on. The swelling of follicles that resulted from the intravenous injection of virus mixtures was different in appearance. In the majority of cases the follicle reaction was characteristic of virulent fowl-pox virus. In animals injected with the mixture containing fowl-pox virus at a ratio of 1/100, only mild diphtheroid lesions were observed, and even these only scarcely, but every animal developed a pox nodule at the site of injection. It ought to be mentioned here that in this experiment feather follicles were not kept under observation.

By rubbing the virus into the feather follicles the fowl-pox virus was demonstrable in every case, even if its ratio to pigeon-pox virus was 1/100. (Fowl-pox virus elicited scab formation in certain follicles from the 10th to 12th day on.) The presence of higher concentrations of fowl-pox virus, corre-

sponding to 10fold to 50fold dilutions, was demonstrable by the intravenous injection at least 2—3 days earlier than by the cutaneous method.

In comparison to the cutaneous method, the safety testing of lyophilized pigeon-pox vaccines is very complicated by intravenous injection. Another disadvantage of this method is that it requires relatively large amounts of vaccine. The preparation for intravenous injection of dissolved lyophilized pigeon-pox vaccines involves considerable losses of material. For this reason 5 or 6 ampoules, each containing 100 doses of vaccine, were required for the intravenous infection of 5 pullets. The content of each ampoule was diluted with 5 ml saline. For cutaneous application, on the other hand, 0.1 ml of vaccine per animal, diluted according to the prescription, was entirely sufficient.

Discussion

The results of the present experiments permit the conclusion that the intravenous infection of pullets, chicks and pigeons is a reliable method for testing of the virulence of fowl-pox virus strains. The different types of virus possessing various degrees of virulence are easily distinguishable by the intravenous test. In accordance with the observations of MAYR, the virulence was estimated and characterized by taking into consideration the percentage of animals exhibiting pox lesions, the latency period, and the extent and severity of pox lesions.

The fowl-pox virus examined in the present experiments was found to be of high virulence, markedly more virulent than the turkey-pox virus strain. Our fowl-pox strain proved suitable for challenging the immunity established by various pox vaccines (BALLA). Although, contrary to the observations of HAMMAN, we succeeded in eliciting distinct pox infection practically in every susceptible animal, even by contact or by the cutaneous route, the survival of a massive intravenous infection appears to be a more reliable indicator of satisfactory immunity.

Following the intravenous administration of large amounts of turkey-pox virus we observed pox nodules in a larger proportion of the animals than BAMBERGER and SZAKMÁRY. Presumably, the larger doses applied by us are responsible for the divergent results. In spite of this, the benign nature and limited incidence of the pox symptoms have been indicative of the relatively moderate virulence of the turkey-pox vaccine strain. Another difference between the turkey-pox and fowl-pox virus strains is benignity of the distinct local reaction elicited by the former after being rubbed into the feather follicles of pigeons.

MAYR, and also BAMBERGER and SZAKMÁRY, failed to observe the appearance of pox nodules on chicks infected intravenously with pigeon-pox virus

strains. In the course of the present experiments we succeeded in producing a few insignificant pox nodules on the legs of chicks by the intravenous administration of massive doses of the pigeon-pox virus strain presently used in Hungary. Following intravenous injection, in de-feathered areas of the skin several feather follicles exhibited a reaction similar to that occurring upon cutaneous application. It appears to be possible that this phenomenon is connected with the extraordinarily high immunogenicity of the pigeon-pox vaccine strain used in Hungary (BALLA).

The results obtained with the examined three types of pox virus are indicative that implantation and propagation of intravenously administered fowl-pox virus and vaccine strains takes place most readily in the feather follicles rendered susceptible by denudation. This local disposition may become manifest also to heterospecific pox virus strains, as proved by the follicle reaction observed in de-feathered areas of the skin of pullets and chicks after the administration of pigeon-pox virus.

On titrating fowl pox virus (skin and membrane extracts) with the intravenous and cutaneous methods parallel, the latter was found more sensitive than the former. Titrations performed with the intravenous method revealed that the rapidity of the development of the symptoms, as well as their severity is proportional with the amount of virus inoculated.

For the demonstration of contamination with fowl-pox virus of pigeon-pox vaccines, intravenous injection proved to be more rapid, while the cutaneous application more sensitive. In safety tests performed with the cutaneous method, parallel examinations with intravenous injection may yield some additional information, but the latter is by no means suitable to replace the former. Due to difficulties in its application and the large doses required, the intravenous method is not recommended for use in the routine safety testing of pigeon-pox vaccines.

The results of the present experiments permit the conclusion that concerning the degree of virulence of the various fowl-pox virus strains as well as the immunogenicity and safety (possible presence of a more virulent virus) of the individual vaccine strains, most correct information can be obtained by parallel application of both the intravenous and cutaneous methods.

SUMMARY

The virulence of a virulent fowl-pox virus strain and that of the turkey- and pigeon-pox virus vaccine strains used in Hungary were compared by infecting pullets, chicks, and pigeons intravenously, cutaneously and by contact.

The intravenous administration of fowl-pox virus caused severe generalized pox in pullets and chicks. The severity of generalization was characterized by the unusual localization of lesions, *e.g.* the occurrence of distinct nodules on the skin squama of the legs, swelling of the coccigeal gland and the appearance of diphtheroid lesions on the crop mucosa. In case of a massive infection the latency period was 4—7 days. Mortality was 85.7 per cent and 57.3 per cent for chicks and pullets, respectively. Upon cutaneous or contact infection practically

every susceptible animal contracted pox with consequent mortality rates 36.9 per cent and 44.3 per cent for pullets and chicks, respectively.

The intravenous administration of turkey-pox virus resulted in the appearance of a few readily healing pox nodules on the head and legs and diphtheroid lesions in the mouth, in 81.5 per cent of the chickens and 78.8 per cent of the pullets. Rubbing of the virus into a large number of feather follicles resulted in a mild generalization in 63.5 per cent of the pullets and chicks, whereas secondary eruptions were found in only 29.1 per cent of the pullets vaccinated by the wing-stab method. The turkey-pox vaccine may elicit some very mild pox symptoms even on contact infection. When applied to feather follicles, contrary to fowl-pox virus, the turkey-pox virus elicited a distinct but benign local reaction.

On intravenous administration of massive doses of the pigeon-pox vaccine strain used in Hungary, chicks developed on the legs one or two nodules of poppy-seed size, which did not turn to scabs, whereas pigeons developed a severe pox infection. When applied to the feather follicles of pullets and chicks, the pigeon-pox vaccine caused severe but not necrotizing swelling of the follicles, while it gave rise to severe necrosis and scab formation in the feather follicles of pigeons.

The different fowl-pox virus strains, when administered intravenously, propagated most readily in the feather follicles rendered susceptible by denudation. The consequent swelling of the follicles was characteristic of the individual virus types. In pullets and chicks the swelling of follicles may occur also after intravenous administration of the pigeon-pox vaccine strain.

On the basis of the local reaction the cutaneous method proved more sensitive than the intravenous injection for the demonstration of contamination of pigeon-pox vaccine with virulent fowl-pox virus. Parallel performance of the intravenous test may enable a more rapid and reliable evaluation of the cutaneous safety test.

The intravenous injection proved to be an excellent method for the determination of the virulence and immunogenicity of fowl-pox virus and vaccine strains, but it cannot replace the cutaneous method of vaccine control.

Acknowledgement

The authors are indebted to Mr. K. Bognár for taking the photos.

REFERENCES

Balla, L.: Magyar Állatorvosok Lapja (MÁL), 1961, 462. Bamberger, K., Szakmáry, G. and Kakuk, T.: MÁL, 1957, 112. Bamberger, K. and Szakmáry, G.: MÁL, 1961, 289. Hamman, I.: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 1960. 193. Mayr, A.: Zbl. f. Bakt. 1. (Orig.) **179** (1960), 149.

HYGIENIC AND MICROBIOLOGICAL QUALIFICATION OF SAUSAGES

By

J. TAKÁCS

Central Laboratory (Head: J. TAKÁCS) of Veterinary Meat Control Service, Budapest

(Received July 2, 1962)

It is about 10 years that, based on the development of manufacturing-technological prescriptions and standardization, meat industry developed into mass-production in Hungary.

As regards with sausages, however, the Hungarian Standards do not contain prescription for all the basic characteristics of these products. Besides other characteristics the microbiological condition should also be taken into consideration.

The qualification begins with the organoleptic examination. Every quality (appearance, colour, smell, flavour, texture, and cleanness of the raw material and product) is scored. The highest possible score is 100.

To develop adequate minimum requirements one should take into consideration the composition (histological examination should be included if necessary), the technology, the guaranteed time, and the prescribed storing temperature of sausages.

The Hungarian Standards enlist the following stuffed sausages: finely chopped sausages, coarse-cut, cured, smoked and cooked sausages, sausages made of chitterlings, liver sausages, headcheese-types and, at last, sausages processed by a combination of curing, cold smoking and drying.

The storing temperature is not prescribed for coarse-cut, cured, smoked and cooked sausages, and for sausages processed by a combination of curing, cold smoking and drying. The other sausages should be stored and selled at 3—10° C. The guaranteed time, depending on the season, varies from 1 to 8 days, for dried sausages from 60 to 90 days. The diameter of the casing varies with the type of the product from 18 to 100 mm. That (made of hog stomach) for headcheese may be large, at most of 3 kg capacity. The temperature of smoking varies from 70 to 100° C and lasts for 25—120 minutes; the temperature of cooking may vary from 74 to 80° C and lasts in general for 20 minutes, but it may last for several hours depending on the type of sausage (TAKÁCS, 1961).

To ensure an adequate quality, many factors should be taken into consideration. Smoking and cooking form not only the typical appearance of

sausages, but also their flavour, colour and, last but not least, their steadfastness, which is essential for the non-perishableness throughout the guaranteed time of sausages prepared with a heat-treatment adequate to pasteurization.

The microbiological examination is to demonstrate contamination with the bacteria belonging to the coli-aerogenes group and to determine the total germ count per 1 g material. Bacteria belonging to the coli-aerogenes group should not be demonstrable by cultivation in stuffed sausages processed by curing, smoking and cooking or by cooking only; cultivation of such bacteria from these products shows that the heat treatment was insufficient and, consequently, some undetected pathogens (Salmonellae, Mycobacteria, parasites, *etc.*) might have survived. Within the total number of microbes we determine also the number of the proteolytic germs on the basis of their gelatine-liquefying capacity (CSISZÁR and TAKÁCS, 1960). In our laboratories we use standardized media to ensure reproducible results. For Koch's plate-count method meatcream (dextrose) yeast/peptone/gelatine/agar is used as medium. The plates are incubated for 2 days at 32° C to render the colonies of the aerobic, and facultative anaerobic mesophilic and psychrophilic microbes countable (TAKÁCS, 1960).

The quality of a sausages is, from bacteriological aspect, adequate, if the risk of causing any injury to health of microbiological origin can be excluded. Thus,

1) the sample should not contain any pathogenic or toxinogenic microorganisms;

2) no microflora indicating intestinal contamination should be demonstrable in the sample;

3) the number of living aerobic and anaerobic microorganisms should not exceed 100,000 per g.

The data collected during a period of 11 years are summarized in Table 1.

As seen in Table 1, within each group of sausages prepared by heat treatment at the temperature of pasteurization the number of aerobic and facultative anaerobic microbes, as determined with Koch's plate-count method, remained under 50,000 per g in 75—94% of the samples tested. When the germ count was under 5000, only aerobic saprophytic sporebearers could be detected. In the range 5000 to 50,000 colonies per g, however, in minor quantities heat-resistant, never sporebearing, organisms belonging to the Micrococcaceae or Lactobacillaceae families were detectable besides the above saprophytes.

If the bacterial count per 1 g fresh product exceeded 50,000, especially if it was over 100,000, also some streptococcus species (Enterococcus group) were detected, or such germs which are killed in the course of the proper technological procedure and do not survive treatment at the temperature of pasteurization. Presence of Gram-negative rods is the best evidence of the insufficient heat treatment.

Table 1

The groups of stuffed sausages in accordance with the Hungarian Standards	No. of samples tested	Total germ count in 1 g material			
		5000 % +	5000–50,000 % +	50,000–50,0000 % +	above 50,0000 % +
Finely chopped sausages	2226	54	40 94**	5	1
Coarse-cut	3702	28	48 76**	16	8
Cured, smoked and cooked sausages	1911	27	62 89**	7	4
Sausages (made of chitterlings)	839	38	44 82**	12	6
Liver sausages	474	21	54 75**	19	6
Headcheese-sorts	762	45	37 82**	11	7
Sausages processed by curing, cold smoking and drying	775	10	26	34	30

Legenda: * = number of colonies of aerobic and facultative anaerobic mesophilic and facultative psychrophilic microbes after incubation at 32° C for 2 days
% + = average values
** = average percent of bacterial counts for the first two categories.

In cured, smoked and cooked sausages all the non-spore-forming microbes are killed and the number of non-spore-forming, yet relatively heat-resistant germs is highly reduced during an adequate heat-treatment; the enzymes influencing the keeping quality and the character of the sausages are also inactivated.

A sausage may be regarded as bacteriologically fully cooked if no coccoid bacteria can be cultivated from it. To achieve this quality, there should be a temperature of 74° C in the core of the product for at least 15—20 minutes. This treatment is only necessary if in the shops storage at 3—10° C is not obligatory, *i.e.* sausages may be stored at shop-temperature. In this case sausages must remain stable even when exposed to temperature variations (TAKÁCS, MÉHES, OKÁLYI and KÁRPÁTI, 1961).

The cured and dried sausages cover the microbiological requirements if they do not contain any pathogenic or toxinogenic micro-organisms, or cultivable Gram-negative rods belonging to the coli-aerogenes group. In the riped sausage the number of the proteolytic microbes tends considerably downward, because the metabolites of the Lactobacilli together with the changing biochemical circumstances prevent their multiplication and harmful

activity. The chemical characteristics of the finished ripening process are: pH 5.8—6.0; salt/water ratio 13—16%; latter correspond to 25—28% water content and 3.5% salt content (TAKÁCS and ZUKÁL, 1962).

Besides the mentioned microbiological requirements the product must contain the prescribed protein, fat and water content, and the components giving the flavour and colour. All these together give the essential characteristics of good quality. At last, the product should contain the prescribed nutritional value.

SUMMARY

The qualification of stuffed sausages is a complex procedure. Besides the control of the composition and the organoleptic examination microbiological and other kinds of examination in respect of human consumption are very important. In Hungary the systematic control of sausages includes scoring based on the organoleptic examination and chemical analysis. These are the basic examinations for the qualification of sausages. Further development and completion of these procedures in accordance with the practice are expected to improve the qualification of the meat products, a procedure which is not easy to effectuate.

REFERENCES

CSISZÁR and TAKÁCS: Magyar Állatorvosok Lapja, 1960, 223. TAKÁCS: Ibidem, 1960, 416. IDEM: Mh. Vet.Med., 1961, 704. TAKÁCS, MÉHES, OKÁLYI and KÁRPÁTI: Húsipar, 1961, 171. TAKÁCS and ZUKÁL: Magyar Állatorvosok Lapja, 1962, 230.

ЦЕСТОДЫ ПТИЦ ТУВЫ

VII. HYMENOLEPIDIDAE

Л. П. Спасская

Кафедра общей биологии I Московского ордена Ленина медицинского ин-та и Гельминтологическая лаборатория АН СССР

(Поступило 20 декабря 1962 г.)

В данном сообщении излагаются результаты камеральной обработки коллекции ленточных червей сем. **Hymenolepididae** от птиц, собранной 306-й Союзной гельминтологической экспедицией на территории Тувинской автономной республики в 1956—57 гг. За два года работы Экспедицией было обследовано 2443 экз. птиц 21 отряда. Цестоды сем. **Hymenolepididae** встречены у птиц 6-и отрядов: у **Charadriiformes** обнаружено 4 вида гименолепидид, у **Lariformes** — 1 вид, у **Gaviiformes** — 1 вид, у **Anseriformes** — 35 видов, у **Piciformes** — 1 вид, у **Passeriformes** — 6 видов. У представителей 15 отрядов птиц цестоды интересующего нас семейства не обнаружены (см. табл. I). Многие отряды пернатых в материалах экспедиции представлены единицами вскрытых хозяев (напр., **Pterocletiformes, Pelecaniformes, Ciconiiformes Epopiformes**), что в значительной мере объясняет факт ненахождения у них гименолепидид. Но некоторые отряды — куриных (**Galliformes**), дневных хищников (**Falconiformes**), сов (**Strigiformes**) и кукушек (**Cuculiformes**) представлены значительным количеством вскрытых особей, и отсутствие у них гименолепидид в материалах экспедиции, видимо, отражает реальные отношения, сложившиеся в природе. Более того, у дневных и ночных хищников вообще не установлен факт облигатного паразитирования цестод семейства **Hymenolepididae**.

При обработке коллекций цестод в ней обнаружено 47 видов цепней упомянутого семейства.

Ниже излагаются сведения о фауне гименолепидид от птиц Тувы (за исключением цестод от птиц отр. **Anseriformes** и **Gaviiformes**, которым посвящаются три работы, опубликованные в **Acta veterinaria Hungarica**).

Сем. **Hymenolepididae (Ariola, 1899)**

Род **Aploparaksis Clerc, 1903**

Aploparaksis dujardini (Krabbe, 1869)

Хозяин, время и место обнаружения: **Turdus viscivorus** № 796, добыт 18 июня 1956 г. в Тоджинском р-не.

Интенсивность инвазии: 2 половозрелых экз.

Сводная таблица вскрытий птиц за 1956-57 гг.

Отряды птиц	Обследовано птиц		Обнаружено видов гименолепидид
	особей	видов	
1. Galliformes	269	7	—
2. Columbiformes	17	3	—
3. Pterocletiformes	1	1	—
4. Ralliformes	4	2	—
5. Gruiformes	11	2	—
6. Otidiformes	6	2	—
7. Charadriiformes	111	16	4
8. Lariformes	57	5	1
9. Gaviiformes	5	1	1
10. Anseriformes	234	18	35
11. Pelecaniformes	1	1	—
12. Ciconiiformes	1	1	—
13. Ardeiformes	4	1	—
14. Falconiformes	73	19	—
15. Strigiformes	26	7	—
16. Cuculiformes	20	1	—
17. Caprimulgiformes	3	1	—
18. Epopiformes	3	1	—
19. Micropodiformes	5	2	—
20. Piciformes	111	6	1
21. Passeriformes	1 481	70	6
Всего :	2 443	167	48

Aploparaksis filum (Goeze, 1782)

Хозяева, время и место обнаружения: **Capella media** № 596, **Capella stenura** № 572, добыты 27 и 31 мая 1956 г в Тоджинском районе.

Интенсивность инвазии: по 2 экз. — на начальной стадии стробиляции и зрелые.

Описание (по экз. от **Capella stenura** № 572). Длина тела зрелой цестоды 11 мм, при наибольшей ширине 1,2 мм. Сколекс 0,140—0,182 мм ширины, присоски 0,076×0,082 мм размером. Хоботковое влагалище 0,164—

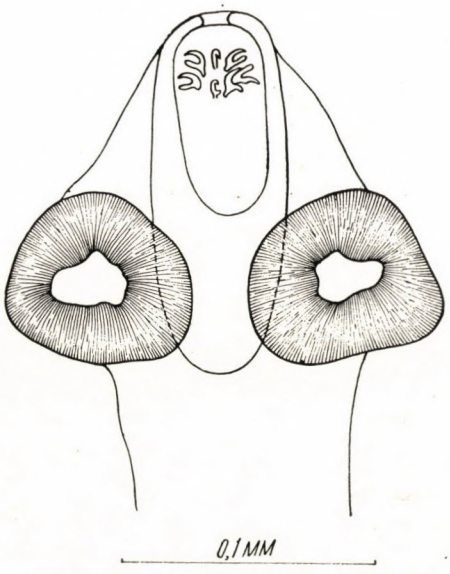


Рис. 1. **Aploparaksis filum (Goeze, 1782)** от **Capella stenura.** Сколекс

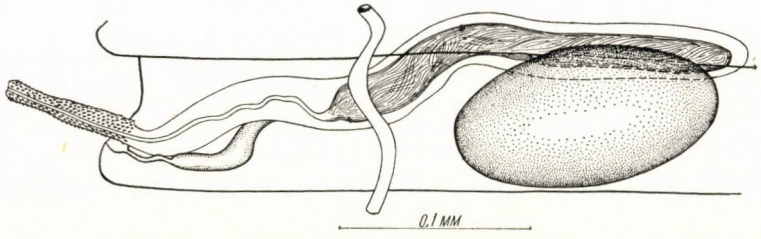


Рис. 2. **Aploparaksis filum (Goeze, 1782)** от **Capella stenura.** Поральная (бóльшая) часть половозрелого мужского членика

0,173 мм длины. Хоботок 0,082 мм в длину, несет корону из 10 крючьев аплопараксоидного типа длиною 0,018 мм.

Половые поры односторонние, открываются во второй половине бокового края члеников.

Семенник достигает зрелого состояния раньше женских половых желез. В мужском членике семенник нередко смещен апорально от средней

линии и достигает 0,140×0,080 мм. Бурса цирруса 0,320 мм длины и 0,032 мм ширины, заходит за середину членика. Наружный семенной пузырек небольшой, внутренний — занимает более половины полости бурсы цирруса. Циррус, будучи выдвинут на 0,070 мм наружу, достигает у основания 0,012 мм, у дистального конца — 0,010 мм в толщину. Поверхность цирруса покрыта мелкими шипиками 0,004 мм длиной (по 9—10 в поперечном ряду с одной стороны).

В гермафродитных члениках женские железы располагаются у их задней границы, вентрально от семенника. Желточник компактный, яичник двукрылый. Вагина 0,010 мм ширины, перед входом в половую клоаку она резко сужается до 0,002 мм и открывается вентрально и позади бурсы цирруса. Матка мешковидная, заполнена яйцами. Эмбриональные крючья 0,011—0,013 мм.

Aploparaksis parafilum Gasowska, 1932

Хозяин, время и место обнаружения: **Capella media** № 268, № 596 добыты 27 мая 1956 г. и 15 мая 1957 г. в Тоджинском р-не.

Интенсивность инвазии: по 2 половозрелых экз., без сколексов.

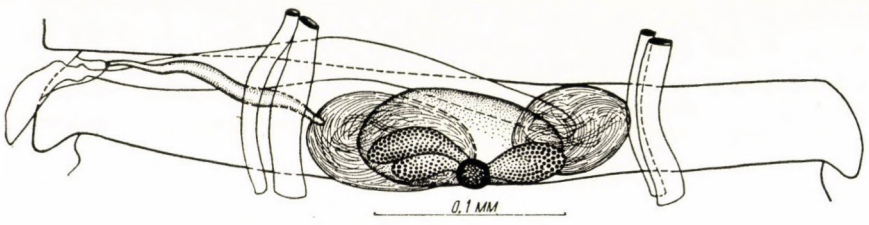


Рис. 3. **Aploparaksis parafilum Gasowska, 1932** от **Capella media.** Гермафродитный членик со зрелым семенником и молодым яичником

Изученные нами половозрелые цестоды 90 мм длины, 0,450 мм наибольшей ширины. Половые поры односторонние, открываются в передней половине бокового края члеников. Дорзальные выделительные каналы 0,010—0,012 мм, вентральные 0,024 мм ширины, анастомозов не образуют.

В гермафродитных члениках семенник лежит медианно, примыкая к задней стенке членика, его размеры составляют 0,110×0,082 мм. Наружный семенной пузырек овальной формы, 0,092×0,055 мм размером, располагается апорально от бурсы цирруса, частично налегая на дно последней. Внутренний семенной пузырек может занимать более половины полости бурсы цирруса, которая имеет 0,255 мм в длину и заходит за середину членика. Эвагинированный циррус довольно характерной формы (см. рис. 3), 0,065 мм длины и 0,027 мм наибольшей ширины, шипами не вооружен.

Женские железы располагаются вентрально в области семенника. Желточник округлый, яичник двукрылый, поральное его крыло часто поделено на две лопасти. Семеприемник крупный, 0,110×0,059 мм. Вагина 0,135 мм длины и 0,010 мм наибольшей ширины, перед входом в половую клоаку сужается. Она открывается в последнюю вентрально и впереди бурсы. Матка мешковидная. Эмбриональные крючья 0,019 мм.

Aploparaksis sanjuanensis Tubangui et Masilungan, 1937

Хозяин, время и место обнаружения: **Capella media** № 268, № 596, добыты 27 мая 1956 г. и 15 мая 1957 г. в Тоджинском р-не.

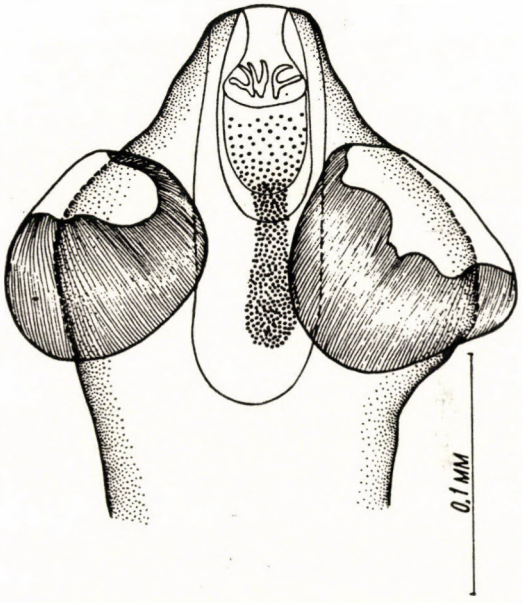


Рис. 4. **Aploparaksis sanjuanensis Tubangui et Masilungan, 1937** от **Capella media**. Сколекс

Интенсивность инвазии: по 2 зрелых экз.

Описание (по экз. от **Capella media**, № 596). Длина тела зрелой цестоды 65 мм, наибольшая ширина 1,260 мм. Сколекс 0,128 мм ширины, присоски 0,073—0,095×0,086 мм. Хоботковое влагалище 0,13—0,164 мм длины. Хоботок 0,100 мм в длину, несет корону из 10 крючьев аплопараксоидного типа длиною 0,014—0,018 мм.

Половые поры односторонние, открываются в середине или во второй половине бокового края члеников. Семенник достигает зрелого состояния раньше женских половых желез.

В мужском членике семенник 0,145×0,070 мм, слегка смещен в апоральную сторону (до линии апоральных сосудов). Бурса цирруса 0,255 мм

длины, почти доходит до апоральных выделительных каналов, 0,018 мм ширины. Циррус толстый, 0,040 мм. Наружный семенной пузырек небольшой, внутренний — занимает более половины полости бурсы цирруса.

В гермафродитных члениках женские железы располагаются у задней их границы, вентрально от семенника. Желточник округлый, яичник двукрылый. Семеприемник лежит порально от половых желез. Вагина входит

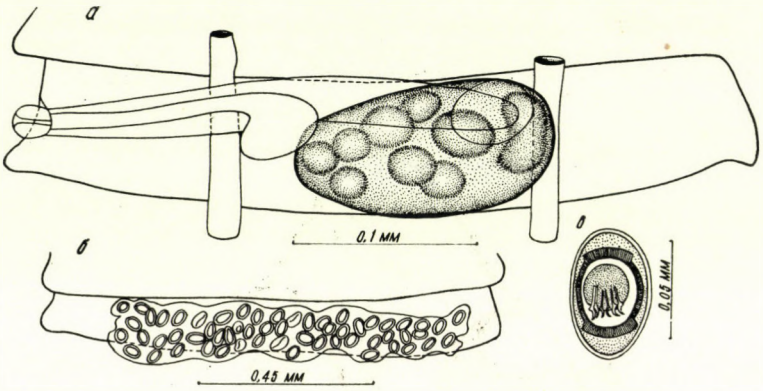


Рис. 5. **Aploparaksis sanjuanensis Tubangui et Masilungan, 1937** от **Capella media.** *а*, половозрелый мужской членик; *б*, зрелый членик; *в*, зрелое яйцо

в половую клоаку вентрально от бурсы цирруса. Матка мешковидная, заполнена яйцами размером 0,072×0,045 мм, оболочка онкосферы 0,045× 0,040 мм, эмбриональные крючья 0,016—0,018 мм.

Aploparaksis skrjabini Spassky, 1945

Хозяин, время и место обнаружения: **Anthus sp.** № 894, добыт 15 июня 1956 г. в Тоджинском районе.

Интенсивность инвазии: 2 молодых экз.

Изученные нами молодые цестоды определены как **A. skrjabini** по форме и размерам крючьев. Стробила молодая, половые железы еще не развиты.

Ширина сколекса 0,200 мм, присоски 0,100 мм. Крючья аплопараксоидного типа, длиною 0,020 мм.

Род Passerilepis Spassky et Spasskaja, 1954

Passerilepis dahurica (Linstow, 1903)

Хозяин, время и место обнаружения: **Erythrina erythrina** № 190, добыта 16 апреля 1956 г. в Эрзинском районе.

Интенсивность инвазии: 1 зрелый экз.

Изученная нами зрелая цестода 15 мм длины и 0,9 мм наибольшей ширины. Сколекс 0,243 мм ширины, присоски — 0,127 мм. Хоботок 0,145 мм в длину, несет корону из 10 крючьев длиною 0,037 мм. Ширина шейки 0,122 мм.

Половые поры односторонние, открываются в передней половине бокового края члеников.

Рис. 6. **Passerilepis dahurica (Linstow, 1903) от Erythrina erythrina.** *а*, крючок хоботка; *б*, сколекс

Семенники достигают зрелого состояния раньше женских половых желез. Зрелые семенники 0,080 мм в диаметре, располагаются под тупым углом, апоральный семенник слегка сдвинут кпереди и апорально от среднего. Наружный семенной пузырек округлой формы, 0,070×0,062 мм, внутренний — занимает более половины полости бурсы цирруса. Последняя 0,091 мм длины и 0,030 мм ширины.

Женские железы закладываются между поральным семенником и двумя апоральными или вентрально от среднего семенника. Желточник компактный, яичник лопастной. Матка мешковидная, яйца 0,034×0,030 мм, эмбриофоры 0,031×0,022 мм, эмбриональные крючья 0,009—0,011 мм.

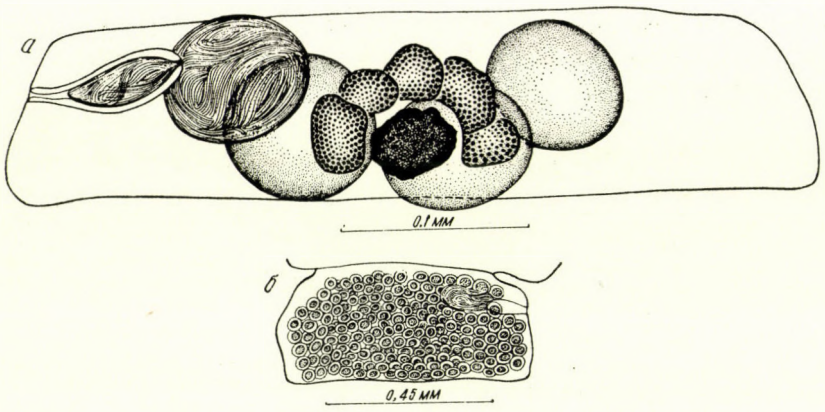


Рис. 7. **Passerilepis dahurica (Linstow, 1903)** от **Erythrina erythrina.** Гермафродитный членик со зрелыми семенниками и недозрелым яичником

Passerilepis passeris (Gmelin, 1790)

Хозяева, время и место обнаружения: **Turdus pilaris** № 621, № 821, № 887, № 1011, № 1013, № 1046; **Turdus ruficollis** № 524, № 528, № 584; **Turdus viscivorus** № 525, № 712, № 967; **Coloeus monedula** № 763; **Emberiza aureola** № 726, добыты с 1 мая по 3 июля 1956 г. в Тоджинском р-не и 21 июля 1957 г. в Эрзинском р-не.

Интенсивность инвазии: от 1 до 25 экз. — на разных стадиях развития — на начальной стадии стробиляции, половозрелые и зрелые.

Описание (по экз. от **Turdus ruficollis** № 528). Длина тела зрелой цестоды 50 мм, наибольшая ширина 1,2 мм. Сколекс 0,310 мм ширины, присоски 0,120 мм. Хоботок 0,090 мм в длину, несет корону из 10 крючьев длиною 0,027 мм.

Половые поры односторонние, открываются посредине бокового края члеников. Семенники крупные, достигают 0,168×0,115 мм, созревают раньше женских половых желез. Они располагаются под тупым или под прямым углом, апоральный семенник сдвинут кпереди от среднего семенника. Наружный семенной пузырек округлой формы, размером 0,140×0,120 мм, располагается впереди порального семенника. Внутренний семенной пузырек занимает более половины полости бурсы цирруса. Последняя 0,155—0,173 мм длины и 0,055—0,060 мм ширины.

Женские железы закладываются между поральным семенником и двумя апоральными. Желточник компактный, яичник лопастной. Вагина открывается в половую клоаку вентрально и позади бурсы цирруса. Семеприемник 0,225×0,120 мм. Молодая матка в виде двух пузырей, зрелая — мешковидная. Яйца крупные, 0,095×0,067 мм; эмбриофора 0,049×0,042 мм; 0,062×0,052 мм; эмбриональные крючья 0,022—0,023 мм.

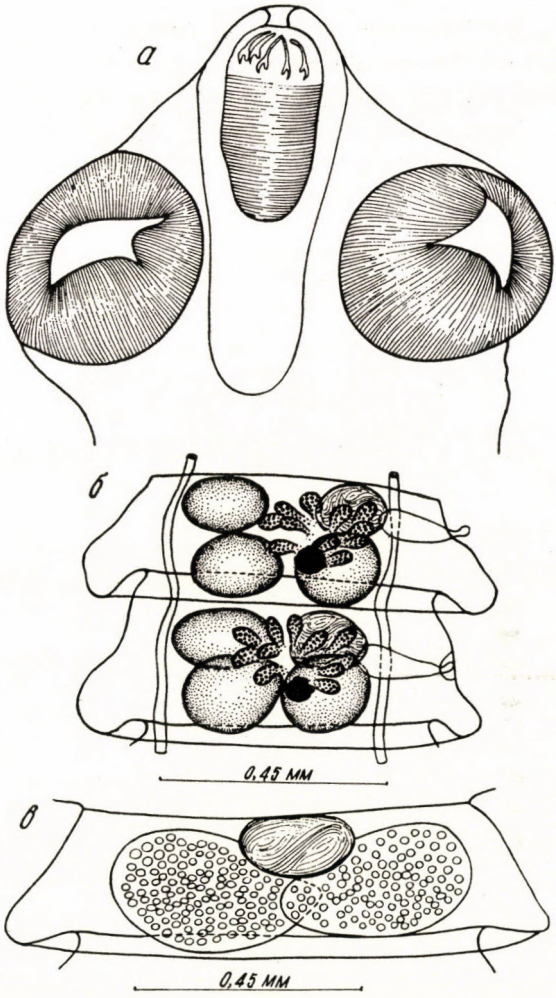


Рис. 8. **Passerilepis passeris (Gmelin, 1890)** от **Turdus ruficollis.** *а*, сколекс; *б*, гермафродитные членики со зрелыми семенниками и недозрелым яичником; *в*, не вполне зрелый маточный членик

Passerilepis stylosa (Rudolphi, 1809)

Хозяева, время и место обнаружения: **Coloeus monedula** № 6[а], № 57, № 110, № 111, № 164, № 419, № 424, № 510, № 561, № 591, № 673, № 679, № 685, № 727, № 729. **Phylloscopus collibitus** № 865, добыты с 6 апреля по 26 июня 1956 г. и с 15 мая по 17 июля 1957 г. в Тоджинском и Эрзинском р-нах.

Интенсивность инвазии: от 1 до 38 экз. — на начальной стадии стробиляции и половозрелые.

Длина тела половозрелой цестоды 15 мм, при наибольшей ширине 1 мм. Сколекс 0,200 мм ширины, присоски 0,118×0,082 мм. Хоботковое влагалище 0,145 мм длины. Хоботок 0,120 мм в длину, несет корону из 10 крючьев длиною 0,035 мм.

Половые поры односторонние, открываются посредине бокового края члеников. Дорзальные выделительные сосуды 0,016 мм, вентральные —

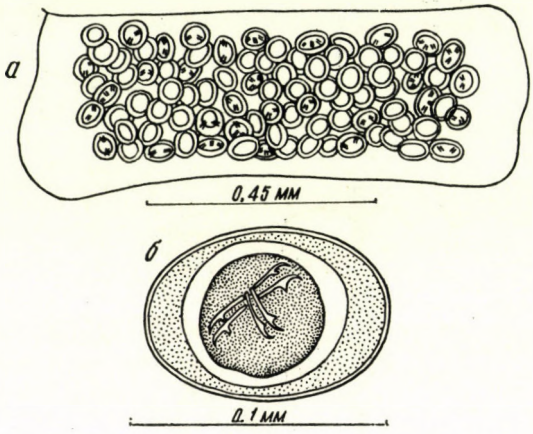


Рис. 9. **Passerilepis passeris** (Gmelin, 1890) от **Turdus ruficollis.** *а*, зрелый маточный членик; *б*, яйцо

0,027 мм, анастомозов не образуют. Женские и мужские железы закладываются одновременно, но семенники достигают зрелого состояния раньше женских половых желез. Семенники закладываются под прямым углом, апоральный семенник находится впереди среднего семенника. В члениках размером 0,24×0,67 мм, где женские железы еще слабо развиты, семенники достигают размеров 0,118×0,110—0,115 мм, причем они могут располагаться под тупым углом таким образом, что поральный и апоральный семенники сдвинуты вперед от среднего. Бурса цирруса 0,150—0,190 мм длины и 0,077 мм наибольшей ширины. Наружный семенной пузырек размером 0,045×0,072 мм, лежит впереди семеприемника. Внутренний семенной пузырек 0,090×0,055 мм, занимает более половины полости бурсы.

В гермафродитных члениках женские железы залегают у задней стенки членика, вентрально от семенников. Желточник компактный, находится в области среднего семенника или между поральным и средним семенниками. Яичник лопастной. Вагина открывается в половую клоаку вентрально и позади бурсы цирруса. В мужских члениках дистальный участок вагины трубчатый по форме. Остальная часть вагины пузыревидно расширена — до 0,110 мм, лежит вентрально от бурсы цирруса. Перед впадением

в семеприемник вагина резко суживается. Семеприемник округлый, 0,150 мм в диаметре. В женских члениках семеприемник становится очень крупным, а пузыревидное расширение вагины исчезает.

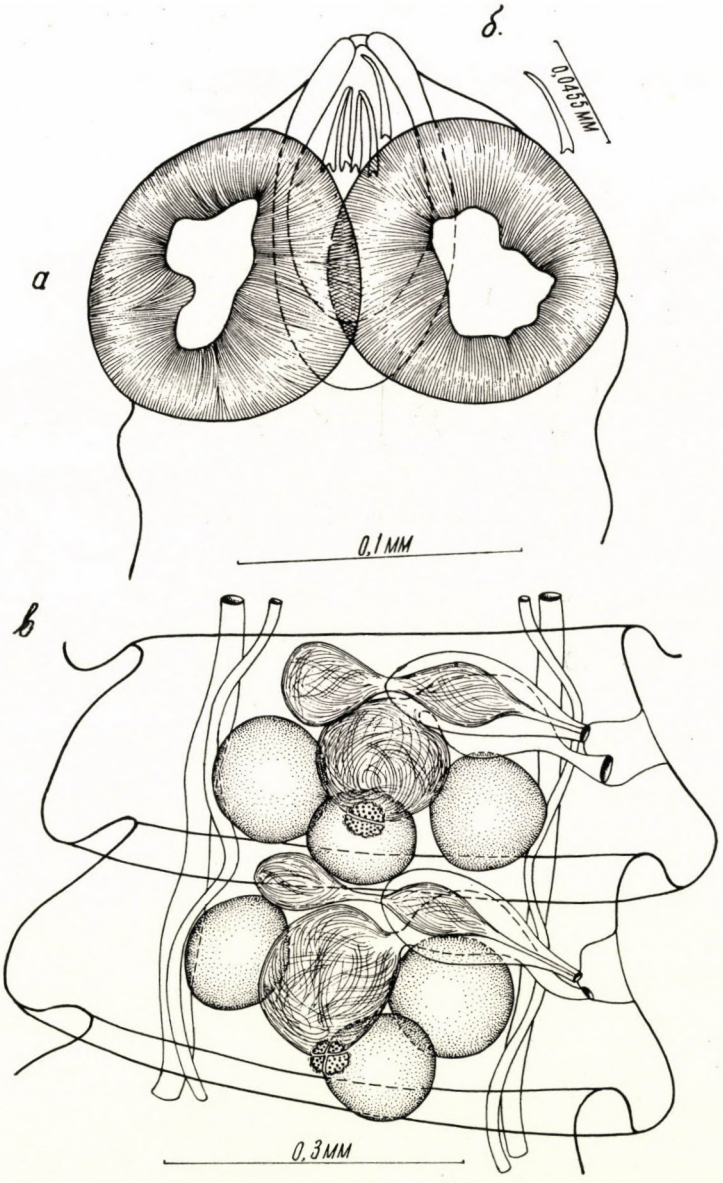


Рис. 10. **Passerilepis stylosa (Rudolphi, 1809)** от **Coloeus monedula.** *а*, сколекс; *б*. крючок хоботка; *в*, половозрелые мужские членики с зачатком яичника

Passerilepis (?) crenata (Goeze, 1782)

Хозяева, время и место обнаружения: **Turdus ericetorum** № 338; **Turdus pilaris** № 136, № 148, № 494, № 496, № 664, № 795, № 809, № 817 № 822, № 887, № 1012, № 1052, № 1055; **Turdus ruficollis** № 199, № 508, № 512, № 520, № 544, № 568, № 584, № 714, № 793, № 839, № 916; **Turdus viscivorus** № 124, № 125, № 142, № 176, № 186, № 189, № 201, № 401, № 525, № 607, № 820, № 829, № 840, № 867, № 967; **Coloeus monedula** № 424, № 510, № 589, № 591; **Corvus corax** № 59, № 81; **Garrulus glandarius** № 175; **Nucifraga caryocatactes** № 583; **Eremophila alpestris** № 326; **Anthus trivialis** № 838, № 936, № 1030; **Emberiza aureola** № 723; **Calandrella cinerea** № 250; **Passer montanus** № 1061; **Sturnus vulgaris** № 493; **Dryobatus major** № 807, добыты с 6 апреля по 7 июля в 1956 г. в окр. Кызыла, Эрзинском и Тоджинском р-нах и с 16 апреля по 22 июля 1957 г. в окр. Кызыла и в Эрзинском р-не.

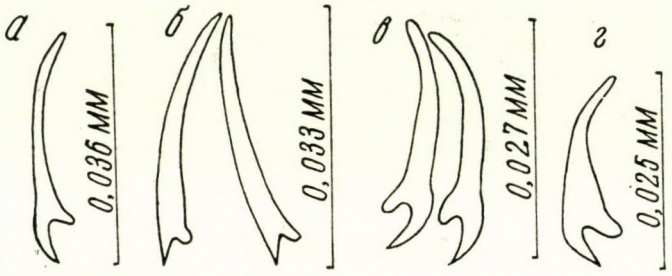


Рис. 11. Сравнительная таблица крючьев гименолепидид со сходным вооружением хоботка. *а*, **Passerilepis dahurica**; *б*, **P. stylosa**; *в*, **P.passeris**; *г*, **P.? crenata**

Интенсивность инвазии: от 1 до 48 экз. на разных стадиях развития — на начальной стадии стробиляции, половозрелые и зрелые.

Род **Wardium Mayhew, 1925**

Wardium fusa (Krabbe, 1869)

Хозяин, время и место обнаружения: **Larus ridibundus** № 620, добыта 8 июля 1957 г. на оз. Тере-Холь.

Интенсивность инвазии: 1 зрелая цестода без сколекса.

Длина тела зрелой цестоды без сколекса 117 мм, наибольшая ширина 1,130 мм. Сколекс отсутствует.

Половые поры односторонние, открываются в передней половине бокового края члеников. Семенники достигают зрелого состояния раньше жен-

ских половых желез. В мужских члениках три семенника, размером 0,080 × 0,054 мм, лежат в одну линию у задней стенки членика. Наружный семенной пузырек округлой формы, находится впереди апорального семенника. Бурса цирруса 0,191 мм длины, доходит до середины членика. Внутренний семенной пузырек занимает все свободное пространство бурсы цирруса. Циррус со вздутием у основания выдвинут на 0,077 мм наружу. Длина

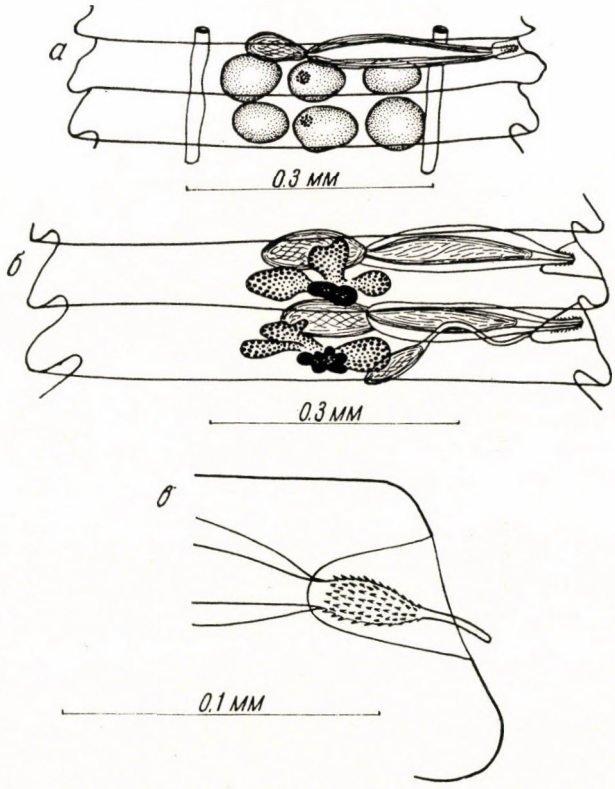


Рис. 12. **Wardium fusa (Krabbe, 1869)** от **Larus ridibundus**
а, половозрелые мужские членики; *б*, почти половозрелые женские членики; *в*, циррус

вздутой части 0,036 мм, толщина 0,010 мм, длина дистальной узкой части 0,031 мм. Поверхность вздутой части цирруса покрыта шипиками.

Женские железы закладываются вентрально в области апоральной части среднего семенника. Желточник компактный, яичник 3-хлопастной. Вагина трубчатая, изогнутая, входит в половую клоаку вентрально и позади бурсы цирруса. Матка мешковидная с изрезанными краями. Онкосфера 0,035 × 0,025 мм, эмбриональные крючья 0,012 мм. Последние 8 члеников освобождены от яиц.

Wardium recurvirostrae (Krabbe, 1869)

Хозяин, время и место обнаружения: **Recurvirostra avocetta** № 464 добыта 25 июня 1957 г. в Эрзинском районе.

Интенсивность инвазии: 20 экз., половозрелые и зрелые.

Изученные нами зрелые цестоды достигают 120 мм длины при наибольшей ширине 1,575 мм. Сколекс 0,357 мм ширины, присоски 0,118×0,109 мм размером. Хоботковое влагалище 0,225 мм длины и 0,110 мм наибольшей

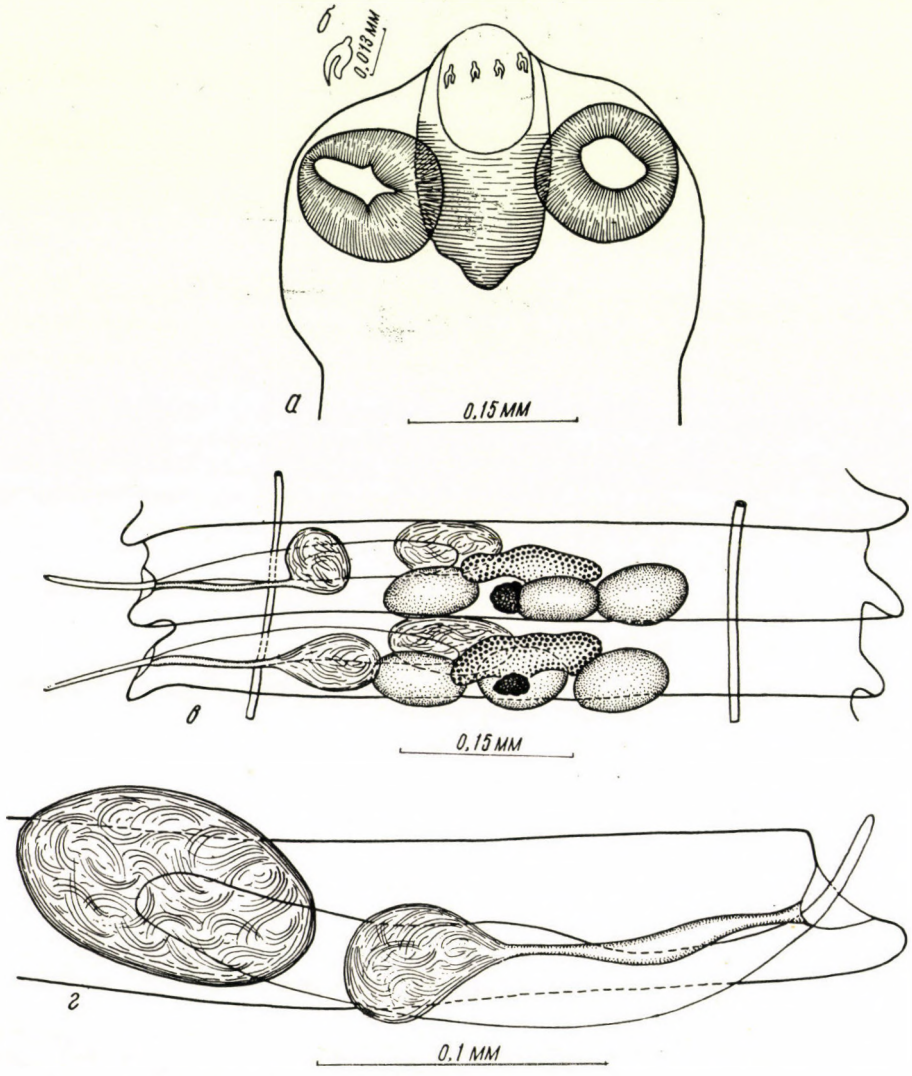


Рис. 13. **Wardium recurvirostrae (Krabbe, 1869)** от **Recurvirostra avocetta**
а, сколекс, *б*; крючок хоботка; *в*, гермафродитные членики; *г*, копулятивный аппарат

ширины. Хоботок 0,109 мм в длину, несет корону из 10 крючьев аплопараксоидного типа длиною 0,013 мм. Шейка 0,311 мм ширины. Выделительные каналы 0,018 мм шириной, анастомозов не наблюдается.

Половые поры односторонние, открываются посредине бокового края члеников. Зачатки половых желез просматриваются сразу позади шейки. Семенники достигают зрелого состояния раньше женских половых желез.

В гермафродитных члениках три семенника размером 0,082×0,064 мм — 0,109×0,055 мм, лежат в одну линию. Наружный семенной пузырек достигает 0,190×0,109 мм. Он располагается впереди порального и, частично, среднего семенников. Внутренний семенной пузырек занимает более половины полости бурсы цирруса. Последняя 0,311 мм длины и 0,038 мм ширины, в мужских члениках достигает середины членика, в гермафродитных — заходит за середину порального семенника. Циррус тонкий (0,008 мм), эвагинирован на 0,127 мм, дистальный конец его заострен, шипиков не наблюдалось.

Женские железы закладываются вентрально в области среднего семенника или между поральным и средним семенниками. Желточник компактный, яичник двукрылый. Вагина трубчатая, 0,110 мм длины и 0,010 мм наибольшей ширины, открывается в половую клоаку вентрально, иногда впереди бурсы цирруса. Копулятивная часть вагины хитинизирована. Семеприемник 0,080—0,100 мм диаметром, лежит порально от семенников. Матка мешковидная с изрезанными краями. Яйца 0,039×0,036 мм, эмбриональные крючья 0,011 мм.

Кроме того, в изученной коллекции гименолепидид в материале от настоящих уток, нами отмечен еще один вид цепней, не отраженный в предыдущих сообщениях. Это **Hymenolepis teresoides Fuhrmann,** 1906. Два экземпляра вида обнаружены в **Anas crecca** (№ 303) добытого на оз. Азас в Тоджинском р-не 23 мая 1957 г.

РЕЗЮМЕ

В статье излагаются результаты изучения коллекции гименолепидид 4-х отрядов птиц: **Charadriiformes, Lariformes, Piciformes, Passeriformes,** из сборов 306. Союзной гельминтологической экспедиции, проведенной Лабораторией гельминтологии АН СССР на территории Тувы.

Камеральной обработке были подвергнуты цестоды, собранные при вскрытии 1760 экземпляров птиц (из которых инвазировано гименолепидидами 91).

При обработке коллекций зарегистрировано 10 видов, перечисленных в тексте работы в систематическом порядке. Для 8-и видов приведены краткие описания и даны оригинальные рисунки.

ЛИТЕРАТУРА

Скрябин, К. И. и Матевосян, Е. М.: Ленточные гельминты-гименолепидиды домашних и охотничье-промысловых птиц. Москва ,1945. Спасская Л.П. , **Acta vet. hung. XI** (1961), 235—258, 311—338. Спасская, Л. П.: **Helminthologia III** (1961), 340—345 Спасская, Л. П. и Спасский, А. А.: **Acta vet. hung. XI** (1961), 13—53. Спасский, А. А., Ивашкин, В. М., Богоявленский, Ю. К. и Сонин, М. Д.: Работа экспедиций Гельминтологической лаборатории Академии наук СССР. Москва, 1958, 73—103.

DIE CESTODEN TUVA'S

VII. Hymenolepididae

L. P. SPASSKAJA

Die Arbeit stellt die Bearbeitung des Cestodenmaterials von Hymenolepididen der Charadriiformes, Lariformes, Piciformes und Passeriformes dar, das vom Helminthologischen Laboratorium der Akademie der Wissenschaften der Sovjet-Union im Gebiet von Tuva während der 306. Expedition gesammelt wurde.

Es waren 1760 Vögel eingehend untersucht und 91 von diesen als mit Hymenolepididen befallen gefunden.

Nach Untersuchung des Materials konnten 10 Arten registriert werden. Für 8 Arten gibt die Verfasserin eine Neubeschreibung mit originalen Abbildungen.

К ФАУНЕ ЦЕСТОД ПТИЦ ТУВЫ

Л. П. СПАССКАЯ

Кафедра общей биологии I Московского ордена Ленина медицинского института и Гельминтологическая лаборатория АН СССР

(Поступило 20 декабря 1962 г.)

На протяжении 1959—62 годов нами проводилась обработка цестодологического материала, собранного 306-й Союзной гельминтологической экспедицией от 2443 экз. птиц на территории Тувинской автономной республики. К настоящему времени опубликовано ряд статей по разным группам цестод птиц Тувы.

В данной статье приводим фауну ленточных червей 5-и семейств: **Diphyllobothriidae, Ligulidae** (отр. **Pseudophyllidea**) **Davaineidae, Paruterinidae** и **Acoleidae** (отр. **Cyclophillidea**). Из сем. **Diphyllobothriidae** обнаружено 2 вида, 1 из них у птиц отр. **Lariformes** (вскрыто 57 экз. 5-и видов) и 1 у **Gaviiformis** (вскрыто 5 экз. 1-го вида). Из сем. **Ligulidae** отмечено 3 вида: 2 — у **Anseriformes** (вскрыто 234 экз. 10-и видов) и 1 — у **Gaviiformes**. Из сем. **Davaineidae** изучен 1 вид от птиц отр. **Piciformes** (вскрыто III экз. 6-и видов), из сем. **Acoleidae** — 2 вида, обнаруженные у птиц отр. **Charadriiformes** (вскрыто 111 экз. 16-и видов); из сем. **Paruterinidae** — 7 видов, которые встречены у птиц отр. **Passeriformes** (вскрыто 1481 экз. 70-и видов).

Ниже приводим описание изученных цестод в систематическом порядке.

Отр. **Pseudophyllidea (Beneden, 1949) Carus, 1863**

Сем. **Diphyllobothriidae Lühe, 1910**

Род. **Diphyllobothrium Cobbold, 1853**

Diphyllobothrium dendriticum (Nitzsch, 1824)

Хозяин, время и место обнаружения: **Larus ichiaetus** № 805; **Larus ridibundus** № 621, добыты 8 и 23 июля 1957 г. в Эрзинском районе.

Длина тела цестоды 100 мм, наибольшая ширина 6 мм. Сколекс ланцетовидной формы, 1 мм длины. Имеется две ботрии, расположенные дорзовентрально. Они кпереди слегка расширены, до шейки не доходят. В первой половине тела членики короткие и широкие, далее становятся узкими и длинными.

В стробиле встречаются половозрелые членики с двойным и с тройным набором половых желез, половых протоков и отверстий. Длина таких чле-

ников преобладает над их шириной в 3—3,5 раза (6 мм длины и 2 мм ширины). При этом число семенников достигает 1500. В нормальных проглоттидах около 500 семенников. Они расположены по всему полю членика, только небольшой участок впереди половой клоаки остается свободным от семенников. Диаметр бурсы цирруса 0,2 мм.

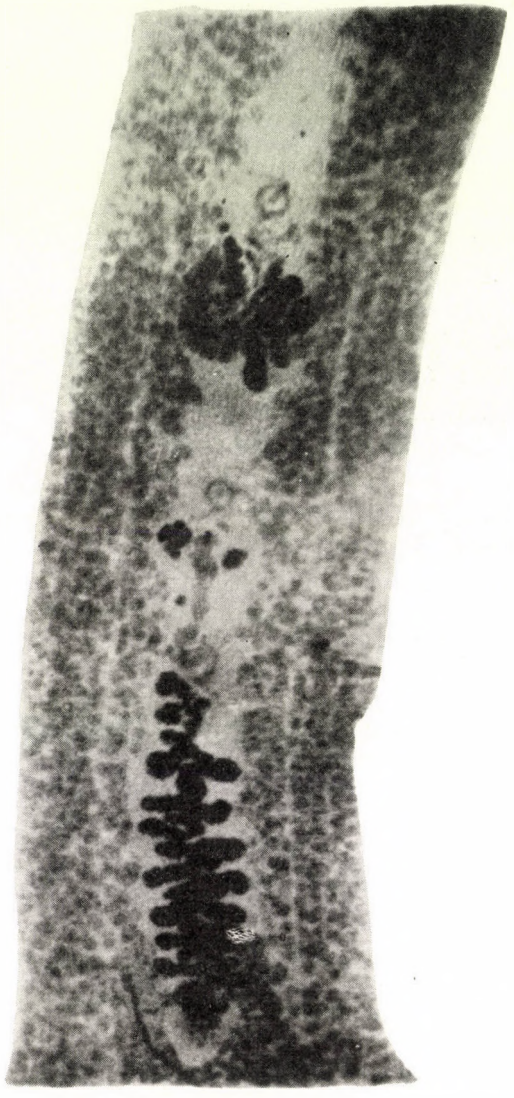


Рис. 1. **Diphyllobothrium dendriticum.** Фото половозрелого членика с тремя наборами половых органов

Яичник сетевидный, двукрылый, лежит у задней границы членика. Концы крыльев заходят в стороны за края задних петель матки. Желточные фолликулы разбросаны латерально. Матка образует 16 петель с каждой стороны (в члениках с тройным набором половых органов — от 5 до 16-и). Яйца 0,059 × 0,040 мм.

Diphyllobothrium ditremum (Creplin, 1825)

Хозяин, время и место обнаружения: **Gavia arctica** № 302, добыта 23 мая 1957 г. в Тоджинском районе.

Интенсивность инвазии: 1 экз.

Сем. **Ligulidae Claus, 1861**
Род **Ligula Bloch, 1782**

Ligula colymbi Zeder, 1803

Хозяин, время и место обнаружения: **Gavia arctica** № 302, добыта 23 мая 1957 г. в Тоджинском районе.

Найдено несколько фрагментов.

Ligula intestinalis (Linne, 1758)

Хозяин, время и место обнаружения: **Mergus merganser** № 846, добыт 18 сентября 1957 г. в Тоджинском районе.

Интенсивность инвазии: 1 экз.

Род **Schistocephalus Creplin, 1829**

Schictocephalus solidus (Müller, 1776) Creplin, 1829

Хозяин, время и место обнаружения: **Mergus merganser** № 284, добыт 19 мая 1957 г. в Тоджинском р-не.

Материал находился в фрагментарном состоянии.

Семейство **Davaineidae Fuhrman, 1907**
Род **Raillietina Fuhrmann, 1920**

Raillietina (R.) frontina (Dujardin, 1845)

Хозяева, время и место обнаружения: **Dryocopus martius** № 219, № 278, № 1000; **Dryobates major** № 224, № 271, № 272, № 316, № 541, № 623, № 807, № 977; **Picus canus** № 141, добыты с 4 мая по 1 июля 1956 г. и с 24 апреля по 26 мая 1957 г. в Эрзинском и Тоджинском р-нах.

Интенсивность инвазии: от 1 до 45 экз. (на начальной стадии стробиляции и половозрелые).

Сем. Paruterinidae (Mola, 1929) Skrjabin, 1940

Род Anonchotaenia Cohn, 1900

Anonchotaenia globata (Linstow, 1879)

Хозяева, время и места обнаружения: **Alauda arvensis** № 101, № 934; **Anthus hodgsoni** № 523; **Anthus richardi** № 256, № 313; **Anthus trivialis** № 497, № 546, № 547, № 619, № 627, № 670, № 690, № 691, № 725, № 845, № 1001, № 1007, № 1091; **Calandrella cinerea** № 230; **Eremophila alpestris** № 3а, № 44, № 58, № 131, № 528; **Erithrina erithrina** № 148; **Emberiza leucocephala** № 475, № 594, № 649, № 736; **Motacilla alba** № 121, № 329, № 459; **Muscicapa striata** № 368, № 597, № 729, № 896; **Parus cyanus** № 14; **Parus major** № 106; **Passer montanus** № 22, № 45, № 48, № 49, № 52, № 55, № 59, № 61, № 65, № 66, № 123, № 141, № 144, № 191, № 245, № 335, № 392, № 402, № 479, № 624, № 657, добыты с 3 апреля по 10 июля 1956 г. в окр. Кызыла, в Эрзинском и Тоджинском районах.

Интенсивность инвазии: от 1 до 8 экз. (на разных стадиях развития — на начальной стадии стробиляции, половозрелые и зрелые).

Род Biuterina Fuhrmann, 1902

Biuterina passerina Fuhrmann, 1908

Хозяева, время и место обнаружения: **Alauda arvensis** № 469; **Emberiza hortulana** № 483, № 1088, **Emberiza leucocephala** № 319, № 598, № 607, № 610, № 854, № 1095; **Passer montanus** № 334, добыты с 2 мая по 10 июля 1956 г. и с 26 мая по 26 июня 1957 г. в Эрзинском и Тоджинском районах.

Интенсивность инвазии: от 3 до 23 экз. (половозрелые и зрелые).

Описание (по экз. от **Emberiza leucocephala** № 598).

Длина тела зрелой цестоды 60 мм, наибольшая ширина 0,790 мм. Сколекс 0,320 мм ширины, несет четыре присоски 0,126 × 0,110— 0,150 мм. Присоскообразный хоботок 0,100 мм в ширину и 0,073 мм в длину, вооружен 44—48 крючьями, располагающимися в два ряда. Длина крючьев 1-го ряда 0,023—0,027 мм, II-го ряда — 0,019—0,022 мм.

Половые протоки проходят между экскреторными сосудами. Дорзальные сосуды 0,021 мм, вентральные — 0,064 мм в ширину. Последние образуют анастомозы. Половые отверстия неправильно чередуются, располагаясь в передней половине или посредине бокового края члеников. В гермафродитных члениках насчитывается 10—14 семенников 0,072 × 0,064 мм размером, они располагаются у задней стенки членика. Бурса цирруса грушевидной формы 0,095—0,136 × 0,045 мм. Семепровод извивается внутри и вне бурсы.

Женские железы располагаются медианно. Желточник компактный, 0,064 мм шириной. Яичник лопастной, вагиной разделен на два крыла. Вагина открывается в половую клоаку позади бурсы цирруса. Семеприемник лежит впереди желточника.

Матка закладывается в виде пузырька вентральнее женских желез, впереди семенников. Затем этот пузырек увеличивается, вытягивается в ширину и разделяется на два, а иногда и на три пузырка, сообщающихся между собой. Парутеринный орган развивается вместе с маткой. В члениках,

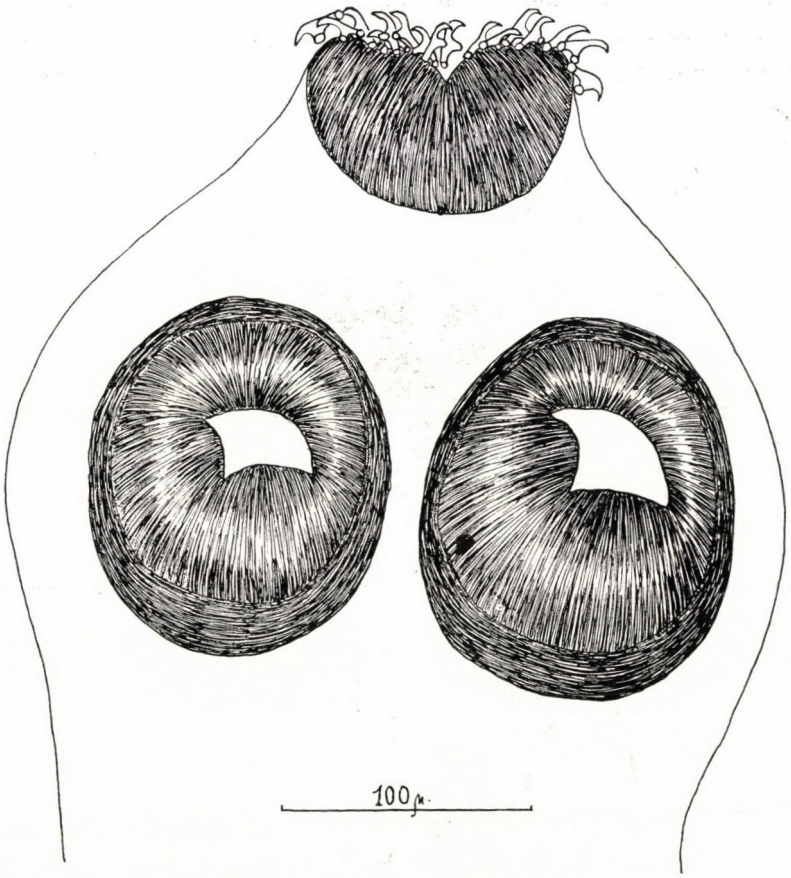


Рис. 2. **Biuterina passerina** от **Emberiza leucocephala.** Сколекс

где матка содержит яйца с развитыми онкосферами, парутеринный орган в виде широкой слегка складчатой трубки, вытянут по длине членика. Яйца 0,045 × 0,045 мм, эмбриональные крючья 0,018—0,019 мм.

Biuterina triangula (Krabbe, 1869)

Хозяин, время и место обнаружения: **Emberiza hortulana** № 771 № 779, добыта 21 июля 1957 г. в Эрзинском районе.

Интенсивность инвазии: 1 сколекс и 3 и 5 фрагментов с развитой маткой и парутеринным органом.

Сколекс 0,600 мм ширины, несет четыре присоски 0,166 × 0,109 мм размером. Присоскообразный хоботок 0,180 мм ширины, вооружен 40 крючьями, располагающимися в два ряда. Длина крючьев 1-го ряда 0,059—0,064 мм, II-го — 0,044 мм.

В зрелом членике имеется матка в виде двух пузырей, заполненных яйцами. К матке примыкает складчатый парутеринный орган. Яйца 0,045 × × 0,036 мм, эмбриофоры 0,034 × 0,023 мм, эмбриональные крючья 0,016 мм.

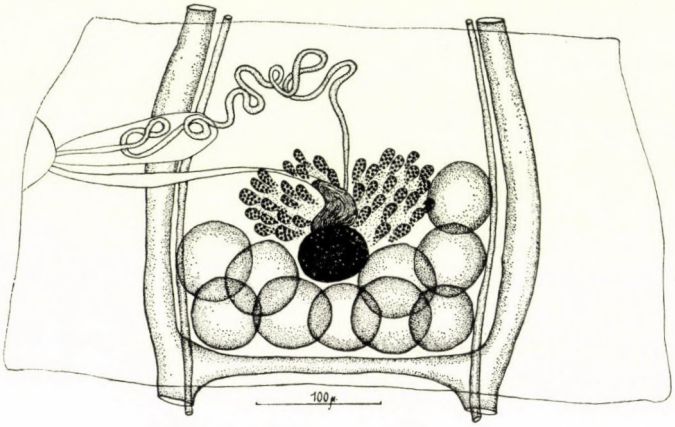


Рис. 3. **Biuterina passerina** от **Emberiza leucocephala.** Половозрелый гермафродитный членик

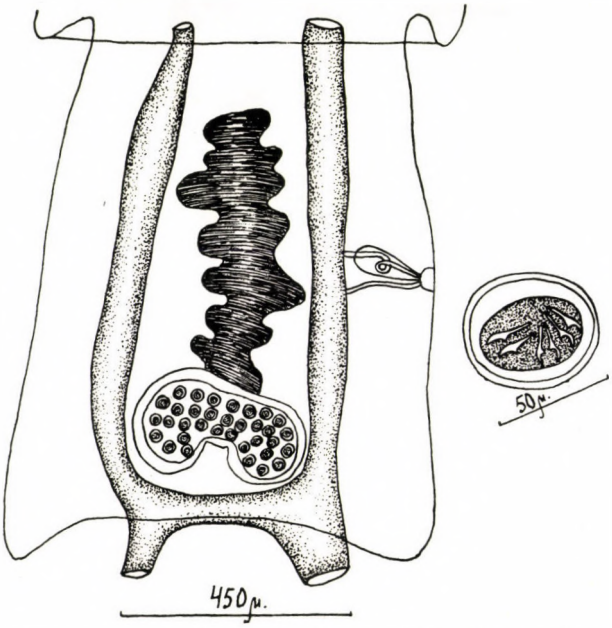


Рис. 4. **Biuterina passerina** от **Emberiza leucocephala.** Маточный членик и яйцо

Род Neyraia Joyeux et Timon-David, 1934

Neyraia intricata (Krabbe, 1879)

Хозяин, время и место обнаружения: **Upupa epops** № 8[а], № 12[б], № 491, добыты с 17 по 22 мая в окрестностях Кызыла.

Интенсивность инвазии: от 2 до 5 зрелых экз.

Описание (по экз. от **Upupa epops** № 8[а]).

Длина тела зрелой цестоды 70 мм, наибольшая ширина 1 мм. Сколекс 0,375—0,517 мм ширины, несет четыре присоски размером 0,220 × 0,145—0,185 мм. Присоскообразный хоботок 0,136 мм в длину и 0,146—0,173 мм

Рис. 5. **Biuterina triangula** от **Emberiza hortulana**. Хоботок, крючья и маточный членик

в ширину, вооружен 80-ю крючьями, располагающимися в четыре ряда. В каждом ряду по 20 крючьев. Длина крючьев 1-го ряда 0,030—0,032 мм, II-го — 0,027 мм, III-го 0,021—0,022 мм, IV-го — 0,013—0,014 мм. Крючья имеют конусовидное основание, которое примерно в три раза длиннее лезвия. Лезвие и отросток крючьев по длине почти равны и располагаются параллельно друг другу.

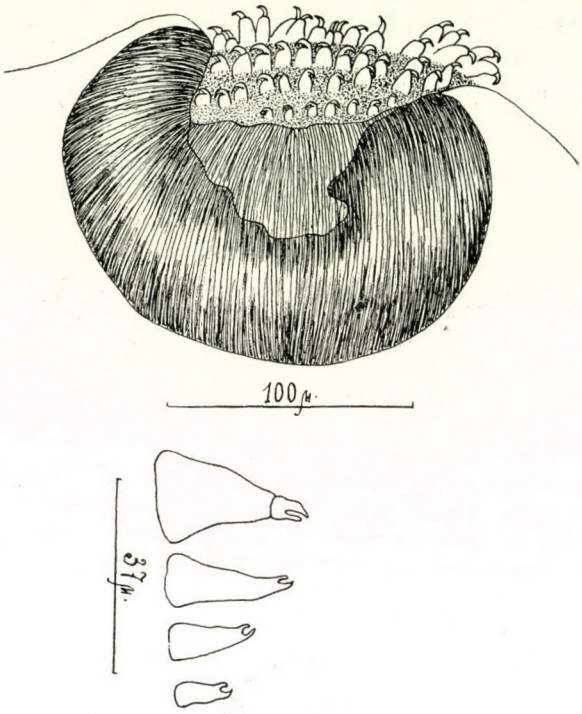


Рис. 6. **Neyraia intricata** от **Upupa epops**. Хоботок и крючья

Дорзальные выделительные каналы 0,020 мм, вентральные — 0,064 мм ширины. Половые отверстия неправильно чередуются, располагаясь посередине или ближе к задней границе бокового края члеников.

В гермафродитных члениках насчитывается 10 семенников, они располагаются в среднем поле второй половины члеников, по бокам от женских половых желез. Семепровод извивается внутри и вне бурсы цирруса. Бурса небольшая, грушевидной формы, 0,100 × 0,041 мм.

Женские железы лежат медианно. Желточник компактный, располагается у задней стенки членика. Яичник двукрылый. Вагина трубчатая, впадает в половую клоаку позади бурсы цирруса. Матка закладывается в виде пузырька вентрально от женских половых желез, затем пузырек вытягивается в ширину и подразделяется на две части. В зрелых члениках матка

находится у задней стенки членика в виде двух пузыревидных образований, которые сообщаются между собой. К ним с передней стороны примыкает парутеринный орган. Он располагается во всю длину членика, а в ширину достигает экскреторных каналов. Яйца 0,064 × 0,054 мм, эмбриофора 0,040

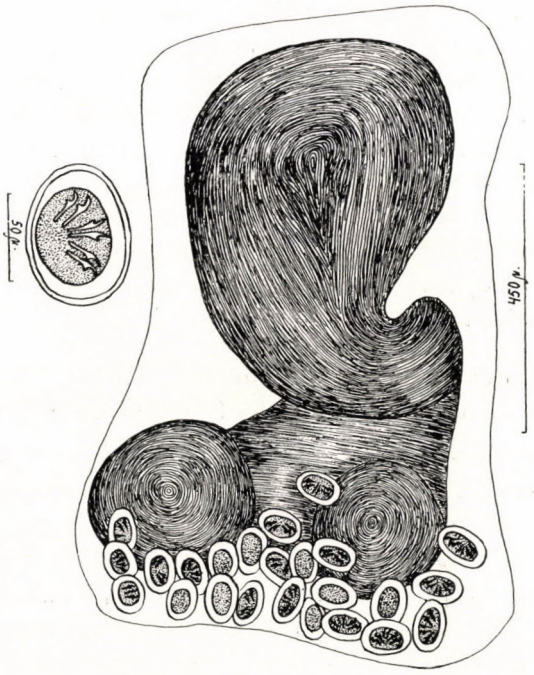


Рис. 7. **Neyraia intricata** от **Upupa epops**. Маточный членик и яйцо

× 0,025 мм, эмбриональные крючья 0,023 (средние крючья часто имеют оттянутое лезвие и достигают 0,027 мм длины).

Род **Orthoskrjabinia Spassky, 1947**

Orthoskrjabinia conica (Fuhrmann, 1908)

Хозяева, время и место обнаружения: **Coccothraustes coccothraustes** № 805; **Parus atricapillus** № 855, добыты в период с 19 по 23 июня в Тоджинском районе.

Интенсивность инвазии: от 3 до 14 экз. (незрелые, половозрелые и зрелые).

Описание (по экз. от **Coccothraustes coccothraustes** № 805).

Длина тела цестоды 70—100 мм, наибольшая ширина 0,88 мм. Сколекс 0,395 мм ширины несет четыре присоски размером 0,146 × 0,127 мм. На переднем конце сколекса имеется очень маленькое конусовидное возвышение (не всегда отчетливо видно) с ямочкой на вершине.

Половые отверстия неправильно чередуются, открываются посредине бокового края члеников.

В гермафродитных члениках насчитывается 9 семенников они располагаются по бокам от женских желез: три — порально и шесть апорально или четыре — порально и пять — апорально. Бурса цирруса небольшая, не доходит до поральных выделительных каналов.

Женские половые железы слегка смещены от средней линии членика к поральной его стороне. Яичник и желточник компактные, находятся у задней стенки членика. Матка, содержащая незрелые яйца, представлена 5—6-ью пузыревидными камерами. По мере созревания яиц границы между камерами исчезают, матка принимает вид дуги, вогнутой стороной направленной вперед. Матка лежит у задней стенки членика. От ее переднего конца отходит мускулистый парутеринный орган. Последний имеет широкое основание, посередине он сужен, в передней части закруглен. Яйца 0,041 × 0,038 мм, эмбриональные крючья 0,016 мм.

Род **Paruterina Fuhumann, 1908**
Paruterina cholodkowskii Skrjabin, 1914

Хозяин, время и место обнаружения: **Lanius cristatus** № 439, № 525, № 825, № 892, добыты с 20 по 25 июня 1956 г. в Тоджинском районе и с 21 по 29 июня 1957 г. в Эрзинском районе

Интенсивность инвазии: от 1 до 7 экз. (на разных стадиях развития: на начальной стадии стробиляции, половозрелые и зрелые).

Описание (по экз. от **L. cristatus** № 892). Длина тела зрелой цестоды 80 мм, наибольшая ширина 1,3 мм. Сколекс 0,335 мм ширины, несет четыре присоски диаметром 0,135 мм. Присоскообразный хоботок 0,110 мм в длину и 0,055 мм в ширину, вооружен 40 крючьями (по Скрябину—50—60 крючьями) 0,016—0,018 мм длиной, располагающимися в слабо разграниченные два ряда.

Вентральные экскреторные сосуды 0,036 мм шириной, образуют анастомозы. Половые отверстия неправильно чередуются, открываясь в передней половине бокового края члеников.

В гермафродитных члениках насчитывается 16—18 семенников диаметром 0,058 мм, лежащих по бокам и позади женских желез. Семепровод извивается внутри и вне бурсы цирруса. Последняя размером 0,145 × 0,045 мм, достигает линии поральных выдетельных сосудов. Стенки бурсы толстые — 0,006 мм, в них хорошо заметна продольная мускулатура.

Женские железы располагаются в средней части членика. Желточник компактный, яичник нелопастной. Вагина входит в половую клоаку позади бурсы цирруса. Матка закладывается в средине членика, вентрально от женских половых желез, в виде сильно лопастного амебоидного тельца. У переднего края матки развивается парутеринный орган, который постепенно

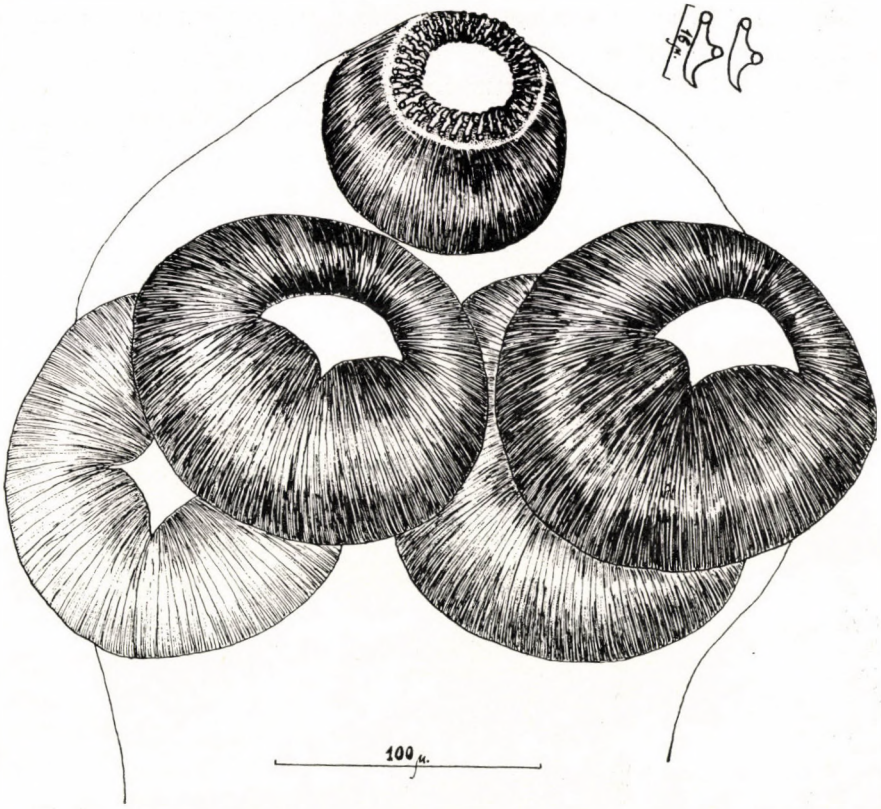


Рис. 8. **Paruterina cholodkowskii** от **Lanius cristatus.** Сколекс и крючья

окружает матку и образует отходящие внутрь выросты. Последние затем охватывают находящиеся в ней яйца. Яйца 0,050 × 0,045 мм, эмбриофоры 0,036 × 0,036 мм, эмбриональные крючья 0,018 — 0,020 мм.

Род Notopentorchis Burt, 1938

Notopentorchis iduncula (Spassky, 1946) Spasky et Spasskaja, 1959

Хозяин, время и место обнаружения: **Apus apus** № 756, добыт 14 июня 1956 г. в Тоджинском р-не.

Интенсивностъ инвазии: 1 экз.

Длина тела зрелой цестоды 40 мм, наибольшая ширина 0,540 мм. Сколекс 0,135 мм ширины, несет четыре присоски размером 0,080 × 0,060 мм. Присоскообразный хоботок 0,072 мм в ширину и 0,062 мм в длину, вооружен 38-ю крючьями парутериноидного типа, располагающимися в два ряда. Длина крючьев 0,031 мм.

Половые отверстия неправильно чередуются, открываясь по средине бокового края члеников. В гермафродитных члениках насчитывается 5—6

семенников диаметром 0,045 мм, залегающих по бокам и позади женских желез. Семепровод извитой вне и внутри грушевидной бурсы цирруса. Последняя 0,073 мм длины и 0,040 мм ширины.

Женские железы закладываются медианно. Желточник компактный находится посредине членика. Яичник компактный не образует лопастей.

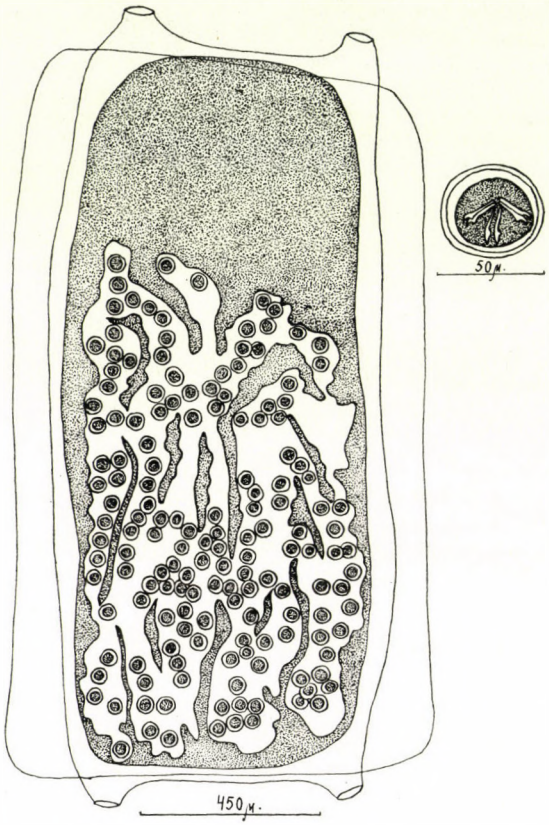


Рис. 9. **Paruterina cholodkowskii** от **Lanius cristatus.** Маточный членик и яйцо

Вагина открывается в половую клоаку позади бурсы цирруса. Матка в начале имеет вид небольшого округлого пузырька, располагающегося в середине членика. В последующих проглоттидах матка увеличивается, к ее передней стенке примыкает широкий и короткий парутеринный орган. Яйца 0,036 % 0,036 мм, эмбриональные крючья 0,019 мм.

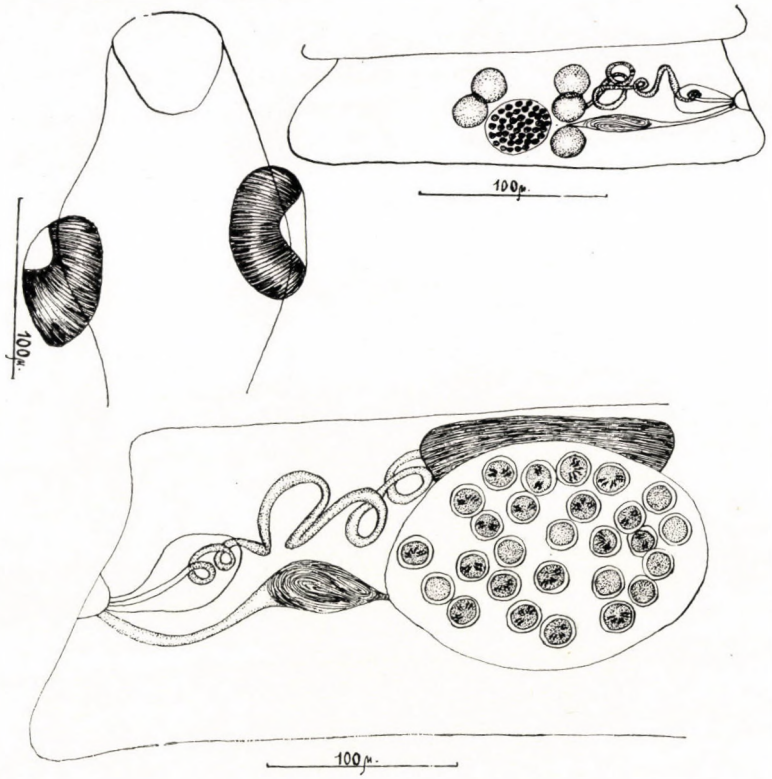


Рис. 10. **Notopentorchis iduncula** от **Apus apus.** Сколекс, молодой маточный членик с сохранившимися семенниками, часть более зрелого маточного членика с зачатком парутеринного органа

Семейство **Acoleidae Fuhrmann, 1907**
Род **Gyrocoelia Fuhrmann, 1899**

Gyrocoelia paradoxa Southwell, 1930

Хозяин, время и место обнаружения: **Charadrius alexandrinus** № 278, № 344, № 434, № 505, добыты 27 апреля и 3 мая 1956 г., 20 и 25 июня 1957 г. в Эрзинском районе.

Интенсивность инвазии: от 1 до 2 экз.

(За № 434 и № 505 (1957 г.) встречены мужские и женские особи, за № 278 и № 344 (1956 г.) — только женские.)

Описание (мужской особи по экз. от **Ch. alexandrinus** № 434 и женской особи по экз. 344).

Длина тела мужской особи 20 мм, наибольшая ширина 1,170 мм. Сколекс 0,310 мм ширины. Присоски 0,154—0,190 × 0,136 мм. Хоботок 0,238 мм в длину и 0,076 мм в ширину. Крючьев в наличии не оказалось.

В мужских половозрелых члениках насчитывается 25—30 семенников диаметром 0,045 мм, лежат они в центре членика. Семепровод извитой внутри и вне бурсы цирруса. Бурса цирруса при эвагинированном циррусе небольшая, 0,182 мм длины и 0,138 мм толщины, при втянутом циррусе — 0,457 мм

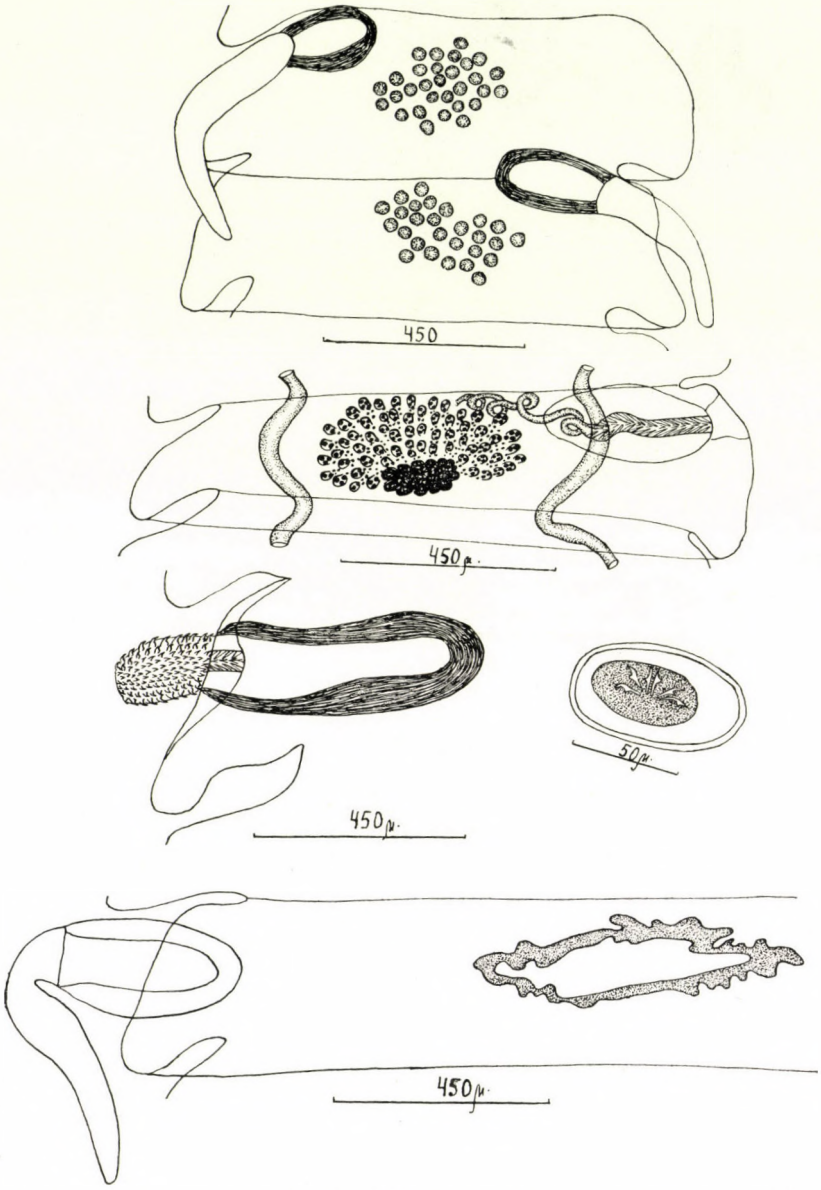


Рис. 11. **Gyrocoelia paradoxa** от **Charadrius alexandrinus.** Членики мужской стробилы; половозрелый членик женской стробилы; мужской копулятивный орган; яйцо; поральная часть молодого маточного членика из женской стробилы

длины и 0,173 мм толщины. Стенки бурсы снабжены толстым слоем мускулатуры, особенно заметна продольная. Циррус толстый (у основания 0,075—0,090 мм) и длинный (0,525 мм), покрыт шипиками 0,015 мм длиной.

Женские стробилы 3,375 мм наибольшей ширины. В женских половозрелых члениках женские железы располагаются в центре. Желточник и яичник лопастные. Бурса цирруса 0,360—0,500 мм длины и 0,180—0,225 мм ширины. Семепровод извивается внутри и вне бурсы цирруса.

Матка в форме кольца с изрезанными краями. Яйца 0,072 × 0,045 мм, эмбриофоры 0,050 × 0,027 мм, эмбриональные крючья 0,014 мм.

Род Diplophallus Fuhrmann, 1900
Diplophallus polymorphus(Rudolphi, 1819)

Хозяин, время и место обнаружения: **Recurvirostra avocetta** № 464, добыта 18 мая 1957 г. в Тоджинском р-не.

На 3-х препаратах имеются фрагменты стробил этого вида длиной по 8—40 мм и шириной 6—7 мм, с развитой маткой, но еще не зрелые.

Бурса цирруса 0,315—0,450×0,235 мм. Циррус 0,99 ж × 0,135 мм, к дистальному концу суживается.

РЕЗЮМЕ

Изучена коллекция цестод от птиц Тувы. В данной статье приведены следующие виды гельминтов: **Diphyllobothrium dentriticum, D. ditremum, Ligula colymbi, L. intestinalis, Raillietina (R) frontina, Anonchotaenia globata, Biuterina passerina, B. triangula, Neyraia intricata, Orthoskrjabinia conica, Paruterina cholodkowskii, Notopentorchis iduncula, Gyrocoelia paradoxa** и **Diplophallus polymorphus**. Для большинства из них даются новые описания и рисунки. Представители других групп ленточных червей, встреченных в тувинском материале, описаны в наших предыдущих работах.

ЛИТЕРАТУРА

Дубинина, М. Н.: Паразитол. сб. Зоол. ин-та АН СССР **XII** (1957), 251—276. Спасская, Л. П.: Acta vet. hung. **IX** (1959), 77—100; **XI** (1961), 235—258, 311—338, 423—440. Joyeux, Ch. и Baer, J. G.: Cestodes. Faune de France. Paris, 1936. Спасская, Л. П. и Спасский, А. А.: Acta vet. hung. **XI** (1961), 13—53. Спасский. А. А.: Тр. Горьковского гос. пед. ин-та им. М. Горького **XII** (1947), 48—58.

ZUR CESTODENFAUNA TUVA'S

L. P. Spasskaja

Das untersuchte Cestodenmaterial — Diphyllobothrium dendriticum, D. ditremum, Ligula colymbi, L. intestinalis, Raillietina (R) frontina, Anonchotaenia globata, Biuterina passerina, B. triangula, Neyraia intricata, Orthoskrjabinia conica, Paruterina cholodkowskii, Notopentorchis iduncula, Gyrocoelia paradoxa und Diplophallus polymorphus — ist ein Teil der Cestuden aus Tuva. Die meisten Arten werden neubeschrieben und mit lehrreichen Abbildungen versehen.

COMPARATIVE STUDIES ON THE POTENCY OF DIFFERENT CRYSTAL-VIOLET SWINE-FEVER VACCINE BATCHES

By

ELISABETH SIMONYI, K. BOGNÁR, G. KUCSERA and J. REGŐS

State Institute for the Control of Veterinary Serobacteriological Products (Director: ELISABETH SIMONYI), Budapest

(Received January 4, 1963)

Crystal violet swine fever vaccine has been applied with more or less success all over the world. The actual importance of its use as well as its advantages and disadvantages have been a subject of discussion both in this country and abroad.

A number of authors have reported on the safety and potency tests of crystal violet vaccines. As experimental animal the swine was used in every case; COLE and HENLEY (1946), DOYLE and WRIGHT (1947), NAKAMURA and SUGIMURA (1953), GEIGER and POPPE (1953), DRAGER (1955) and PASCU *et al.* (1961) evaluated the efficiency of the material on the basis of a single vaccination, while FUCHS (1955) and PEHL and SCHULZE (1956) vaccinated the test animals twice. The dose to be used for challenge, is also under discussion; the amount of swine fever virus administered by the different authors varies between 1000 and 1 million LD.

In the course of the safety and potency tests on the crystal violet swine fever vaccine routinely performed in this institute, several considerable observations have been made during the recent years. The tests were performed on pigs by vaccinating on 1 occasion and using a dose of 1 million LD of swine fever virus for challenge.

As a matter of course the above vaccine tests generally yield good approximative information, but similarly to other biological methods, the reproducibility of the results is rather poor.

The experimental errors involved are mainly due to differences in the individual or hereditary susceptibility of the animals as well as to changes in the experimental conditions. More uniform results can be obtained by increasing the number of test animals and by parallel testing a preparation regarded as standard.

We could not afford increasing the number of test animals, but the present examinations were performed throughout with the same virus material prepared and regularly controlled in this institute and stored at $-20°$ C for several months; the test animals were selected from the same breed and several batches of vaccine were examined in parallel experiments. According to our observations made during the recent years, the above examinations and the comparison of the results of repeated tests are sufficient for the

correct evaluation of vaccines; nonetheless, with regard to certain literary data, further investigation seemed to be necessary on the following problems:

1) whether the immunity conferred is higher when animals are vaccinated at the place where they are reared;

2) whether there is any demonstrable difference in the response of the vaccinated animals when challenged with 1000, 10,000 or 1 million LD of swine fever virus;

3) whether there is any demonstrable difference in the efficiency of the vaccine if the animals are infected by contact instead of being challenged subcutaneously with 1 million LD of virus;

4) whether any difference may be demonstrated in the relative potency of a vaccine if pigs are given two doses of vaccine instead of one.

In order to elucidate these questions, two large-scale experiments were performed last year. The results are summarized in the present paper.

In the course of the first experiment 8 batches of the crystal violet vaccine were tested on a total of 192 pigs at a state farm. The history of the individual batches was as follows:

1. Vaccine "a" had repeatedly been examined at this institute and found satisfactory;

2—3. Vaccines "b" and "c" had repeatedly been tested and found to be unsatisfactory;

4—5—6. Vaccines "d", "e" and "f" had also been tested repeatedly at this institute and found to meet but the minimum requirements of standard prescriptions.

7—8. Vaccines "g" and "h" had not been tested by the authors.

The animals were vaccinated at the state farm, and infected at our institute 3 weeks later. The average body weight of the animals was 36 and 42 kg at immunization and challenge, respectively. Each of the vaccines to be tested was administered to a group consisting of 18 animals. These were divided into three equal groups and challenged with 1000, 10,000 and 1 million LD of swine fever virus, respectively.

The virus material used was titrated prior to the experiment on two occasions. Its titre was 500,000.

The results are summarized in Table I.

Although we failed to reproduce our earlier results numerically, an order of efficiency could be established, which is in good accordance with our earlier findings on the same vaccines.

The best results were achieved with vaccine "a"; *viz.* out of the 18 animals immunized with this material 11 survived infection. The number of survivors was 10 in both groups "d" and "g"; in group "e" it was 9, while in group "f" only 8 pigs survived. Thus the present findings supported our earlier results that these vaccines are less efficient than vaccine "a" and they

Table I

Designation of vaccine	Challenge dose			Total	Controls	Earlier results
	1000 LD	10,000 LD	1 million LD			
"a"	2/6*	1/6	4/6	7/18	6/6	satisfactory
"b"	5/6	5/6	4/6	14/18	6/6	unsatisfactory
"c"	2/6	5/6	6/6	13/18	6/6	unsatisfactory
"d"	2/6	3/6	3/6	8/18	6/6	minimum requirement
"e"	4/6	2/6	3/6	9/18	6/6	minimum requirement
"f"	3/6	3/6	4/6	10/18	6/6	minimum requirement
"g"	4/6	3/6	1/6	8/18	6/6	not tested
"h"	4/6	6/6	5/6	15/18	6/6	not tested

* In the numerator the number of deceased, in the denominator the number of vaccinated animals is presented.

hardly meet the minimum requirements. The least encouraging results were obtained with vaccine "h", which protected 3 animals only, while the number of survivors was somewhat higher, *viz.* 4 and 5, in the groups vaccinated with the batches "b" and "c", respectively, which were qualified in our earlier examinations as unsatisfactory.

On the basis of the above observations we have the impression that the experimental conditions in our institute are at least similar to those prevailing in the piggeries; moreover, the swine stock used in our previous studies was certainly better than that used in the present experiments, *i.e.* it was superior to stocks of average quality.

The potency tests revealed no significant differences according to the challenge dose. (1000, 10,000 or 1 million LD of virus.) All what could be observed was that on infection with 1 million LD virus material the animals became febrile 1 day earlier than those belonging to the other 2 groups and the clinical symptoms of the disease as well as death ensued also earlier. However, at the end of the 2 weeks' observation period no difference between the 3 groups could be observed.

The second large-scale study was performed at this institute. In the course of this experiment eighty-one pigs with 37 kg average body weight were vaccinated with batches "a", "b", "d" or "e". The animals were divided into 3 groups. The first group received a single 5 ml dose of vaccine and was challenged with swine fever virus on the 21st day after vaccination, subcutaneously. The pigs belonging to the second group also received one dose

of vaccine, but on the 21st day these were exposed to contact infection. The 3rd group was vaccinated twice at 14 days' intervals; 5 ml doses were administered subcutaneously on both occasions and on the 21st day after the second injection they were challenged with 1 million LD of swine fever virus. The results are summarized in Table II.

Table II

Designation of vaccine	Once vaccinated			Twice vaccinated		Earlier results
	s. c.	Contact	Controls	s. c.	Controls	
"a"	0/6*	—	3/3	—	—	satisfactory
"b"	5/6	4/6	4/4	1/6	2/2	unsatisfactory
"d"	2/6	1/6	4/4	0/6	2/2	minimum requirement
"e"	1/6	1/6	4/4	0/6	2/2	minimum requirement

* The numerator designates the number of deceased animals, the denominator that of vaccinated ones.

Vaccine "a" was found to have met all requirements of standard prescriptions also in this experiment while protection with material "b" was again poor against both subcutaneous and contact infections; however, after two inoculations the results were considerably better; only one pig died in contrast to the 4 and 5 deaths, respectively, occurred in the other two groups.

In conformance with our earlier observations, a single dose of vaccines "d" and "e" hardly met the minimum requirements as to protection against either subcutaneous or contact infection; yet when these batches were administered twice, they proved to be satisfactory.

On the basis of the present results it might be concluded that the degree of protection does not depend on the environment where vaccination was performed; nor have differences in dosage — 1000, 10,000 or 1 million LD virus — used for challenge by subcutaneous or contact infection any demonstrable influence on the efficiency of the vaccine. In contrast to this, the protection is considerably higher after repeated vaccination.

It was also found that differences in the quality and antigenic properties of vaccines can be more exactly evaluated on the basis of the single-dose vaccination procedure than by the administration of two injections.

SUMMARY

Comparative studies were performed on the efficiency of 8 batches of crystal violet swine fever vaccine on a total of 273 pigs. The conclusions drawn from two large-scale experiments are as follow.

1. Pigs did not develop higher degree of immunity when vaccinated at the piggery instead of the laboratory.

2. The rate of protection was not influenced significantly by the dose of the challenge virus within the range from 1000 to 1 million lethal doses of swine fever virus.

3. Challenge by contact infection showed approximately the same rate of protection as that by subcutaneous administration of 1 million LD of swine fever virus.

4. A second dose of vaccine increased the efficiency of vaccination significantly.

In the authors' opinion differences in quality and antigenicity among individual batches of vaccine can be evaluated more exactly if a single dose of vaccine is administered.

REFERENCES

COLE and HENLEY: Proceedings U. S. Livestock Sanit, Assoc. 5th Annual meeting. 1946. DOYLE and WRIGHT: Vet. J. **103** (1947), 406. DRÄGER: Wiss. Beiträge für die tierärztliche Praxis "Schweinepest", 1955. FUCHS: Arch. exp. Vet. Med. x **9** (1955). GEIGER and POPPE: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 1953, 6. NAKAMURA and SUGIMURA: Bull. de l'Office Int. des Epizootics **40** (1953). PASCU, GHEORGIU, ALBU, and ELFTERESCU: Lucr. stient. Inst. Pasteur **5** (1961), 151. PEHL and SCHULZE: Arch. exp. Vet. Med. **10** (1956), 591.

CHARACTERISTIC FEATHERING DISORDER OBSERVED IN CHICKENS FED WITH VITAMIN D_3 DEFICIENT DIET

By

B. Tóth, G. Géczy, G. Lakits and G. Barsy

Phylaxia State Serum Institute (Dir.: J. Molnár) Budapest, and State Institute of Hygiene (Dir.: T. Bakács) Budapest

(Received February 26, 1963)

Recently several authors have formed the opinion that vitamin D is not only responsible for the calcium and phosphorus regulation of the organism but also has influence on other metabolic processes. Thus Marek, Wellmann and Urbányi (1940) were the first to point out that besides its influence on Ca and P metabolism, the anti-rachitic effect of vitamin D is also due to its role in the better utilization of some food components as well as in the reduction of excretion and stimulation of metabolic activity. According to Mraz and Bacon (1960) large doses of vitamin D_3 accelerate the excretion of strontium-89. Worker and Migicovszky (1961) found that vitamin D has marked influence on both absorption and metabolism of Be, Mg, Sr and Ba.

The data summarized in the present paper may also throw some light on the mechanism of action of vitamin D. A characteristic feathering disorder hitherto not described in the literature was observed by us on chickens used for vitamin D_3 assay.

The assay of vitamin D was made as described by György in "Vitamin methods". The experimental chickens were kept for a week on the rachitogenic diet suggested by the F. D. A. (Loy, Dewitt and Knudsen (1941). The diet consisted of 54 per cent maize meal, 20 per cent wheat meal, 10 per cent oat flakes, 11.5 per cent casein, 1 per cent calcium carbonate, 0,5 per cent dicalcium phosphate, 1 per cent iodinized NaCl, 0.02 per cent manganese sulphate and 2 per cent dried yeast. After being kept on this diet for 1 week, the chickens were divided into groups consisting of 10—12 animals each. The individual groups were kept well separated in a room with adequate temperature and ventilation. One of the groups serving as control was fed with the above rachitogenic diet throughout. In the other groups the basic rachitogenic diet was supplemented from the 8th day of experiment on with different amounts of vitamin D_3, *viz.* groups received 60 IU, 120 IU or 240 IU per kg food of the standard vitamin D preparation kindly supplied by the British Standard Institution; the diet of the remaining groups was supplemented with similarly varying doses of the vitamin preparation under examination. After 1 week of vitamin-excretion period the chickens were kept alive for further 3 weeks, in the course of which their weight was checked individually every week. At the end of the 3rd week the animals were sacrificed and the ash content of their bones was determined. For the determination of ash content the authors are indebted to Prof. Dr. L. Urbányi.

The aforementioned disorder manifested itself in the rudimentary development of the vane of primary remiges of the wing *(pennae remiges)*. Normally broad, elastic membrane-like vanes develop bilaterally over the full length of the rachis so that on the quill extending from the epidermis only a 1 to 3 mm portion is bald.

However, the chickens kept on vitamin D_3 deficient diet exhibited inadequate growing of vexillum. Up to the 2nd to 3rd week of their lives the vane appeared to be normal but from this time on the barbs were underdeveloped and the barbules were unusually thin and short. According to our observation the inadequately developed barbs do not extend in the lateral direction and, consequently, the respective portion of the rachis has a bald appearance. It ought to be mentioned here that in yellow New Hampshire chickens, in addition to the above symptom, a characteristic black pigmentation of the defective barbules occurs. At the distal end of the wing feathers of chickens kept on vitamin D_3 deficient diet the vane is normally developed while at the proximal end a shorter or longer portion of the rachis appears to be bald (see Fig. 1).

The ratio of the bald portion to the full length of the rachis was also determined. The wing was spread in a fan-like fashion and illuminated from behind; then on the 4th primary remix counted from the distal end of the wing the full length of the rachis as well as that of the bald portion was measured. The well-visible epidermic fold where the feather arises from the skin served as the starting point of measurement. On the basis of these measurements the ratio of the bald and feathered portions of the rachis, called by us "plumage ratio", was calculated in per cent by taking the full length of the rachis for 100 per cent.

On the chick groups for the assay of vitamin D_3, regular observations were made concerning the influence of different amounts of vitamin supplement on the weight gain, ash content of bones, and plumage ratio. The results of 3 experiments are presented in Table I. In experiments I and II the different supplements were tested on groups consisting of 10 to 12 chicks while in experiment III test groups consisted of 25 animals each. The statistical evaluation of plumage ratio revealed significant differences between the control and vitamin-treated groups while no such differences could be demonstrated among the groups given different amounts of vitamin supplement. A possible explanation for this is the rather large individual dispersion observed within groups as shown in Table II.

According to the data summarized in Table I, on the basis of bone-ash content and weight gain, the efficiency of the vitamin preparations under examination could be determined in relation to international standards within relatively narrow limits of error. From the plumage ratio, however, no conclusions on the actual vitamin D_3 concentration could be drawn because the

Table 1

Determination of vitamin D_3 on chickens

Preparations	Experiment I			Experiment II			Experiment III		
	Bone ash content	Weight gain	Plumage ratio	Bone ash content	Weight gain	Plumage ratio	Bone ash content	Weight gain	Plumage ratio
	per cent								
Control	36,44	100	75,5	36,80	100	64,6	—	100	78,4
Standard 60 IU	—	—	—	—	—	—	—	138,1	88,8
120 IU	42,33	133	95,4	38,70	122,9	83,7	—	141,1	93,2
240 IU	44,98	134,8	94,4	46,22	142,6	94,4	—	165,1	90,9
Test sample I	37,47	104,2	77,8	38,57	112,0	74,9	—	124,4	87,8
Test sample II	41,08	119,8	84,8	44,30	126,7	91,5	—	132,3	89,6
Test sample III	—	—	—	—	—	—	—	139,8	92,4

Table II

Comparison of the plumage ratio of vitamin-treated and untreated 4 weeks old chickens

	Untreated group	Groups treated with vitamin D_3	
		120 IU	240 IU
a) Values of plumage ratio	96	98	96
	60	84	98
	78	100	95
	95	100	75
	49	90	94
	84	97	98
	59	97	96
	95	100	97
	74	90	98
	67	98	97
	74		
	75		
b) Average values	75.5	95.4	94.4

Significance of the differences of means:

	df	t	per cent
Untreated — treated with 120 IU	20	3.61	<1
Untreated — treated with 240 IU	20	3.34	<1
Treated with 120 IU — treated with 240 IU	18	0.36	70

dispersion of its values was too high. Anyway, from the data presented in Table II it is obvious that significant difference exists in the plumage ratio between the groups kept on diets supplemented with, and those deficient in vitamin D_3. Accordingly, this vitamin has a decisive influence on the plumage ratio of chickens. The deviations of the latter, presented in Table II, are indicative that in hornification besides vitamin D_3 other factors have a role.

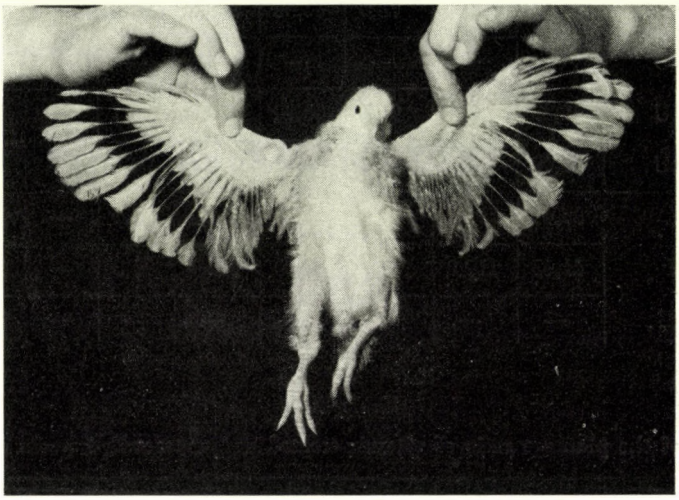


Fig. 1. Characteristic feathering disorder of a 4 weeks old chicken kept on vitamin D_3 deficient diet

In order to elucidate the causes of the feathering disorder observed, a series of further experiments was performed. First of all the possibility of the insufficiency of sulphur metabolism was investigated and for this purpose the sulphur content of feathers was determined. The feathers were cut into small pieces and treated with a 40 per cent solution of NaOH. The organic sulphur compounds present in the solution were then oxidized to sulphates with sodium bromide in alcaline medium. From the acidized solution $BaSO_4$ was separated by boiling with $BaCl_2$. Finally the sulphur content was determined from the weight of the filtered and calcined precipitate.

The sulphur concentrations present in the feathers of chickens kept on diets containing various amounts of vitamin D_3 supplement are visible in Figure 2. As revealed in the graph, the sulphur concentration in the feathers of animals kept on vitamin D_3 deficient diet was remarkably lower than that of animals given vitamin supplementation. Though the low number of sulphur determinations performed does not permit general conclusions, the results already available suggest the role of vitamin D_3 in hornification as well as in the deposition of sulphur in the epithelial cells.

It was found that the aforementioned disorder of vane growing started in chickens at about the 3rd week of life, simultaneously with the developing of rachitic symptoms, *e.g.* stiff-legged gait and softening of the beak. The weekly calculation of "plumage ratio" revealed that at 2 weeks of age there was no difference in the vane growing between the vitamin-deficient and the supplemented groups while differences were already observable in 3 weeks

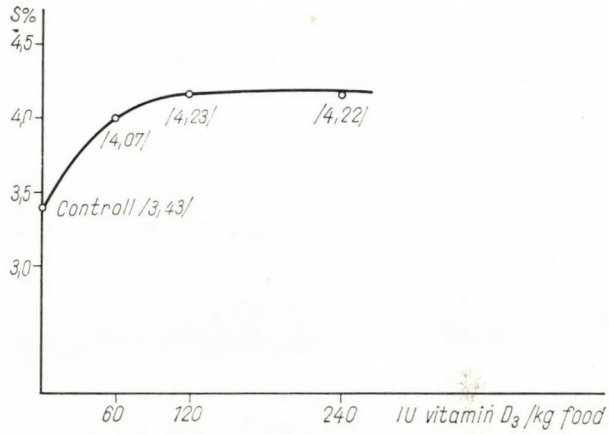


Fig. 2. Sulphur content of chick feathers

old chickens. By the end of the 4th week the differences reached the values visible in Table I.

Although the vane-growing disorder described above presented itself simultaneously with rachitic symptoms, there is reason to suppose that it is not characteristic of rickets. In several cases we had opportunity to examine rachitic poultry stocks, where the above feathering disorder was found in a very limited number of cases only and even then it was very mild. In experimental chickens used for the determination of vitamin A or B_{12} no feathering disorder whatever could be observed. Accordingly, it is highly possible that the vane-growing disorder in question is characteristic mainly of the deficiency of vitamin D_3, although in its development other factors of minor importance may also have a role.

The feathering disorder under discussion might be regarded as a symptom of the insufficiency of hornification. As it is generally known, the softening or — in more severe cases — the deformation of the beak is one of the characteristic signs of rickets in poultry. Softening of the beak is also a consequence of insufficient hornification. Therefore the feathering disorder and soft beak developed as a consequence of vitamin D_3 deficiency are suggestive of the role of this vitamin in the normal course of hornification.

SUMMARY

On chickens used for vitamin D_3 determination a peculiar disorder of wing feathering was observed. On the primary remiges (pennae remiges) of chickens kept on diets with inadequate or no vitamin D_3 supplement, vane growing was rudimentary from the 2nd or 3rd week of life on. Whilst at the distal end of wing feathers the vexillum was normal, at the proximal end a shorter or longer portion of the rachis remained bald (see Figure 1). By relating the bald portion to the full length of the rachis the so-called "plumage ratio" was calculated. Between the "plumage ratio" of vitamin D_3 supplemented and deficient chicken groups significant differences were found (see Table I). When compared to vitamin-treated chickens, the sulphur content of the feathers was lower in animals kept on vitamin D_4 deficient diet (Figure 2).

On the basis of the above observations the conclusion might be drawn that like softening of the beak of rachitic chickens, the vane-growing disorder is a symptom of insufficient hornification. Accordingly it is highly possible that vitamin D_3 has, besides the effects hitherto revealed, an influence on the process of hornification in chickens.

REFERENCES

Loy, H. W., Dewitt, J. B. and Knudsen, L. F.: Assoc. Offic. Agr. Chemists. **24** (1941), 432. Marek, J., Wellmann, O. and Urbányi, L.: D. T. Wschr. **48** (1940), 69. Mraz, F. R. and Bacon, J. A.: Proc. Soc. exp. Biol. and Med. **104** (1960). György, P.: Vitamin Methods. New York, 1951. Worker, A. A. and Migicovszky, B. N.: J. Nutr. **74** (1961), 490.

THE PROPAGATION OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS (NDV) IN TISSUE CULTURES

III. CULTIVATION OF CERTAIN NDV VACCINE STRAINS IN CULTURES OF MAMMAL ORIGIN

By

P. MARKOVITS and B. TÓTH

Phylaxia State Serum Institute (Director: J. MOLNÁR), Budapest

(Received March 21, 1963)

In a previous paper we reported about the propagation of the *Hertfordshire-* (H) strain of NDV in both pig- and calf-kidney tissue cultures. Parallel to further studies on the H strain the present experiments were performed with the aim to adapt to mammal tissue cultures also the *Lederle* (L) and *Hitchner* B_1 strains, which had been routinely cultivated in embryonated hen's eggs.

For this purpose the multiplication of the above 3 NDV vaccine strains were studied during passages in pig kidney, calf kidney and calf testicle tissue cultures. Throughout a series of passages attempts were made to select the tissue culture most suitable for the cultivation of the strains studied. The multiplication rate of the L strain was examined in pig kidney tissue, which proved to be best for cultivation purposes. For comparison parallel passages were repeatedly made in chick embryo tissue cultures. Finally the immunogenicity of the in vitro cultivated viruses were tested in young chickens.

The propagation of NDV strains in tissue cultures has been studied by several authors. The multiplication cycle of this agent was investigated in tissue cultures by KOHN and GOLDWASSER (1957), ZUSCHEK et al., (1958, 1959), HAYASHI et al., (1958), RUSEV (1959) and CSIKVÁRY, MARKOVITS and TÓTH (1961).

The adaptation of NDV to tissue cultures has also been attempted by a number of authors. Out of these BANKOWSKI et al., (1957, 1960), HALLAUER and KRONAUER (1958, 1960) and RUSEV (1959, 1960) studied the conditions of adaptation and attenuation of the virulent NDV in tissue cultures. They reported about the decrease of virulence and described the characteristics of the attenuated strains.

Literary data on the multiplication in tissue cultures of NDV vaccine strains of decreased virulence are also available. GELENCZEI et al. (1960) propagated the B_1 and Roakin strains, MAYR and PETTE (1960, 1961) the B_1 strain, MARKOVITS and TÓTH (1960, 1962) and NAFAI (1961) the H strain, whereas ROSSI (1961) cultivated the F strain.

Materials and methods

Tissue cultures. Tissue cultures were prepared from chick embryo, calf kidney and testicle, pig kidney and fetal calf or pig kidney. Cell suspension was made by trypsin treatment according to DULBECCO and VOGT (1954). Trypsin was removed by centrifugation and the cell sediment resuspended in

growth medium was distributed in tubes and Roux flasks. The medium used for pig kidney monolayer cultures contained 20 per cent synthetic medium, 15 per cent suckling-calf serum, 0.5 per cent lactalbumin hydrolyzate and 64.5 per cent Hanks' solution. To tube cultures about 1.5 ml and to Roux flasks 200 ml of nutrient medium was added. After incubation at 37° C a monolayer suitable for inoculation developed in chick embryo cell cultures within 2 to 3 days, while in kidney epithelium cultures within 5 to 7 days.

The properties of virus strains. Virus titration. The mesogenic H and L virus strains kill the chick embryo and the susceptible one-day-old chicken. They cause severe cell destruction in chick embryo cell cultures by 2 to 5 days after infection. Susceptible adolescent and adult fowls inoculated with mesogenic strains do not become ill, but acquire a remarkable immunity to the agent. Infectivity titrations of the H and L strains can be performed in both embryonated eggs and chick embryo tissue cultures.

The lentogenic strain B_1 kills the chick embryo only after a long incubation time and does not kill the one-day-old chicken; in chick embryo tissue cultures it elicits a cytopathogenic effect, which is remarkably milder than that caused by the mesogenic strains. Strain B_1 can safely be used for the immunization of one-day-old chickens. Titres can be obtained in embryonated eggs if the allantoic fluids are tested for haemagglutination after 5 days of incubation. The infectivity titres are calculated for 0.1 ml virus material.

Virus propagation and passages. As passage material a tenfold dilution of virus in tissue culture medium was used. The maintenance media for the different cultures were identical with the growth media, except that they contained no serum. The inoculated cultures were incubated at 37° C for 48 hours, then the virus-containing fluid was harvested. In the course of adaptation of the H and L strains rapid passages at 24 hours' intervals were performed too: this period proved to be satisfactory for sufficient virus multiplication. In contrast to this, the strain B_1 required 72 hours for adequate multiplication. Virus material was stored either at −20° C or in the freeze-dried state.

The antigenic properties of virus strains were examined on 8 to 10 weeks old susceptible chickens. The susceptibility of chickens was controlled by challenging 6 to 10 non-immunized birds with virulent virus and those experiments were only accepted in which all control animals died. Immunization with the vaccine strains was performed according to the routine method of vaccination, *i.e.* strain H was administered subcutaneously, strain L both subcutaneously and orally and strain B_1 orally. The doses of both undiluted and diluted virus material were 0.2 ml and 5.0 ml per animal for subcutaneous and oral administration, respectively. Immunity was tested by challenging with virulent NDV between the 10th and 14th days after vaccination. In the majority of cases the initial susceptibility of experimental animals and their immune response were checked by the haemagglutination inhibition test.

Experimental

Adaptation experiments in different tissue cultures. Virus strain H was carried over 95 passages in pig kidney and over 90 passages in calf kidney cultures. The number of passages of the L strain was 51 and 46 in pig kidney and calf testicle tissue cultures, respectively, while strain B_1 was carried through 25 passages in pig kidney cell cultures. Parallel to certain passages or series of passages, comparative studies were performed with each of the strains in chick embryo cell cultures. Virus multiplication was repeatedly checked by titration in embryonated eggs and in most cases also in chick embryo tissue cultures.

Table 1

Infective titres of vaccine strains H, L and B_1 propagated in different tissue cultures

Virus strain	Tissue culture	No. of passages	Mean titre	Limit values	Mean titre	Limit values
			ELD_{50} or EID_{50} in embryonated hen eggs		$TCID_{50}$ in chick embryo cultures	
H	Pig kidney	95	$10^{6.5}$	10^5—10^7	$10^{7.5}$	10^7—10^8
	Calf kidney	90	$10^{5.8}$	$10^{3.7}$—10^7	—	—
L	Pig kidney (tube)	51	$10^{5.9}$	10^5—10^7	$10^{6.5}$	10^6—10^8
	Pig kidney (Roux flask)	—	$10^{6.5}$	$10^{5.5}$—$10^{7.2}$	$10^{6.9}$	$10^{6.5}$—$10^{7.3}$
	Chick embryo (Roux flask)	—	10^6	10^4—10^8	$10^{6.8}$	$10^{5.5}$—$10^{7.5}$
	Calf testicle	46	$10^{3.2}$	10^2—10^4	10^4	10^3—10^5
B_1	Pig kidney	25	$10^{6.1}$	$10^{4.5}$—10^7	—	—
	Chick embryo	10	$10^{4.3}$	$10^{3.5}$—10^5	—	—

The results of the above experiments are summarized in Table 1. As visible in the Table, the pig kidney cell culture proved to be the most suitable for the cultivation of NDV vaccine strains. In the course of propagation in this tissue, out of the strains examined the highest and most stable titres were exhibited by the H strain; *i.e.* its average titre in eggs was $10^{6.5}$ and in tissue cultures $10^{7.5}$. This strain has been maintained in our laboratory in tissue cultures for 5 years. The titres of the L strain were somewhat lower. The mean titre of tube culture material examined in eggs was $10^{5.9}$ while that of the virus propagated in Roux flasks was as high as $10^{6.5}$. The B_1 strain

could also be propagated in pig kidney cell cultures with an average titre of $10^{6.1}$.

Parallel to pig kidney, the H strain was also propagated in calf kidney cell cultures, but the egg-titre of the virus grown in these cultures was lower ($10^{5.8}$) than of that grown in pig kidney cells.

Surprisingly the readily growing calf testicle cultures were found to be less suitable for propagation of the L virus than the other tissue cultures tested. In calf testicle tissue this virus was carried through 46 passages and, in spite of our efforts, no higher mean titres than $10^{3.2}$ and 10^4 could be obtained — as tested in embryonated eggs and in chick embryo tissue cultures, respectively. Adaptation was attempted by changing the composition of the nutrient medium and by alternative passages in calf testicle cultures and embryonated eggs. Succeeding passage in eggs, virus obtained from the first testicle cultures had occasionally titres as high as 10^7, which, however, rapidly decreased in the course of further passages in this culture until values between 10^2 and 10^4 were reached. Consequently, calf testicle cultures were excluded from our further experiments.

It was also observed, that the average titres obtained in chick embryo cultures did not reach the level found in the pig kidney tissue. In chick embryo cultures the majority of examinations were performed with the L strain harvested from Roux flasks. The average titre 10^6 was calculated from values fluctuating between 10^4 and 10^8. It ought to be mentioned here that though the eggs used were obtained from the same breed throughout, the susceptibility of chick embryo tissue cultures to NDV appeared to be more variable than that of the pig kidney cultures. Similar observations were made in our experiments with virus B_1; the mean titre obtained in chick embryo tissue was lower throughout, *viz.* $10^{4.3}$.

In the course of the *in vitro* propagation of NDV strains, several phenomena indicated that the adaptation of the virus to pig kidney tissue culture developed gradually, *e.g.* with the H strain the highest titre was obtained after the longest passaging in tissue culture. It was also found that during propagation in pig kidney tissue cultures the 3 virus strains tested, as well as their respective passages, attained about the same egg-infective titres, *viz.* $10^{6.0}$—$10^{6.5}$ on the average. The infectivity titres of tissue-culture-adapted virus strains were in every instance higher and showed less fluctuation in chick embryo cultures than in eggs. Thus, the conclusion might be drawn that titration in the tissue culture approximates the true virus content better than that carried out in embryonated eggs.

Since the *in vitro* propagation of NDV strains proved to be most successful in pig kidney tissue cultures, in our further experiments exclusively this tissue was used. The Roux-flask cultures used for mass production of virus were also prepared from kidneys of young or fetal pigs.

Multiplication rate of the L strain in pig kidney tissue culture

In an earlier study (1961) we investigated the multiplication of the virulent NDV in chick embryo tissue cultures. The cultures were inoculated with 320,000 ELD_{50} of the virus. It was found that virus multiplication took place in 6 hours' cycles and the maximum value was reached as soon as at the 20th hour. After 50 hours of propagation a significant decrease of the virus titre was observed.

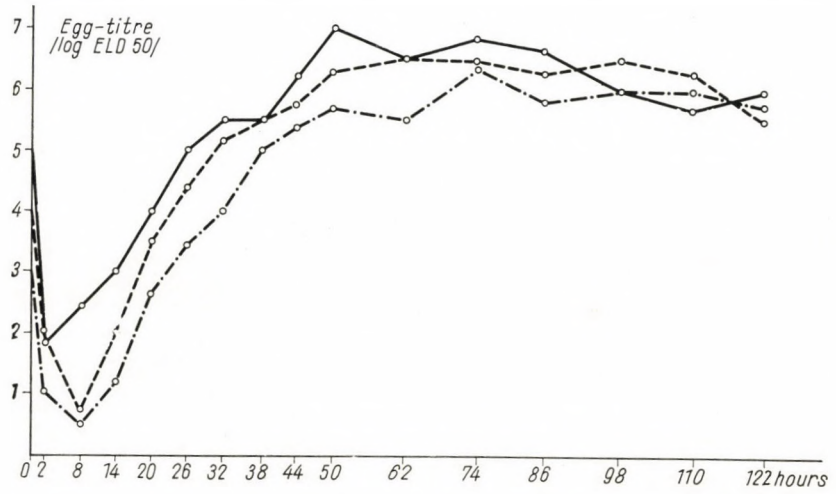


Fig. 1. The multiplication of strain L of NDV in pig kidney monolayer cultures
———— Virus multiplication in cultures inoculated with 100.000 ELD_{50}
— — — Virus multiplication in cultures inoculated with 10.000 ELD_{50}
— · — · — Virus multiplication in cultures inoculated with 1.000 ELD_{50}

The present work was performed to determine the rate of multiplication of NDV in pig kidney tissue cultures. For this purpose tube cultures of pig kidney epithelial cells were inoculated with 100,000, 10,000 or 1,000 ELD_{50}/0.1 ml virus material obtained from the 32nd pig-kidney passage of the L strain. The inoculum was suspended in serum-free nutrient medium. After an incubation for 2 hours the cultures were washed, and serum-free medium was added. Then the cultures were incubated at 37° C. The incubation of 4 tubes was discontinued every 6 hours during the first 48 hours and every 12 hours from 48 to 120 hours. The nutrient fluids harvested from every 4 tubes were pooled and titrated in embryonated eggs (Figure 1).

The experiment was planned on the basis of our earlier observation, that virulent NDV multiplies in 6 hours' cycles. For this reason sampling and titrations were made at every 6th or 12th hour only. As visible in the figure, the existence of a 6 hours' multiplication cycle is probable in this case, too.

On evaluating the egg-titrations it was found that in cultures inoculated with 100,000 or 10,000 ELD_{50} the virus titre reached its maximum, *viz.* $10^{6.5}$ to 10^{7}, at the 50th hour of propagation and this titre level decreased only moderately after the 86th to 98th hour. The titres of the media harvested from the cultures inoculated with 100,000 ELD_{50} appeared to be somewhat higher during the period between the 50th to 86th hour after infection than of those obtained from cultures inoculated with 10,000 ELD_{50}; on the other hand, the virus titre exhibited less fluctuation in the period from the 50th to the 110th hour in the latter cultures. Virus multiplication was slower in cultures inoculated with 1,000 ELD_{50}; the maximum titre was reached at the 74th hour only and the highest values were by 0.5 to 1.0 exponent lower than in the above 2 groups.

According to our observations adequate rate of virus multiplication can be obtained in pig kidney tissue cultures with inocula containing 10,000 to 100,000 ELD_{50}/0.1 ml. As demonstrated also in our later experiments, the most suitable time for virus harvest is the 48th hour after inoculation.

On comparison of the present results with our earlier investigations performed in chick embryo tissue cultures with virulent NDV strain it was found that the multiplication of virus L is rather slow in pig kidney tissue culture and the maximum titre is lower, but this titre is of longer duration than that of the virulent virus in the chick embryo tissue culture. Presumably, the slow propagation might be ascribed to the foreign tissue used while the stability of the titre to the nature of cytopathogenic effect, namely the pig kidney cells are destroyed slower than the chick embryo cells.

The immunogenicity of viruses propagated in tissue cultures

Details on the immunogenic effect of the H strain propagated in tissue cultures were given in our previous paper (1962). The immunogenicity of virus H harvested from tissue cultures was found to be similar to that of the same strains propagated in the embryonated eggs. Complete immunity could be achieved with a 10^{-4} dilution of this vaccine strain when cultivated in pig kidney tissue while the 10^{-4} dilutions of virus material from calf kidney tissue cultures with lower titres protected only a part of the inoculated animals.

Relatively few experiments were performed with the B_1 strain. In the course of the present studies a number of experiments were performed with the L strain. As revealed by Table 2, the L virus propagated in calf testicle tissue cultures protected only a part of the animals when used in the 10^{-2} dilution, which is the usual dilution in practice. In accordance with the low egg-infective titre of this material the low immunogenicity confirms that calf testicle cultures are unsuitable for the cultivation of NDV (strain L).

On the other hand, the pig kidney L strain had a good immunogenic effect. In Table 2 the results of vaccination experiments with pig-kidney

Table 2

Immunization experiments with virus L propagated in tissue cultures or embryonated hen eggs

Virus strain L		Administration	Ratio of dead and challenged animals succeeding immunization with vaccine dilutions				
Origin	Titre (ELD_{50})		10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
Calf testicle tissue	$10^{3.2}$	Subcutaneous route	3/12	4/8	6/8	—	—
Pig kidney tissue	$10^{6.5}$	Subcutaneous route	0/6	1/6	0/6	4/6	—
Embryonated hen's eggs	$10^{8.5}$	Subcutaneous route	1/2	0/2	0/3	1/2	—
Pig kidney tissue	$10^{6.5}$	per os	0/7	1/7	2/9	3/8	3/4
Embryonated hen's eggs	$10^{7.5}$	per os	0/6	0/6	2/7	4/7	4/4
Non-infected control:			—	—	—	—	— 23/23

virus material administered subcutaneously and by the oral route are compared with those of the same strain propagated in embryonated eggs. The Table shows that when given subcutaneously, the tissue-culture virus protected all vaccinated animals even in a dilution as high as 10^{-4} while on oral administration roughly tenfold amounts of this dose — *i.e.* 10^{-3} dilutions — were required to protect the most of the vaccinated fowls.

From the results of the present experiments it is obvious that the 3 NDV vaccine strains tested readily propagate in certain mammalian cell cultures, especially in pig kidney epithelial cells. In the course of 25 to 100 passages performed with the individual strains in this tissue culture the infectivity and antigenicity and the original moderate virulence of the strains seemed to remain unchanged.

SUMMARY

The multiplication of NDV vaccine strains was studied in mammalian cell cultures. With the strains H, L and B_1 25—100 passages were performed in pig kidney, calf kidney, calf testicle and chick embryo cultures. Of these the pig kidney cell cultures proved to be most suitable for the propagation of NDV vaccine strains. The virus harvested from pig kidney cultures exhibited the highest egg-infective titres (10^6 to $10^{6.5}$ ELD_{50}/0.1 ml) and the titres of this line showed the least fluctuation. The viruses obtained from chick embryo or calf kidney tissue cultures had somewhat lower titres and the titres showed rather wide fluctuation. The readily growing calf testicle cells proved to be unsuitable for propagation of the L strain of NDV; the virus never reached titres higher than $10^{3.2}$ ELD_{50}/0.1 ml. — Mass cultivation of the NDV vaccine strains was made in 2-litre Roux flasks.

The authors determined the multiplication curve of virus strain L of NDV in pig kidney tissue cultures. They found that in cultures inoculated with 100,000 or 10,000 ELD_{50} of the 32nd tissue culture passage of the virus the infective titres reached their maximum, *viz.* $10^{6.5}$ to 10^7 ELD_{50}, at the 50th hour of propagation and this level decreased only moderately after the 86th to 98th hour. In cultures inoculated with 1,000 ELD_{50} of the same virus, they got lower virus titres.

In immunization experiments performed on 8—10 weeks old chickens it was found that the subcutaneous administration of 0.2 ml of the 10^{-4} dilution of the pig kidney tissue culture origin H or L strains protected the experimental animals against a challenge of the virulent virus. In those few experiments when the L virus strain of pig kidney tissue culture origin was administered in 10^{-3} dilution orally, from 7 inoculated chickens 6 proved to be immune against the challenge.

Authors are indebted to DR. A. BARTHA, Department of Epizootiology, University of Veterinary Sciences, Budapest, for his valuable help and advice and to MRS. P. ALMÁSSY and MRS. M. PANDUR for excellent technical assistance.

REFERENCES

BANKOWSKI, R. A.: Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.) **96** (1957), 114—118; Avian Diseases **2** (1958), 197—209. BANKOWSKI, R. A., CORSTVET, R. and FABRICANT, J.: Avian Diseases **2** (1958), 227—240. CSIKVÁRY, L., MARKOVITS, P. and TÓTH, B.: Acta Vet. Hung. **11** (1961), 375—381. DULBECCO, R. and VOGT, M.: J. Exp. Med. **99** (1954), 167—182. GELENCZEI, E. and BORDT, D.: Am. J. Vet. Res. **21** (1960), 987—992. HALLAUER, C.: Arch. ges. Virusforsch. **8** (1958), 397—409. HALLAUER, C. and KRONAUER, D.: Arch. ges. Virusforsch. **8** (1958), 95—112; **9** (1959), 220—250; **10** (1960), 40—71. HAYASHI, N., KOWAKUBO, A., MATSUZAWA, H. and SATO, I.: Bull. Biol. Res. (Nippon Inst. Biol. Sci.) **4** (1958), 337—345. KOHN, A. and GOLDWASSER, R.: Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.) **96** (1957), 198—200. MARKOVITS, P. and TÓTH, B.: Acta Vet. Hung. **12** (1962), 287—293. MAYR, A.: Zbl. Vet. Med. **8** (1961), 201—213. NAFAI, E. K.: Magyar Állatorvosok Lapja, 1961, 45. PETTE, J.: Mhefte Tierheilk., 1961, 184—190. ROSSI, C.: Vet. Ital. **12** (1961), 723—735; 736—740, RUSEV, CHR.: Acta Virol. **3** (1959), 51—55. IDEM: Zbl. Bakt. Orig. **178** (1960), 1—8. ZUSCHEK, F., HANSON, R. P. and BRANDLY, C. A.: Am. J. Vet. Res. **19** (1958), 191—195; **20** (1959), 111—115.

PREPARATION OF EXPERIMENTAL VACCINE AGAINST THE CHRONIC PARATYPHOID OF PIGS

I. COMPARATIVE STUDIES ON DIFFERENT SALMONELLA TYPHI-SUIS VACCINES IN MICE AND RABBITS

By

M. PALYUSIK

Department of Epizootiology (Director: Prof. R. MANNINGER) of the University of Veterinary Sciences, Budapest

(Received May 13, 1963)

In Hungary the chronic or so-called *Voldagsen* paratyphoid of pigs causes considerable economic losses. In stocks which having been infected chronically a part of the weaned piglets regularly die of the disease while as a result of fresh infection fatal cases of *Voldagsen* paratyphoid occur also among sows. The clinically symptomless survivors are generally underdeveloped because of poor food utilization, and by persistent or periodical excretion of the pathogenic agent they are permanent source of infection.

In order to reduce economic losses by *Voldagsen* paratyphoid it seemed reasonable to study the possibilities of active immunization against this disease. The reasonability of such studies was supported by the fact that successful methods of active immunization have already been developed against human typhoid fever, which is essentially similar in its pathology, autopsy picture and pathohistological picture to *Voldagsen* paratyphoid.

The German authors PFEILER and KOHLSTOCK (1914) prepared a vaccine against the chronic paratyphoid of pigs from 48-hour broth cultures of *Salmonella typhi-suis* killed by four different procedures not nearer defined. The photos attached to the paper reveal in a rather convincing way that the majority of pigs vaccinated with their material did not contract the disease either on natural contact or on artificial infection while the unvaccinated controls died of *Voldagsen* paratyphoid after an exposure to similar infection. In Hungary SEVER and SCHNEIDER (1940) prepared a formolized vaccine from agar cultures of *S. typhi-suis* bacteria suspended in saline and killed with formol. In laboratory experiments the agglutination titre of the sera of some of the pigs immunized with this vaccine attained 1 : 20,000. A field trial on the vaccine revealed that the immunity conferred by the vaccination was not complete and its duration was 3 to 4 months. In the Soviet Union IVANOV (1952) prepared a formolized adsorbed vaccine against the paratyphoid of pigs. This vaccine contained besides *S. enteritidis* and the two variants of *S. cholerae-suis* *S. typhi-suis* bacteria too, which occur in the Soviet Union, though very infrequently.

Experiments

Preparation of experimental vaccines. In order to select the vaccine of best antigenicity and, consequently, best immunogenic properties, vaccine batches were prepared simultaneously by 7 different methods and tested in albino mice and rabbits. Considering the fact that most of the *S. typhi-suis* strains occurring in Hungary are diphasic *i.e.* contain both c and 1.5 flagellar

antigens (PALYUSIK, 1962a, b), for preparation of vaccine three Hungarian strains of *S. typhi-suis* containing besides the somatic VI and VII maximum quantities of the above flagellar antigens were used. The bacterium cultures incubated in Roux flasks on common horse broth agar for 18 hours at 37° C were washed off with saline and equal amounts of the three bacterium suspensions were mixed to make a bacterium suspension containing 2.4×10^{10} live bacteria per ml. This was used for the preparation of equal volumes of vaccine as follows:

The formolized vaccine was made according to the prescription of the *Voldagsen paratyphoid* vaccine of SEVER and SCHNEIDER (1940) by using 0.5 per cent formol for killing and preservation of bacteria. Its pH was adjusted to 7.2.

The alcoholic vaccine was prepared with the method used by FELIX (1941) for the preparation of human typhoid vaccine, *i.e.* bacteria were killed with 75 per cent ethyl alcohol and 22.5 per cent ethyl alcohol was added as preservative.

The *vaccine* containing the *trichloroacetic-acid extract of bacteria* was made according to the description of RAUSS (1947), who prepared vaccine against human typhoid fever by applying the procedure of BOIVIN and MESROBEANU (1938). To the untreated bacterium suspension 10 per cent of a 50 per cent trichloroacetic-acid solution was added and after storage in the refrigerator the material was centrifuged. As vaccine the transparent supernatant containing the polysaccharide-lipid complex was used after its pH was adjusted to 7.1 with sodium hydroxide.

To prepare the *sodium-hydroxide vaccine*, the method used by DELPY and HARS (1953) in preparing swine erysipelas vaccine was adopted. Bacteria were treated with sodium hydroxide at pH 9.0 in the incubator. After centrifugation the supernatant adjusted to pH 7.2 was used as vaccine.

The *acetone-ethylene-glycol vaccine* was prepared according to the procedures by which MORGAN (1937) and HENDERSON and MORGAN (1938) had prepared vaccines against *Shigella dysentery* and *human typhoid*, respectively. Bacteria were repeatedly treated with ice-cold acetone and, after centrifugation, powdered by drying; the powdered bacteria were treated with undiluted ethylene glycol of body temperature and exposed to mechanical shaking. After these procedures unlike MORGAN we did not separate the ethylene-glycol-extracted polysaccharides from the proteins; the purification was not continued. Instead the supernatant obtained by centrifugation was used as vaccine; its pH was adjusted to 7.2. The vaccine thus obtained contained both kinds of antigen.

Vaccine was also made by adopting the method used by KOVILINA (1952) to prepare antigen from *S. enteritidis Gärtner*; bacteria were exposed to heat in a water bath of 66° to 67° C and, subsequently, to mechanical

shaking and to autolysis in the incubator. The pH was adjusted to 7.2. The material contained both bacterium debris and dissolved antigens.

Finally, *vaccine* was prepared according to the procedure by which McCarty and Avery (1946) prepared desoxy-ribonucleic acid from pneumococci by treatment with sodium desoxycholate. Treatment was made with a 1 per cent sodium desoxycholate solution. The pH was adjusted to 7.2. Besides bacterium debris the vaccine contained dissolved antigens.

All vaccines except the alcoholic one were preserved with 0.5 per cent formol.

Testing of non-adsorbed vaccines in albino mice

Albino mice were immunized by intraperitoneal administration of 0.3 ml per animal of 1 : 10 dilutions of the vaccines. The body weight of test mice ranged from 18 to 20 g. Four weeks after vaccination the animals were infected by the intraperitoneal route with 0.1 ml of a 24-hour broth culture of *S. typhi-suis* each. On the basis of the observation of Dammann and Stedefeder (1910) that on intraperitoneal administration of massive doses of *S. typhi-suis* mice die within 2 to 5 days, in the present experiment no mucine, dextrane or cortisone commonly applied by certain authors were used in the potency tests. In spite of the fact that irrespective of having been vaccinated or not, all the animals involved in the present experiment died, conclusion on the immunogenic effect of the vaccines could be drawn from the differences in the survival period. In the control group the average survival time was 2.3 days; for the groups immunized with acetone-ethylene-glycol or sodium-desoxycholate vaccines it was 3 days; in groups vaccinated with alcoholic or trichloroacetic-acid vaccine 3.2 days and finally the mice protected with formolized, sodium-hydroxide- or heat-treated vaccines survived, on the average, for 4 days. At the autopsy serous fibrinous peritonitis and swelling of the spleen were observed.

Testing of adsorbed and non-adsorbed vaccines in rabbits

Preliminary studies showed that artificial *S. typhi-suis* infection of rabbits was not possible by either the oral or the subcutaneous route. Accordingly, the results of our rabbit experiments were limited to estimation of the antigenicity of vaccines on the basis of antibody levels demonstrable in the sera of the animals by the common tube agglutination test.

In this series of experiments adsorbed vaccines prepared from every vaccine used in the mouse experiments were also tested. Adsorbed vaccines were obtained by adding 4 volumes of 2 per cent aluminium hydroxide to

6 volumes of vaccine. It was shown that these materials had an antigen content corresponding to that of 1.44×10^{10} live bacteria.

The adsorbed and non-adsorbed vaccines were administered subcutaneously to 2 rabbits each, *i.e.* a total of 28 rabbits were vaccinated. From the non-adsorbed and adsorbed vaccines 2.5 and 4.2 ml, respectively, were administered per animal. Thus the antigen content of the individual doses was uniform. Agglutination titre of the sera of rabbits immunized with non-adsorbed vaccines was tested over a period of 5 weeks while for the rabbits immunized with adsorbed vaccines the observation period was 10 weeks. The usual tube agglutination test with O and H antigens prepared from *S. typhi-suis* was applied.

The above tests revealed that in the sera of animals vaccinated with non-adsorbed extract vaccines the maximum antibody level is reached relatively early, *viz.* within 1 to 3 weeks after vaccination while the immune response elicited by non-adsorbed formolized or alcoholic corpuscular vaccines reached its peak a week later. After immunization with adsorbed vaccines maximum antibody level was observed also later, *viz.* from the 3rd to the 6th weeks after vaccination, irrespective whether the vaccine used was an extract or corpuscular in nature. With non-adsorbed vaccines the antibody level started to decrease 3 to 5 weeks after immunization while in rabbits immunized with adsorbed vaccines antibodies could be demonstrated for a considerably longer time. This observation permits the conclusion that the immunity elicited by adsorbed vaccines is of longer duration. In rabbits immunized with these materials the antibody level started to decrease generally 6 to 8 weeks after vaccination. This fact supports the general opinion that adjuvant vaccines are capable to confer a more persistent immunity.

The geometric means* of the maximum agglutination titres obtained in rabbits are presented in Table 1 and 2.

In spite of the source of error involved in the low number of rabbits tested, the Tables reveal that the highest immunogenicity was exhibited by the three vaccines prepared according to the procedures used for the production of human typhoid vaccines, *i.e.* by the formolized, alcoholic and trichloroacetic-acid vaccines. Out of non-adsorbed vaccines the highest O antibody titre was achieved with that prepared by the trichloroacetic-acid extraction. The data in the Tables show that the maximum antibody titres of rabbits vaccinated with adsorbed vaccines were considerably lower than those of the animals immunized with the same materials in a non-adsorbed state. Nevertheless, antibodies could be demonstrated for a much longer time after immunization with the adsorbed vaccines.

* The sum of the logarithms of the maximum agglutination titres of 2 rabbits per vaccine was divided by the number of animals and the antilogarithm of this value was regarded as the geometric mean.

Table 1

Geometric means of the maximum agglutinin titres demonstrated in the sera of rabbits vaccinated with non-adsorbed vaccines

Vaccines	Agglutinin titres	
	O 1:	H 1:
Formolized vaccine	113	3620
Alcoholic vaccine	226	1810
Trichloroacetic-acid vaccine	320	1280
Sodium hydroxide vaccine	20	905
Acetone-ethylene-glycol vaccine	20	905
Heat-treated vaccine	80	226
Sodium-desoxycholate vaccine	0	507

Table 2

Geometric means of the maximum agglutinin titres demonstrated in the sera of rabbits vaccinated with adsorbed vaccines

Vaccines	Agglutinin titres	
	O 1:	H 1:
Formolized vaccine	40	905
Alcoholic vaccine	56	905
Trichloroacetic-acid vaccine	40	452
Sodium-hydroxide vaccine	0	640
Acetone-ethylene-glycol vaccine	0	320
Heat-treated vaccine	40	452
Sodium desoxycholate vaccine	0	452

Out of the vaccines examined in the present experiments, the formolized aluminium-hydroxide-adsorbed material was tested for immunogenicity also in pigs. The results of these studies is described in the accompanying paper.

SUMMARY

Out of the vaccines prepared by seven different procedures from *Salmonella typhi-suis* bacteria, the highest antigenicity was exhibited by the formolized, alcoholic and trichloroacetic-acid vaccines as shown by the postvaccination agglutinin titres of the immunized rabbits. The vaccines adsorbed to aluminium hydroxide elicited much lower antibody levels, but antibodies could be demonstrated for a much longer time. Immunization experiments performed in mice revealed that among the above three best non-adsorbed vaccines the formolized material is most suitable for this purpose.

REFERENCES

BOIVIN, A. and MESROBEANU, L.: Rev. d'Immunol. **4** (1938), 469. DAMMANN, C. and STEDEFEDER, K.: Arch. wiss. prakt. Tierheilk. **36** (1910), 432. DELPY, S. P. and HARS, E.: Bull. Acad. Vet. de France **26** (1953), 539. FELIX, A.: Brit. Med. J. **1** (1941), 391. HENDERSON, D. W. and MORGAN, W. TH. J.: Brit. J. exp. Pathol. **19** (1938), 82. ИВАНОВ, М. М.: Тр. гос. научно-контрольного инст-та вет. препаратов *3* (1952), 16. КОВЫЛИНА, В. А.: Ibid. **3** (1952), 46. MCCARTY, M. and AVERY, O. T.: J. Exp. Med. **83** (1946), 97. MORGAN, W. TH. J.: Biochem. J. **31** (1937), 2003. PALYUSIK, M.: Magyar Állatorvosok Lapja (MÁL), 1962, 463. IDEM: Acta Vet. Acad. Sci. Hung. **12** (1962), 471. PFEILER, W. and KOHLSTOCK, A.: Arch. Tierheilk. **40** (1914), 114. RAUSS, K.: Népegészségügy, 1947, 2193. SEVER, J. and SCHNEIDER, L.: Közl. az összehasonlító élet- és kórtan köréből **29** (1940), 1.

PREPARATION OF EXPERIMENTAL VACCINE AGAINST THE CHRONIC PARATYPHOID OF PIGS

II. LABORATORY TESTS IN PIGS ON A FORMOLIZED ALUMINIUM HYDROXIDE ADSORBED VACCINE PREPARED FROM SALMONELLA TYPHI-SUIS

By

M. PALYUSIK

Department of Epizootiology (Director: Prof. R. MANNINGER) of the University of Veterinary Sciences, Budapest

(Received May 22, 1963)

Vaccine against the chronic or so-called *Voldagsen* paratyphoid of pigs was prepared in Germany by PFEILER and KOHLSTOCK (1914) and in Hungary by SEVER and SCHNEIDER (1940). The swine paratyphoid vaccine of IVANOV (1952) prepared in the Soviet Union also contained, among others, *Salmonella typhi-suis* bacteria.

Experiments

In Hungary the agents of the chronic paratyphoid of pigs are mostly diphasic *Salmonella typhi-suis* bacteria, less frequently their monophasic variants (PALYUSIK, 1962 a, 1962 b). In the present study the immunogenic effect of a formolized aluminium-hydroxide-adsorbed vaccine prepared by the author from diphasic *S. typhi-suis* bacteria and previously examined in mice and rabbits (PALYUSIK, 1963 and 1964) was tested in pigs in laboratory experiments. The *S. typhi-suis* bacteria used for vaccine production were cultivated in *Roux* flasks on common agar medium for 24 hours at 37° C; then the cultures were washed off with saline and after having been purified by centrifugation the sediment was resuspended in saline. The density of the final suspension was adjusted in the "Labor one cell"* photometer to adsorb 76 per cent of light. The bacterium suspension thus obtained contained 2.4×10^{10} germs per ml. To every 100 ml of this suspension 25 ml of 2 per cent aluminium hydroxide produced in the Phylaxia State Vaccine Institute, Budapest, was added. Finally, bacteria were killed by the addition of 0.5 per cent formol serving also as preservative. The pH was adjusted to 7.2. The germ content of the final vaccine was about 2×10^{10} germs per ml.

Prior to immunization experiments it was examined whether pigs are susceptible at all to artificial infection with *Voldagsen* paratyphoid. This problem has been a matter of discussion since the very beginning; GLÄSSER (1907) and DAMMANN and STEDEFEDER (1910), who were first to describe the disease, and later others, *e.g.* PFEILER et al. (1913, 1914), dealt with this subject. In preliminary experiments the author infected three 4-month-old pigs free of paratyphoid infection by the oral route, each with 300 ml of 24-hour broth

* Made in Hungary.

cultures of *S. typhi-suis* bacteria mixed with 60 g of homogenized intestinal caseous ulcers obtained from a pig died of *Voldagsen* paratyphoid. As a result of artificial infection the three animals died on the 14th, 20th and 106th days after infection, respectively. In the large intestines of the animals autopsy revealed caseous ulcers characteristic of the *Voldagsen* paratyphoid of pigs. Prior to death the following clinical symptoms could be observed: On the day succeeding infection diarrhoea, prostration and anorexia; for one day the temperature of the pigs rose to 41.0°—41.5° C. Diarrhoea persisted throughout and finally the animal with the protracted process became completely emaciated. On the 12th day following infection the H agglutinin titre of the sera of the experimental animals rose to 1 : 640 to 1 : 1,280.

In another series of preliminary experiments the *safety of the vaccine* was tested. No general clinical manifestation of side effects could be observed either in suckling or weaned piglets or adult animals free of paratyphoid infection even when parenteral doses as high as 10 ml were given. However, at the inoculation site a local swelling developed which might have been painful for some minutes after injection. In several cases later even a lentil-sized, scab-like necrotic spot appeared in the centre of swollen area.

Immunization experiments

Immunization experiments were performed on a total of 25 pigs free of infection. Results are summarized in the Table. On 3 groups formed of the 25 animals following studies were made:

Group 1

Out of 7 three-month-old healthy weaned piglets 4 received 2 ml while 2 received 5 ml vaccine each on one occasion, by the subcutaneous route. One animal served as non-immunized control.

Immunization of pigs with formolized aluminium-hydroxide-adsorbed vaccine prepared of *Salmonella typhi-suis* bacteria

Group	Age of immunized pigs	Dosage	Interval between the two vaccinations	Immunized animals		Non-immunized control animals	
				Total	Died of *Voldagsen paratyphoid*	Total	Died of *Voldagsen paratyphoid*
1	3 months old weaned piglets	1×2—5 ml	—	6	1	1	1
2	5 weeks old suckling piglets	2×2 ml	3 weeks	8	4	3	3
3	5 weeks old suckling piglets	2×2 ml	3 weeks	6	—	1	—

As a result of vaccination specific antibodies appeared in the sera of the animals. Antibodies were demonstrable as soon as on the 10th day following vaccination, and up to the 24th day the antibody titres had not declined. The 0-agglutinins could be demonstrated in serum dilutions up to 1 : 80, 1 : 160 or 1 : 320 while the H-agglutinin titre was 1 : 640, in 2 animals even 1 : 2,560. Nevertheless, no correlation could be observed between the amount of vaccine given and the antibody titre; later it was demonstrated that the latter had no influenceon the degree of immunity either. In the unvaccinated control animal no demonstrable specific antibodies were present.

In order to test the immunogenicity of the vaccine, the experimental animals were artificially infected by the oral route.

Each of the seven pigs of group 1 received 60 g of homogenized caseous ulcers obtained from the large intestines of pigs died of natural infection by *Voldagsen* paratyphoid and also 30 ml of a 24-hour broth culture of *S. typhi-suis*. The infectious material was mixed to the diet; the ulcer homogenate was divided and given on three days within a six-day period.

Fatal *Voldagsen* paratyphoid was developed by the control animal and one of the vaccinated pigs. Latter belonged to those given 2 ml vaccine; its agglutinin titre was 1 : 2,560. Death preceded by diarrhoea and emaciation ensued on the 56th and 53rd days after artificial infection, respectively. The five vaccinated survivors exhibited no clinical symptoms; they remained perfectly healthy and gained weight like normal pigs.

The survivors were killed one by one on the 56th, 75th, 76th, 78th and 83rd days after infection, respectively. In four cases autopsy findings were entirely negative while in the fifth animal — in that killed on the 78th day — five healed ulcers were found in the large intestines.

As revealed by the above studies, out of the 3-month-old weaned pigs immunized with 1×2 or 1×5 ml formolized adsorbed vaccine 83 per cent survived the *Voldagsen* paratyphoid infection while the unvaccinated control died of the disease.

Group 2

Out of the 11 healthy suckling piglets belonging to this group 8 were vaccinated subcutaneously at 5 weeks of age, each with a 2 ml dose of vaccine. Three weeks later the same dose was given again. The animals were weaned at 10 weeks of age. Three piglets served as unvaccinated controls.

The degree and duration of immunity acquired by the animals was tested 4 weeks after the second vaccination, *i.e.* at 3 month of age, when they were exposed to a remarkably massive infection. Every pig received orally 100 g intestinal caseous ulcer homogenate and 30 ml of 24-hour broth cultures of

S. typhi-suis bacteria; four days later 60 g of homogenized caseous ulcer was given again. The infectious materials were fed with the diet.

As a result of artificial infection the 3 unvaccinated control animals died of *Voldagsen* paratyphoid at the 14th, 28th and 50th days after infection, respectively. Four of the vaccinated pigs also died of the disease, *viz.* on the 12th, 13th, 14th and 43rd days succeeding infection. These animals weighing 15 to 21 kg at infection lost 3 to 7 kg weight up to their death. Four of the vaccinated pigs survived, though transitorily had developed *Voldagsen* paratyphoid. Having weighed 15 to 19 kg at infection, these piglets gained 2 to 3.5 kg in weight during the succeeding one month, *i.e.* their growth was moderate, yet satisfactory when the massive doses are considered.

At the autopsy of the four clinically recovered survivors more or less intestinal ulcers, all healed, were found after the animals had been killed one by one on the 62nd, 63rd, 73rd and 87th days following infection.

The results found in group 2 show that out of the pigs immunized with 2×2 ml vaccine during the suckling age 50 per cent survived the massive artificial infection.

Group 3

Six of the 7 healthy suckling piglets belonging to this group were immunized on 2 occasions exactly in the same way and at the same interval as Group 2. One animal was used as unvaccinated control.

The piglets were challenged as late as 10 weeks after the 2nd vaccination, *i.e.* at 4 and half months of age, to natural contact infection. For this purpose 6 infected animals from Group 2 were placed in their pen. One of the group-2 animals died of *Voldagsen* paratyphoid on the first day of common housing, another one week later. The other 4 recovered after having been excreters. Since the pigs in Group 3 did not contract the disease on exposure for 3 weeks, each of them received 14 g caseous ulcer homogenate and 30 ml of broth culture of *S. typhi-suis* bacteria by the oral route.

However, group 3 — including the control animal — did not develop clinical symptoms of *Voldagsen* paratyphoid either on natural contact or on artificial oral infection. They kept gaining weight in a perfectly normal way.

The control animal was killed on the 69th day after infection while the vaccinated pigs one by one on the 88th, 90th, 93rd, 100th and 206th days, respectively. At autopsy all but one animal had several healed ulcers in the large intestines. The immunized animal killed on the 88th day showed no signs of *Voldagsen* paratyphoid.

From the results found in group 3 no conclusions on the efficiency of the vaccine could be drawn because not even the control animal developed fatal *Voldagsen* paratyphoid.

Bacteriological examinations

The post mortem diagnosis of fatal *Voldagsen* paratyphoid was supported in every case by positive bacteriological findings, *i.e. S. typhi-suis* bacteria could be recovered directly from smears made from the organs. The agent was readily cultivated from the ulcers of the large intestine as well as from the remarkably swollen mesenteric lymph nodes. In about a half of the cases the agent could be demonstrated also in the heart blood. The fact that the pathogens could be recovered from the liver in every case, from the spleen in the majority of cases, from the lungs frequently and from the kidneys rather infrequently is indicative of an existing or just passed state of bacteriaemia. In the bile and in the cholecyst wall *S. typhi-suis* could be demonstrated considerably less frequently than expected.

Although we failed to demonstrate pathogens in the healed intestinal ulcers of several clinically symptomless vaccinated survivors, such animals should be regarded as possible sources of infection because the agent was present in the healed ulcers of other pigs, *e.g.* in those of the animal killed in apparently perfect health on the 206th day; in this particular case *S. typhi-suis* bacteria could be cultivated from the mesenteric lymph nodes too.

In the majority of cases we failed to recover pathogens from clinically symptomless vaccinated pigs having been free of pathological lesions. The minority, however, was found to harbour the agent in the lymph nodes of the large intestine, or in *Peyer*'s patches. According to these observation due consideration should be given to the possible role of apparently perfectly healthy, clinically symptomless vaccinated animals in the carriership and transmission of the agent of *Voldagsen* paratyphoid.

Discussion

No complete immunization can be achieved with vaccines prepared of killed pathogens. However, the results of immunization experiments performed on healthy suckling and weaned piglets permit the conclusion that with formolized adsorbed vaccine a relatively high degree of immunity could be achieved against remarkably massive challenge unlike to occur among natural circumstances. Accordingly there is reason to believe that under particular conditions this vaccine might be satisfactory if not for the eradication of the disease but for a certain reduction of the economic losses arising from it. Field trials on this subject are in progress. The supposition that by immunization no final eradication of *Voldagsen* paratyphoid from swine stocks is possible is supported by the observation that vaccinated healthy survivors may harbour the agent even if on infection they had not developed intestinal lesions.

SUMMARY

Immunization of pigs against artificial infection with *Voldagsen* paratyphoid was attempted with a formolized aluminium-hydroxide-adsorbed vaccine prepared from *Salmonella typhi-suis* bacteria. It was found that for weaned piglets immunized on one occasion at three months of age the ratio of survival was 83 per cent while for those vaccinated twice during the suckling age, *viz.* at five and eight weeks of age, it was 50 per cent, in spite of the extraordinarily massive artificial infection.

REFERENCES

DAMMANN, C. and STEDEFEDER, K.: Arch. wiss. prakt. Tierheilk. **36** (1910), 432. GLÄSSER K.: Dtsch Tierärztl. Wschr., 1907, 617; 629. ИВАНОВ, М. М.: Тр. гос. научно-контрольного инст-та вет. препаратов **3** (1952), 16. PALYUSIK, M.: Magyar Állatorvosok Lapja, 1962a, 463. IDEM: Acta Vet. Hung. **12** (1962b), 471. IDEM: Magyar Állatorvosok Lapja, 1963, 442. IDEM: Acta Vet. Hung. **14** (1964), 71. PFEILER, W. and STANDFUSS, R.: Zschr. Infektionskrh. **14** (1913), 409. PFEILER, W. and KOHLSTOCK, A.: Arch. Tierheilk. **40** (1914), 114. SEVER, J. and SCHNEIDER, L.: Közl. az összehasonlító élet- és kórtan köréből **29** (1940), 1.

THE OCCURRENCE OF PROTOSTRONGYLUS BREVISPICULUM MIKAČIĆ, 1940 IN HUNGARY

By

T. KASSAI

Helminthological Research Laboratory of the Department of Parasitology (Director: Prof. S. KOTLÁN), University of Vet. Sciences, Budapest

(Received July 10, 1963)

In Hungary until 1963 the following species of lungworms have been recorded in sheep: *Dictyocaulus filaria*, *Protostrongylus rufescens*, *Cystocaulus ocreatus*, *Müllerius capillaris* and *Neostrongylus linearis* (HOLLÓ, 1955; KASSAI 1956). Recently an additional species, namely *Protostrongylus brevispiculum*, has been detected in sheep in the Transdanubian area of this country.

The males of this species were discovered in sheep by MIKAČIĆ in Yugoslavia (1940), and named by him *P. rupicaprae brevispiculum*.

However, since the revision of the family Metastrongylidae by DOUGHERTY and GOBLE (1946) who recognized the independence of this species, the designation *P. brevispiculum* MIKAČIĆ, 1940, has been used.

This worm was recorded until quite recently, besides Yugoslavia, from England (ROSE, 1957, 1961), South Germany (POHL, 1960) and Bulgaria (personal communication of Dr DASKALOV) only.

A detailed description of *P. brevispiculum* was published by POHL, who was the first to report on female specimens. However, on the basis of this description, the females of *P. brevispiculum* cannot be differentiated with confidence from those of *Müllerius capillaris* and *Neostrongylus linearis*. On recovery of this species in Hungarian sheep it seemed, therefore, worthwhile to study its morphology.

The worms or their fragments were removed from the pulmonary foci by means of fine needles under the microscope. The extraordinarily fragile worms are so intimately stuck in the lung tissue that securing intact specimens is a cumbersome task. This may be the reason why so far only ROSE (1957) has succeeded in obtaining some intact males. In our case only one uninjured male worm could be collected besides twelve male caudal ends out of which one formed part of a 26 mm long fragment. Of 8 female worms the caudal ends could be recovered only. In order to settle the morphological peculiarities of *P. brevispiculum*, the caudal ends of 11 females of *Neostrongylus linearis* and of 22 *Müllerius capillaris* were comparatively examined.

The morphological difference between the first-stage larvae of *P. rufescens* and *P. brevispiculum* was studied on mature larvae of both species obtained from pulmonary foci. The identity of larvae found in such foci was ascertained by demonstrating that the adults in the same focus belong to a single species. The larvae were fixed in lactophenol and 40 specimens of each of the two

species were measured. For measuring the size of the flexed first-stage larvae, which always show a flexed posture, Abbé's line drawing apparatus was used; the body axis was copied and its length was measured.

Results

Males. We have little to add to the detailed and, in most respects, exact description of the males of *P. brevispiculum* by POHL. Moreover, the differentiation of the males of this species from other European Protostrongylids

Table I

Comparison of data obtained by different authors on the measurements of *Protostrongylus brevispiculum* (in mm)

	MIKAČIĆ (1940)	ROSE (1957, 1961)	POHL (1960)	Own data	Extreme limits
Oesophagus length				0.135—0.150	0.135—0.150
Oesophagus max. width				0.015—0.019	0.015—0.019
Male length		5—6		12—26	5—26
Male width anterior to bursa		0.033	0.036—0.046	0.037—0.056	0.033—0.056
Spicule length	0.112—0.123	0.110—0.130	0.101—0.146	0.127—0.155	0.101—0.155
Crura length	0.031—0.036	0.03—0.35*	0.03—0.04	0.034—0.047	0.030—0.047
Female length					
Female width at vulva			0.045—0.054	0.047—0.065	0.045—0.065
Distance of vulva from the tip of tail			0.155—0.175	0.158—0.210	0.155—0.210
Distance of anus from the tip of tail			0.038—0.065	0.040—0.056	0.038—0.065
Size of eggs in the uterus			0.058—0·090 × 0.029—0.036		0.058—0.090 × 0.029—0.036
First-stage larvae length			0.240—0.314	0.273—0.321	0.240—0.321

* presumably erroneous value; correctly it should be 0.05

causes, with special reference to the length of the spicula, shape and structure of the crura, no difficulties (see the key). In Fig. 1 and 2 the accessory elements of the male organs are shown, while in Table I the measurements registered by us are compared with those reported by other authors.

We wish to mention that similarly to the drawings of MIKAČIĆ (1939, 1940) — and contrary to POHL's statement — we found that the bursal rays of *P. brevispiculum* do not attain the edge of the bursal lobe. The gubernaculum of our specimens too consists of but two parts; capitulum was not found.

POHL characterized the distal ends of crura as follows: "Die distalen Enden erscheinen etwas verbreitert, glatt und scharf, mitunter enden sie mit einer medial gerichteten kleinen Zehe." To this we may add that the smooth, at first widened, than pointed tips of the crura are flexed in ventral and medial directions embracing the spicules so as to guide their movement when in function.

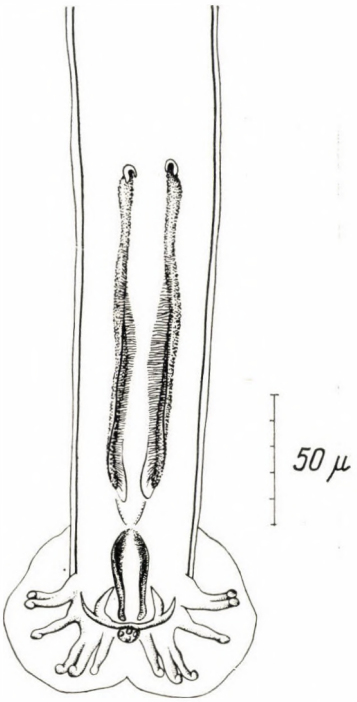


Fig. 1. Protostrongylus brevispiculum. Posterior end of male

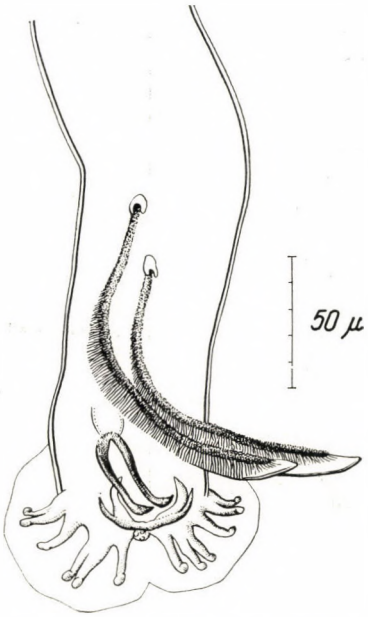


Fig. 2. P. brevispiculum. Posterior end of male

The telamon of *P. brevispiculum* is well developed, showing essentially the configuration considered by SCHULZ and ANDREEVA (1951) characteristic of all species of Protostrongylus. It consists of one basal membrane and a pair of lateral membranes projecting from the proximal part of the latter. No transversal membrane is present. In Figures 1 and 2 the telamon is presented as a four-arched structure, usually observable in specimens situated in dorso-ventral position. The slender, circular, at its ends pointed part running at the base of the rays, is the basal membrane, while the lateral membrane with two converging, pointed tips branches off from the proximal part of the basal membrane, behind the crura. No further details of the telamon apparatus are visible even with immersion microscopy.

In latero-lateral position, the basal membrane of the telamon appears, even at low magnification, as a refractive stripe running at the radix of the bursa vertical to the longitudinal axis of the crura, thinner and flexed proximally towards the body walls.

Females : Until now *P. brevispiculum* females have been dealt with by POHL (1960) only (see Table II). However, as pointed out by POHL

Table II

Measurements of the females of parenchyma-dwelling lungworms (in mm)

	Müllerius capillaris according to NÜRNBERG (1961)	*Neostrongylus linearis* according to GEBAUER (1932)	*Protostrongylus brevispiculum* according to POHL (1960)	*Cystocaulus ocreatus* according to KASSAI (1958)
Length	12—30	13—16	—	30—160
Width maximum	0.04—0.09	0.04—0.055	—	0.088—0.171
Width at vulvar region	—	0.042	0.045—0.054	—
Oesophagus length	0.150—0.240	0.175—0.190	—	0.230—0.500
Oesophagus max. width	0.015—0·035	0.018—0.023	—	0.045—0.066
Vagina length	0.600—1.480	0.480	0.360—0.370	0.500—1.000
Distance between vulva and anus	0.070—0.140	—	—	0.150—0.270
Distance of anus from the tip of tail	0.030—0.080	—	0.038—0.065	0.040—0.109
Distance of vulva from the tip of tail	0.100—0.220	0.096—0.160	0.155—0.175	—

himself, and also by ROSE (1961), on the basis of POHL's description the differentiation of *P. brevispiculum* and *M. capillaris* females is difficult. In our opinion still greater similarity exists between *P. brevispiculum* and *N. linearis* females and, as will be pointed out, even POHL failed to differentiate correctly the females of these two species.

The females of *C. ocreatus* are, on account of their greater size and a conspicuous postvulvar, bell-shaped cuticular lobe, the so-called provagina (Fig. 3), easy to distinguish from other parenchyma-borne Protostrongylids. The size of *M. capillaris*, *N. linearis* and *P. brevispiculum* females is very much of the same range (Table II). Only differences in length of their vagina might possibly allow identification. As, however, but fragments of the caudal end are mostly available, the comparative assessment of the vaginal length would rarely be possible.

A more reliable basis for differentiation is the morphology of the vulvar region. Behind the vulva of *M. capillaris* females but a small or no cuticular

swelling at all is present (Fig. 4), whereas the vulva of both *N. linearis* and *P. brevispiculum* females opens on the oral surface of a conspicuous spheroid muscular swelling, projecting over the body wall (Figs 5 and 6). This structure is partly responsible for the other morphological characteristic, *i.e.* the strongly refractive final portion of the vagina of *M. capillaris*, about 40 to 60μ in length, advancing immediately under the cuticle, parallel to the body wall. The

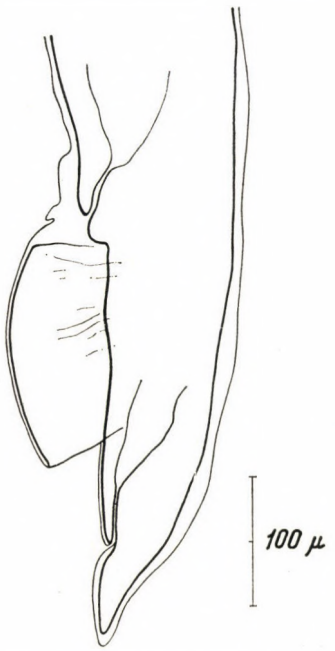


Fig. 3. C. ocreatus. Posterior end of female

vaginal structure of both *N. linearis* and *P. brevispiculum* is entirely different from that of *M. capillaris*, because the final portion of their vagina is advancing to the body wall in the form of a strongly bent arch. The above morphological feature of the vulvar region permits a clear differentiation of *M. capillaris* females from those of *N. linearis* and *P. brevispiculum*. According to our observations, the cuticular structure (provagina) present in the vulvar region of *M. capillaris*, exhibits remarkable variability.

The morphology of both vulvar and anal regions of *N. linearis* and *P. brevispiculum* females is essentially similar. Nevertheless, their differentiation is possible by the characteristics of their caudal ends. The tails of *N. linearis* females are less than 32μ in length, and bluntly rounded (Fig. 6), while the tails of *P. brevispiculum* females surpass 38μ and have a slightly pointed end (Fig. 5). Neostrongylus females may be recognized, frequently even under

low magnification, by the 17 to 30μ long posterior portion of their rectum lined with cuticle, appearing as a strongly refractive, tortuous line in the complex of structural elements of the tail (Fig. 7). Females belonging to other species do not show a similarly conspicuous refractive rectum.

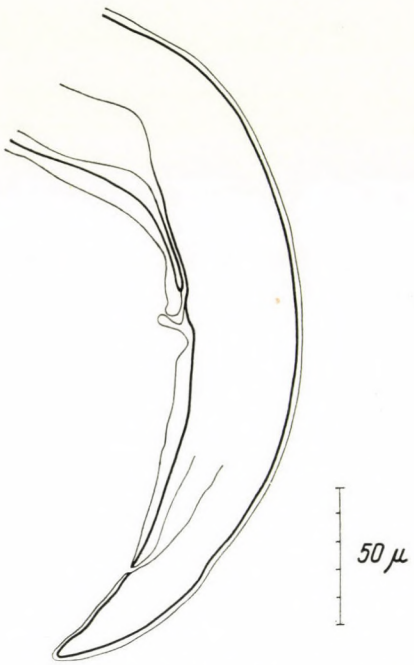


Fig. 4. M. capillaris. Posterior end of female

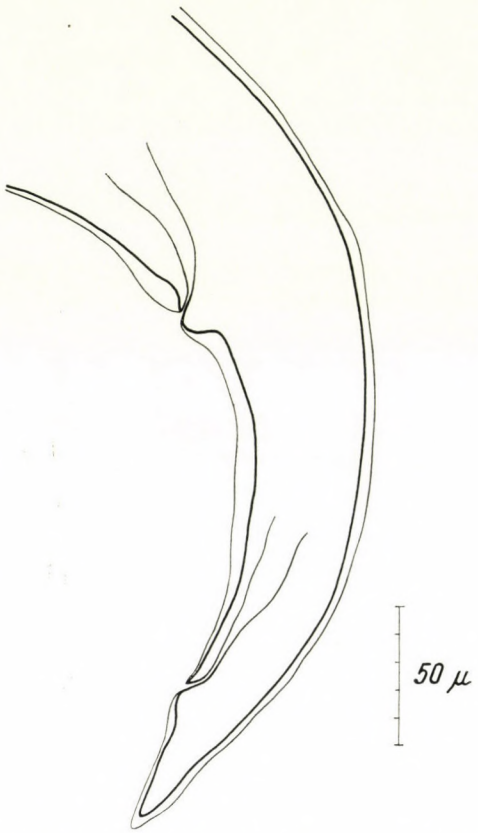


Fig. 5. P. brevispiculum. Posterior end of female

POHL in his description of the females of *P. brevispiculum* points out with particular emphasis the cuticular fold, or rather folded membrane ("Hautfalte") spreading between the vulvar swelling and the postanal prominence seen immediately before the tip of tail, which is said to cause the inflexion of the female tail end.

We could never observe such a "Hautfalte" in our female specimens of *P. brevispiculum* which, however, as well known since GEBAUER's (1932) description, represents a remarkable feature of *N. linearis* females (Fig. 6). Presumably POHL's material contained apart from *P. brevispiculum* several specimens of *N. linearis* too.

In as much as by virtue of POHL's description there seems to be no possibility to differentiate females of these three species, an attempt is made to give a new definition of their morphological characteristics as follows:

P. brevispiculum female : Length is yet unknown. Width at the vulvar region 45 to 65μ. The vagina is 360 to 370μ in length — the length of this organ of our single specimen measured by us, was 365μ. The vulva opens on the

Fig. 6. N. linearis. Posterior end of female

Fig. 7. N. linearis. Posterior end of female

oral surface of a more or less spheroid muscular swelling, protruding conspicuously above the body wall. A similar, though smaller muscular swelling is present also behind the anus. The distances of vulva and anus from the somewhat pointed tip of tail are 155 to 210μ and 38 to 65μ, respectively. The caudal end is only slightly bent. No cuticular folded membrane is present in the anal region, *i.e.* on the tail end.

N. linearis female : Length 13 to 16 mm. Width at the vulvar region 38 to 56μ. The vagina is 480 to 750μ in length (the maximum according to our measurement). The vulva opens on the oral surface of a markedly protrusive spheroid muscular swelling. A similar, though smaller, muscular swelling is present also behind the anus. The distances of vulva and anus from the blunt, rounded tip of tail are 96 to 163μ and 17 to 32μ, respectively. The final portion of the rectum, with cuticular lining, is 17 to 30μ in length and has the appearence of a markedly refractive, somewhat bent line. As a rule, the caudal end is strongly bent. On this side a fine, richly folded, loose cuticular membrane is spreading from above the vulva to the anal region. Within this cuticular fold no ducts or other structures are recognizable. There seems to be scarcely probable that this loose membrane might be fitted for securing the inflexed position of the caudal end. This is maintained rather by the ventral longitudinal musculature.

M. capillaris female: Length 12 to 30mm. Width at the vulvar region 39 to 50μ. Length of vagina 600 to 1480μ. A cuticular swelling in the post-vulvar region is either absent or insignificant. The strongly refractive final portion of the vagina, about 40 to 60μ in length, advances immediately under the cuticle, parallel with the body surface. The distances of vulva and anus from the somewhat pointed tip of tail are 100 to 220 μ and 30 to 80 μ, respectively. In the vulvar region a cuticular structure (provagina), remarkably variable in shape and size, is present. The caudal end is moderately bent. No postanal muscular swelling is present.

Male and female lungworms occurring in European sheep may be determined by the following key:

Males

1. White, well-visible, 50 to 80 mm long worms
   Spicules stout, brown in colour and 400 to 500 μ in length. Habitat: bronchi ..... *D. filaria*
   Yellowish brown or brown, to the naked eye well-visible worms, 22 to 46 mm in length. Spicules 240 to 340 μ long, of spongy-denticulated structure. Ends of crura dentated. Habitat: bronchi and partly also pulmonary foci ..... *P. rufescens*
   Habitat: pulmonary foci or nodules 2

2. Thread-like spicules of markedly unequal length..... *N. linearis*
   Equal spicules of spongy-denticulated structure 3
3. Spirally wound caudal end, rudimentary bursa ..... *M. capillaris*
   Straight or slightly curved caudal end, moderately developed bursa.. 4
4. Spicules less than 160μ in length. Gubernaculum of two parts (crura, corpus). Ends of crura smooth, curved ventrally and medially, and pointed (Figs 1 and 2) ..... *P. brevispiculum*
   Spicules more than 290 μ in length.
   Gubernaculum of 3 parts (crura, corpus, capitulum). Crura end boot-shaped ..... *C. ocreatus*

Females

1. White, well-visible, 50 to 100 mm long worms
   Vulva situated in median region of the body. Habitat: bronchi .. *D. filaria*
   Yellowish-brown or brown, well-visible, 30 to 65 mm long worms. Vulva in the posterior region. Habitat: bronchi and partly also pulmonary foci ..... *P. rufescens*
   Habitat: pulmonary foci or nodules 2
2. Brown-coloured worms, 55 to 95 mm in length. Bell-shaped provagina (Fig. 3) ..... *C. ocreatus*
   Colourless, fragile, small worms 3
3. The final 40 to 50 μ portion of the vagina runs parallel to the body wall. No postvulvar swelling is present (Fig. 4) ..... *M. capillaris*
   The final portion of the vagina is not parallel to the body wall. A conspicuous spheroid postvulvar swelling is present 4
4. The distance of anus from tip of tail surpasses 38 μ (Fig. 5) *P. brevispiculum*
   The distance between anus and tip of tail is less than 32 μ. The tail is more or less bent showing a loose cuticular membrane on the ventral side (Fig. 6) ..... *N. linearis*

The first-stage larva of *P. brevispiculum* has a smooth, gradually tapering, pointed tail end like those of other species of this genus. Its differentiation from the latter solely by the configuration of the tail end is, therefore, not possible (Fig. 8).

As far as their size is concerned, this seems, according to POHL, not to admit differentiation because of considerable overlapping (*P. brevispiculum* 240 to 314 μ, *P. rufescens* 263 to 333 μ as measured by POHL). In his opinion, however, there is some slight, though for species differentiation by no means reliable, difference in the livelines of movements of larvae of the two species.

However, peculiarly the size limits of *P. rufescens* larvae originating from Germany are considerably lower (263 to 333 μ fide POHL, 1960; 240 to

310μ fide NÜRNBERG, 1961) than those recorded in localities where *P. brevispiculum* does not occur (Soviet Union: SHUBKINA, 1939: 321 to 375μ; TSHIZHEWSKY, 1940: 330 to 360μ; DAVTIAN, 1949: 350 to 390μ; U. S. A.: MAPES and BAKER, 1950: 340 to 360μ; Israel: GERICHTER, 1951: 370 to 400μ).

The larvae measured by us were obtained from pulmonary foci the single-species infection of which was rigorously controlled. A total of 40 larvae were harvested of each of the two species showing size-ranges from 273 to 321μ

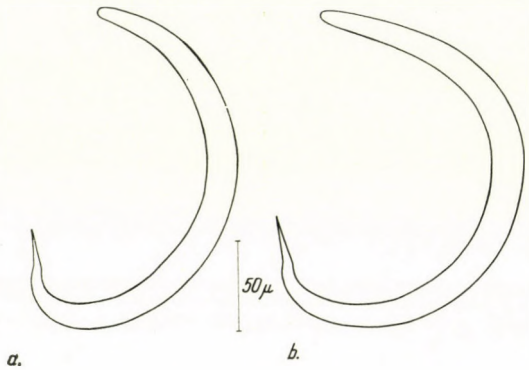


Fig. 8. First stage protostrongylus larvae. *a, P. brevispiculum*; *b, P. rufescens*

(P. brevispiculum), and 309 to 380μ *(P. rufescens)*, respectively. Within both groups the standard deviation of size values proved to be nearly the same (13.1 and 16.4). The means for *P. brevispiculum* and *P. rufescens* larvae were found to represent 299μ and 340μ, respectively. The difference between these means appears statistically so significant ($P < 0.1$ per cent) as to plainly invalidate the supposition of their originating from the same larval population.

Out of the brevispiculum larvae collected by us only two individuals attained the length of 320 and 321μ, while of rufescens-larvae only three proved less than 320μ in length. It appears, therefore, that on the basis of their size the larvae of the two species could be practically separated from each other. As however our size ranges do not represent limits characteristic of the species, we may but conclude that Protostrongylus-type larvae proving less than 300μ belong to *P. brevispiculum*, while those surpassing 330μ, to *P. rufescens* (Fig. 8). Protostrongylus-type larvae with a size-range of 300 to 330μ, usually amounting to about 20 per cent, may belong to any one of the two species.

On the evidence of our observations we may now conclude that the population of *P. rufescens* larvae, studied by POHL and NÜRNBERG, was intermixed with *P. brevispiculum* larvae.

Our statement referring to the smallest size of *P. rufescens* larvae being near 300μ, is insofar of practical consequence as the incidence of Protostrongylus-type larvae smaller in size may direct our attention — at least in Europe — to the presence of *P. brevispiculum* or a related species which, owing to its hidden location, might have remained unnoticed.

As far as the peculiarity of movements of the larvae is concerned, KASSAI and HOLLÓ (1957, 1958) are of the opinion that larvae of any lungworm of sheep due to their fairly pronounced body stiffness show a left to right lashing movement in water, in contrary to the serpentizing of Strongyloides and Trichostrongylid larvae. Differences in the intensity of motion are dependent on the size of the larva rather than on the species: the smaller the larva of a lung parasite, the more vivid is its moving *(M. capillaris)*, whereas the larger in size, *e.g.P. rufescens*, *C. ocreatus*, *D. filaria*, the more sluggish is its motion. The larvae of *P. brevispiculum* and *P. rufescens* cannot be differentiated by their movement habits.

The description of the first-stage larvae of P. brevispiculum. Length 240to 321μ, maximum width 15 to 20μ. The oesophagus is 108 to 162μ in length. The body of the larva is transparent, its movement moderately lashing, the body of inactive larvae is characteristically curved. The tail is smooth and pointed, as generally typical of Protostrongylus larvae. At the root of the tail the larva is slightly undulated. Caudal appendage and dorsal spine are absent.

Pathological lesions and histopathological changes in the lung

In the lungs inhabited by *P. brevispiculum*, focal lesions occur. The term "focus" is used here in the sense as interpreted by KASSAI (1957). The chronic, at least one-year-old foci, bear a most close resemblance to typical cystocaulus-foci: they have a more or less indistinct margin, no lobular pattern, they feel solid, their cut-surface is homogeneous, of fatty and moderately juicy appearance. *P. brevispiculum* foci differ from those of cystocaulus by their greyish-yellow, instead of brownish, colour and by the absence of brownish markings on the cut-surface indicating the cross and longitudinally sectioned worms which in the case of *P. brevispiculum* are colourless. Since we had an opportunity to examine but a limited number of *P. brevispiculum* foci showing partly a mixed *(N. linearis)*, and never fresh infection, we must at present refrain from further details on the features of *P. brevispiculum* foci.

As revealed by the histological examination of one of the foci, at the site of chronic lesions the original structure of the lung tissue was completely unrecognizable. The adult worms as well as their few eggs and larvae are situated in the atelectatic parts of lung tissue. However, since the lesions are developed in the area of pulmonary acini, also *P. brevispiculum* should be

considered to be parenchyma-dweller. Very likely the histological appearance of fresh lung foci is different from that of the chronic ones described above, and as such it might more closely resemble the lesions caused by other parenchyma-dwelling lung worms.

SUMMARY

The present paper reports on the incidence of *Protostrongylus brevispiculum* Mikačič 1940 in sheep in Hungary. On the basis of earlier descriptions the differentiation of *P. brevispiculum*, *N. linearis* and *M. capillaris* females was impossible. The author distinguishes the females of *M. capillaris* from those of the other two species by the final portion of their markedly refractive vagina, which advances immediately under the cuticle, parallel to the body wall. The final portion of the vagina of both *P. brevispiculum* and *N. linearis* is not refractive and it reaches in the shape of an arch the body surface where it opens on the surface of a conspicuously protruding, spheroid muscular swelling. The above two species may be differentiated by the morphology of their caudal ends. The tail of *P. brevispiculum* females surpasses 38μ and is somewhat pointed, whereas that of *N. linearis* females is less than 32μ in length, and bluntly rounded. The final portion of the rectum of *N. linearis* females is conspicuously refractive.

The first-stage larvae of *P. brevispiculum* are 240 to 321μ in length. The shape of their caudal end has striking resemblance to that of the first-stage larvae of *P. rufescens*. However, to a certain degree they may be differentiated by their dissimilar longitudinal measurements, since the length of the shortest *P. rufescens* larvae is about 300μ. Out of the protostrongylus-type larvae collected from sheep in Europe those shorter than 300μ should be regarded of *P. brevispiculum*, whereas those longer than 330μ of *P. rufescens*. About 20 per cent of protostrongylus-type larvae are 300 to 330μ in length, thus they may belong to any of the above two species.

A short description is presented on the main characteristics of pathological lesions and pathohistological changes caused by *P. brevispiculum* in the lungs.

Pictures and key to the determination of lung worms inhabiting sheep in Europe are presented.

REFERENCES

ДАВТЯН, Э. А.: Зоол. сб.инст-а фитопатол. и зоол. Арм. АН., 1949, 185—263. GEBAUER O.: Z. f. Parasitenkunde **4** (1932), 147—219. GERICHTER, Ch. B.: Parasitology **41** (1951), 166—183. HOLLÓ, F.: Magyar Állatorvosok Lapja, 1955, 46—50. KASSAI, T.: Tanulmány a juhok gócos tüdőférgességéről, különös tekintettel a Cystocaulusocreatusra. Thesis, Budapest, 1956. IDEM: Acta Vet. Hung. **7** (1957), 351—360. KASSAI, T. and HOLLÓ, F.: Magyar Állatorvosok Lapja, 1957, 232—234. IDEM: Československá parasitologie **5** (1958), 95—99. MAPES, C. R. and BAKER, W.: JAVMA **116** (1950), 433—435. MIKAČIĆ, D.: Vet. Arhiv (Zagreb) **9** (1939), 126—133. IDEM: Ibidem **10** (1940), 86—91. NÜRNBERG, H.: Dictyocaulus- und Protostrongylidenbefall bei Schafen. Thesis, Berlin, 1961. POHL, R.: Der Protostrongylidenbefall bei Schaf und Hase in Westdeutschland. Thesis, Hannover, 1960. ROSE, J. H.: Nature **180** (1957), 1372—1373. IDEM: Res. in Vet. Sci. **2** (1961), 253—258. ШУБКИНА, Д. И.: Лар-Воскопическая диагностика легочных гельминтов овец и коз. Thesis. Moscow, 1939. ШУЛЬЦ, Р. С. and АНДРЕЕВА, Н. К.: Тр. ГЕЛАН **5** (1959), 157—161. ЧИЖЕВСКИЙ, И. И.: Сб. работ воронежской обл. оп. станции по ветеринарии, 1940, 130—13.

IMMUNIZATION EXPERIMENTS WITH IRRADIATED LARVAE

I. STUDIES ON THE EFFECT OF X-RAYS ON EGGS AND LARVAE OF ASCARIDIA GALLI

By

I. VARGA

Helminthological Research Laboratory of the Department of Parasitology (Director: Prof. S. KOTLÁN), University of Vet. Sciences, Budapest

(Received July 17, 1963)

The experimental work dealt with in this paper was carried out with the purpose to learn whether irradiated eggs containing infective larvae of *Ascaridia galli*, administered orally to susceptible chickens, might be able to induce an immunity or resistance against this roundworm.

BABERO (1952) was the first to study the effect of X-rays on eggs collected from the uterus of *Ascaridia galli*. He found that on irradiation with 5000 to 40,000 r the course of their segmentation was variously protracted, and moreover, that an irradiation with 10,000 r inhibited the development of the first larva in 17.5 per cent, while that with 40,000 r in 75 per cent of eggs. In the first case the development was stopped at the gastrula stage, while in the latter already at the blastula stage.

BABERO studied also the effect on and the behaviour of treated larvae in the organism of experimental birds. The results obtained in the experimental groups of hosts, particularly with regard to the numbers of recovered larvae, proved, however, too inconstant to allow definite conclusions, and no marked differences could be noted in size between the larvae collected of treated, and those of untreated birds even 4 weeks following infection.

More conclusive results were obtained by SHIKHOBALOVA *et al.* (1958). According to the findings of these authors eggs at the morula, blastula or gastrula stage, were more sensitive to X-rays than those at the unsegmented stage or even eggs containing the first larva. No differences were found by these authors (1959) between the effect of a single dose or a fractional irradiation, or that of X-rays and Co^{60} gamma rays. In addition, it could be observed that the number and size of worms arising from irradiated larvae was smaller, and that birds infected with larvae-containing eggs after treatment with 10,000 and 15,000 r harboured no male worms at all. Moreover, a higher sensitiveness was observed by these authors if eggs of this roundworm were treated with X-rays in an unsegmented stage. According to SHIKHOBALOVA *et al.* (1961) the sensitiveness to irradiation of eggs originating from individually different females of *Ascaridia galli* may vary widely, *i.e.* the difference may rise from 0 to 38 per cent

The object of our preliminary investigations was to determine, on the one hand, the dose of irradiation likely to inhibit the development of larvae to the adult stage, on the other, to obtain satisfactory information on the X-ray dose suitable to inactivate larvae for the purpose of immunizing experiments. In one group of our experimental birds we studied the behaviour of the worm burden developing from irradiated larvae with particular reference to their viability and peculiarities of egg-laying.

Material and techniques

Eggs were collected from the droppings of infected birds by the flotation technique, carefully washed in topwater, embryonated at 28° C for at least

3 weeks and then treated with X-rays. For irradiation a Medicor-type Roentgen apparatus was used under following conditions: KV 180, mA 15, filter ∅, air dose 710 r/min., distance 20 cm. Eggs in a Petri-dish immersed in water under a level of 2 mm. Single exposure. The course of embryonation was controlled every other day. For transmission experiments white leghorn chicks, kept free from infection in the laboratory since hatching, were used. The collection of worms from the sacrificed birds was performed by a modified ACKERT-NOLF technic.

Results

Effect of irradiation on the course of the embryonic development of A. galli

Viable, unsegmented eggs were irradiated with 5-, 10-, 20-, 40- or 80 thousand r, and embryonated at 28° C. On the next day the frequency rate of the first division was found to be inversely related to the X-ray-dose used (see Fig. 1). While the control eggs started division at the rate of 94 per cent, this rate was lower in everyone of the irradiated groups without decreasing to 0 even in that treated with 80,000 r.

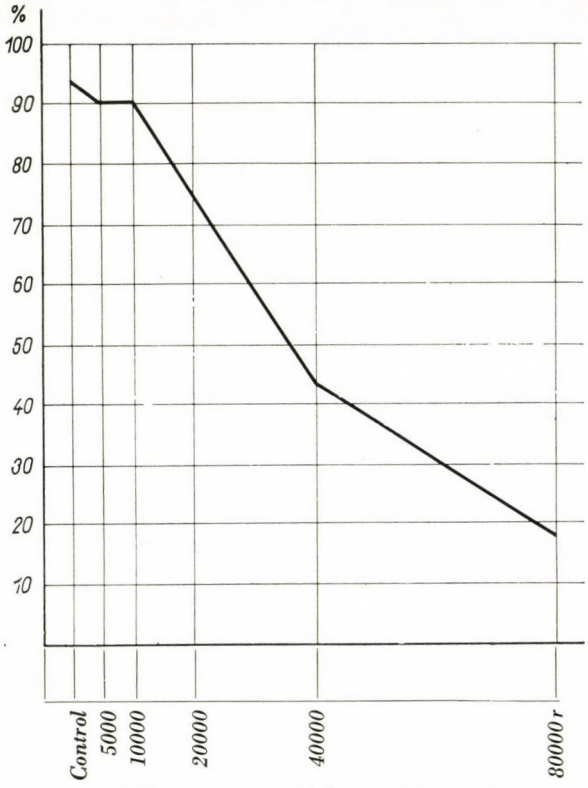


Fig. 1. Segmentation 24 hours after exposure

On account of the retarded segmentation of the irradiated eggs, it was determined to assess the time required for the development of the first larva on the 21st day instead on the 8th day, as is the case with untreated eggs (see Table I). As shown by the data of table I not a single egg reached the larval stage when irradiated with 80,000 r, 50 per cent of them remained even unsegmented. On using lower doses, the results were better, approaching successively those known with untreated eggs. The largest numbers of embryonated eggs, *i.e.* those containing the first larva, were seen after irradiation with 5,000 and 10,000 r.

The effect of irradiation on the postembryonic development of A. galli

The object of this part of experiments was to determine the optimal dose-range of irradiation likely to attenuate larvae to that extent which might prove suitable for active immunization purposes. Five groups each consisting of 6 seven weeks'old chickens were fed with 500 larvae-containing eggs per bird; the eggs were irradiated and administered on the same day. The irradiation took place with 10-, 20-, 40-, 60- and 80 thousand r. One group of 6 birds was left as control, *i.e.* each bird fed with 500 untreated infective eggs. All experimental birds were sacrificed 4 weeks after infection, and examined with the following results:

Number of worms recovered per bird in average

Control group	142.2
Irradiated with 10,000 r	30.5
„ „ 20,000 r	30.5
„ „ 40,000 r	0.0
„ „ 60,000 r	0.16
„ „ 80,000 r	0.0

Neglecting the group treated with 60,000 r from which but a single worm could be recovered, it appears that approximately the dose-range near 40,000 r is likely to inhibit the development of worms.

Remarkably enough no male specimens could be detected among worms developing from irradiated larvae, in contrast to a 1 : 1 ratio of males and females present in the control birds.

There are, however, some questions which need further elucidation, particularly with reference to the nature of the pronounced X-ray sensitiveness of males. It is, *e.g.* not clear whether male specimens are likely to start postembryonic development and die at an early stage, or fail to develop at all, nor is any information at hand on the differences in size during early post-

Table I

Embryonal development of *Ascaridia galli* eggs after exposure to X-rays

Group	Exposure (r)	No of eggs examined	Percentage						
			egg	2 blast.	4 blast.	8 blast.	Morule	Prelarva	Larva
1.	—	206	2	—	—	2	1	3	92
2.	5,000	198	3	—	—	0.5	1	3	91*
3.	10,000	294	3	—	—	1	5	14	77
4.	20,000	185	2	—	2	4	17	17	58
5.	40,000	230	12	3	3	2	10	47	23
6.	80,000	190	50	15	8	12	10	5	—

* = +1.5 percent free larvae

embryonic development. These questions have not been taken into consideration by the experiments of BABERO, SHIKHOBALOVA *et al.* neither.

In an approach to the above questions the following experiments were carried out. Two weeks old chickens were fed partly with untreated, partly

Table II

Average parasite count per chicken

Days after infection	No of killed chickens	Exposure (r)			
		0	10,000	20,000	40,000
4	2	111	71	30	10
12	2	85	33	29.5	6
20	2	55	25.5	25	0
26	2	76	1	18	0.5
33	2	32	15	3	0.5
50	6	10,3	16	0,3	0

with treated embryonated eggs. For attenuation, dose-ranges of 10-, 20- and 40 thousand r were used. Each bird received 500 eggs. From each group 2 birds were sacrificed on the 4th, 12th, 20th and 33rd, while the remaining on the 50th day following infection. The collected worms were compared according to groups with special reference to number, size, and ratio of males and females. From the data of Table II. registering the average number of worms recovered from the individual birds, it seems evident that the average worm count of the individual groups during the whole course of postembryonic development of the worms was inversely related to the dose-range applied.

An analysis of the measurements of worms shows that their average growth, as compared with that of the control worms, was slower being proportional to the dose-range used (see Fig. 2). The deficiency in growth is apparent already on the 4th day following infection (controls being 0.75,

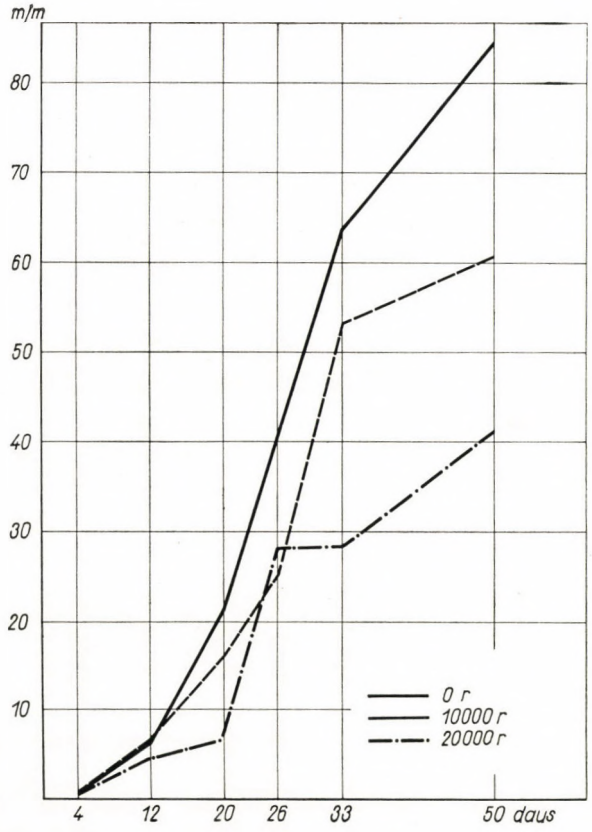


Fig. 2. The effect of exposure on the growth of worms

treated ones with 10,000 r 0.70, with 20,000 r 0.50, with 40,000 r 0.35 mm, in average) and may be followed throughout the course of postembryonic development. (Because male worms were absent in the treated groups, the Fig. 2 shows but data referring to females of the control group.) The average size of worms developing from eggs irradiated with 40,000 r can be neglected partly because of their absence in birds sacrificed on the 20th and 50th days, partly with due consideration of the irregularities of their growth (4th day = 0.35 mm; 12th day = 4.0 mm; 20th day = no worm; 26th day = 1.0 mm; 33rd day = 44.0 mm; 50th day = no worm).

The sexual characters of *A. galli* are not easy to be distinguished even under normal conditions until the 8th to 10th day of postembryonic development. In the present experiment the differentiation of sexes was attempted in all worms of birds sacrificed on the 12th day and thence forward. In contrast to the control group, in which 293 female and 265 male worms were ascertained, out of a total of 316 worms recovered from the experimental birds no male specimens occurred at all.

As shown by the coproscopy, the control group discharged worm eggs already 31 days following infection, while birds belonging to the experimental groups failed to discharge worm eggs throughout the 50-day period of observation.

Table III

Comparison of intact worms which developed from eggs exposed to 20.000 r on the 84th day after infection

		Chickens	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
20,000 r	♂♂	number	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		average size (mm)												
	♀♀	number	1	—	1	—	2	1	1	2	2	—	—	1
		average size (mm)	11	—	3		3	65	70	5	4			5
Control	♂♂	number	1	3	3	1	6	5	—	2	—	4	5	7
		average size (mm)	58	59	54	68	56	58		58		60	57	65
	♀♀	number	1	1	4	2	2	1	1	1	—	8	2	5
		average size (mm)	74	93	79	93	86	90	66	86	—	83	90	92

It was, therefore, in another experiment examined whether worms arising from treated larvae are likely to reach sexual maturity at a later period of their life. Two groups, each of 12 three weeks old chickens were formed. One group was fed 500 untreated embryonated eggs per bird, while the other received the same number of infective eggs treated with 20,000 r shortly before being administered. Birds of the control group began to discharge worm eggs on the 35th day, continuing to do so subsequently, while in the group infected with treated infective eggs the discharge of Ascaridia eggs was missed until the end of the experiment, *i.e.* until the 84th day after infection. As shown in Table III, the number of worms detectable 12 weeks following infection, was altogether insignificant.

The most conspicuous morphological alterations to be recognized in female specimens arising from irradiated larvae refer to a definitely undeveloped state of their sexual organs. While in some female worms the uterus contained a few immature eggs, others were found missing one branch of their paired gonad, and about 20 to 30 per cent of them appeared both on macroscopic

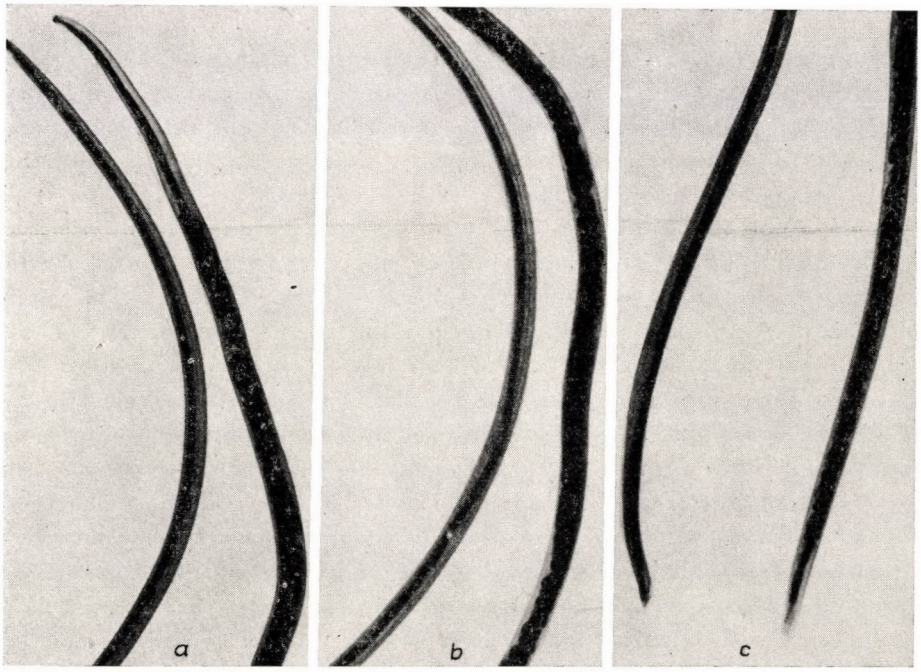


Fig. 3. Incomplete development of the female reproductive system as compared with normal. *a*, cephalic end; *b*, middle part; *c*, tail end

and low magnification microscopic examination to be devoid of sexual organs. For comparison see two female specimens (Fig. 3) approximately similar in size. One of them represents a 33 days old female arising from an untreated egg, while the other was 50 days old having developed from a larva exposed to 10,000 r.

Discussion

The results of our present studies are in harmony with the observations made by BABERO, and SHIKHOBALOVA *et al.* according to which X-rays have an untoward effect on the development of *A. galli*. As shown by these authors the irradiation of unsegmented eggs with increasing doses of X-rays proportionally decrease the ratio of embryonating eggs to reach the larval stage. Using smaller doses the embryonic development of eggs was more advanced,

some of them reaching even the larval stage, but in comparison to the untreated ones, after a longer space of time only.

In the course of the present experiments none of the eggs exposed to 80,000 r developed to the larval stage, and though segmentation started in about 50 per cent of them, this was fairly early discontinued. Because of the retardation in growth, the final assessment can be attempted only when the stagnation of development proved evident in all eggs. An immediate effect of irradiation appears to be indicated already on the first day by the retardation rate of the first division. The smaller the X-ray dose, the further the segmentation may proceed, notwithstanding the individual variability, due to which some eggs will prove inhibited to embryonate by a dose of 10,000 r, while there may be others not being influenced even by 40,000 r.

According to BABERO on irradiation of eggs the worm-count may vary in individual birds, this being, however, not a constant feature, whereas according to SHIKHOBALOVA *et al.* it was decreased. Our investigations tend to show that between irradiation and worm count there exists, apart from rare exceptions, a linear relation (Table II) already since the fourth day of the postembryonic development. As far as the size of worms is concerned, BABERO did not notice any differences between irradiated male and female worms and those found in the control birds. According to SHIKHOBALOVA *et al.* worms recovered from the treated groups are smaller in size and the sensitiveness to X-rays of male worms is more pronounced, irrespective whether the irradiation took place while the zygote or the embryonated stage of the eggs. A pronounced sensitiveness to X-rays of male worms has been evidenced in our experiments too as no males could be detected at the early phases of postembryonic development neither. The average size differences found between larvae and worms of the treated groups and the females recovered from control birds (Fig. 2) indicate throughout the whole course of postembryonic development a continuous effect of X-rays. The morphological changes described by BABERO were not observed in our experiments. The most conspicuous morphological alteration manifested itself in the deficient development (not hypertrophy!) of the female sex organs. A histological examination is required to clear up this effect in detail.

In an attempt to use inactivated eggs and larvae for vaccination purposes, it seems of utmost importance to have a clear understanding of the fate of the resulting worm burden and its egglaying capacity. The consistent absence of males tends to favour the view that inconveniences arising from these sources are not to be apprehended. This supposition appears to be corroborated by one of our experiments, in which after infection with eggs exposed to 20,000 r, no worm eggs could be detected in the experimental birds during a period of 84 days, and moreover the majority of worms disappeared from the intestine showing that their vitality was not equal to that of control worms.

Insofar as radiobiological reactions are determined by statistical laws and the results may prove, like in cases of experimental transfers of parasites, more or less widely dispersing, the accuracy of experimental data may no doubt be enhanced by increasing the experiments. The present work is likely to yield information principally on the question how irradiation with various dose-ranges might influence the development of *A. galli*. It appears that a dose-range of approximately 10,000 and 20,000 r will prove suitable for attenuating infective eggs and, at the same time, for attempting active immunization of chickens against *A. galli*.

Acknowledgements

The author would like to express his thanks to Professor S. KOTLÁN for the interest which he has taken in this investigation. The assistance of Mrs. Z. PARÁDY and Dr V. VÁRTERÉSZ of Radiobiological Research Institute, in providing the X-ray machine used, is greatly appreciated.

SUMMARY

1. Under conditions of irradiation used in the present experiments, the exposure to 80,000 r inhibits the eggs of *Ascaridia galli* to develop to the larval stage.

2. The treatment of infective eggs with 40,000 r practically inhibits the development of worms *(A. galli)* in the intestine, a dose-range of 10,000 r that of males.

3. A linear relation could be established between the dose-range and the decrease of the worm-count as well as growth of worms in the individual groups of birds during the whole course of postembryonic development (Table II and Fig. 2).

4. There was no discharge of worm eggs during the 50-resp. 84-day period of observation in any of the birdgroups fed treated eggs. Worms arising from treated infective eggs are evacuated from the intestine earlier than normal worms from the control birds. Structural changes are conspicuous in sex organs of female worms developing from irradiated infective eggs.

5. A dose-range of 10,000 to 20,000 r appears likely to attenuate infective eggs of *A. galli* for the purpose of attempting immunizing experiments.

REFERENCES

BABERO, B. B.: Trans. Amer. Micr. Soc. **71** (1952), 114. ШИХОБАЛОВА, Н. П. ВАСИЛЬКОВА, З. Д., ШЕХТМАН, Я. Л. and ВИНОГРАДОВА, И. Д.: Сб. работ по гельминтол., посвященный 80 л. К. И. Скрябину. Moskow. 1958, 400—406. ШИХОБАЛОВА, Н. П. и ПАРУЖИНСКАЯ, Л. С.: Helminthologia **1** (1959), 291. IDEM Тр. Гелан **11** (1961), 337.

КУМУЛЯЦИЯ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА В ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКЕ

ДЬ. ЛАМИ

Кафедра и клиника внутренних незаразных болезней (зав.: акад. Я. МОЧИ) Университета ветеринарных наук, Будапешт

(Поступило 16 сентября 1963 г.)

В предыдущих работах мы доложили о том, что при введении животным декстрана значительная его часть накопляется в печени (*Лами*, 1962, 1963). Проблему кумуляции мы решили изучить и в связи с поливинилпирролидоном (ПВП) с той только разницей, что кроме печени мы вовлекли под наблюдение и селезенку.

Согласно *Хехт* и *Везе* (**Hecht et Weese**, 1943) после 3—4 недель ПВП уже не обнаруживается в организме. *Троуер* и *Кембел* (**Thrower et Campbell**, 1951) кроликам веса в 2,5 кг после получения от них 5,0 мл/кг крови вводили внутривенно 10—40 мл/кг Плазмозана, содержащего 3,5% ПВП; между 14. и 28. днем от момента введения вещества им не удалось его обнаружить в печени животных. Эксперименты *Мейкок* (**Maycock**, 1952) показали, что при введении больших доз ПВП животным его можно обнаружить а тканях животных. К подобному заключению пришел автор и на основании изучения органов младенцев больных клиники. При применении ПВП меченного C^{14} и I^{121}, обнаружено, что фракции молекулярного веса выше 31 000 кумулируются в организме. *Веси* (**Vészi**, 1952) того мнения. что ПВП не кумулируется в организме. *Кох* (**Koch**, 1953) тоже утверждает, что кумуляция препаратов ПВП в организме зависит от молекулярного веса. Исследования с C^{14} показали, что 30—50% всего количества ПВП можно выявить в организме даже после 100 дней от момента введения и что 50—75% кумулировавшегося препарата обнаруживалось в кожном покрове и скелетной мускулатуре, 15—25% же в РЭС-е. *Лёфлер* и *Скудер* (**Loeffler et Scudder**, 1953) четырем больным раком вводили ПВП, меченный C^{14}. Пациенты погибли от рака через 2—8 дней, когда фракции бóльшего молекулярного веса наиболее концентрированно обнаруживались в почках, легких, селезенке, печени и лимфоузлах. По *Яцкевиц* (**Jatzkewitz**, 1954) если молекулярный вес молекул ПВП больше 50 000—60 000, то препарат может задержаться в организме от нескольких месяцев до года. *Амон* и *Мон* (**Ammon et Mohn**, 1959) разработали метод окрашивания для выявления накопившегося в тканях ПВП. Особенно хорошо окрашивался ПВП в работающих почках, в печени, в селезенке и в легких. По данным авторов

кумуляция препарата зависит от молекулярного веса, от дозы, от количества инъекций и от срока времени, истекшего до убоя экспериментального животного.

Собственные исследования

В наших экспериментах мы работали с кроликами. С контрольными всего на 18 животных изучена кумуляция ПВП в печени и селезенке после введения Перистона. Каждому кролику введено внутривенно по 1 г/кг действующего начала. Для проведения анализа органов по два животных убито после введения Перистона через 2 часа, 3 дня, затем через 1, 2, 3, 4, 6 и 8 недель. Кроме определения количества кумулировавшегося в печени и селезенке ПВП мы параллельно определяли концентрацию препарата в крови.

Методика

Отбор экспериментальных животных мы осуществляли с таким же расчетом, как и в подобных экспериментах с декстраном *(Лами*, 1962, 1963).

Определение уровня ПВП в сыворотке проводилось методом *Пулэн* и *Пиет* (Poullain et Piette, 1948).

Определение ПВП в печени и селезенке. Для определения накопившегося в печени и селезенке ПВП применялся метод, разработанный для определения ПВП в плазме. Не явилось нужным исчисление новой калибрационной кривой, ибо при фотометрировании ряда разбавления из Перистона с одной стороны и основного гомогенизата печени и физраствора поваренной соли необработанных ПВП-ом кроликов с другой, получены такие же значения экстинкции, как и при исчислении калибрационной кривой определения ПВП в плазме. Согласно оригинальному предписанию вместо 2 мл плазмы брались 2 г печени и из них при постоянном растирании, добавляя частями 16 мл дистиллированной воды, приготовляли гомогенизат. Этой процедурой при приготовлении гомогенизата из селезенки мы не могли руководиться, ибо селезенки кроликов, как правило, не были веса 2 г, поэтому к кусочкам селезенок мы добавляли столько дистиллированной воды, чтобы она весила 2 г (степень добавки мы при исчислении значения мг% учли).

Гомогенизаты органов оставлялись в течении примерно часа стоять при комнатной температуре. С этого момента обработка образцов уже не отличалась от процедуры, применявшейся при определении ПВП в плазме.

Результаты

После внутривенного введения относительно больших доз Перистон-а (62—87 мл) у всех кроликов наблюдалось слабое, переходное угнетение. Через несколько часов однако все животные делали впечатление бодрых, здоровых кроликов.

Формирование уровня ПВП в плазме и количества его в печени и селезенке показывают данные Таблицы и Рис. 1.

Оба способа изображения однозначно показывают, что количество ПВП в печени на первой неделе очень быстро повышается и значением 208 мг% достигает пика. На другой неделе количество ПВП в печени внезапно понижается до значения 129 мг% и, постепенно понижаясь, к 8. неделе устанавливается на значении 28 мг%. Количество ПВП в печенях, изучен-

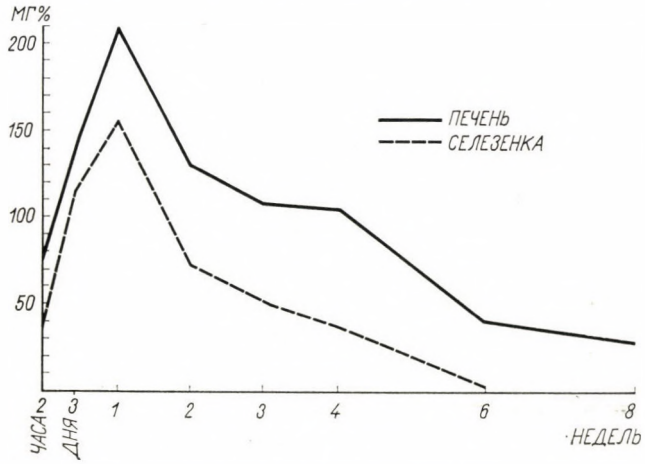


Рис. 1. Формирование количества поливинилпирролидона в печени и селезенке после разового введения Перистона

ных в момент пика кумуляции равнялось в среднем 124,8 мг-ам, что представляет 4,52%-ов введенного материала.

Способ накопления ПВП в селезенке показывал тоже характерную картину. Максимум накопления вещества наступило на первой неделе (154 мг%), на второй имело место существенного понижения его в этом органе и на шестой неделе он имелся уже только в следах. В момент пика кумуляции в селезенках кроликов ПВП накоплялся в среднем в количестве 1,56 мг, что составляет в среднем 0,055%-ов количества введенного препарата.

Уровень ПВП в плазме быстро снизился; двухчасовое значение 500 мг% после 3 дней равнялось уже только 65 мг%-ам. С этого момента выделение препарата из плазмы значительно замедлилось и на 4. неделе препарат имелся в плазме еще в средней концентрации 6 мг%-ов.

Выводы

Введенный внутривенно ПВП в виде Перистона в дозе 1,0 г/кг удавалось довольно скоро выявить в печени и селезенке и его накопление в упомянутых органах достигало максимума на первой неделе. ПВП сохранялся

Формирование количества поливинилпирролидона в плазме, печени и селезенке после разового внутривенного введения 1,0 г/кг препарата (Перистона)

	2 часа	3 дня	1 неделя	2 недели	3 недели	4 недели	6 недель	8 недель
	после введения							
Вес кроликов в кг-ах*	3 3	3 2,5	3 2,5	3,5 3,5	2,9 3,5	3 3	2,7 3	2,5 3
Количество ПВП в плазме мг%	507 493	61 69	42 39	53 25	19 12	8 5	0 0	
в среднем	500	65	40	29	15	6	0	
Количество ПВП в печени мг%	78 73	142 136	222 195	140 119	125 92	122 87	47 33	31 25
в среднем	75	139	208	129	108	104	40	28
Вес печеней в г-ах	63,3 68,0	82,2 60,7	69,6 48,7	81,4 73,8	60,5 68,7	57,5 70,1	60,7 49,9	58,9 65,5
в среднем	65,65	71,45	58,15	77,6	64,6	63,8	55,3	62,2
В печени накопилось ПВП мг	49,4 49,6	116,7 82,6	154,6 95,0	114,0 87,8	75,6 63,2	70,1 60,9	28,5 16,5	18,2 16,4
в среднем	49,5	99,7	124,8	100,9	69,4	65,5	22,5	17,3
В печени накопилось %-ов введенного ПВП	1,65 1,65	3,89 3,3	5,15 3,9	3,26 2,51	2,61 1,8	2,34 2,03	1,05 0,55	0,72 0,54
в среднем	1,65	3,59	4,52	2,88	2,02	2,18	0,8	0,63

Количество ПВП в селезенке мг%-ов	41 34	106 122	167 142	81 64	56 47	47 28	3 1	0 0
в среднем	37	114	154	72	51	37	2	0
Вес селезонок г	1,3 1,0	1,5 1,5	1,2 0,8	1,4 1,0	0,8 1,2	1,3 1,1	0,9 1,5	
в среднем	1,15	1,5	1,0	1,2	1,0	1,2	1,2	
В селезенке накопилось ПВП мг	0,53 0,34	1,59 1,83	2,0 1,13	1,13 0,64	0,44 0,57	0,61 0,3	0,02 0,01	
в среднем	0,43	1,71	1,56	0,88	0,5	0,45	0,015	
В селезенке накопилось %-ов введенного ПВП	0,02 0,01	0,05 0,07	0,07 0,04	0,03 0,02	0,01 0,02	0,02 0,01	0,0007 0,0003	
в среднем	0,015	0,06	0,055	0,025	0,015	0,015	0,0005	

*Весовые данные получены взвешиванием животных до введения им препарата

в печени и селезенке длительное время, так как из селезенки он исчез только после 6 недель, в печени же он имелся на 8. неделе еще в количестве 28 мг%.

Если сравнить кумуляцию декстрана и ПВП в печени и селезенке только во времени, то при сходных чертах обнаруживаются и расходящиеся. Оба препарата хранятся в печени довольно долго. Согласно данным *Лами* (Lami, 1963) следы декстрана обнаруживаются в печени кроликов еще и на 10. неделе, а ПВП имеется в этом органе на 8. неделе еще в концент-

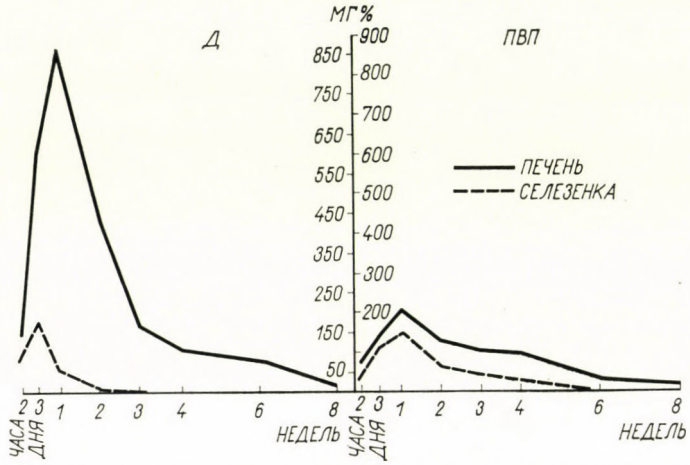


Рис. 2. Формирование декстрана (Д) и поливинилпирролидона (ПВП) в печени и селезенке после разового введения Интрадекса и Перистона

рации 28 мг%. Нет этой сходной черты в кумуляции упомянутых препаратов в селезенке; декстран в селезенке на 2. неделе выявлен только в концентрации 29 мг%, тогда как ПВП еще и на 6. неделе имелся в ней в концентрации 2 мг%. Более существенной является однако количественная разница накопления этих двух заменителей плазмы, что показывалось в двух формах. Одна разница — это накопление бóльшего количества декстрана в печени чем ПВП; в момент пика в печени накопилось 208 мг% ПВП, что равняется только 24,1%-ам количества (863 мг%) накопившегося к этому времени декстрана в печени (Lami, 1962, 1963). Эта разница в накоплении упомянутых двух веществ в печени обусловливается разностью их молекулярных весов. Разница в накоплении этих двух препаратов в селезенке значительно сгладилась. Декстран кульминировал при значении 180 мг%, а ПВП — при значении 154 мг%. Это подтверждает данные других (Törő, Barka, Aros et Velősy, 1951) специалистов, согласно которым более крупные гранулы накопляются главным образом в РЭС-е печени, а меньшие — в РЭС-е селезенки. Это поведение селезенок при накоплении ведет, следовательно, к другой количественной разнице. Если выразить максимум накопления дек-

страна и ПВП в селезенке в процентах к максимуму накопления этих веществ в печени, то у декстрана получится значение 20,8%, а у ПВП — 74% (см. Рис. 2.).

РЕЗЮМЕ

Автором экспериментально изучалось формирование уровня поливинилпирролидона в плазме, печени и селезенке после разового внутривенного введения 1,0 г/кг препарата кроликам.

Обнаружено, что уровень поливинилпирролидона в плазме быстро падает, но препарат долго обнаруживается в ней. В печени количество введенного препарата кульминирует на первой неделе после момента введения. В этот период его концентрация в печени равнялась в среднем 208 мг%-ам. На 8. неделе он обнаруживался в печени еще в концентрации 28 мг%. Накопление поливинилпирролидона в селезенке кульминировал тоже на первой неделе при среднем значении 154 мг%-ов и препарат обнаруживался в этом органе в малом количестве еще и на 6. неделе.

Кролики реагировали на введение Перистона временным угнетением.

Выявление поливинилпирролидона в плазме, печени и селезенке осуществлялось методом *Пулэн* и *Пиет.*

ЛИТЕРАТУРА

Ammon, R. et Mohn, G.: Acta Histochem. **6** (1959), 66. Hecht, G. et Weese, H.: Münch. Med. Wschr. **90** (1943), 11. Jatzkewitz, H.: Hoppe-Seyler's Zeitschr. **297** (1954), 149. Koch, K.: Arzneimittel-Forsch. **3** (1953), 520—565. Lami, Gy.: Канд. дисс. Будапешт, 1962. Idem: Magyar Állatorvosok Lapja, 1962, 454. Idem: Acta Vet. Hung. **13** (1963), 43. Loeffler, R. K. et Scudder, J.: Jama **152** (1953), 2461. Maycock, W. d'A.: Lancet **262** (1952), 1081. Idem: Practitioner **169** (1952), 668. Poullain, P. et Piette, M.: Bull. Soc. Chimie Biol. **30** (1948), 496. Thrower, W. R. et. Campbell, H.: Lancet **261** (1951), 1096. Törő, I., Barka, T., Aros, B. et Velősy, Gy.: MTA Orvosi Tud. Oszt. Közl. **2** (1951), 111. Vészi, I.: Honvédorvos, 1952, 105, 455.

KUMULATION VON POLYVINYLPYRROLIDON IN DER LEBER UND IN DER MILZ

Gy. Lami

Zusammenfassung

Es wurde untersucht, wie sich nach einmaliger iv. Einspritzung von 1,0 g Polyvinylpyrrolidon/kg (Periston) der PVP-Plasmaspiegel sowie die Polyvinylpyrrolidon-Konzentration in der Leber und Milz von Kaninchen gestaltet.

Nach den Ergebnissen sinkt der PVP-Spiegel im Plasma stürmisch, doch kann die Substanz ziemlich lange im Plasma nachgewiesen werden. In der Leber erreichte der PVP-Spiegel 7 Tage nach der Einspritzung den Maximalwert, d. h. die Lebern enthielten durchschnittlich 208 mg%, während dieser Wert in der 8. Woche 28 mg% betrug. In der Milz ergab die Polyvinypyrrolidon-Bestimmung einen durchschnittlichen Speicherungs-Spitzenwert von 154 mg% gleichfalls in der 1. Woche, doch konnte die Substanz noch in der 6. Woche nach der Einspritzung in geringer Menge nachgewiesen werden.

Auf die Einspritzung von Periston reagierten die Kaninchen mit vorübergehender Mattigkeit.

Die Polyvinylpyrrolidon-Bestimmung im Plasma, in der Leber und Milz erfolgte nach der Methode von Poullain und Piette.

DIE UNTERSUCHUNG DER LEBERFUNKTION BEI DEN MIT DEXTRAN BEHANDELTEN PFERDEN

Von

GY. LAMI

Lehrstuhl und Klinik für Innere Medizin (Leiter: Prof. J. MÓCSY) der Veterinärmedizinischen Universität, Budapest

(Eingegangen am 16. September 1963)

Nach den übereinstimmenden Untersuchungsergebnissen zahlreicher Autoren (GRÖNWALL und INGELMAN, 1945; BULL, RICKETTS, SQUIRE, MAYCOCK, SPOONER, MOLLISON und PATERSON, 1949; INGELMAN, 1949; ABERG, 1952; MAYCOCK, 1952; MOWRY, LONGLEY und MILLICAN, 1952; PERSSON, 1952; SWEDIN und ABERG, 1952; FRIBERG, GRAF und ABERG, 1953; MOWRY und MILLICAN, 1953; TERRY, YUILE, GOLODETZ und PHILLIPS, 1953; GOHR, BOLTE und LANGENBERG, 1954; MOLLISON und RENNIE, 1954; TRAENCKNER, 1954; FEKETE, GYERMEK und LÁZÁR, 1955; FEKETE und GYERMEK, 1955; TURNER und MAYCOCK, 1958) speichert sich Dextran besonders in der Leber (LAMI, 1962, 1963), so daß sich die vor allem den Kliniker interessierende Frage ergibt, ob die Dextranspeicherung bzw. deren Folgen Funktionsstörungen in der Leber verursachen. Einer Feststellung bzw. Ausschließung der etwaigen Funktionsstörung kommt im Zusammenhang mit der Leber außerordentliche klinische Bedeutung zu, weil die Leber bei der Dextranspeicherung nach den eigenen diesbezüglichen Untersuchungen eine wichtige Rolle spielt. Laut Kaninchenversuchen speichert sich nahezu 1/5 des in der Menge von 1,0 g/kg iv. eingespritzten Dextrans vorübergehend in der Leber (LAMI, 1962, 1963).

BOHMANSSON, ROSENKVIST, THORSÉN und WILANDER (1946) haben anläßlich der Anwendung von 22 verschiedenen Dextranpräparaten niemals Leberfunktionsstörungen beobachtet. BLOOM stellte nach Infusion von 500 ml eines Dextranpräparates bei den an Proteinurie (1951) und an verschiedenen Krankheiten leidenden Menschen (1952) nach den Bromsulphalein- und Tymol-Turbiditätsproben stets negative Resultate fest. Die Deutung der von REINHOLD, FRIJTAG DRABBE, NEWTON und THOMAS (1952) gewonnenen Ergebnisse wird durch den Umstand sehr erschwert, daß sie ihre Untersuchungen (Serumbilirubin-, Harnurobilinogenbestimmung, Bromsulphaleinretention, Tymol-Turbiditätsprobe) stets bei Personen im postoperativen Stadium durchgeführt haben. Aus dem in mehreren Fällen übereinstimmenden, auf eine Läsion des Leberparenchyms hinweisenden Verhalten der Proben kann indessen nicht eindeutig auf eine vom eingespritzten Dextran verursachte Funktionsstörung geschlossen werden. WILSON, ESTES, DOYLE, BLOOM und WARREN (1952) sowie ATIENZA und ZALAMEA (1954) haben nach Einspritzung von Dextran bei Menschen gleichfalls keine hepatischen Funktionsstörungen wahrgenommen.

Eigene Untersuchungen

Wir suchten eine in praktischer (klinischer) Hinsicht zufriedenstellende Antwort auf die Frage zu gewinnen, ob das in der Leber gespeicherte Dextran bzw. die Tatsache der Speicherung eine derartige Bromsulphalein-Farbstoffretention zustande bringt, daß daraus auf eine Läsion der Leberzellen bzw. eine dadurch bedingte Funktionsstörung geschlossen werden kann.

Nach den an Kaninchen vorgenommenen Dextranspeicherungsversuchen konnte das in der Menge von 1,0 g/kg iv. eingespritzte Dextran am 3.—7. Tage nach der Injektion in größter Menge (606—863 mg%) bestimmt werden (LAMI,

1962, 1963), weshalb wir auch die Bromsulphaleinprobe am 3., 5. und 7. Tage nach der Dextraninfusion ausführten.

Methode

Die Untersuchungen wurden an 12 völlig gesunden, 4—6 Jahre alten Pferden östlicher Rasse und beiderlei Geschlechts vorgenommen, die sich in mittelmäßiger Kondition befanden. Für die Durchführung der Bromsulphaleinproben wählten wir Pferde einerseits deshalb, weil die Funktion der Pferdeleber von KARSAI (1959) sehr eingehend untersucht worden ist, anderseits weil der Stoffwechsel des Pferdes in hohem Maße dem des Kaninchens, d. h. derjenigen Tierart gleicht, deren Leber auf Grund ihrer Dextranspeicherung die Basis für die Wahl des Zeitpunktes zur Durchführung der Leberfunktionsproben lieferte.

Die Leberfunktion untersuchten wir mit der Bromsulphaleinprobe. Der Farbstoff wurde den Pferden in 5%iger wäßriger Lösung in der Menge von 5,0 mg/kg iv. eingespritzt und die von Bromsulphalein hervorgerufene Extinktion in der 2½ sowie 40 Minuten nach der Injektion entnommenen Blutproben bestimmt. In Anbetracht dessen, daß wir bei den Untersuchungen lediglich festzustellen wünschten, welche Extinktion der eingespritzte Farbstoff nach gleichmäßiger Verteilung im Plasma (2½ Minuten nach der Einspritzung) sowie nach 40 Minuten ergibt, sahen wir von der Aufnahme einer Kalibrationskurve ab. Im Falle einer etwaigen Farbstoffretention wünschten wir den in der 40. Minute festgestellten Wert im Prozentsatz des Extinktionswertes nach 2½ Minuten zu ermitteln, und aus dem auf diese Weise gewonnenen Quotienten — dem Maßstab der Farbstoffretention — wollten wir auf die Schädigung der Leber folgern.

Beim Bromsulphaleinnachweis gingen wir so vor, daß wir 2,0 ml heparinisiertem Pferdeplasma 8,0 ml physiologische Kochsalzlösung sowie 0,1 ml frisch zubereitete 10%ige Natronlauge-Lösung zusetzten und die Extinktionen im Photometer bei 1 cm Schichtdicke mit dem Filter S 57 gegenüber einer kompensierenden Lösung bestimmten, die im Hinblick auf die eigene Plasmafärbung aus 2,0 ml im gleichen Zeitpunkt entnommenen Plasma und 8,1 ml physiologischer Kochsalzlösung bestand.

Zuerst bestimmten wir an 2 aufeinanderfolgenden Tagen die Bromsulphalein-Extinktionen im Plasma der 12 Versuchspferde zu den angegebenen Zeitpunkten nach Einspritzung des Farbstoffs.

Bei den Voruntersuchungen stellten wir anläßlich der ersten und zweiten Bestimmung 2½ Minuten nach der Bromsulphaleineinspritzung durchschnittliche Extinktionswerte von 0,90 (Grenzwerte 0,81—0,98) bzw. 0,88 (Grenzwerte 0,77—0,94) fest; bei den in der 40. Minute vorgenommenen Bestimmungen

aber hat Bromsulphalein zu beiden Untersuchungszeitpunkten keinen Extinktionswert mehr ergeben.

Angesichts der Tatsache, daß Bromsulphalein nach den Untersuchungen von KARSAI (1959) aus dem Blut gesunder Pferde nach 40 Minuten restlos verschwindet, konnte aus den vor der Dextraninfusion vorgenommenen Untersuchungen die eindeutige Schlußfolgerung gezogen werden, daß die Leber der 12 zum Versuch herangezogenen Pferde für die geplante Untersuchung geeignet war.

Am Tage nach den Voruntersuchungen infundierten wir sämtlichen Pferden je kg Körpergewicht 1,0 g Dextran (16,66 ml Intradex) körperwarm mit der Geschwindigkeit von 100 ml/min in die Jugularvene, und am 3., 5. und 7. Tage untersuchten wir im Plasma das Verhalten des in der angegebenen Menge iv. injizierten Bromsulphaleins zu den gleichfalls schon erwähnten Zeitpunkten.

Ergebnisse

Die nach den Dextraninfusionen ermittelten durchschnittlichen Extinktionswerte betrugen 2½ Minuten nach der Bromsulphalein-Einspritzung am 3. Tage nach der Dextraninfusion 0,89 (Grenzwerte 0,73—0,96), am 5. Tage 0,88 (Grenzwerte 0,76—0,96) und am 7. Tage 0,86 (Grenzwerte 0,71—0,93), während in der 40. Minute bei sämtlichen drei Bestimmungen keine Extinktion mehr festgestellt werden konnte.

Die Resultate der auf die Dextraninfusion folgenden Bromsulphaleinproben stimmen im wesentlichen mit den vor der Infusion gewonnenen Ergebnissen überein, da in der 40. Minute nach Einspritzung des Farbstoffs das Bromsulphalein im Plasma sämtlicher Pferde anläßlich der drei Untersuchungen nicht mehr nachgewiesen werden konnte.

Nachdem den Resultaten der unter Anwendung von Bromsulphalein durchgeführten Leberfunktionsproben zufolge an dem auf die Dextraninfusion folgenden 3., 5. und 7. Tage in der 40. Minute nach Einspritzung von Bromsulphalein eine Farbstoffretention nicht festzustellen war, darf geschlossen werden, daß am vorausgesetzten intrahepatischen Höhepunkt der Dextranspeicherung bei Pferden eine Leberschädigung, welche die Leberfunktion beeinträchtigt, nicht zustande gekommen ist.

ZUSAMMENFASSUNG

12 Pferden wurde Dextran (Intradex) in der Menge von 1,0 g/kg iv. infundiert und am 3., 5. und 7. Tage nach der Infusion, d. h. im Zeitpunkt der vorausgesetzten maximalen intrahepatischen Dextranspeicherung, die Leberfunktion mit Hilfe der Bromsulphaleinprobe untersucht. Nach den Ergebnissen hat das gespeicherte Dextran in der Leber keine ihre Funktion beeinträchtigende nachweisbare Schädigung verursacht. Diesen Resultaten kommt in klinischer Beziehung deshalb Bedeutung zu, weil es — hauptsächlich beim Menschen — vorkommen kann, daß das Dextranpräparat innerhalb verhältnismäßig kurzer Zeit (in 24 Stunden womöglich mehrmals) von neuem eingespritzt werden muß. Dies läßt sich unbedenklich durchführen, weil die intrahepatische Speicherung des Mittels zu keiner nachweisbaren Leberfunktionsstörung geführt hat.

LITERATUR

ABER C. E.: Inaug. Diss. Stockholm, 1952. ATIENZA, R. Y. und ZALAMEA, R. U. J. Philippine Med. Assoc. **30** (1954), 346. BLOOM, W. L.: Arch. of Surg. **63** (1951), 739. IDEM: Southern Med. Assoc. **45** (1952), 457. BOHMANSSON, G., ROSENKVIST, H., THORSEN, G. und WILANDER, O.: Acta Chirurg. Scand. **94** (1946), 149. BULL, J. P., RICKETTS, C., SQUIRE, J. R., MAYCOCK, W. d'A., SPOONER, S. J. L., MOLLISON, P. L. und PATERSON, J. C. S.: Lancet **256** (1949), 134. FEKETE, GY. und GYERMEK, L.: Kísérletes Orvostudomány **7** (1955), 84. FEKETE, GY., GYERMEK, L. und LÁZÁR, I.: Acta Physiol. Hung. **8** (1955), 147. FRIBERG, U., GRAF, W. und ABERG, B.: Acta Pharm. Tox. **9** (1953), 220. GOHR, H., BOLTE, A. und LANGENBERG, A.: Zeitschr. ges. innere Med. u. ihre Grenzgebiete **9** (1954), 380. GRÖNWALL, A. und INGELMAN, B.: Nature **155** (1945), 45. INGELMAN, B.: Upsala Läkareförenings Forhandlingar **54** (1949), 107. KARSAI, F.: Kand. Diss. Budapest, 1959. LAMI, GY.: Kand. Diss. Budapest, 1962. IDEM: Magyar Állatorvosok Lapja (MÁL), 1962, 454. IDEM: Acta Vet. Hung. **13** (1963), 43. MAYCOCK, W. d'A.: Practitioner **169** (1952), 668. MOLLISON, A. W. und RENNIE, J. B.: Brit. Med. J. (1954), 893. MOWRY, R. W., LONGLEY, J. B. und MILLICAN, R. C.: J. Labor. Clin. Med. **39** (1952), 221. MOWRY, R. W. und MILLICAN, R. C.: Amer. J. of Path. **29** (1953), 523. PERSSON, B. H.: Acta Soc. Med. Upsaliensis **57** (1952), 411; **57** (1952), 421. REINHOLD, J. G., FRIJTAG DRABBE, von, C. A. J., NEWTON, M. und THOMAS, J.: Arch. Surg. **65** (1952), 706. SWEDIN, B. und ABERG, B.: Scand. J. Clin. Labor. Invest. **4** (1952), 68. TERRY, R., YUILE, CH. L., GOLODETZ, A. und PHILLIPS, C. E.: J. Labor. Clin. Med. **42** (1953), 6. TRAENCKNER, K.: Frankfurt. Zeitschr. Pathol. **65** (1954), 390. TURNER, P. A. und MAYCOCK, W. d'A.: J. Path. and Bact. **75** (1958), 145. WILSON, J. S., ESTES, E. H., DOYLE, J. T., BLOOM, W. L. und WARREN, J. V.: Amer. J. Med. Sci. **223** (1952), 364.

THE EFFECT OF PARENTERALLY ADMINISTERED HISTAMINE AND COLLARGOL ON THE ACCUMULATION OF DEXTRAN AND POLYVINYLPYRROLIDON IN THE LIVER AND IN THE SPLEEN

By

GY. LAMI

Department and Clinic of Internal Medicine (Director: Prof. J. MÓCSY) of the University of Veterinary Sciences, Budapest

(Received November 16, 1963)

According to both literary data and the author's own experiments (LAMI, 1962, 1963) dextran (D) and polyvinylpyrrolidon (PVP) are stored in the reticulo-endothelial system (RES).

In Hungary the question of stores in the organism has been investigated by JANCSÓ (1947) and TÖRŐ and coworkers (1950; 1951). JANCSÓ (1947) established that the role of histamine in activating the RES is of physiological nature because this substance elicits the phagocytic action of the latter by chemical activation. He presented experimental evidence that under the influence of histamine the endothelial cells of the peripherial vessels transform within a few minutes to phagocytes capable of adsorbing and storing Chinese ink in the same way as do the RES-cells in the liver, spleen or bone marrow. According to JANCSÓ, histamine transforms the endothelium into reticulo-endothelium. With regard to storage he divided the RES cells into 2 groups. One group of cells stores substances without local or intravascular release of histamine (spleen, bone marrow, liver), while the other, *i.e.* the vascular endothelium only under the influence of histamine. TÖRŐ *et al.* (1951) also suppose that histamine has no influence on the storage in the hepatic RES cells, but a hepatic activator ("resactor") has an important role, since these authors were able to increase accumulation in the liver with a resactor-containing liver extract. In rats histamine failed to increase the amount of stored colloidal silver (collargol); 50 mg/kg doses even elicited a slight decrease (AROS, BARKA and TÖRŐ, 1950).

The capacity of RES for storing various dispersoids is well known. Since this question is no subject of the present work, hereunder we only refer to the report of TÖRŐ *et al.* (1951), who observed that 80 per cent of collargol was stored in the liver and only 2 per cent in the spleen.

With a view to the above results we pursued the matter further and examined the influence of parenterally administered histamine and collargol on the accumulation of D and PVP in the liver and in the spleen.

In Hungary similar experiments were performed by FEKETE, GYERMEK and LÁZÁR (1955) in two series involving stimulation and saturation tests, respectively. In the stimulation experiments rats of 150—200 g body weight were pretreated with histamine, 1.0 or 5.0 mg/100 g body weight, and half an hour later administered 1.5 ml D/100 g. This combined treatment was repeated on the subsequent three days. In comparison to the controls, the accumulation of D was not enhanced by histamine in either the liver or the spleen of the animals. It was found that in the liver the D-concentration was uniformly 615 mg per 100 g liver in the controls and the rats treated with

histamine, 5.0 mg/100 g body weight, while in the animals given 1.0 mg histamine/100 g it was 630 mg per 100 g. In the spleen the respective values of D-concentration were 310, 320 and 325 mg per 100 g. In the saturation experiments on 3 subsequent days a daily dose of 4.0 mg collargol/100 g was injected intravenously and 6 hours later 1.5 ml D/100 g was administered. In this case significant differences could be observed between the untreated controls and the animals pretreated with collargol, the concentration of D being 803 and 223 mg per 100 g, and 360 and 378 mg per 100 g in the livers and spleens, respectively.

Experimental

In order to study the effect of histamine and collargol on the accumulation of D and PVP in the liver and in the spleen, experiments were carried out on 44 healthy rabbits weighing 2.47 to 2.56 kg.

Methods

The accumulation of D was studied on 30, while that of PVP on 14 rabbits. The animals belonging to the first group received the D preparation Intradex. In the second group 10 rabbits were given the PVP preparation Periston, the remaining 4 received Periston-N, by the intravenous route. The dosage of both D and PVP was uniformly 1.0 g/kg in every group. Histamine, 1.0 or 5.0 mg/100 g, was injected subcutaneously half an hour before the administration of the plasma-substitute. The preparation Peremin was used, which contains 0.5 per cent histamine-chloride. The same preparation is applied in human medicine for iontophoresis and cataphoretic bath.

Collargol was administered intravenously 6 hours before the injection of the plasma-substitute, in doses 4.0 or 8.0 mg/100 g. The reason for rising the dose of collargol to 8.0 mg/100 g in certain cases was the literary evidence that occasionally 10—20 mg/kg doses of collargol failed to saturate the active RES of rabbits (TÖRŐ *et al.*, 1951). Like other colloids, collargol may remarkably change during storage in the laboratory, namely aggregation may occur. Therefore, in every experiment freshly-prepared, 1 per cent silver colloid was used.

In every case, parallel to determination in liver and spleen, D and PVP were determined also in the plasma; the methods of JACOBSSON and HANSEN (1952) and POULLAIN and PIETTE (1948), respectively, were applied in both organs and plasma, as described in a previous paper (LAMI, 1962).

The animals were killed on the 3rd day after the injection of the plasma substitute and the organs were examined on the same day. With the exception of the group treated with D, where the animals were injected on two sub-

sequent days, the preparations used for pretreatment and the plasma substitutes were both administered only once.

Results

I. Dextran-treated group

A) The effect on storage capacity of histamine and collargol administered in a single dose. The experimental animals tolerated the injections rather poorly. One animal, belonging to the group given 8.0 mg collargol/100 g died ten minutes after infection and another survived the treatment only for a few hours. In the group pretreated with histamine, 5.0 mg/100 g, two rabbits

Table I

The accumulation of dextran after administration of the Intradex in animals pretreated with histamine or collargol

Histamine mg/100 g subcutaneously	Collargol mg/100 g intravenously	Dextran g/kg intravenously	mg per cent Dextran concentration		
			Liver	Spleen	Plasma
		A) Single dose			
—	—	1.0	647	162	206
			647	147	220
			632	162	191
		average:	642	157	206
1	—	1.0	661	132	176
			647	118	162
			676	176	147
		average:	661	142	162
5	—	1.0	676	132	147
			632	147	162
			720	176	176
		average:	676	152	162
—	4	1.0	470	29	265
			441	29	265
			441	44	279
		average:	451	34	270
—	8	1.0	265	15	265
			235	15	294
			206	44	309
		average:	235	25	289

Histamine mg/100 g sub-cutaneously	Collargol mg/100 g intra-venously	Dextran g/kg intravenously	mg per cent Dextran concentration		
			Liver	Spleen	Plasma
		B) Repeated dose			
—	—		1191	206	720
		1.0	1161	206	750
		2×	1161	235	750
		average:	1171	216	740
			1176	176	661
1	—	1.0	1205	176	720
2×		2×	1235	206	750
		average:	1205	186	710
			1249	206	661
5	—	1.0	1249	265	676
2×		2×	1264	294	676
		average:	1254	255	671
			853	44	853
—	4	1.0	706	59	867
	2×	2×	691	73	897
		average:	750	59	872
			426	15	926
—	8	1.0	441	15	955
	2×	2×	573	29	1000
		average:	480	20	960

died with convulsions within half an hour after injection. These animals were substituted by new ones. After injection of histamine or collargol, every animal exhibited weariness and panting breath; weariness increased upon the administration of Intradex. Next morning, however, the animals were vivid and had normal appetite.

At the necropsy of fresh cadavers it was observed that in the group given 8.0 mg collargol/100 g the liver of the rabbits was dark brownish-grey, resembling melanotic horse liver.

The results are summarized in Table I and Figure 1.

The comparison of the numerical results reveals that regardless of the dose of histamine, there was no significant difference between the organ and plasma concentration of D. In the histamine-treated group the liver-concentration of D scarcely exceeded the value found in control animals. The reverse was observed for D-levels in the spleen.

Unlike histamine-treated animals, in the rabbits pretreated with collargol conspicuous decrease of D-concentration was observed in the liver and spleen, accompanied by high plasma-D levels.

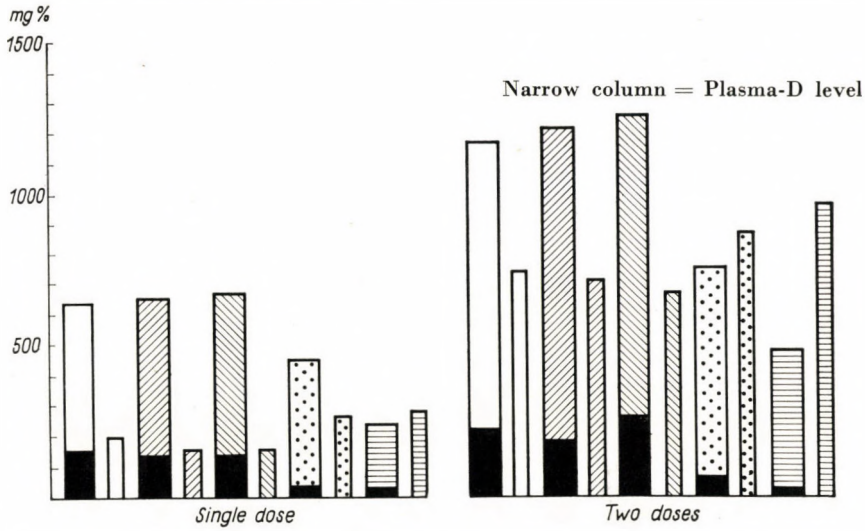


Fig. 1. Dextran (D) concentration in liver and spleen after the administration of Intradex in animals pretreated with histamine or collargol.

D alone
histamine 1 mg/100 g + D
histamine 5 mg/100 g + D
collargol 4 mg/100 g + D
collargol 8 mg/100 g + D
D-concentration in the spleen

The results of the above experiments may be more easily evaluated by expressing the D-concentration of liver, spleen and plasma of pretreated animals in percentage of the corresponding control values. These were as follow.

	Liver	Spleen	Plasma
1 mg histamine + D	102.96	90.44	78.64
5 mg histamine + D	105.29	96.81	78.64
4 mg collargol + D	70.25	22.66	131.07
8 mg collargol + D	36.6	15.92	140.29

It is clearly seen that plasma-D concentration was markedly lower in the histamine-treated than in the control group. This seems to support the hypothesis of JANCSÓ.

B) The effect on storage capacity of histamine and collargol administered in repeated doses. At the first parenteral treatment no rabbit was lost; the rabbits behaved like those in the former group.

After the second injection only one rabbit, belonging to the group pretreated with histamine 5.0 mg/100 g, died, with convulsions. Weariness and panting breath were more conspicuous after the second injection than after the first, and the animals recovered only two days later.

Irrespective of the dose of collargol, at necropsy every collargol-treated rabbit exhibited the same discoloration of the liver as the animals given 8.0 mg collargol/100 g in a single dose.

The experimental data are shown in Table I and Figure 1.

The data evidence that, except in the group treated with 8.0 mg collargol/100 g, both histamine and collargol elicited an increase in the D-concentration in liver, spleen and blood plasma, when injected on two occasions.

In the following Table the results are expressed in percentage of the corresponding control values.

	Liver	Spleen	Plasma
1 mg histamine + D	102.9	86.11	95.94
5 mg histamine + D	107.09	118.05	90.67
4 mg collargol + D	64.05	27.31	117.84
8 mg collargol + D	40.99	9.26	129.73

The behaviour of the plasma of these animals was similar to that observed in the group given collargol in a single dose.

II. Polyvinylpyrrolidon-treated group

A) The effect of histamine and collargol on the accumulation of Periston. Almost every rabbit urinated immediately after being injected. Following the administration of Periston, the two control rabbits exhibited weariness and lay down in their cage. Generally, histamine-treated rabbits reacted to Periston more severely than the controls and the severity of symptoms was in correlation with the dose histamine. Whilst after the injection of Periston the rabbits pretreated with a 1.0 mg histamine/100 g dose exhibited only weariness and were mostly lying, those given 5.0 mg/100 g panted and even staggered. Collargol alone caused no visible reaction, but upon subsequent administration of Periston several animals looked weary. Three to four hours after the injections most rabbits exhibited weariness but no other symptoms; the histamine-treated ones staggered no longer but still had panting breath.

In the histamine-Peristone treated group the severity of symptoms was in direct relation to the weight of the animal, *i.e.* it depended on the absolute dose per animal. Next morning all rabbits were vivid and ingested their normal feed with good appetite.

On the day of exsanguination two rabbits died spontaneously. One of them belonged to the group pretreated with 1.0 mg histamine/100 g, while the

other to that given 8.0 mg collargol/100 g. The death of these animals did not influence the test, the only source of error was that since no exsanguination took place, their liver and spleen were enlarged and, consequently, the PVP concentration was somewhat lower.

As shown in Figure 2, in animals given Periston marked accumulation took place in the spleen as compared to that in the liver. In the hepatic PVP-concentration of these was no significant difference between the two histamine-pretreated groups and the control group. Figure 2 also reveals that the higher was the concentration of PVP in the liver, the lower it was in the plasma

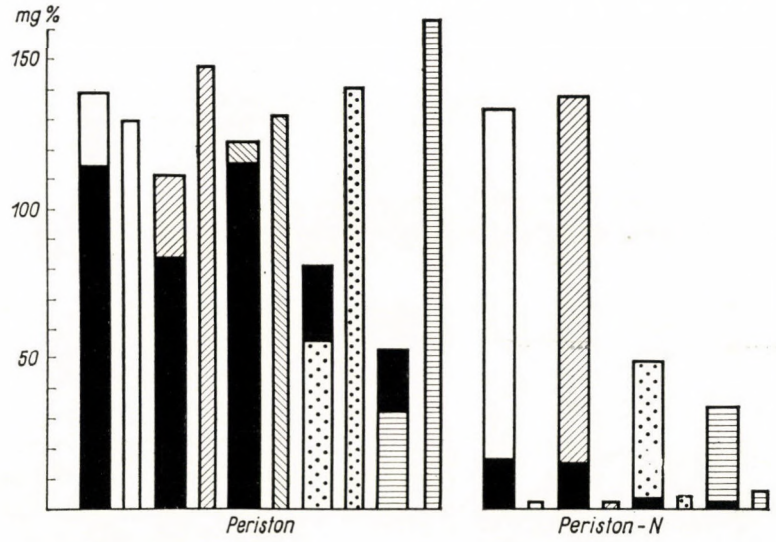


Fig. 2. Polyvinylpyrrolidon (PVP) concentration in liver and spleen after the administration of Periston or Periston-N in animals pretreated with histamine or collargol.

- PVP alone
- histamine 1 mg/100 g + PVP
- histamine 5 mg/100 g + PVP
- collargol 4 mg/100 g + PVP
- collargol 8 mg/100 g + PVP
- PVP-concentration in the spleen Narrow column = Plasma-PVP level

and vice versa. The group pretreated with collargol was characterized by higher PVP accumulation in the spleen than in the liver. In the liver of the animals given 4.0 and 8.0 mg collargol/100 g the concentration of PVP was 56 and 33 mg per 100 g while in their spleens 81 and 53 mg per 100 g, respectively (Table II).

B) The effect of histamine and collargol on the accumulation of Periston-N. Several minutes after the administration of histamine, the animals developed the characteristic clinical symptoms; one rabbit even died in the group given histamine 5.0 mg/100 g.

Generally, no side reaction could be observed in rabbits pretreated with collargol, but all of them responded to the injection of Periston-N with marked weariness.

In animals given Periston-N, the hepatic concentration of PVP was similar to that observed after treatment with Periston, but in the spleen less PVP was accumulated (see Table II and Figure 2).

Table II

The accumulation of polyvinylpyrrolidon after administration of Periston or Periston-N in animals pretreated with histamine or collargol

Histamine mg/100 g subcutaneously	Collargol mg/100 g intravenously	PVP g/kg intravenously	PVP mg per 100 g organ		
			Liver	Spleen	Plasma
A) Periston					
—	—	1.0	142 136	106 122	122 137
		average:	139	114	129
1	—	1.0	139 84	106 62	147 —
		average:	111	84	147
5	—	1.0	118 126	118 112	134 125
		average:	122	115	129
—	4	1.0	53 59	87 75	147 134
		average:	56	81	140
—	8	1.0	33 34	56 50	162 —
		average:	33	53	162
B) Periston-N					
—	—	1.0	133	17	3
1	—	1.0	137	16	3
—	4	1.0	50	5	5
—	8	1.0	34	3	6

Discussion

From the results of our experiments it may be concluded that the D- and PVP-accumulating capacity of RES in the liver and spleen is decreased by collargol to a higher degree than it is increased by histamine. This observation is consistent with the results of the basic studies of JANCSÓ (1947) and TÖRŐ *et al.* (1951) and also with the findings of FEKETE, GYERMEK and LÁZÁR (1955) concerning the accumulation of D in rats.

Our studies on the storage conditions of D and PVP in the livers and spleens of rabbits pretreated with histamine or collargol support the finding of TÖRŐ *et al.*

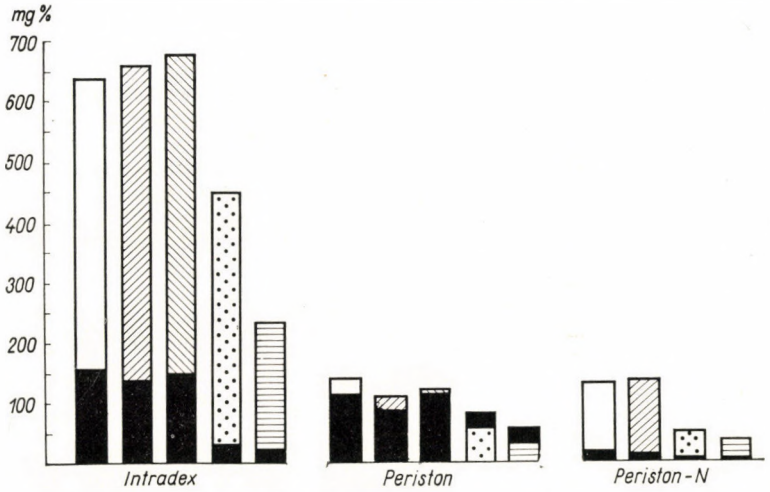


Fig. 3. The concentration of dextran (D) and polyvinylpyrrolidon (PVP) in liver and spleen after treatment with histamine and collargol prior to the administration of plasma substitute (PS)

- PS alone
- histamine 1 mg/100 g + PS
- histamine 5 mg/100 g + PS
- collargol 4 mg/100 g + PS
- collargol 8 mg/100 g + PS
- Concentration of D and PVP in the spleen

(1951) that small molecules are accumulated in the spleen rather than in the liver (Figure 3). This theory seems to lack adequate support in the case of Periston-N, because upon administration of this preparation the PVP-concentration was rather low in the spleen. In the same case PVP was hardly demonstrable in the blood plasma.

In fact, however, the PVP molecules present in Periston-N are so small that they are rapidly excreted from the organism and only little time is left for their accumulation in the spleen. The tendency of small molecules to accu-

mulate in the spleen is evidenced by the results obtained in the group of rabbits treated with collargol and Periston; in this group, irrespective of the dosage of collargol, the PVP level was higher in the spleen than in the liver.

SUMMARY

The accumulation of dextran and polyvinylpyrrolidon in the liver and spleen was examined in rabbits pretreated with histamine or collargol. It was found that the capacity of RES for accumulating the tested plasma substitutes in liver and spleen was decreased by collargol to a higher degree than it was increased by histamine.

Dextran was assayed by the method of JACOBSSON and HANSEN, polyvinylpyrrolidon by the method of POULLAIN and PIETTE.

REFERENCES

ÁROS, B., BARKA, T. and TÖRŐ, I.: Kísérl. Orvostud. **2** (1950), 81. FEKETE, GY., GYERMEK, L. and LÁZÁR, I.: Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. **8** (1955), 147. JACOBSSON, L. and HANSEN, H.: Scand. J. Clin. a. Labor. Invest. **4** (1952), 352. JANCSÓ, M.: Orvosok Lapja **3** (1947), 1025. LAMI, GY.: Thesis. Budapest, 1962. IDEM: Magy. Állatorv. Lapja, 1962, 454. IDEM: Acta Vet. Hung. **13** (1963), 43. POULLAIN, P. and PIETTE, M.: Bull. Soc. de Chimie Biol. **169** (1952), 475. TÖRŐ, I., BARKA, T., ÁROS, B. and VELŐSY, G.: MTA Orvosi Tud. Oszt. Közl. **2** (1951), 111.

EIN FALL VON GENERALISIERTER CRYPTOCOCCOSIS BEIM HUND*

Von

A. Széky, L. Csontos und E. Flórián

Staatl. Institut für Veterinärhygiene (Direktor: T. Kádár) und Staatl. Institut für Haut- und Geschlechtskrankheiten (Direktor: Prof. F. Földvári) der Medizinischen Universität Budapest

(Eingegangen am 4. November 1963)

Die von verschiedenen Pilzen verursachten Erkrankungen der Haustiere führen zwar nicht zu so großen Verlusten wie die von einzelnen Viren oder Bakterien hervorgerufenen Schädigungen, beanspruchen aber doch ständig größere Beachtung. Viele Pilze sind nämlich imstande, auch die Erkrankung von Menschen herbeizuführen, und infolge des umfangreichen Gebrauches der Antibiotika nimmt die Zahl dieser Erkrankungen zu.

Die Cryptococcosis hat als erster Zenker 1861 beobachtet. Über einen durch Züchtung bestätigten Fall referierte Benham 1894—1895. San Felice beschrieb 1895 als erster die Erkrankung bei Tieren und züchtete den Krankheitserreger aus dem Lymphknoten eines Ochsen. Vuillemin (1901) ermittelte den Erreger als Ursache der Lungenentzündung von Schweinen. Frothingham (1902) fand derartige Veränderungen in der Lunge eines Pferdes. Meyer (1912) sah die Erkrankung beim Pferd in Form der Nasenentzündung, Kikuchi (1923) als Nasengeschwulst gleichfalls am Pferd. Weidmann und Ratcliffe (1934) beobachteten die generalisierte Form der Krankheit am Affen. Weidmann brachte 1935 eine Lefzengeschwulst am Pferd mit der Cryptococcosis in Zusammenhang.

Bei Katzen verursachte die Erkrankung Nasen-, Lungen- und Hirnhautveränderungen, während man sie bei Rindern im Zusammenhang mit Euter-, Hirnhaut- sowie Herzveränderungen wahrgenommen hat. Seibold und Mitarbeiter (1935) bezeichneten eine am Hund beobachtete Enzephalitis, Meningitis und Pneumonie als Cryptococcosis.

Seither haben mehrere Autoren Cryptococcosis an Hunden und Katzen festgestellt. Von diesen sahen Helmbold und Jungherr (1952) das Krankheitsbild am Hund in Form der Enzephalitis und Meningitis. Trautwein und Nielsen (1962) beschrieben die sich in Enzephalitis und Meningitis manifestierende Form der Cryptococcosis an 2 Katzen, 1 Hund und 1 Affen.

In Ungarn ist die Cryptococcosis am Menschen schon diagnostiziert worden. Beregi (1953) beschrieb von *Cryptococcus neoformans* verursachte abszedierende Veränderungen an der Glutealgegend, während Földvári und Flórián (1954) von *Cryptococcus neoformans* hervorgerufene Hautveränderungen schilderten. Horányi und Csillag (1955) beobachteten eine langwierige, remittierende und rezidivierende, von *Cryptococcus neoformans* verursachte granulomatöse Enzephalitis und Meningitis. In demselben Jahr beschrieben Vitéz, Marton und Csillag(16) eine Lungen-Cryptococcosis am Menschen. Molnár (1955) befaßte sich mit der von *Cryptococcus neoformans* hervorgerufenen Erkrankung der Lunge und des Zentralnervensystems. Binder, Csillag und Tóth (1955) teilten einen Fall der von *Cryptococcus luteolus* verursachten Lungenmykose am Menschen mit.

Beschreibung des eigenen Falles

Im Frühling dieses Jahres wurde uns der Kadaver eines ungarischen Vorstehhundes zwecks Diagnosenstellung zugeschickt. Als Anamnese teilte

* Vorgetragen am 17. März 1963 am Fortbildungslehrgang des Instituts für Vergleichende Pathologie der Deutschen Wissenschaftlichen Akademie zu Berlin.

man mit, der Hund sei längere Zeit krank gewesen, in seiner Haut entstanden Geschwüre, und sein Zustand verschlechterte sich zusehends. Bei der klinischen Untersuchung hatte man angenommen, das Tier leide an einer geschwulstigen Erkrankung, weshalb es mit Zustimmung des Inhabers getötet wurde. Mitgeteilt wurde fernerhin, daß die Haut der Mutter des Hundes ähnliche, wenn auch nicht so zahlreiche Geschwüre enthält.

Pathologisch-anatomische Untersuchung

Die Kondition des Hundes entsprach einer langdauernden Erkrankung. Am ganzen Körper befanden sich mit dem subkutanen Bindegewebe verwachsene, einguldengroße oder kleinere, ziemlich zähe Geschwüre mit hervor-

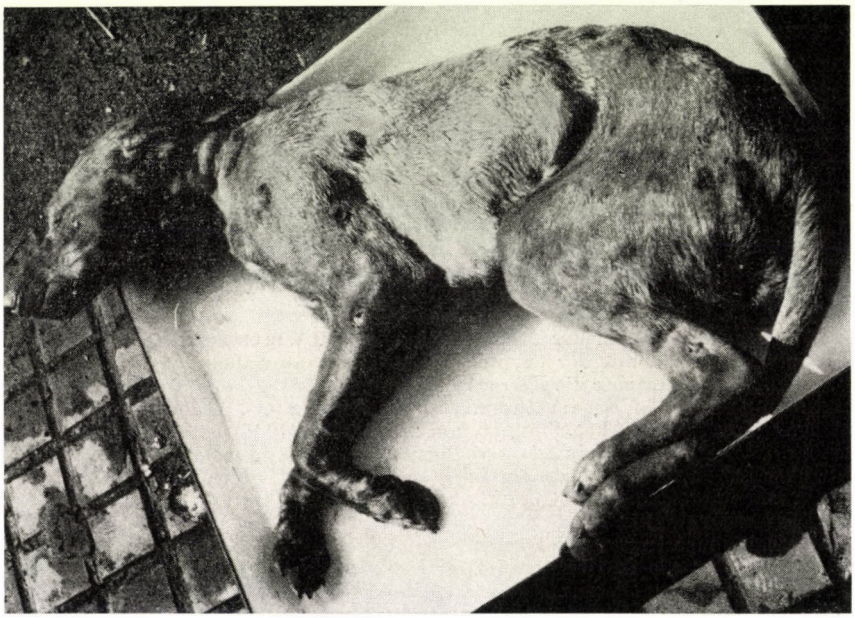


Abb. 1. Am ganzen Körper geschwulstartige Knoten und Geschwüre in der Haut

ragendem Rand in der Haut (Abb. 1). Die Basis der Geschwüre bestand aus grob granulierendem hämorrhagischem Gewebe. Außer diesen waren teils in der Haut, teils im subkutanen Bindegewebe walnuß- bis erbsengroße, kompakte, hier und da perlschnurförmig einander anschließende, den Lymphgefäßen folgende Knoten anzutreffen. Über einem Teil der ersteren fehlten die Haare (Abb. 2). Die Knoten waren gelblichweiß, gut umrissen, mit ihrer Umgebung hingen sie — diejenigen ausgenommen, die zur Haut hin durchgebrochen waren — nicht zusammen. Die Oberfläche der Knoten war in den meisten Fällen glatt, doch kamen auch höckrige vor. Ihre Substanz war homogen,

glänzte speckig und bestand aus zähem, aber noch zerreißbarem Gewebe. Ähnliche scharf begrenzte, kapsellose, erbsen- bis walnußgroße Knoten fanden wir in sämtlichen Skelettmuskeln. Diese hatten eine etwas längliche Form. Ihre Achse verlief parallel zur Richtung des Verlaufes der Muskelfasern (Abb. 3). Die regionären Lymphknoten waren vergrößert, aber mit der Umgebung nicht verwachsen. Ihre Substanz stimmte mit der der vorerwähnten Knoten überein.

Abb. 2. Perlschnurförmig lagernde Knoten in den Lymphgefässen des subkutanen Bindegewebes

In den Bauchhöhlenorganen sowie im Herzen, im Gehirn und im knöchernen Skelett fanden wir keinerlei makroskopisch wahrnehmbare pathologische Veränderungen.

In sämtlichen Lappen der grauroten Lunge, vor allem aber in den Diaphragmalappen befanden sich hanfsamen- bis hirsekorngroße grauweiße, glasartig durchscheinende, scharf abgegrenzte, homogene, massive Knoten. Die Bronchien waren mit grauweißem, zähflüssigem Transsudat angefüllt. In der Schleimhaut der Luftröhre reihten sich reiskorn- bis linsengroße, flach hervortretende, glasartig durchsichtige Gebilde hinter- und nebeneinander.

Die Lungenlymphknoten waren vergrößert und entsprachen den bereits zuvor beschriebenen Lymphknoten.

Auf Grund der pathologisch-anatomischen Untersuchung setzten wir eine pilzbedingte Erkrankung voraus. Zwecks Bestätigung des Verdachtes nahmen wir histologische und mykologische Untersuchungen vor und infizierten auch Versuchstiere. Die üblichen bakteriologischen Untersuchungen fielen negativ aus.

Histologische Untersuchungen

Die zur histologischen Untersuchung herausgeschnittenen Organstücke wurden in 10%iger neutraler Formalinlösung fixiert und in Paraffin eingebettet. Die 4—6μ dicken Schnitte färbten wir, um eine allgemeine Orientierung zu gewinnen, mit Hämalaun-Eosin. Zum Nachweis der Pilzkörper kam das PAS-Verfahren zur Anwendung, die Schleimfärbung erfolgte mit Hämalaun-Mucikarmin. Zur Darstellung des kollagenen Bindegewebes benutzten wir Eisenhämatoxylin und die VAN GIESONsche Pikrofuchsinfärbung, zum Nachweis der Gitterfasern das GÖMÖRIsche Silberimprägnationsverfahren. Der Fettnachweis geschah in Gefrierschnitten mit Sudan III-Färbung. Bei der Untersuchung des Zentralnervensystems wendeten wir auch das unserseits modifizierte NISSLsche Färbungsverfahren an. Bei den Polarisationsuntersuchungen benutzten wir zur Steigerung der doppelten Lichtbrechung die Färbung mit 1%igem Kongorot, bei den Fluoreszenzuntersuchungen die II. Fluorochromfärbung nach HAITINGER.

Die bei der makroskopischen Untersuchung Veränderungen aufweisenden Stellen zeigten das gleiche histologische Bild. Diese Regionen bestanden aus kleineren oder größeren Granulomen. Die kleinen Granulome grenzten sich nicht vom benachbarten Gewebe ab (Abb. 10), mitunter bestanden sie nur aus einigen Zellen. Die größeren waren von einer dünneren, faserigen Bindegewebskapsel umgeben, die mit dem im Inneren der Granulome vorhandenen Septensystem zusammenhing. Die Septen enthielten viele Blutgefäße und Fibroblasten. Die Granulome bestanden aus Histiozyten, Epitheloidzellen, Retikulumzellen sowie aus den degenerierten Formen dieser Zellen, weiterhin aus Riesenzellen. In geringer Zahl waren auch Lymphozyten, Plasmazellen sowie hier und da eosinophile Zellen vorhanden. Intakte Histiozyten und Epitheloidzellen waren in den kleineren Granulomen und in der Umgebung der größeren vorzufinden. Zum Zentrum der größeren Granulome hin sind diese Zellen mehr und mehr degeneriert und im Zentrum schon zerfallen (Abb. 5). Bei den degenerierten Formen dieser Gewebsmakrophagen handelt es sich um stark vergrößerte Zellen, deren Durchmesser eine Größe von 20—30μ erreicht. Sie sind oval oder rund und haben eine sehr starke morphologische Zellmembran. Ihr Plasma enthielt eine strukturell schaumige oder stark

vakuolisierte, vom Schleimfarbstoff gefärbte Substanz bzw. in einigen Zellen feinere sudanophile Granula. Der abgeflachte pyknotische Zellkern liegt an der Seite des Zellkörpers. Eine ähnliche Plasmadegeneration wiesen zuweilen auch die Riesenzellen auf, bei denen es sich meistens um Fremdkörper- oder Langhanssche Zellen handelte. In einzelnen degenerierten Histiozyten liegt der rundliche Zellkern im Zentrum des Zellkörpers, während die Chromatinsubstanz um die Zellmembran angeordnet ist (Perichromasie).

Im Körper der degenerierten und angewachsenen Zellen befanden sich 1—4 oder noch mehr Pilzgebilde.

Abb. 3. Geschwulstartige Gebilde in der Muskulatur

Die Pilzgebilde sind 4—13,2 μ große runde Körperchen, häufig mit doppelter Kontur, die in ihrem Zentrum oft basophil gefärbte Granula (Klümpchen) oder eine aus diesen bestehende polymorphe Substanz enthielten (Abb. 5 und 6). Einzelne Pilzkörper enthielten azidophil gefärbte Körperchen, die bisweilen eine granulöse Struktur aufwiesen. In einem großen Teil der Pilzgebilde konnten mit Sudan III größere homogene Fettkörnchen (sudanophile Körnchen) nachgewiesen werden. An mehreren Pilzkörpern befanden sich kleinere Wucherungen (Abb. 4).

Bei Anwendung der Hämalaun-Eosinfärbung traten die Pilzgebilde kaum hervor, sie färbten sich blaßviolettblau (Abb. 10). Bei Gebrauch der PAS-Methode waren sie jedoch leicht zu erkennen: sie färbten sich hellrot oder

dunkelrot. Der eine doppelte Kontur zeigende Rand war schwarzrot gefärbt (Abb. 4). Die Hämalaun-Mucikarminfärbung bewirkte helle Violettrotfärbung. In den nach dieser Methode gefärbten Schnitten ist die Kontur der meisten Pilzgebilde dunkler, der Körper heller lilarot. Die größeren Pilzkörper sind übereinstimmend stärker gefärbt (Abb. 5). Bei Anwendung des PAS- und Mucikarmin-Verfahrens sieht man um die Pilzkörper ein Material von radiärer Struktur (Schleim) (Abb. 6). Die radiäre Struktur im Umkreis der Pilzkörper konnte auch mit der GÖMÖRischen Silberimprägnation deutlich dargestellt werden. Eine derartige Substanz befand sich auch im schaumigen Körper der Histiozyten und Epitheloidzellen. Im polarisierten Licht zeigte ein großer Teil der Pilzkörper optische Aktivität (Abb. 7). In ihrem Körper sind nämlich aus vier Teilen bestehende, rosettenartige, doppelt lichtbrechende Teilchen zu sehen, weshalb schwarze Kreuze in den Pilzkörpern zutage treten (Abb. 8). Die Polarisationsaktivität war besonders ausgeprägt, als wir die Präparate mit 1%igem Kongorot gefärbt hatten.

Charakteristischerweise zeigen die Granulome in den gefärbten Präparaten eine hohle, zellige Struktur, weil bei der Fixierung und Alkohol-Xylolbehandlung ein großer Teil des mucinartigen und fettartigen Materials in der Umgebung der Pilzkörper herausgelöst wird und dadurch helle Höfe bzw. Hohlräume um die Pilzkörper entstehen. Im regionären Abschnitt der Granulome sind die Hohlräume kleiner, im Zentralabschnitt sind sie am größten, weil hier auch die zerfallenen Zellen zu größeren Hohlräumen zusammenfließen (Abb. 9).

Mit der GÖMÖRischen Gitterfaserfärbung konnte ein reichhaltiges Retikulumfasernetz in den Granulomen nachgewiesen werden, das in den Granulomen des Zentralnervensystems (Gehirnstamm) am markantesten in Erscheinung tritt. Im regionären Abschnitt der größeren Granulome ist das argyrophile Fasernetz dichter und homogener, im Zentralabschnitt wirkt es seltener und die Fäden erscheinen brüchiger.

Die mit der HAITINGERschen II. Fluorochromfärbung dargestellten Pilzkörper fluoreszierten im Fluoreszenzmikroskop in grüner Färbung.

Leberveränderungen

Die Leberläppchen waren im allgemeinen hyperämisch; in einigen Läppchen fanden wir zentrolobuläre Blutungen. In der Bindegewebssubstanz der Wand einiger kleinerer Gallenwege oder in der Wand der größeren portobilären Gefäße waren verstreut einzelne Pilzgebilde anzutreffen, die sich den Endothelzellen anschmiegten. In den Sinusoiden einiger Leberläppchen kamen die Krankheitserreger auch einzeln vor. Im Parenchym eines Leberläppchens fanden wir ein kleineres, ovales Granulom.

Lungenveränderungen

Die Alveolen der Lungenläppchen waren hyperämisch, einige mit einer serösen Flüssigkeit angefüllt. Das Lungenparenchym enthielt zahlreiche kleinere und größere Granulome, die meistens in der Adventitia der größeren Blutgefäße oder Atemwege, bisweilen längs der pleuralen Lymphgefäße und nicht selten zwischen den Alveolen saßen. Einige Granulome enthielten auch fremdkörperartige Riesenzellen. Außer in den Granulomen fanden wir Pilzkörper auch an den Endothelzellen der Pleura haftend oder verstreut bzw. gruppenweise im Lumen der Lymph- und Blutgefäße, nicht selten aber auch in den Hohlräumen der Bronchiolen. Die außerhalb der Granulome befindlichen Pilzgebilde lassen sich mit Hilfe der PAS- oder Mucikarmin-Färbung identifizieren (Abb. 6).

Skelettmuskelveränderungen

In den Extremitätenmuskeln, besonders am Übergang der Muskeln in die Sehnen, fanden wir umfangreiche, an Neoplasma erinnernde Granulome, die von einer ausgeprägten faserigen Bindegewebshülle begrenzt waren, aus der ein kräftiges Septensystem in das Innere des zahlreiche Pilzkörper enthaltenden Granuloms verlief.

Hautveränderungen

In der Haut befanden sich unter der Epidermis häufig umfangreiche Granulome in den Koriumschichten. Der untere Rand dieser Granulome reichte mitunter tief in die Subcutis hinein. Am ulzerierten Teil der Hautknoten war die oberflächliche Epithel- und Koriumschicht nekrotisch. Bedeckt waren die Geschwüre mit nekrotischem Gewebe und Fibrin und diese von entzündlichen, an Eiterzellen reichen Zellen und Pilzkörpern durchwoben. Die Granulome bildeten auch die Basis der Geschwüre.

Veränderungen im Zentralnervensystem

In der den Gehirnstamm, das Kleinhirn und Großhirn bedeckenden stellenweise verdickten Pia mater und in der Arachnoidea waren die kollagenen Fasern verdickt und es lagerten verschieden große Granulome, die zahlreiche Pilzkörper enthielten, in den Gehirnhäuten. Die Granulome der Gehirnhaut reichten stellenweise tief in die Gehirnrinde oder auch in die graue Substanz des Kleinhirns hinein, aber verschieden große Granulome befanden sich auch in der weißen Substanz und im Gehirnstamm (Oblongata, Gehirnbrücke, Zwillingsanlage). In diesen Regionen saßen die kleineren oder größeren Granu-

lome unregelmäßig und standen mit den verschiedenen Gehirnstammkernen oder -bahnen im Kontakt bzw. waren mit diesen verschmolzen. Besonders auffallend war, daß die Hirngranulome ein sehr starkes Gitterfasernetz enthielten.

Lymphknotenveränderungen

In der Rinden- und Marksubstanz der Lymphknoten war das Lymphoidgewebe spärlicher oder verschwunden, seinen Platz hatte das Granulom eingenommen.

In der *Trachealschleimhaut* befanden sich Geschwüre und kleinere, größere Granulome, die sich in das Lumen der Trachea vorwölbten.

Züchtungsbefunde

Aus dem Untersuchungsmaterial konnten pathogene Hefepilze, die auf dem Sabouraudschen Nährboden in Form glattrandiger, glanzloser, weißer Kolonien mit glatter Oberfläche und salbenartiger Konsistenz erschienen, isoliert werden. Die Bestimmung der Pilzstämme erfolgte nach Lodder-Kreger Van Rij.

In Malzbouillon bildete der Pilz ein Sediment und an der Oberfläche einen Ring. Fäden sind nicht entstanden. Die Zellen sind rund und haben einen Durchmesser von 4 μ. Die Sprossung geschieht multipolar. Am Maismehl-Agar entwickelten sich weder Fäden oder Pseudofäden noch Chlamidosporen. Am Gorodkowa- und Adamsschen Agar bildete sich kein Sack. Glukose und Saccharose wurden vom Stamm fermentiert, Maltose, Laktose und Galaktose jedoch nicht, Glukose, Maltose, Galaktose und Saccharose entschieden, Laktose unentschieden assimiliert. Im Äthanol-Nährboden ging das Wachstum langsam vor sich, am Kaliumnitrat-Nährboden kam überhaupt keine Entwicklung zustande. Die Arbutin-Spaltung war positiv.

Demnach isolierten wir einen nicht fadenbildenden, anascosporogenen, multipolar sprossenden, schwach fermentierenden Hefepilz, der *Cryptococcus neoformans* entspricht.

Experimentelle Tierimpfungen

Mit der gezüchteten Pilzart infizierten wir Mäuse und 2 Hunde. Die am gewöhnlichen Agar sich entwickelten Kolonien wurden mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und je 0,1 ml der Suspension 10 Mäusen subkutan und 10 Mäusen intraperitoneal eingeimpft. Einen Hund infizierten wir mit 10 ml Suspension pernasal, dem anderen spritzten wir 5 ml in die Trachea.

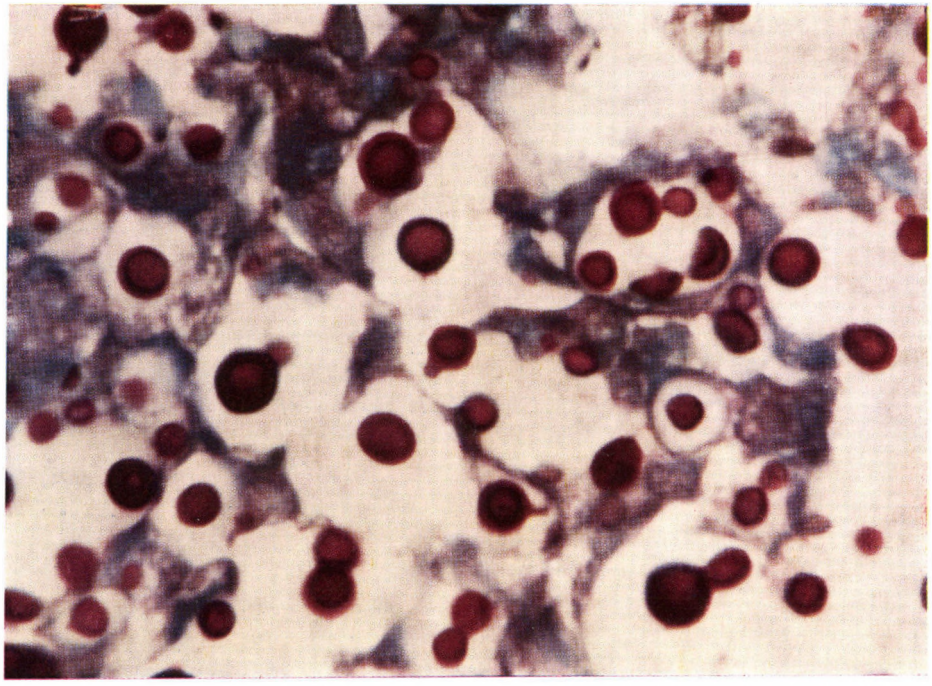


Abb. 4. Ausschnitt aus dem mittleren Teil eines größeren Muskelgranuloms. PAS bewirkt lebhafte Färbung der Pilzkörper. An einzelnen Pilzkörpern sieht man Wucherungen. Infolge Lösung der mukös-fettartigen Substanz ist um die Pilze die Struktur hohlraumförmig. 1200fache Vergrößerung

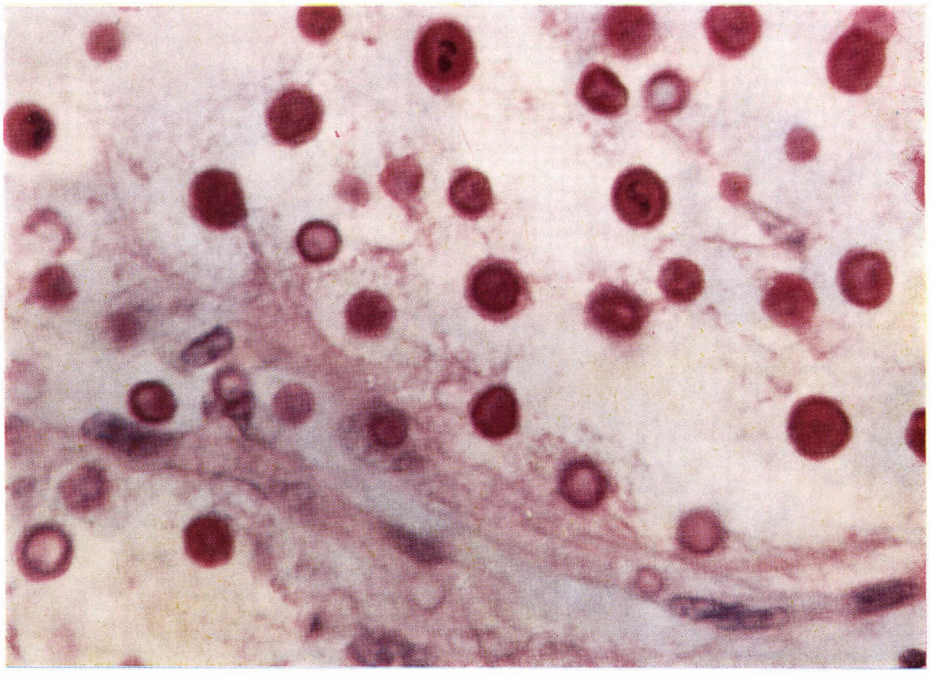


Abb. 5. Ausschnitt aus dem mittleren Teil eines größeren Muskelgranuloms. Bei Anwendung von Hämalaun-Mucikarmin färben sich die Pilzkörper hell. In einzelnen ist ein basophil gefärbtes Gebilde zu erkennen. 1200fache Vergrößerung

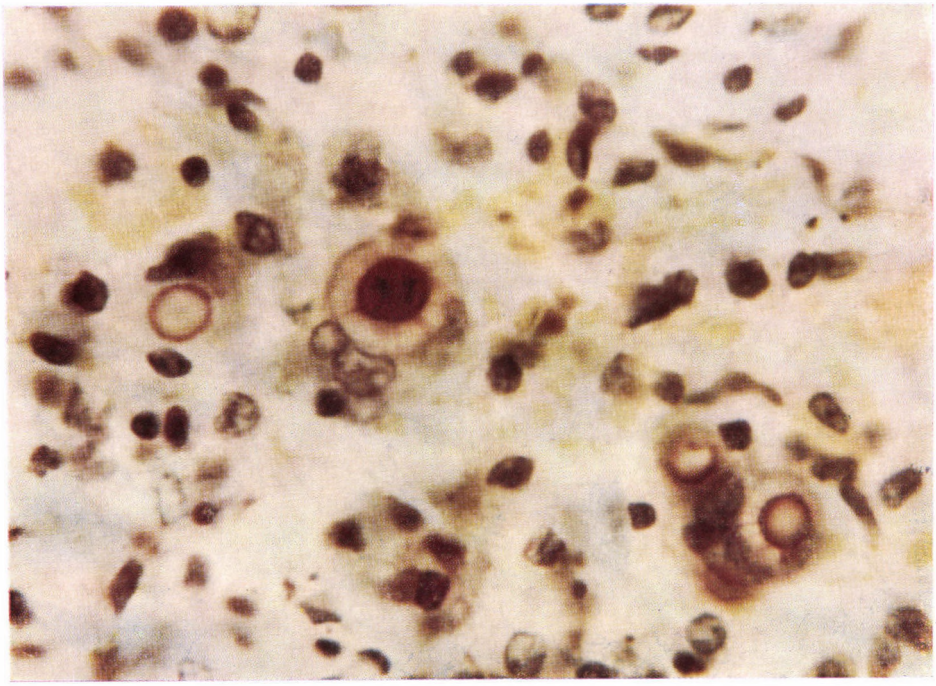


Abb. 6. Verstreut lagernde Pilzkörper im Lungenparenchym. Nach Färbung mit Hämalaun-Mucikarmin ist im Umkreis einiger Pilzkörper eine radiäre Schleimfärbung ergebende Substanz (Schleim) zu sehen. 1200fache Vergrößerung

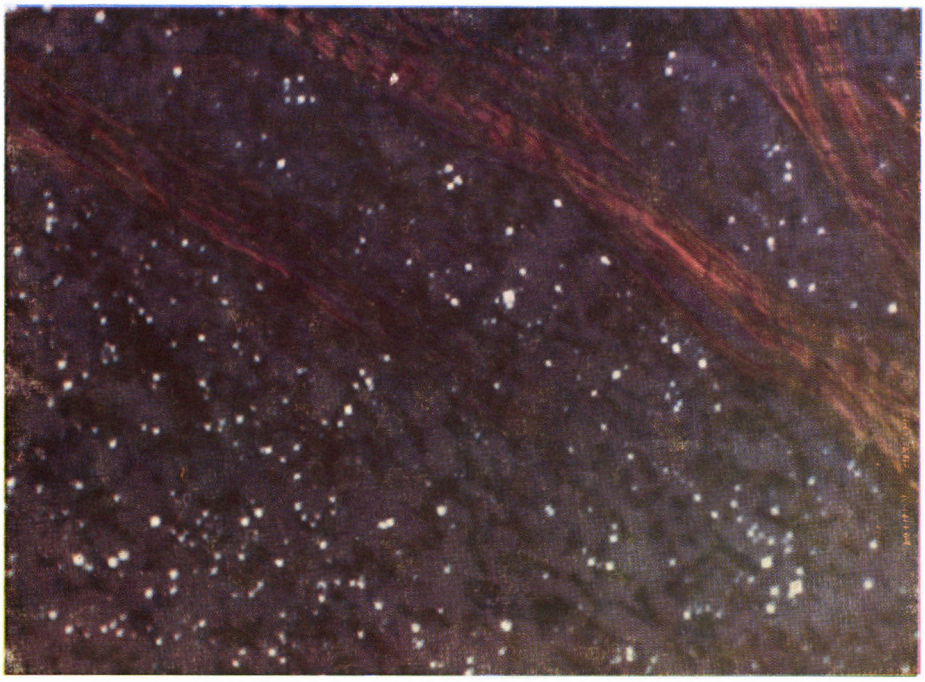


Abb. 7. Muskelgranulomabschnitt im polarisiertem Licht. Infolge ihrer doppelten Lichtbrechung treten die Pilzkörper im polarisierten Licht hell hervor. Färbung mit 1%igem Kongorot. 180fache Vergrößerung

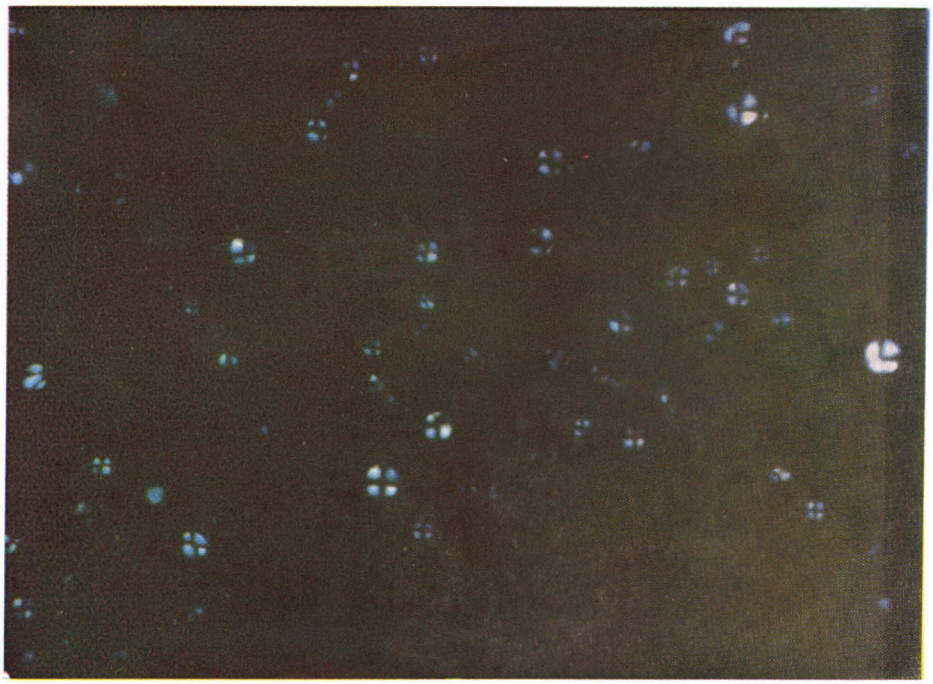


Abb. 8. Abb. 7 in 410facher Vergrößerung. Die Pilzkörper beherbergen eine viele Fächer nachweisende, doppelt lichtbrechende Substanz, wodurch schwarze Kreuze in den Pilzkörpern erscheinen. Färbung mit 1%igem Kongorot

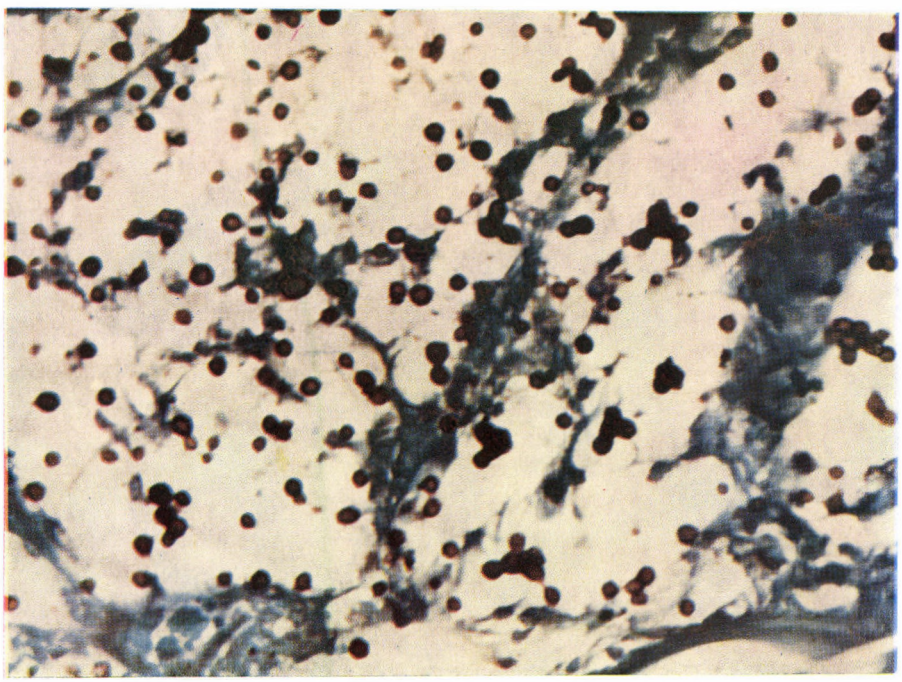


Abb. 9. Ausschnitt aus dem Zentrum eines großen Granuloms von hohlraumartiger Struktur. Durch PAS-Färbung treten die Pilzkörper deutlich in Erscheinung 220fache Vergrößerung

Die subkutan geimpften Mäuse blieben nach der Infektion klinisch gesund, bei den intraperitoneal infizierten sträubte sich nach einer gewissen Zeit das Fell, sie wurden stumpf, matt und magerten ab. Vier Wochen nach der Infektion wurden die Mäuse getötet.

Bei den subkutan geimpften Mäusen fanden wir Veränderungen nur an der Impfstelle bzw. im zugehörigen Impfknoten. Diese bestanden aus winzigen,

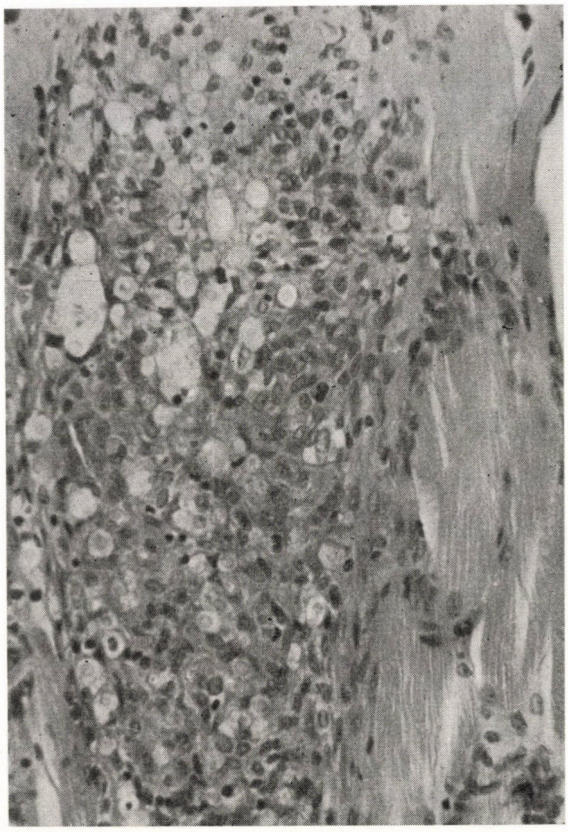


Abb. 10. Ausschnitt aus einem kleineren Muskelgranulom, das von keiner Bindegewebskapsel begrenzt ist. Die Pilzkörper sind in den Granulomzellen nur verschwommen zu sehen. Hämalaun-Eosinfärbung. 410 fache Vergrößerung

glasartig durchsichtigen, flachen Herden in der Haut und aus der Umwandlung des Lymphknotens zu einem mitunter auch die Größe einer halben Erbse erreichenden Knoten. In den anderen Organen waren keine makroskopisch wahrnehmbare Veränderungen vorhanden.

Bei der Sektion der intraperitoneal geimpften Mäuse sahen wir mit kleineren Abweichungen bzw. in leichterer oder schwererer Form dieselben Veränderungen, bei denen es sich im wesentlichen um Peritonitis handelte. In den serösen Häuten der Bauchhöhlenorgane und darunter, im Mesenterium

und Omentum, sowie in den Mesenteriallymphknoten befanden sich kleinere und größere, glasartig durchsichtige kompakte Knoten, Granulome. Ähnliche Herde fanden wir auch in der Leber und Lunge einzelner Mäuse sowie an der Impfstelle in der Haut, im subkutanen Bindegewebe und in den regionären Lymphknoten.

In dem vom Peritoneum hergestellten Ausstrich sowie in den aus den Granulomen zubereiteten Abdruckpräparaten stellten wir nach Färbung mit

Abb. 11. Cryptococcus-Granulome am Peritoneum einer mit Pilzkultur intraperitoneal geimpften Maus. Hämalaun-Eosinfärbung. 140fache Vergrößerung

Methylenblau oder PAS in großer Zahl von einer Hülle umgebene wuchernde Pilze fest. Der Krankheitserreger konnte aus den Granulomen reisoliert werden.

Wir untersuchten die verschiedenen Organe auch histologisch nach denselben Verfahren wie die Organe des Hundes.

Bei den subkutan geimpften Mäusen saßen Granulome im subkutanen Bindegewebe, bei den intraperitoneal geimpften an der Oberfläche der Pleura, der Peritoneums, der Lunge, Leber, Milz, des Darmkanals (Abb. 11) und der

Niere. Verstreut fanden wir Pilzkörper auch an der Meninx und im Gehirn einiger Mäuse.

Im Zentralnervensystem hatten sich an einigen Stellen kleinere Granulome entwickelt. Ebenso fanden wir Granulome in der Lunge und Milz einzelner geimpfter Versuchstiere.

Die künstlich infizierten Hunde sind nach der Impfung gesund geblieben und entwickelten sich gut. Sie wurden 12 Wochen nach der Infektion getötet. Veränderungen vermochten wir weder bei der pathologisch-anatomischen noch bei der histopathologischen Untersuchung ihrer Organe vorzufinden.

Besprechung

Wie die Untersuchungen ergaben, sind die am Hund angetroffenen Veränderungen vom vermuteten Pilz verursacht worden. Nach den Ergebnissen der histologischen und mykologischen Untersuchungen sowie der experimentellen Tierimpfungen hat sich der Pilz als *Cryptococcus neoformans* erwiesen.

Den Literaturangaben zufolge kommt diese Erkrankung bei Hunden, aber auch bei anderen Haustieren selten vor. Sie manifestiert sich bei Hunden ebenso wie beim Menschen in drei verschiedenen Formen: 1. als Enzephalitis und Meningitis, 2. als Pneumonie und 3. in Hautveränderungen. Selten tritt die Krankheit — wie der unserseits beobachtete Fall — auch in generalisierter Form in Erscheinung.

Der Weg der natürlichen Ansteckung von Hunden ist einstweilen unbekannt. Die unserseits intratracheal vorgenommene experimentelle Ansteckung ist erfolglos geblieben, so daß wir der Klärung des Ansteckungsvorganges nicht nähergekommen sind.

Das einheimische Vorkommen der Cryptococcosis war bisher nicht bekannt. Den eigenen Fall haben wir teils aus diesem Grunde mitgeteilt, teils auch deshalb, weil es sich um die sehr seltene generalisierte Form handelte.

ZUSAMMENFASSUNG

Ein Fall der in Ungarn zum erstenmal beobachteten Cryptococcosis wird mitgeteilt, und zwar mit ausführlicher Beschreibung der im Kadaver des erkrankten Hundes angetroffenen pathologisch-anatomischen Veränderungen sowie der Ergebnisse der histologischen Untersuchung der veränderten Organe. Der Krankheitserreger wurde aus den Organen gezüchtet und hat sich als *Cryptococcus neoformans* erwiesen. Mit der Kultursuspension des Erregers wurden Mäuse erfolgreich infiziert, dagegen konnte die Erkrankung mittels intratrachealer Infektion keinem der 2 Hunde übertragen werden.

Der beobachtete Fall entspricht der generalisierten Form der Cryptococcosis.

LITERATUR

BENHAM, R. W.: Ann. New York Acad. Sci. **50** (1950), 1299. BEREGI, E.: Kísérleti Orvostudomány **5** (1953), 70. BINDER, L., CSILLAG, A. und TÓTH, G.: Orvosi Hetilap, 1955, 687. FÖLDVÁRI, E. und FLÓRIÁN, E.: Orvosi Hetilap, 1954, 85. FROTHINGHAM, L.: Med. Res. **8** (1902), 31. HELMBOLD, C. und JUNGHERR, E., zit. BARRON, CH. N.: JAVMA **127** (1955), 125. HORÁNYI, B. und CSILLAG, A.: Orvosi Hetilap, 1955, 673. KIKUCHI, K.: J. Jap. Soc. Vet. Sci. **2** (1923), 4. MEYER, K. F.: Porse. Path. Sol. Philadelphia **16** (1913), 28. MOLNÁR, J.: Orvosi Hetilap, 1955, 685. SANFELICE, zit. BARRON, CH. A.: JAVMA **127** (1955), 125. SEIBOLD, H. R., ROBERTS, C. S. und JORDÁN, E. M.: JAVMA **122** (1913), 313. TRAUTWEIN, G. und NIELSEN, s. W.: JAVMA **140** (1962), 437. VITÉZ, J., MARTON, S. und CSILLAG, A.: Orvosi Hetilap, 1955, 683. VUILLEMIN, P.: Rev. Gen. Sci. pures et appliquées **12** (1901), 732. WEIDMAN, F. D. und RATCLIFFE, H. L.: Arch. Path. **18** (1934), 362. WEIDMAN, F. D.: Arch. Dermat and Syph. **31** (1935), 58. ZENKER, F. A.: zit. BARRON, CH. A.: JAVMA **127** (1955), 125.

ACTA VETERINARIA

ТОМ. XIV — ВЫП. 1

РЕЗЮМЕ

СРАВНЕНИЕ СТЕПЕНИ ВИРУЛЕНТНОСТИ ВИРУСНЫХ ШТАММОВ ОСПЫ ПТИЦ ПРИ ВНУТРИВЕННОМ И ВНУТРИКОЖНОМ ВВЕДЕНИИ И ЗАРАЖЕНИИ ПУТЕМ КОНТАКТА

Л. БАЛЛА и Е. ШИМОНИ

Сравнивалась степень вирулентности вирулентного куриного оспенного штамма путем внутривенного, внутрикожного заражения и заражения путем контакта на курином молодняке, цыплятах и голубях.

Внутривенное введение куриного оспенного штамма как у кур, так и у цыплят вызывало тяжелую оспенную генерализацию. Наблюдались и изменения необычной локализации, так, замечательные образования узелков на кожных чешуях ног, набухание надхвостной железы, дифтероидные наслоения на слизистой зоба. При сильном заражении время инкубации составляет 4—6 дней. Среди цыплят смертность доходила до 85,7%, среди молодняка — до 57,3%. Путем внутрикожного заражения или путем контакта почти у всех восприимчивых животных удалось вызвать выраженное оспенное заболевание, благодаря чему погибло 37—44% куриного молодняка. Вирулентность оспенного штамма далеко превзошла вирулентность индюшечного оспенного штамма и он зарекомендовал себя для определения иммунитета, вызванного разными вакцинами. Выживание после очень сильного внутривенного заражения является более надежным доказательством хорошего иммунитета, чем заражение путем контакта или в кожу.

После внутривенного введения вакционного индюшечного оспенного штамма после 8—14-идневного инкубационного времени возникло мало, быстро изчезающей сыпи у 81,5% цыплят и 78,8% молодняка (один, два узелка на голове и ногах, дифтероидные наслоения во рту). При втирании материала в многочисленные перьевые фолликулы у 63,5% молодняка и цыплят возникла слабая генерализация. Индюшечная противооспенная вакцина путем контакта может тоже вызвать образование слабых оспенных изменений. Все это говорит за относительно невысокую вирулентность индюшечного вакцинного оспенного штамма.

Венгерский голубиный вакцинный оспенный штамм зарекомендовал себя своими хорошими иммуногенными свойствами. Введение его в большом количестве в вену у 33% цыплят вызывает образование на ногах обычно солитарных, величины макового семени, не превращающихся в струпя узелков. Голуби от него сильно болели.

Вирусы, введенные в кровь, наилучше размножались в фолликулах после удаления из них перьев. Эта местная диспозиция может проявиться и в отношении оспенных вирусов других видов. Но возникающее при этом набухание фолликул характерно для разных типов вируса. У куриного молодняка и голубиный оспенный вакцинный штамм может вызвать после внутривенного введения набухание перьевых фолликул.

В определении эвентуальной засоренности голубиных противооспенных вакцин более вирулентным куриным оспенным штаммом внутрикожный способ более чувствителен (на основании оценки местной реакции), чем внутривенный способ заражения. Но зато параллельно проведенный внутривенный способ ускоряет и уточняет проверку на безвредность. При титрировании путем внутривенного заражения выявлено, что быстрота развития и тяжелость оспенных симптомов пропорциональна количеству введенного вируса.

Внутривенная прививка зарекомендовала себя в определении степени вирулентцости разных оспенных (птичьих) штаммов и иммунизирующей способности разных вакцинных штаммов, однако из-за этого нельзя кожный способ заражения считать излишним

ГИГИЕНИЧНЫЙ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОДЫ КВАЛИФИКАЦИИ КОЛБАСНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Я. ТАКАЧ

Квалификация колбасных изделий представляет собой комплексный процесс, в котором наряду с составом и органолептическим обследованием играют существенную роль и исследования по микробиологическому состоянию изделий с точки зрения общественного потребления, или же обнаружение упомянутых свойств по иным методам. Систематическая проверка и квалификация колбасных изделий начинается с органолептической оценки по баллам, дополняемой микробиологическими и химическими лабораторными исследованиями. Ветеринарный контроль, дополненный химическим исследованием, охватывает в Венгрии основные исследования, представляющие собой квалификацию. Дальнейшее развитие способов этих исследований в соответствии с практикой усовершенствует труднопроизводимую квалификацию колбасных изделий.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КРИСТАЛЛВИОЛЕТОВЫХ ВАКЦИН

ЕЛИСАВЕТА ШИМОНИ, К. БОГНАР, ДЬ. КУЧЕРА и ДЬ. РЕГЁШ

На 273 свиньях проведено сравнительное изучение эффективности кристаллфиолетовых вакцин 8 качеств. Две серии опытов авторы резюмируют в следующем.

1. Свиньи не иммунизируются лучше, если их прививают на месте содержания а не в лаборатории.
2. Нет существенной разницы в изучении эффективности вакцины, если заражение осуществляется 1000, 10 000 или 1 миллионом летальных доз.
3. Нет существенной разницы в изучении эффективности вакцины, если заражали 1 миллионом летальных доз подкожно или путем контакта.
4. Существенная разница наблюдалась в изучении эффективности вакцины, если количество иммунизирующих прививок подняли до двух.

Метод одной прививки авторы считают более надежным способом выявления различных качеств иммуногенных свойств кристаллфиолетовых вакцин, чем метод двух прививок.

ХАРАКТЕРНОЕ РАССТРОЙСТВО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРЬЕВ У ЦЫПЛЯТ, ВЫРАЩИВАВШИХСЯ НА ДЕФИЦИТНОЙ ВИТАМИНОМ $Д_3$ ДИЕТЕ

Б. ТОТ, ДЬ. ГЕЦИ, ДЬ. ЛАКИЧ и ДЬ. БАРШИ

На экспериментальных цыплятах, применявшихся для определения витамина $Д_3$ авторами наблюдалось характерное расстройство образования перьев. У цыплят, содержавшихся на дефицитном витамином $Д_3$ корме, опахала маховых перьев крыльев с 2—3-х-недельного возраста развивались только рудиментарно. Нормальные опахала наблюдались только на дистальных концах перьев, тогда как проксимальные концы стержней были голыми. На основании сравнения длины голой части стержня с длиной пера авторы исчислили т. наз «соотношение оперения». Наблюдения показали, что «соотношение оперения» у цыплят, содержавшихся на дефицитной витамином $Д_3$ диете, заметно отличалось от «соотношения оперения» цыплят, снабжавшихся витамином $Д_3$ (см. таблицу № I). Перья цыплят с дефицитной витамином $Д_3$ диетой содержали меньше серы, чем перья снабжавшихся витамином $Д_3$ животных.

Согласно авторам расстройство образования перьев это аналогично размягчению клюва рахитических цыплят явление и на основании своих наблюдений приходят к заключению, согласно которому витамин $Д_3$, между прочим, влияет и на процессы ороговения в организме цыплят.

КУЛЬТИВАЦИЯ ВИРУСА НЮКЭСТЛ В ТКАНЕВОЙ КУЛЬТУРЕ

III. Культивация некоторых вакцинных штаммов вируса Нюкэстл в тканевой культуре от млекопитающих

П. МАРКОВИЧ и Б. ТОТ

Авторы изучали размножение разных вакцинных штаммов вируса Нюкэстл (ВН) в тканевых культурах от млекопитающих. Штаммы H, L и B^1 параллельно перепрививались 25—100 раз на тканевые культуры из почки свиньи, семенника теленка и куриного эмбриона. Обнаружено, что вакцинные штаммы ВН наиболее дружно размножаются в тканевой культуре из почки свиньи. В таких культурах получены вакцины наивысшего титра — 10^6—$10^{6,5}$ эмбрионирующихся яиц, показывающих наименьший диапазон колебания эффективности. В тканевых культурах из почек теленка и куриного эмбриона получены вакцины близкие по эффективности первой, зато материал взятый из последних культур в разное время показывал более широкий диапазон колебания титра, чем материал тканевой культуры из почки свиньи. Культура из телятиного семенника, обладающая большой энергией роста в экспериментах авторов не оказалась подходящей. Вирус размножался в ней только до титра $10^{3,2}$. Упомянутые вакцинные штаммы ВН получали авторы в большом количестве в двухлитровых колбах Ру (Roux) в тканевых культурах из почки свиньи.

В экспериментах по иммунизации куринного молодняка авторы обнаружили, что вирус из тканевой культуры обладает такими же иммуногенными свойствами, как и вирус из эмбрионирующегося яйца, несмотря на то, что титр тканевого вируса в оценке с эмбрионирующимися яйцами обладал низшим на 1—1,5 значением экспоненты титром. От подкожного введения 0,2 мл-ов разбавленного в 10^{-4} вируса L тканевой культуры из свиной почки и из яйца или от дачи через рот 5 мл-ов разбавленного в 10^{-3} того же вируса выработался у всех восприимчивых животных иммунитет, защищающий от 1 миллиона летальных доз вирулентного вируса.

Данные экспериментов по культивации in vitro и по иммунизации показывают, что вакцинные штаммы ВН от культивирования их в тканевой культуре и от перепрививок самых важных первоначальных свойств — способности размножения, пониженной вирулентности и хороших иммуногенных свойств — не теряли.

На основании данных экспериментов авторы приходят к выводу, согласно которому вакцинные штаммы ВН пониженной вирулентности вместо эмбрионирующихся яиц хорошо можно культивировать в тканевой культуре из почки свиньи. Этим можно избежать возможности засорения вакцины патогенным для кур заразным началом, передающимся через яйцо.

ПОЛУЧЕНИЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРАТИФА

I. Изучение вакцин из Salmonella typhi-suis, приготовленных разными методами, на мышах и кроликах

М. ПАЛЮШИК

На основании количества агглютинирующих антител в сыворотке кроликов среди вакцин из Salmonella typhi-suis, приготовленных семью способами, три — осадочная вакцина, спиртовая вакцина и вакцина, полученная при помощи экстрагирования трихлоруксусной кислотой— обладали наилучшими антигенными свойствами. Под влиянием адсорбированных к гидроокиси алюминия вакцин антитела появлялись в существенно низшем титре, но зато они обнаруживались дольше. В иммунизации мышей из трех упомянутых вакцин наилучше зарекомендовала себя осадочная вакцина.

ПОЛУЧЕНИЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРАТИФА СВИНЕЙ

II. Испробование адсорбированной к гидроокиси алюминия и осадочной вакцин из Salmonella typhi-suis на свиньях в лабораторных условиях

М. ПАЛЮШИК

Против хронического паратифа свиней (паратиф Кунцендорф) в лабораторных условиях испробованы адсорбированная к гидроокиси алюминия вакцина и вакцина, содержащая убитые формалином бактерии Salmonella typhi-suis. Среди раз иммунизи-

ровавшихся в трехмесячном возрасте животных после очень массивного повторного заражения выжило 83% голов, среди животных же, иммунизировавшихся два раза в подсосном возрасте (в 5-и и 8-инедельном возрасте) выжило 50% голов.

ОБНАРУЖЕНИЕ PROTOSTRONGYLUS BREVISPICULUM MIKAČIĆ, 1940 В ВЕНГРИИ

Т. КАШШАИ

Работа автора является первым сообщением об обнаружении **Protostrongylus brevispiculum** в овцах Венгрии. Автор отмечает, что на основании раньших описаний самок **P. brevispiculum**, **N l.inearis** и **M. capillaris** невозможно с уверенностью отличить друг от друга. Самки **M. capillaris** отличаются от самок упомянутых других видов тем, что позади вульвы последних нет вульварного бугра; контуры вагины сильно преломляют свет и ее задний участок находится непосредственно под кутикулой и он параллелен поверхности тела. Непреломляющий свет концевой участок вагины самок **P. brevispiculum** и **N. linearis** непараллелен поверхности тела, а образует дугу и половая щель помещается на оральной поверхности хорошо заметного шаровидного мышечного бугра. Самок последних двух видов можно отличить друг от друга на основании характерных черт хвостового конца. Хвостовой конец самки **P. brevispiculum** на 38 μ длиннее и немножко заострен, хвостовой же конец самки **N. linearis** на 32 μ короче и притуплен. Контуры прямой кишки последней самки сильно преломляют свет.

Длина личинок I. стадии **P. brevispiculum** 240—321 μ. Форма их хвостового конца сильно напоминает хвостовой конец личинок I. стадии **P. rufescens**. Разница в их длине представляет однако некоторую возможность для дифференциации, ибо минимальная длина личинок **P. rufescens** равняется 300 μ-ам. Личинок типа протострогилюс из овец Европы короче 300 μ-ов нужно считать принадлежащими к виду **P. brevispiculum** а длиннее 330 μ — к виду **P. rufescens**. Примерно 20% личинок типа протострогилюс длины 300—330 μ. Они могут принадлежать к любому из этих двух видов.

Дается краткое описание наиболее характерных черт патологоанатомических и патогистологических изменений, вызванных нематодой **P. brevispiculum** в легких.

Даются рисунки и определительная таблица для полегчения идентификации разных видов легочных нематод, описанных из европейских овец.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО ИММУНИЗАЦИИ ОБЛУЧЕННЫМИ ЛИЧИНКАМИ

I. Изучение воздействия облучения на яйцах и личинках **Ascaridia galli**

И. ВАРГА

Облучение яиц в описанных в эксперименте условиях дозой 80 000 r тормозит развитие личинок.

Облучение содержащих личинки яиц дозой 40 000 r практически не допускает развития половозрелых аскаридий в кишке хозяина. Самцы не развиваются уже от дозы 10 000 r.

Соответственно дозе облучения в отдельных группах понизилось количество нематод и наблюдалось торможение роста за время всего постэмбрионального развития (табл. 2, сн. 2.).

У гельминтов облученных групп за время наблюдения 50 и 80 дней не отмечено кладки яиц. Облученные гельминты удаляются из хозяев раньше контрольных. Бросающимся в глаза морфологическим изменением у облученных гельминтов является недоразвитость половой системы самок.

Доза облучения в 10 000—20 000 r ослабляет жизненность личинки **A. galli** в такой степени, что их можно использовать в экспериментах активной иммунизации.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПЕЧЕНИ ЛОШАДЕЙ, ОБРАБОТАННЫХ ДЕКСТРАНОМ

ДЬ. ЛАМИ

Автор вводил в вену путем инфузии 12 лошадям по 1,0 г/кг декстрана (интрадекс) и к 3., 5. и 7. дням — в предположимый момент кульминации накопления декстрана в печени — изучил функционирование печени при помощи бромсулфалеиновой пробы. На основании данных эксперимента автор пришел к заключению, согласно которому нако-

пившийся в печени декстран не вызвал повреждений, тормозящих нормальную функцию этого органа. Клиническое значение полученных данных заключается в том, что могут быть случаи — особенно в практике медицины — когда необходимо вводить препарат повторно на протяжении краткого промежутка времени (пожалуй несколько раз в течение суток). Это можно без опасения сделать, ибо накопление препарата в печени не сказывается отрицательно на функции этого органа.

К УМУЛЯЦИЯ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА В ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКЕ ПОСЛЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ГИСТАМИНА И КОЛЛАРГОЛА

ДЬ. ЛАМИ

Изучена кумуляция декстрана и поливинилпирролидона в печени и селезенке кроликов после предварительного введения им гистамина и колларгола. Данные экспериментов показали, что колларгол энергичнее понижает накопляющую способность ретикулоэндотелиальной системы печени и селезенки к применявшимся плазмозаменителям, чем гистамин повышает эту способность.

Накопившийся в печени и селезенке декстран и уровень декстрана в плазме определялись методом, Якобсон и Ханзен (Jakobsson et Hansen), а поливинилпирролидона методом Пулэн и Пиет (Poullain et Piette).

ГЕНЕРАЛИЗИРОВАННАЯ ФОРМА КРИПТОКОККОЗА У СОБАКИ

А. СЕКИ, Л. ЧОНТОШ и Е. ФЛОРИАН

Дается описание первого случая криптококкоза собаки в Венгрии. Детально описывают патологоанатомические изменения и результат патогистологического исследования органов вскрытой собаки. Культивацией удалось изолировать из органов заразное начало — **Criptococcus neoformans.** Суспенсией культуры грибка удалось заразить мышей. Не удалось однако заразить грибком двух собак аэрогенным путем. Наблюдавшийся случай был генерализированным криптококкозом.

The *Acta Veterinaria* publish papers on veterinary science in English, German, French and Russian.

The *Acta Veterinaria* appear in parts of varying size, making up volumes.

Manuscripts should be addressed to:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Correspondence with the editors and publishers should be sent to the same address.

The rate of subscription to the *Acta Veterinaria* is 110 forints a volume. Orders may be placed with "*Kultúra*" Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest I., Fő utca 32. — Account No. 43-790-057-181) or with representatives abroad.

Les *Acta Veterinaria* paraissent en français, allemand, anglais et russe et publient des travaux du domaine des sciences vétérinaires.

Les *Acta Veterinaria* sont publiés sous forme de fascicules qui seront réunis en volumes,

On est prié d'envoyer les manuscrits destinés à la rédaction à l'adresse suivante:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix d'abonnement est de 110 forints par volume.

On peut s'abonner à l'Entreprise pour le Commerce Extérieur de Livres et Journaux «*Kultúra*» (Budapest I., Fő utca 32. — Compte-courent No. 43-790-057-181) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

«*Acta Veterinaria*» публикуют трактаты из области ветеринарных наук на русском, французском, английском и немецком языках.

«*Acta Veterinaria*» выходят отдельными выпусками разного объема. Несколько выпусков составляют один том.

Предназначенные для публикации рукописи следует направлять по адресу:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

По этому же адресу следует направлять всякую корреспонденцию для редакции и администрации.

Подписная цена «*Acta Veterinaria*» — 110 форинтов за том. Заказы принимает предприятие по внешней торговле книг и газет «*Kultúra*» (Budapest I., Fő utca 32. Текущий счет № 43-790-057-181), или его заграничные представительства и уполномоченные.

38,— Ft

INDEX

BALLA, L. and SIMONY, E.: Comparison of the Virulence of Fowl-Pox Virus Strains by the Intravenous, Cutaneous and Contact Routes of Infection 1

TAKÁCS, J.: Hygienic and Microbiological Qualification of Sausages 15

СПАССКАЯ, Л. П.: Цестоды птиц Тувы. VII. Hymenolepididae 19

СПАССКАВ Л. П.: К фауне птиц Тувы 35

SIMONYI, E., BOGNÁR, K., KUCSERA, G. and REGŐS, J.: Comparative Studies on the Potency of Different Crystal-Violet Swine-Fever Vaccine Batches..... 51

TÓTH, B., GÉCZY, G., LAKITS, G. and BARSY, G.: Characteristic Feathering Disorder Observed in Chickens Fed with Vitamin D_3 Deficient Diet 57

MARKOVITS, P. and TÓTH, B.: The Propagation of Newcastle Disease Virus (NDV) in Tissue Cultures. III. Cultivation of Certain NDV Vaccine Strains in Cultures of Mammal Origin..... 63

PALYUSIK, M.: Preparation of Experimental Vaccine Against the Chronic Paratyphoid of Pigs. I. Comparative Studies of Different *Salmonella typhi-suis* Vaccines in Mice and Rabbits 71

PALYUSIK, M.: Preparation of Experimental Vaccine Against the Chronic Paratyphoid of Pigs. II. Laboratory Tests in Pigs on a Formolized Aluminium Hydroxide-Adsorbed Vaccine Prepared from *Salmonella typhi-suis* 77

KASSAI, T.: The Occurrence of *Protostrongylus brevispiculum* Mikačić, 1940 in Hungary 83

VARGA, I.: Immunization Experiments with Irradiated Larvae. I. Studies on the Effect of X-rays on Eggs and Larvae of *Ascaridia galli*..... 95

ЛАМИ, Дь.: Кумуляция поливинилпирролидона в печени и селезенке 105

LAMI, GY.: Die Untersuchung der Leberfunktion bei den mit Dextran behandelten Pferden 113

LAMI, GY.: The Effect of Parenterally Administered Histamine and Collargol on the Accumulation of Dextran and Polyvinylpyrrolidon in the Liver and in the Spleen 117

SZÉKY, L., CSONTOS, L. und FLÓRIÁN, E.: Ein Fall von generalisierter Cryptococcosis beim Hund..... 127

Index: 26,026

ACTA VETERINARIA

ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

T. KÁDÁR, J. KOVÁCS, R. MANNINGER,
J. MÉSZÁROS, S. MÉSZÁROS, J. MÓCSY, J. SÁLYI

REDIGIT

A. KOTLÁN

TOMUS XIV FASCICULUS 2

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST
1964

ACTA VETERINARIA

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTŐSÉG: BUDAPEST VII., LANDLER J. U. 2. KIADÓHIVATAL: BUDAPEST V., ALKOTMÁNY U. 21.

Techn. szerk.: KOBULEJ TIBOR

Az *Acta Veterinaria* német, angol, francia és orosz nyelven közöl állatorvostudományi értekezéseket.

Az *Acta Veterinaria* változó terjedelmű füzetekben jelenik meg, több füzet alkot egy kötetet.

A közlésre szánt kéziratok a következő címre küldendők:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztőségi és kiadóhivatali levelezés.

Az *Acta Veterinaria* előfizetési ára kötetenként belföldre 80 Ft, külföldre 110 Ft. Megrendelhető a belföld számára az „*Akadémiai Kiadó*"-nál (Budapest V., Alkotmány utca 21. Bankszámla 05-915-111-46), a külföld számára pedig a „*Kultúra*" Könyv- és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest I., Fő utca 32. Bankszámla 43-790-057-181 sz.) vagy annak külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

Die *Acta Veterinaria* veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereiche der Veterinärwissenschaften in deutscher, englischer, französischer und russischer Sprache.

Die Acta Veterinaria erscheinen in Heften wechselnden Umfanges. Mehrere Hefte bilden einen Band.

Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind an folgende Adresse zu senden:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

An die gleiche Anschrift ist auch jede für die Redaktion und den Verlag bestimmte Korrespondenz zu senden.

Abonnementspreis pro Band: 110 forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Außenhandels-Unternehmen »*Kultúra*« (Budapest I., Fő utca 32. Bankkonto Nr. 43-790-057-181) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.

DEMONSTRATION OF A DETOXICATION END PRODUCT IN THE GENITAL SECRETION OF COWS

By

SUSAN N. GÁSPÁR

Department of Physiology (Head: Prof. A. KEMÉNY), University of Veterinary Sciences Budapest

(Received February 12, 1963)

In some instances in the estrus secretion of cows the presence of an acid of unknown structure was observed (GÁSPÁR, CSEH, 1963). The analysis of results of the artificial insemination procedure indicated that from the reproduction-biological respect the presence of this substance is not indifferent. For lack of adequate information regarding the chemical structure of the acid, it was, however, difficult to investigate either the cause or the consequences of its appearance. In order to elucidate the physiological role of the substance, identification of its chemical structure was essential. In previous experiments it was demonstrated that although the appearance of the acid was associated with a rise in the citric acid level, it is not identical with any component of the citric acid cycle. Nor is it identical with pyruvic or lactic acid.

According to our earlier observations the acid was water-soluble when separated from the uterine mucus by paper chromatography, but its vividly coloured derivative formed with p-dimethyl-amino-benzaldehyde could be eluted with organic solvents only. The derivative is a stable compound and its colour intensity remains unchanged for months. On the basis of these properties the presence of an aromatic radical was assumed and further attempts to identify the acid were made with substances known as aromatic end products of intermediary detoxication processes.

In want of suitable equipment for complete chemical analysis, investigations on the structure of the acid were based on its behaviour in paper chromatography and the properties exhibited by its p-dimethyl-amino-benzaldehyde derivative.

Methods

After deproteinization with trichloroacetic acid, the uterine mucus was applied in a width of 30×1 cm to Macherey—Nagel 214 chromatography paper. As solvent a 4 : 1 : 1 mixture of butanol—acetic acid—water was used and chromatography was performed by the ascending technique with a solvent front advanced to 28 cm. The location of the substance was traced by the method of SCHREIER and HACK (1956). The respective portion of the paper strip was cut off and eluted in distilled water. The eluate was evaporated to about 2 ml and applied to the chromatography strip again. Prior to elution the marginal portions of the sheet were removed in order to ensure perfect separation from the compounds located in the adjacent areas. After running the eluate for a third time, right on the paper it was transformed into a coloured derivative with p-dimethyl-amino-benzaldehyde and eluted with ethyl alcohol. The eluate was passed through a G 4 glass filter and its absorption spectrum was measured in the Beckmann spectrophotometer.

The samples used for the determination of R_f values and for comparative studies were applied to the chromatography paper in small spots.

Results

By the above method comparative studies were performed with several compounds containing aromatic radicals. However, positive results could be achieved exclusively with benzoylamino acetic acid, i.e. hippuric acid, and therefore detailed description is given only on the results found with this compound.

It is generally known that in herbivorous animals hippuric acid is the most important end product of the detoxication of benzoic acid and its derivatives. According to GUPTA (1932), hippuric acid was the only excretion product found in Indian cattle after having been given benzoic acid overdoses. The comparative studies were made on the basis of the investigations performed by CARTER and ADAMS (1946) on azlactone formation. As demonstrated by these authors, at proper temperatures hippuric acid forms orange-coloured phenyl-4-(p-dimethyl-amino)-benzal-5 oxazolon with p-dimethyl-amino-benzaldehyde dissolved in acetic anhydride. On the basis of this reaction GAFFNEY et al. (1954) established their photometric method for the quantitative determination of hippuric acid. The data of these authors and the results of the present experiments were compared with regard to absorption spectra and chromatography findings.

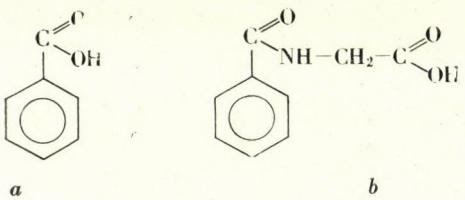


Fig. 1. Structural formulas of benzoic and hippuric acid. *a*, benzoic acid; *b*, benzoylglycine (hippuric acid)

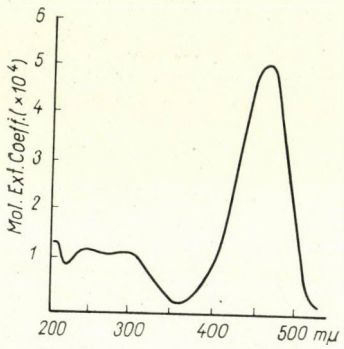


Fig. 2a Absorption spectra of hippuric acid and the unknown organic acid. *a*, hippuric acid (GAFFNEY, 1954),

Absorption spectrum

GAFFNEY et al. prepared azlactone of pure hippuric acid by adding equimolar quantities of p-dimethyl-amino-benzaldehyde and heating the mixture in the presence of acetic anhydride in a reflow system for 30 minutes. The absorption spectrum of hippuric acid was measured, after repeated crystallization, in a methyl-alcoholic solution (Fig. 2*a*). Absorption maximum was

measured within the visible band at 460 mμ, while between 200 and 350 mμ absorption of lower intensity took place. Values above 500 mμ are not plotted in the figure because they did not differ from the 0 value.

The substance separated from the genital mucus by paper chromatography and eluted with ethyl alcohol produced maximum absorption at 475 mμ.

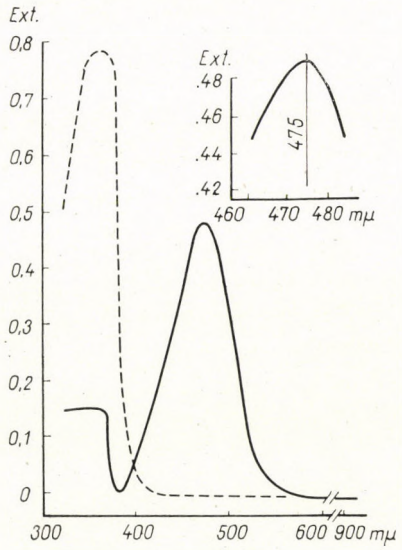


Fig. 2b unknown organic acid, - - - - - - - - eluate of reagent

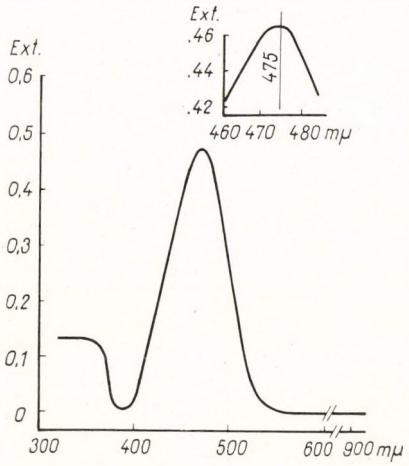


Fig. 2c, hippuric acid (our test)

Between 320 to 375 mμ lower absorption intensity was measured. No absorption could be observed from 500 to 500 mμ (Fig. 2/*b*).

The light absorption curve of our acid was in many respects similar to that of hippuric acid. The difference between the absorption maxima of the two materials was 15 mμ. On the one hand, this might be explained by the fact that by repeated crystallization GAFFNEY et al. undertook further purification of the azlactone prepared of hippuric acid, while in our experiments the small quantity of test material available could not be purified to such a degree. On the other hand, in our studies a different solvent was used at reading. The above suppositions are supported by the observation that, when treated in a similar way, the absorbtion curve of hippuric acid was identical with that found for our material.

Paper chromatography

In order to facilitate comparison, in Table 1 we summarized: *a)* the data obtained by GAFFNEY on hippuric acid; *b)* data obtained with hippuric acid

in our system; *c)* data on the behaviour of hippuric acid when mixed with uterine mucus not containing the unknown acid; *d)* data on the non-identified organic acid in the genital mucus.

Table 1

Comparison of data obtained by paper chromatography

Solute	Solvent	Filter paper	Solvent front cm	R_f value
Hippuric acid (Gaffney's data)	Butylalcohol—acetic acid—water 4 : 1 : 1	Whatman No. 1	30	0.81
Hippuric acid (in our system)	,,	Macherey—Nagel 214	28	0.83
Hippuric acid + genital secretion	,,	,,	28	0.81
Unknown organic acid	,,	,,	28	0.78—0.80

The R_f value measured in our system for pure hippuric acid is somewhat exceeding the findings of GAFFNEY et al. However, when admixed to the genital secretion, hippuric acid showed a lower R_f value, and more closely approximated both GAFFNEY's and our results.

When hippuric acid was admixed to the genital secretion containing the unknown acid, on developing the strip the two acids appeared as a single — more intensely coloured — spot on the chromatography sheet.

On the basis of the above observations the supposition that the unknown compound is identical with hippuric acid seems to be highly probable.

The question arises how this compound, known as detoxication end product, could appear in the genital secretion of cows. Had the samples been taken carelessly, contamination would have occurred at sampling because hippuric acid is excreted by the kidneys. However, with the technique described in an earlier paper (1963) the sample is taken directly from the cervical orifice and therefore any contact with urine can be prevented.

The possibility of technical contamination might further be excluded by our observation that in the secretion of "positive" animals the acid could be demonstrated repeatedly, even in the mucus collected during diestrus by swabbing from the cervical orifice, while in "negative" cows no traces of this material were found by examination on 4 or 5 occasions.

It needs to be mentioned here that in the secretion of 2—3 animals the hippuric acid, repeatedly demonstrated earlier, disappeared after a longer period, i.e. after 2 to 3 estrus cycles. However, as to the reason of either the appearance or disappearance of this substance, no possible explanation

is available at present. Further studies are necessary to elucidate this question.

Finally, the possibility of contamination with urine is practically excluded when considering that out of 56 slaughtered cows hippuric acid was demon-

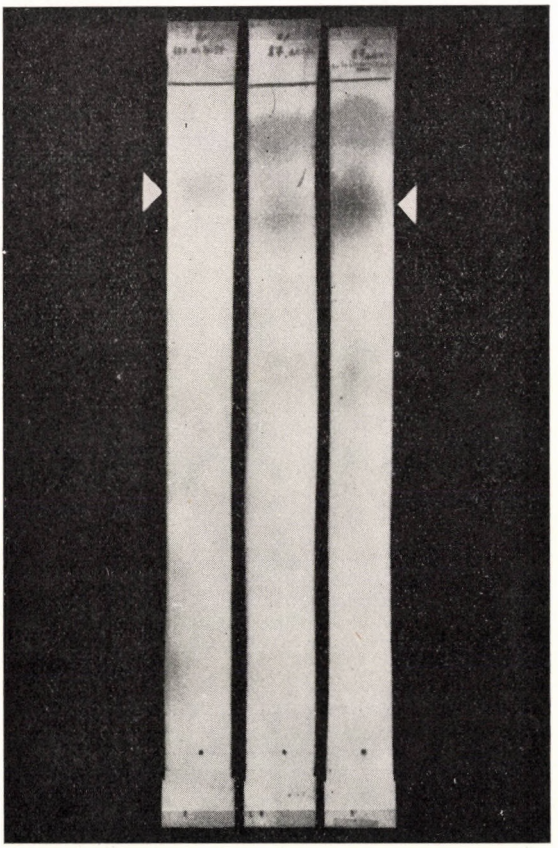


Fig. 3. Chromatograms of hippuric acid and the unknown organic acid

strable in the uterine mucus of 11 cows only. Nevertheless, in the oviductal secretion of the same animals no hippuric acid whatever was present.

The above facts suggest that — for reasons not yet identified — the uterine tissue is responsible for the appearance of hippuric acid in the genital secretion of cows. The question is whether this is an involvement of uterine tissue into the secretion of the hippuric acid circulating in the blood but produced in the liver and kidneys, or whether there is a possibility for coupling of benzoic acid and glycine within the uterine tissue. Although in our opinion the latter explanation is less probable, the actual reasons can be elucidated by further in vivo and in vitro experiments.

SUMMARY

In an earlier paper (1963) the presence of an organic acid of unknown structure in the genital secretion of cows was reported. In order to elucidate the physiological role of this substance, attempts were made to identify its chemical structure. On the basis of the results found on examination with paper chromatography as well as by the absorption spectra of a coloured derivative of the acid — formed with p-dimethyl-amino-benzaldehyde — the unknown substance was identified as hippuric acid.

Acknowledgements

The author is indebted to Mrs. A. KOVÁCS (Medical Research Institute, Budapest) for valuable help in performing the measurements, and to Miss ÉVA FODOR, for excellent technical assistance.

REFERENCES

CARTER, H. E. and ADAMS, R.: Organic Reactions. New York, **3** (1946), 189. GAFFNEY, G. W., SCHREIER, K., DIFERRANTE, N. and ALTMANN, K. I.: J. Biol. Chem. **206** (1954), 695. GÁSPÁR, S. and CSEH, A.: Magyar Állatorvosok Lapja, 1963, 32. GUPTA, N. C. D.: Indian J. Vet. Sci. **2** (1932), 289. SCHREIER, K. and HACK, W.: Naturwissenschaft **43** (1956), 178.

К ВОПРОСУ ИЗУЧЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ PIROPLASMA CABALLI (NUTALL ET STRIKLAND, 1910) В ТРУПЕ

М. ДАШ

ВСХИ им. Г. Димитрова, София, Кафедра зоогигиены и основ ветеринарии
(Дир.: проф. П. Павлов)

(Поступило 13 февраля 1963 г.)

Диагносцирование пироплазмоза сельскохозяйственных животных на основании мазков крови из трупов животных различной давности имеет практическое значение. Несмотря на это литературу по данному вопросу нельзя считать богатой, и, таким образом, проблему удовлетворительным образом разрешенной. Каждое наблюдение в этом направлении является новым шагом на пути к окончательной расшифровке проблемы.

Настоящая работа представляет результаты наших исследований, проведенных за время нашего пребывания в Монгольской Народной Республике. Однако мы далеко от того, чтобы считать эту работу исчерпывающей характеристикой изменений морфологии пироплазмы в трупе, поскольку этот процесс определяется совокупностью многих факторов.

В мазках приготовленных в острый период болезни констатируются грушевидные, овальные, круглые и амебовидные формы паразита. Характерной формой **Piroplasma caballi** являются одиночные и парные грушевидные паразиты, соединенные заостренными концами под острым углом. Хроматиновая субстанция в таких формах обычно обнаруживается в виде двух скоплений.

История вопроса

Титов и Гидаспов (1932) в трупе павшей от пироплазмоза собаки, хранившемся на холоду 3 дня (—5° С) обнаружили неизмененной формы пироплазмы (**Piroplasma canis**).

Дзасохов (1947) сообщил о возможности посмертной диагностики пироплазмоза лошадей путем микроскопического исследования мазков, приготовленных из внутренних органов трупа.

Золотарев и Рожков (1948) изучали морфологическую изменчивость **Piroplasma caballi** в отдельных органах трупа, хранившихся в затемненном месте и нашли, что в кровеносных сосудах конечностей и ушей паразиты сохраняются неизмененными дольше, чем в сосудах внутренних органов. Ими обнаружено, что паразиты в таких изолированных органах уменьшаются по объему и принимают округлую форму, окрашиваются однородно, теряется связь между парными грушевидными паразитами.

При изучении мазков крови, полученных из трупов овец, Павлов (1948) обнаружил набухание и увеличение инвазированных эритроцитов. Причем сначала сами паразиты (**B. motasi**) увеличиваются в размере и, соответственно этому, набухают и увеличиваются и сами эритроциты. Следует подчеркнуть, что свое исследование упомянутый автор провел в теплый сезон года.

Собственные исследования

Микроскопическая диагностика пироплазмоза в период острого приступа болезни, когда в мазках констатируются характерные формы паразита, не связана с трудностями. При исследовании же материала из трупа, пролежавшего некоторое время, диагностика усложняется вследствие значительных изменений морфологии паразита.

Существующие сведения по этому вопросу весьма ограничены и представляют собой в большинстве случаев чисто лабораторные опыты, т. е. материалом для исследования в этих опытах служат мазки, приготовленные из крови изолированных органов трупа, хранившихся в лаборатории при низких температурных условиях.

Одним из основных методов посмертной диагностики пироплазмоза является обнаружение в мазках из органов павшего животного возбудителя болезни. Но результат микроскопических исследований во многом будет зависеть от степени разложения трупа. Последняя зависит от температурного режима и сезона года.

Материалами нашего исследования служили мазки, приготовленные из периферической крови и крови внутренних органов (печени, селезенки, почек, костного мозга и венечных сосудов) трупа, пролежавшего в естественных условиях под открытым небом в течении определенного срока, при t°-е минус 1 и 2 (ночью) и плюс 5—7 (днем) градусов.

Мазки фиксировались и красились согласно методикам, принятым в диагностике гемоспоридиозных заболеваний. Измерение паразитов производилось при помощи винтового окуляр- и объект-микрометров.

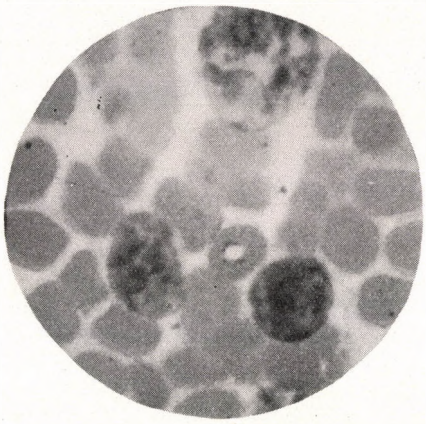
Результаты исследования

Труп № 1. Животное пало к обеду 22-го апреля, а вскрытие трупа произведено в 14 часа 23-го апреля (прошло больше суток). Промеры и количество паразитов, найденных во внутренних органах и периферической крови, представлены в таблице 1.

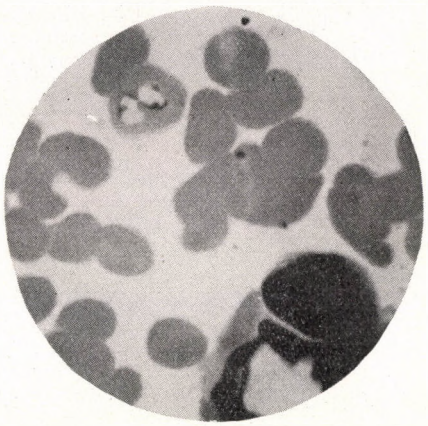
Из таблицы 1 видно, что в трупе, пролежавшем 24 часа, обнаруживаются все формы паразита вплоть до парных грушевидных. Количество последних явно превалирует в периферической крови.

При микроскопии мазков отмечается следующее. В сосудах уха через сутки после гибели животного встречаются типичные и хорошо окрашенные формы паразитов: их контуры четки, хроматин в виде одного или двух компактных скоплений. Формы паразитов не проявляют заметных морфологических изменений.

Во внутренних паренхиматозных органах через сутки от падежа животного обнаружены все формы паразитов с явным преобладанием круг-



Сн. 1. Мазок из селезенки. Увелич. в 980 ×



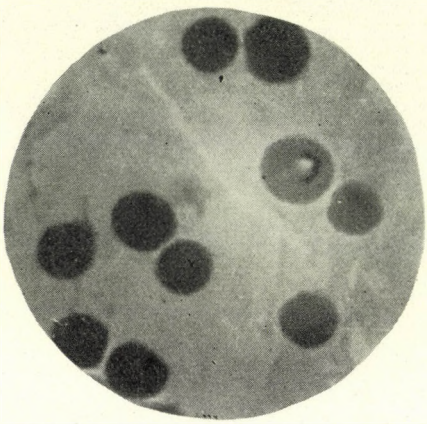
Сн. 2. Мазок из крови печеночного кровеносного сосуда. Увелич. в 980 ×

лых (сн. 1) и цитринообразных над грушевидными. Паразиты окрашены довольно ярко, хроматиновая субстанция имеется в виде интенсивно окрашенных точек или ободков. У грушевидных паразитов часто обнаруживается притупление заостренного конца, неясность их контуров (сн. 2) и в некоторых случаях даже и разрыхление хроматиновых масс с одновременной разрыхленностью общего контура паразита (сн. 3).

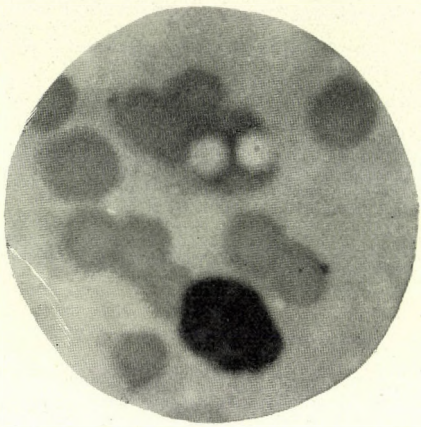
Таблица № 1

Орган	Количество паразитов на 100 п/з (%)				пироплазмозная формула	Промеры отдельных форм паразитов (в микронах)			
	грушевидных	заокругленных	анаплазмоидных	амебоидных		грушевидные	заокругленные	анаплазмовидные	амебоидные
ухо	16	23	1		1:1,4	1,33(1,26—1,47) 2,54(2,17—3,94)	1,96	0,27	
селезенка	9	22		1	1:2,4	0,91(0,63—1,33) 2,96(2,45—3,50)	1,36 (0,91—2,48)		0,77
печень	5	23	1		1:2,4	0,95(0,77—1,26) 2,74(1,66—3,55)	1,83 (0,77—3,55)	0,54	
почка	2	14	1		1:7,0	0,84(0,70—1,35) 2,86(2,43—4,10)	1,86 (1,47—2,73)	0,36	
сердце	3	14		2	1:4,6	1,08(0,86—1,19) 2,35(1,68—4,41)	2,11 (0,79—3,01)		1,52
костный мозг		8					1,77 (0,77—3,48)		

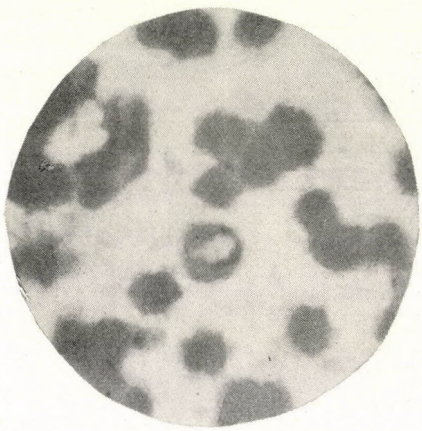
Труп № 2. Лошадь пала два дня назад — 25-го апреля. Вскрывали 27-го апреля. Форма и количество паразитов, обнаруженных в мазках, приготовленных из крови периферических и внутренних паренхиматозных органов представлены в таблице 2.



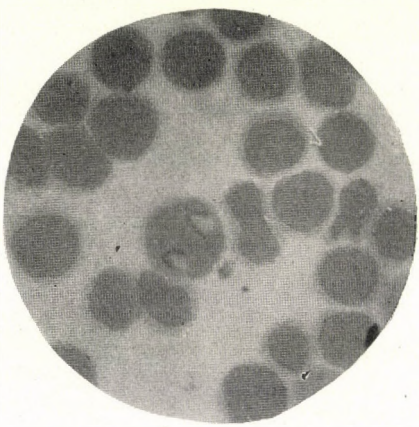
Сн. 3. Мазок из селезенки. Увеличение в 980×



Сн. 4. Мазок из костного мозга. Увеличение в 980×



Сн. 5. Мазок из селезенки. Увеличение в 980 ×



Сн. 6. Мазок крови из ушного сосуда. Увеличение в 980 ×

Из данных таблицы 2 видно, что промеры паразитов из внутренних органов не уменьшаются в такой степени, как это имеет место у паразитов из периферической крови.

При микроскопии стало ясно, что паразиты морфологически резко изменяются за время двух суток от смерти животного. В мазках из периферической крови встречаются все формы паразита с явным преобладанием заокругленных, а в мазках из внутренних органов встречаются преимущественно двойные и одиночные круглые паразиты.

В периферической крови формы паразитов довольно характерны, окрашены в большинстве случаев однородно, хроматин в виде одного или двух компактных скоплений или в виде окружающего равномерно паразита нежно окрашенного ободка. Парные грушевидные формы, обнаруживаемые в периферической крови отдельно друг от друга, лежат продольными осьями параллельно (сн. 6) или образуют угол различного расхождения. Острые концы их притуплены, контуры неясны. В периферической крови часто встречаются одиночные и двойные анаплазмоидные формы.

Мы выше уже подчеркнули, что основными формами, встречающимися в крови внутренних паренхиматозных органов, являются одиночные или двойные круглые формы, среди которых часто встречаются сильно вакуолизированные, довольно крупные (до 4—5 μ). особи. У этих вакуолизированных особей хроматин образует тонкий, нежно окрашенный ободок вокруг паразита. Они нередко бывают настолько крупными, что это ведет к резкому увеличению, деформации или даже разрыву эритроцита (сн. 4).

Грушевидные паразиты в крови из внутренних органов после двух суток очень редко наблюдаются. Если они имеются, то они довольно крупны, увеличенной овальной формы с более или менее заостренным одним концом, окрашены монотонно (сн. 5). Хроматин у таких форм разрыхлен, контуры паразита неясны, окрашены не четко.

Таблица № 2

Органы	Количество паразитов на 100 п/з (%)				пироплазмозная формула	Промеры отдельных форм паразитов (в микронах)			
	грушевидных	заокругленных	анаплазмоидных	амебоидных		грушевидные	заокругленные	анаплазмоидные	амебоидные
ухо	1	26	6		1:8	0,98(0,64—1,32) 2,15(1,56—2,74)	1,13 (0,72—1,34)	0,52	
селезенка	1	14	1	2	1:15	0,92(0,71—1,14) 2,88(2,14—4,62)	1,72 (0,57—3,94)	0,37	
печень		11		2			(0,39—2,94)	1,53	1,04
почка		14					(0,96—3,54)	2,44	
сердце		13		1			2,79 (0,44—4,03)		1,72
костный мозг		11					2,44 (0,93—3,33)		

Обобщение полученных данных и выводы

По литературным и нашим данным пироплазмы по мере пролежания трупа становятся меньших размеров и принимают округлую форму. Однако в разрез доступным нам литературным данным в трупе двухдневной давности нам не удалось обнаружить анаплазмоидных форм во внутренних органах трупа так часто, как это имело место в периферической крови.

Наоборот, во внутренних органах мы встречали более крупные паразиты, протоплазма которых не всегда была вакуолизированной. Причиной этой несущественной разницы между нашими и литературными данными является различие условий хранения паразита. Мы проводили наши исследования в весенний месяц (апрель) на материале полученного из трупа, лежавшего определенное время в естественных условиях, характеризующихся сильной сухостью воздуха, постоянно дующим ветром и температурным режимом примерно минус 1—2 (ночью) и плюс 5—7 (днем) градусов. Другие авторы изучали паразита, полученного из изолированного органа трупа, хранившегося в затемненном месте или в условиях низких (ниже нуля) температур или в теплый сезон года — летом.

Нам кажется, что некоторые разницы в изменении морфологии паразита в периферической крови и крови из внутренних паренхиматозных органов объясняется разницей в интенсивности процесса разложения и температурных условий в соответствующих местах трупа.

РЕЗЮМЕ

Микроскопическая диагностика пироплазмоза лошадей в весенние месяцы в условиях Монгольской Народной Республики после двух суток от смерти животного по материалам из трупа вполне возможна.

Морфологическое изменение паразита во внутренних паренхиматозных органах интенсивнее, чем изменения паразита из периферической крови.

ЛИТЕРАТУРА

Дзасохов, Г. С.: Посмертная диагностика пироплазмоза лошадей. Труды ВВА **5** (1947). Золотарев, Н. А. и Рожков, Н. В.: О морфологической изменчивости пироплазм (**Piroplasma caballi**) в трупе. Ветеринария, 1948, 5, 6—12. Павлов, П.: Изследования върху **Piroplasmatidae, Wenyon, 1926** и причиняваните от тях заболявания в България. Годишник на сел. стоп. академия «Г. Димитров», Зоотехнически факултет **1** (1948—1949), 7—62. Тумов, А. А. и Гидаспов, Ф. В.: Некоторые наблюдения по экспериментальному пироплазмозу собак. Труды ВИЭВ **8** (1962).

ZUR MORPHOLOGISCHEN VARIABILITÄT VON PIROPLASMA CABALLI (NUTALL a. STRIKLAND, 1910) IM KADAVER

M. Dasch

Es ist möglich mikroskopisch zu diagnoszieren die Piroplasmose der Pferde im Frühling in den Verhältnissen der Mongolischen Demokratischen Republik auf Grund des Materiales vom Kadaver zwei Tage nach dem Tode.

Die morphologischen Veränderungen der Parasiten aus den inneren parenchymatosen Organen sind intensiver als die der Parasiten aus dem peripherischen Kreislauf.

ДАННЫЕ К ВЫДЕЛЕНИЮ ДЕКСТРАНА С МОЧЕЙ

ДЬ. ЛАМИ

Кафедра и клиника внутренних незаразных болезней (дир.: акад. Я. Мочи) Ветеринарного института, Будапешт

(Поступило 16 сентября 1963 г.)

Макромолекулярные плазмозаменители выделяются большей частью с мочей из организма. Степень выделения — в зависимости от молекулярного веса — разна. Поскольку современные плазмозаменители гетеро- или полидисперсны, из них фракции меньшего молекулярного веса выделяются почками.

Согласно Грёнвал и Ингельман (**Grönwall et Ingelman, 1945**) декстран обнаруживается в моче 3—4 дня. По Бомансон, Розенквист,Торсен и Виландер (**Bohmansson, Rosenkvist, Thorsén et Wilander, 1946**) 25% введенного декстрана удаляется из организма уже в течение нескольких часов после введения. Бомансон, Торсен и Виландер (1948) удавалось обнаруживать в первые сутки 20% введенного декстрана в моче людей. Темп выделения препарата был наиболее выраженным между 6. и 8. часом. За время вторых суток выделилось 10%, а третьих — только 1% декстрана. Бал, Рикетс, Скваир, Мейкок, Спунер, Молисон и Патерсон (**Bull, Ricketts, Squire, Maycock, Spooner, Mollison et Paterson, 1949**) в течение восьмичасовых периодов собирали мочу людей и определяли количество выделявшегося декстрана. В их экспериментах с мочей выделялось 9—26% декстрана. Наибольше декстрана выделилось за первые сутки и через двое суток концентрация декстрана в моче сильно понизилась. В моче людей, страдающих от шока после ожога обнаруживали до 4,0 г/100 мл декстрана. По Ингельман (**Ingelman, 1949**) фракции меньшего молекулярного веса выделяются быстрее. Согласно Торсен (1949) скоро после введения может из людей выделиться четверть введенного количества. Он описывает случай, когда концентрация декстрана в моче равнялась 7,0 г-ам на 100 мл мочи. Блум (**Bloom, 1951**) не позже двух суток получал обратно 42%-ов введенного препарата из людского организма. Гроте, Кнутсон и Болман (**Grotte, Knutson et Bollman, 1951**) изучали выделение декстрана из крыс. К 6. и к 24. часам выделилось больше маломолекулярного вещества, чем крупномолекулярного вещества. Розенквист и Торсен (1951) вводили людям после ожога 3-й степени декстран и скоро после введения препарата он имелся уже в их моче в концентрации 7%. Грёнвал, Хинт, Ингельман, Валениус и Виландер (**Grönwall, Hint, Ingelman, Wallenius et Wilander, 1952**) 30 людям со здоровыми почками вводили по 330—800 мл декстрана. За время трехдневного наблюдения выделилось с мочей в среднем 26%-ов введенного декстрана. Валениус (1952) проводились исследования клиренса при помощи мелкомолекулярных фракций декстрана. Хамарстен и Хеллер (**Hammarsten et Heller, 1952**) с мочей здоровых людей уже в течение часа получали 25%-ов введенного препарата, в течение же 24 часов — 58%-ов вещества. Подобные данные получены ими и при изучении мочи выздоравливающих людей. Мейкок (1952) с мочей кроликов за время первых суток получал 25%-ов введенного декстрана (20.0 мл на кг живого веса). Персон (**Persson, 1952**) тоже наблюдалось быстрое выделение декстрана с мочей. В экспериментах Райс и Стинсон (**Raisz et Stinson, 1925**) на собаках в течение первого часа после введения декстрана выделилось 25%-ов введенного вещества, а в течение четырех часов — 50—60%. По данным Троел и Аберг (**Troell et Aberg, 1952**) 23—31% введенного декстрана удаляется из организма людей в течение первых суток. В наблюдениях Уилсон, Естес, Доил, Блум и Уорен (**Wilson, Estes, Doyle, Bloom et Warren, 1925**) 20—50%-ов введенного декстрана удалилось из организма людей в течение

72 часов. Болман (**Bollman, 1953**), экспериментируя на кроликах, нашел, что через час после введения декстрана с мочей выделяется уже 360—420 мг/кг препарата. Хаммарстен, Хеллер и Еберт (**Hammarsten, Heller et Ebert, 1953**) нашли, что у людей, получивших 60,0 г декстрана, через час с мочей выделяется 13,6 г препарата, за время 6 часов — 22,5 г и за время суток — 28,6 г. После пуска 1 л крови до введения 60,0 г декстрана эти значения были немного выше (15,9 г, 27,6 г и 35,0 г соответственно). Тери, Йил, Голодец и Филлипс (**Terry, Yuile, Golodetz et Phillips, 1953**) сравнили данные химических исследований с данными исследований при помощи меченных атомов. 70%-ов декстрана, меченного C^{14} уже в течение первых суток выделилось с мочей. По Виленберг (**Willenberg, 1953**) введенный декстран в течение нескольких дней безостаточно выделяется почками. В наблюдениях Гор, Болте и Лангенберг (**Gohr, Bolte et Langenberg, 1954**) в течение 3,5 дней 32% введенного декстрана (3,0 г) выделилось с мочей у кроликов и 33,3—34,0%-ов — у людей. Интересен эксперимент, в котором не наблюдали декстрана в моче кроликов после введения 15,0 г препарата при помощи зонда и в моче у себя, выпивши с водой 30,0 г препарата. Молисон и Рени (**Mollison et Rennie, 1954**) людям в водили по 540 мл декстрана разного молекулярного веса и нашли, что при бóльшем молекулярном весе выделяется с мочей меньше декстрана, чем при меньшем молекулярном весе. Семпл (**Semple, 1954**) у необезкровленных собак наблюдал, что бóльшая часть декстрана (30—50%) выделяется в течение первого и второго дня. В его экспериментах не было разницы в выделении декстрана у предварительно обезкровлявшихся и необезкровлявшихся собак. В экспериментах Янг, Гантон и Семпл (**Young, Gunton et Semple, 1954**) на здоровых собаках 37—41% введенного декстрана выделилось в течение 48 часов, тогда как у собак, от которых предварительно получали кровь и заменяли ее декстраном, последний за указанное время выделился в количестве 36%. У людей эти авторы в течение двух суток наблюдали выделение с мочей 39,4% декстрана. Норландер, Троел и Аберг (**Norlander, Troell et Aberg 1955**) к 20 часу у людей обнаруживали 13—24% введенного декстрана и после двух дней 18—30% препарата в моче. Васерман и Майерсон (**Wasserman et Mayerson, 1954**) замечали существенную разницу в выделении декстрана не только в зависимости от молекулярного веса, но и от того, получали ли предварительно крови от собак или нет; значительно меньше декстрана было в моче собак, от которых предварительно брали кровь, чем у собак, от которых не пускали крови. В их экспериментах только 2% крупномолекулярного препарата выделилось в течение первого часа после инъекции препарата; за это время выделилось 35% мелкомолекулярного препарата. В экспериментах Смис и Хайст (**Smith et Haist, 1955**) у здоровых крыс и крыс в травматическом шоке обнаруживали выделение с мочей 10—21,6% декстрана у первых и 3,6—15,5% препарата у вторых. Блум (**Bloom, 1956**) после введения людям 500 и 1000 мл декстрана обнаружил, что у получивших меньшую дозу наибольше препарата выделяется с мочей в течение первых суток, а в течение 5 дней 42% препарата; у получивших дозу 1000 мл в течение первых суток выделилось 48,6% препарата. В экспериментах Симон (**Simon, 1956**) на кошках за время 24 часов от введения декстрана после кровеиспускания выделилось также 48,6% введенного декстрана. Уилкинсон (**Wilkinson, 1956**) людям вводил по 1 л раствора декстрана и за время 6 часов обнаружил в моче 11—14% препарата, а за время 20 часов — 16—18% препарата. Этот автор у одного пациента следил в течение 77 часов за выделением декстрана и обнаружил, что между 26.—77. часом выделяется уже только 2,4% введенного препарата. Лами (1962) при введении 1,0 г/кг декстрана после 6 часов от введения в моче кроликов находил 367 мг% препарата, после 8 часов — 412 мг%, после 10 часов — 113 мг%, после 1 дня — 147 мг%, после 3 дней — 44 мг%. По данным Армстрон, Доуни, Фергусон и Уильямс (**Armstrong, Downey, Ferguson et Williams, 1954**), дальше, по данным Атьенца и Заламеа (**Atienza et Zalamea, 1954**) у людей поливинилпирролидон выделяется быстрее, чем декстран. Подобные данные получены Лами (1962) в экспериментах на кроликах.

Собственные исследования

Выделение декстрана с мочей изучалось на 10 жеребятах-кобылках. Жеребятам я вводил внутривенно 0,25—0,5—1,0 г/кг декстрана (Интрадекс), подогретого до температуры тела.

Поскольку целью исследований явилось определение абсолютного количества декстрана, выделившегося с мочей, экспериментировать приш-

лось на животном такого вида и пола, от которого можно регулярно получать мочу без комплицированного сооружения (шкаф обмена веществ). Поэтому я решил экспериментировать на кобылках, от которых при помощи катетера легко получить мочу.

Методика

Для определения количества мочи у экспериментальных животных применялся баллон-катетер емкости 25 мл.

В экспериментах первые сутки после введения декстрана я разделил на шесть периодов по 4 часам.

За время первых суток в каждые четыре часа определялись концентрация декстрана в моче, в плазме, количество выделенной мочи, абсолютное количество декстрана за время отдельных периодов и, наконец, всегда изучался белок в моче (сульфосалициловая проба Хеллера).

С второго дня определялась уже только концентрация декстрана в моче. В определении декстрана в плазме я пользовался методом Якобсон и Хансен (**Jacobsson et Hansen**, 1952).

Определение декстрана в моче. Определение декстрана в моче осуществлялось таким же методом (Якобсон и Хансен, 1952), которым я пользовался при определении декстрана в плазме. Так как ни до начала экспериментов, ни за время экспериментов никогда не обнаруживался белок, я не стал осаждать белок при помощи трихлоруксусной кислоты, которую по весовым соображениям, я замещал 4 мл-ами изотонического раствора поваренной соли. Согласно предварительным и ориентировочным экспериментальным данным значения экстинкции той же мочи были одинаковыми независимо от того, была ли в смеси трихлоруксусная кислота или изотонический раствор поваренной соли. При определении концентрации декстрана всегда учитывалась и собственная окраска мочи, поэтому в слепой пробе к той же моче добавлялась дистиллированная вода.

Результаты

Протеинурия ни у одного животного не наблюдалась, что согласуется с наблюдением Блум (**Bloom**, 1951), согласно которому у людей, страдающих от протеинурии, декстран не вызвал изменения в степени выделения белка с мочей.

В I-й период выделялось наибольше мочи и ее количество равнялось 40,7%-ам (при дозе 1,0 г/кг декстрана), 39%-ам (при дозе 0,5 г/кг) и 26,3%-ам (при дозе 0,25 г/кг) от количества мочи, выделившегося за сутки.

Концентрация декстрана в моче была относительно высокой, но она колебалась соответственно количеству продуцируемой мочи. Наивысшая

концентрация обнаружена в моче жеребенка, получившего наибольше декстрана (см. таблицу 1).

Согласно данным таблицы за первый период выделилось наибольше декстрана, ибо при дозе 1,0 г/кг за это время выделилось 10,1% введенного препарата, при дозе 0,5 г/кг — 18,42% и при дозе 0,25 г/кг — 15,59%. В последующих периодах темп выделения декстрана после введения больших доз заметно ослаб, тогда как после введения дозы 0,25 г/кг за время третьего периода еще выделилось 10,82% препарата. За время шестого периода выделялись только 0,56—1,24% введенного вещества.

При сравнении динамики выделения декстрана с мочей с формированием концентрации этого препарата в плазме выявлена взаимосвязь между концентрацией декстрана в плазме и количеством выделившегося с мочей декстрана с одной стороны. С другой стороны обнаружена и более тонкая взаимосвязь между концентрацией декстрана в плазме после разных доз и количеством его в моче. К 4. часу после введения декстрана его концент-

Таблица 1

Количество мочи (мл), концентрация декстрана в моче (мг%), абсолютное количество отдельных

Доза декстрана	Введенный декстран	I. период				II. период				III. период			
		мл	мг%	г	%	мл	мг%	г	%	мл	мг%	г	%
	204	830	1911	15,86	7,77	400	1617	6,47	3,17	325	1000	3,25	1,59
	220	1333	1882	25,09	11,4	400	1940	7,76	3,53	410	1499	6,14	2,79
1,0	180	950	1940	18,43	10,24	320	1588	5,08	2,82	470	1529	7,19	3,99
г/кг	230	1410	1793	25,28	10,99	760	1911	14,52	6,31	510	1470	7,5	3,26
	в среднем:	1131	1881	21,16	10,1	470	1764	8,46	3,96	429	1374	6,02	2,91
	110	770	1470	11,32	10,29	480	617	2,96	2,7	320	941	3,01	2,74
	120	1430	1764	25,22	21,02	590	588	3,47	2,89	350	706	2,47	2,06
0,5	125	1600	1441	23,06	18,45	870	647	5,63	4,5	510	735	3,75	3,0
г/кг	100	1380	1735	23,94	23,94	680	559	3,8	3,8	390	676	2,64	2,64
	в среднем:	1295	1602	20,77	18,42	655	603	3,96	3,47	392	764	2,97	2,61
0,25	64	570	1323	7,54	11,78	370	1470	5,44	8,5	570	1147	6,54	10,22
г/кг	60	990	1176	11,64	19,4	810	1441	11,67	19,45	630	1088	6,85	11,42
	в среднем:	780	1249	9,59	15,59	590	1455	8,55	13,97	600	1117	6,69	10,82

рация равнялась 90,8%-ам (при дозе 1,0 г/кг), 83,4%-ам (при дозе 0,5 г/кг) и 77,2%-ам (при дозе 0,25 г/кг) от концентрации этого вещества в плазме 15 минут после введения. Понижение концентрации декстрана в плазме было прямо-пропорционально введенному количеству. Чем больше доза введенного декстрана, тем меньше понижение его концентрации в плазме. В то же время динамика выделения декстрана с мочей (в %-ах от введенного количества) по 4. час показывала обратную картину; чем больше доза, тем меньше процент выделяющегося препарата (см. сн. и таблицу 2).

Абсолютное количество выделившегося декстрана во всех трех группах было наибольше в первый период. За время второго периода при больших дозах его количество уже значительно понизилось (см. табл. 1).

С второго дня почти ежедневно проверялась концентрация декстрана в моче. За неимением однако данных о количестве мочи, из данных исследований можно было судить только на концентрацию препарата в моче и продолжительность его выделения. Согласно данным касающейся таблицы 3

декстрана в моче (г) и количество декстрана в моче в %-ах введенного препарата за время периодов

IV. период				V. период				VI период			
мл	мг%	г	%	мл	мг%	г	%	мл	мг%	г	%
280	764	2,14	1,05	125	647	0,81	0,4	200	412	0,82	0,4
90	735	0,66	0,3	290	617	1,79	0,81	125	647	0,81	0,37
320	794	2,54	1,41	310	735	2,28	1,27	150	441	0,66	0,37
450	706	3,18	1,38	270	676	1,82	0,79	370	676	2,5	1,09
285	750	2,13	1,03	249	669	1,67	0,82	211	544	1,2	0,56
350	412	1,44	1,31	200	382	0,76	0,69	235	441	1,04	0,94
370	441	1,63	1,36	340	294	1,0	0,83	390	353	1,38	1,15
410	382	1,57	1,26	390	353	1,38	1,1	450	412	1,85	1,48
180	456	0,82	0,82	220	323	0,71	0,71	370	382	1,41	1,41
327	423	1,36	1,19	287	338	0,96	0,83	361	397	1,42	1,24
305	470	1,43	2,23	315	265	0,83	1,3	270	294	0,79	1,23
490	412	20,2	3,37	410	206	0,84	1,4	180	265	0,48	0,8
397	441	1,72	2,8	362	235	0,83	1,35	225	279	0,63	1,01

Таблица 2

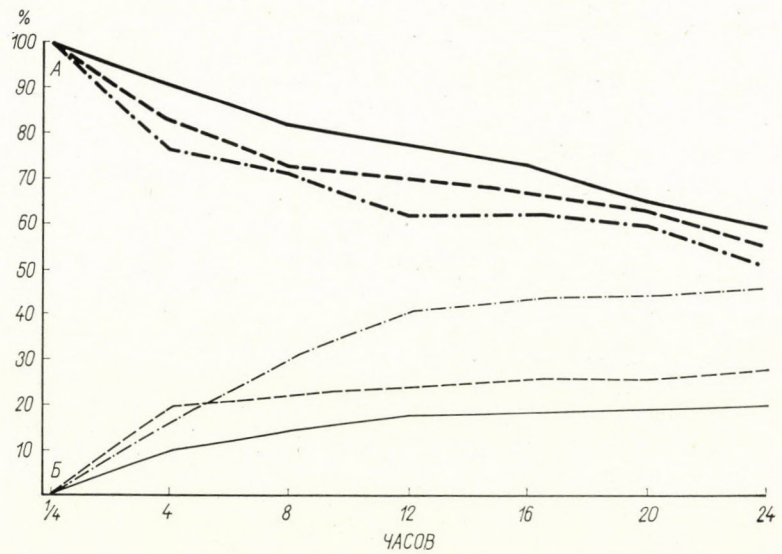
Количество мочи (мл), абсолютное количество декстрана в моче (г), количество выделившегося декстрана в %-ах к введенному количеству

Доза декстрана	Введенный декстран	За время 4 часов			За время 8 часов			За время 12 часов			За время 16 часов			За время 20 часов			За время 24 часов		
		мл	г	%	мл	г	%	мл	г	%	мл	г	%	мл	г	%	мл	г	%
	204	830	15,86	7,77	1230	22,33	10,95	1555	25,58	12,54	1835	27,72	13,59	1960	28,53	13,98	2160	29,35	14,39
	220	1333	25,09	11,4	1733	32,85	14,93	2143	38,99	17,72	2233	39,65	18,02	2523	41,44	18,84	2648	42,25	19,2
1,0	180	950	18,43	10,24	1270	23,51	13,06	1740	30,7	17,05	2060	33,24	18,47	2370	35,52	19,73	2520	36,18	20,1
г/кг	230	1410	25,28	10,99	2170	39,8	17,3	2680	47,3	20,56	3130	50,48	21,95	3400	42,3	22,74	3770	54,8	23,83
	в среднем:	1131	21,16	10,1	1601	29,62	14,06	2029	35,64	16,97	2314	37,77	18,01	2563	39,45	18,82	2774	40,64	19,38
	110	770	11,32	10,29	1250	14,28	12,98	1570	17,29	15,72	1920	18,73	17,03	2120	19,49	17,72	2355	20,53	18,66
	120	1430	25,22	21,02	2020	28,69	23,91	2370	31,16	25,97	2740	32,79	27,32	3080	33,79	28,16	3470	35,17	29,31
0,5	125	1600	23,06	18,45	2470	28,69	22,95	2980	32,44	25,95	3390	34,01	27,21	3780	35,39	28,31	4230	37,24	29,79
г/кг	100	1380	23,94	23,94	2060	27,74	27,74	2450	30,38	30,38	2630	31,2	31,2	2850	31,91	31,91	3220	33,32	33,32
	в среднем:	1295	20,88	18,42	1950	24,85	21,89	2342	27,82	24,5	2670	29,18	25,69	2957	30,14	26,52	3319	31,56	27,77
	64	570	7,54	11,78	940	12,98	20,28	1510	19,52	30,5	1815	20,95	32,73	2130	21,78	34,03	2400	22,57	35,26
0,25	60	990	11,64	19,4	1800	23,31	38,85	2430	30,16	50,27	2920	32,18	53,63	3330	33,02	55,03	3510	33,5	55,83
г/кг	в среднем:	780	9,59	15,59	1370	18,14	29,56	1970	24,84	40,38	2367	26,56	43,18	2730	27,4	44,53	2955	28,03	45,54

Таблица 3

Концентрация декстрана в моче жеребят после внутривенного введения разных доз препарата

Доза декстрана		К дню после введения в мг%-ах								
		2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	10.	11.
1,0 г/кг		338	294	661	191	661	441	220	176	44
		220	309	309	544	132	162	235	147	103
		206	279	294	176	118	132	59	29	0
		309	323	279	162	191	118	103	44	15
	в среднем:	268	301	386	268	275	213	154	99	40
0,5 г/кг		309	294	441	500	279	59	44	0	
		279	353	397	147	73	73	59	15	
		191	220	279	162	132	118	44	0	
		294	279	220	132	147	73	15	0	
	в среднем:	268	286	334	235	133	81	40	4	
0,25 г/кг		206	206	132	73	88	44	15	0	
		132	88	118	44	73	15	0		
	в среднем:	169	147	125	58	80	29	7	0	



Сн. 1. Формирование уровня декстрана в плазме жеребят (в %-ах к концентрации за время ¼ часов) и в моче (в %-ах к введенному количеству) после введения разных доз препарата. А, декстран в плазме; Б, декстран в моче; — 1,0 г/кг; — — — 0,5 г/кг, — • — 0,25 г/кг

наидольше выделялся декстран с мочей тех животных, которым введено наибольше декстрана. Большие колебания в концентрации декстрана мочи можно объяснить количеством периодически выделившейся мочи. Иначе трудно понять такое явление, что концентрация декстрана в моче одного жеребенка на 2-й день после введения дозы 1,0 г/кг равнялась 220 мг%-ам, а на 5-й день у того же животного она равнялась 544 мг%-ам (см. таблицу 3).

Выводы

У 10 жеребят после введения различных доз декстрана за время первых 4 часов количество выделившейся мочи по сравнению с количеством мочи других периодов повысилось. На этом основании можно бы судить о диуретическом эффекте декстрана. Увеличение количества мочи во время первого периода обусловлено количеством введенной жидкости, а не декстраном. Концентрированные, несодержащие соли растворы декстрана (10—12%-ные) применяются в медицине для симптоматического лечения ренальной эдемы (Олив, Милс и Ланди — **Olive, Mills et Lundy**, 1953; Джемс, Гордийо, Меткоф, Гэдвей, Десимон и Галвин — **James, Gordillo, Metcoff, Gadway, Desimone et Galvin**, 1954; Молисон и Рени — **Mollison et Rennie**, 1954). У крыс декстран вызывает олигурию (Китчин, Смис, Валас, Перкинс и Морисон — **Kitchin, Smith, Wallace, Perkins et Morrison**, 1954).

Согласно данным исследований значительная часть введенного декстрана (19,38—45,54%) выделилась с мочей в течение первых суток и темп его выделения наиболее энергичен в первые 4 часа.

Если выразить выделение декстрана в %-ах к введенному препарату, то после введения малой дозы получается наиболее интенсивное выделение (за время первых суток 45,54%). Если выразить выделение декстрана в г-ах, то за время первых суток выделяется наибольше декстрана после введения наибольшей дозы (40,64 г).

Данные повторяющихся исследований показали, что чем больше доза введенного декстрана, тем дольше выделяется он с мочей.

РЕЗЮМЕ

Жеребятам вводилось в вену 0,25—0,5—1,0 г/кг декстрана (Интрадекс) и изучался вопрос выделения этого препарата с мочей. Эксперименты показали, что значительное количество (19,38—45,54%) введенного декстрана выделяется с мочей за время первых суток после введения. Выделение декстрана у жеребят в разрез с данными медицины — длится дольше (дольше 11 дней). На темпе выделения сказывается доза введенного препарата. Ни в одном случае не обнаружен белок в моче жеребят после введения декстрана.

Определение декстрана в моче и плазме осуществлялось методом Якобсон и Хансен.

ЛИТЕРАТУРА

ARMSTRONG, J. B., DOWNEY, J. A., FERGUSON, M. H. и WILLIAMS, H. R.: Canad. J. Biochem. and Physiol. **32** (1954), 636. ATIENZA, R. Y. и ZALAMEA, R. U.: J. Philip. Med. Assoc. **30** (1954), 346. BLOOM, W. L.: Arch. of Surg. **63** (1951), 739. BLOOM, W. L.: J. Labor. and Clin. Med. **47** (1956), 938. BOHMANSSON, G., ROSENKVIST, H., THORSÉN, G. и WILANDER, O.: Acta Chirurg. Scand. **94** (1946), 149. BOHMANSSON, G., THORSÉN, G. и WILANDER, O.: J. Internat. de Chirurgie **8** (1948), 890. BOLLMAN, J. L.: J. Labor. and Clin. Med. **41** (1953), 421. BULL, J. P., RICKETTS, C., SQUIRE, J. R., MAYCOCK, W. d'A., SPOONER, S. J. L., MOLLISON, P. L. и PATERSON, J. C. S.: Lancet **256** (1949), 134. COHR, H., BOLTE, A. и LANGENBERG, A.: Ztschr. ges. innere Med. und Grenzgebiete **9** (1954), 380. GROTTE, G., KNUTSON, R. C. и BOLLMAN, J. L.: J. Labor. and Clin. Med. **3** (1951), 577. GRÖNWALL, A. и INGELMAN, B.: Nature **155** (1945), 45. GRÖNWALL, A., HINT, H., INGELMAN, B., WALLENIUS, G. и WILANDER, O.: Scand. J. Clin. and Labor. Invest. **4** (1952), 363. HAMMARSTEN, J. F. и HELLER, B. I.: J. Labor. and Clin. Med. **40** (1952), 807. HAMMARSTEN, J. F., HELLER, B. I. и EBERT, R. V.: J. Clin. Invest. **32** (1953), 340. INGELMAN, B.: Upsala Läkareförenings Förhandlingar **54** (1949), 107. JACOBSSON, L. и HANSEN, H.: Scand. J. Clin. and Labor. Invest. **4** (1952), 352. JAMES, J., CORDILLO, G., METCOFF, J., GADWAY, M., DESIMONE, A. и GALVIN, P.: J. Clin. Invest. **33** (1954), 1346. KITCHIN, H. W., SMITH, W. Y., WALLACE, Jr. G. L., PERKINS, N. и MORRISON, J. L.: Arch. Internat. Pharmacodyn. et Thér. **99** (1954), 17. LAMI, GY.: Kísérletes vizsgálatok modern plazmapótlószerekkel. Канд. диссертация. Budapest, 1962. MAYCOCK, W. d'A.: Lancet **262** (1952), 1081. MAYCOCK, W. d'A.: Practitioner **169** (1952), 668. MOLLISON, A. W. и RENNIE, J. B.: Brit. Med. J. (1954), 893. NORLANDER, O., TROELL, L. и ABERG, B.: Acta Chirurg. Scand. **109** (1955), 1. OLIVE, Jr. J. T., MILLS, S. D. и LUNDY, J. S.: JAMA **152** (1953), 2376. PERSSON, B. H.: Acta Soc. Med. Upsaliensis **57** (1952), 411; **57** (1952), 421. RAISZ, L. G. и STINSON, I. T.: J. Labor. and Clin. Med. **40** (1952), 880. ROSENKVIST, H. и THORSÉN, G.: Arch. Surg. **62** (1951), 524. SEMPLE, R. E.: Amer. J. Physiol. **176** (1954), 670. SEMPLE, R. E.: Canad. J. Biochem. and Physiol. **32** (1954) 670. SIMON, S.: Acta Physiol. Hung. **10** (1956), 367. SMITH, L. C. и HAIST R. E.: Canad. J. Biochem. and Physiol. **33** (1955), 553. TERRY, R., YUILE, CH. L., COLODETZ, A. и PHILLIPS, C. E.: J. Labor. and Clin. Med. **42** (1953), 6. THORSÉN, G.: Lancet **256** (1949), 132. TROELL, L. и ABERG, B.: Scand. J. Clin. and Labor. Invest. **4** (1952), 355. WALLENIUS, G.: Scand. J. Clin. and Labor. Invest. **4** (1952), 78. WASSERMAN, K. и MAYERSON, H. S.: Amer. J. Physiol. **176** (1954), 104. WILKINSON, A. W.: Lancet **263** (1956), 604. WILLENBERG, Wr. Zucker **6** (1953), 33. WILSON, J. S., ESTES, E. H., DOYLE, J. T., BLOOM, W. L. и WARREN, J. V.: Amer. J. Med. Scienc. **223** (1952), 364. YOUNG, D. M., GUNTON, R. W. и SEMPLE, R. E.: Canad. Med. Assoc. J. **70** (1954), 564.

ÜBER DIE AUSSCHEIDUNG VON DEXTRAN DURCH DIE NIERE

GY. LAMI

Fohlen wurde intravenös Dextran (Intradex) in der Menge von 0,25—0,5—1,0 g/kg eingespritzt und die Dextranausscheidung im Harn untersucht. Nach den Ergebnissen wird ein beträchtlicher Teil des Dextrans (19,38—45,54%) in den ersten 24 Stunden nach der Zufuhr durch die Niere ausgeschieden. Verglichen mit den humanmedizinischen Angaben währt die Dextranausscheidung bei den Fohlen länger (mehr als 11 Tage). Im Tempo der Dextranausscheidung mit dem Harn spielte auch die verabreichte Menge eine Rolle. Eiweiß konnte im Harn der Fohlen niemals nachgewiesen werden.

Die Dextranbestimmung im Harn und Plasma erfolgte nach der Methode von JACOBSSON und HANSEN.

DEMONSTRATION OF RENAL DYSFUNCTION IN CATTLE BY PHENOL-RED CLEARANCE

By

Z. HORVÁTH and F. KARSAI

Department and Clinic of Medicine (Head: Z. HORVÁTH), University of Veterinary Sciences, Budapest

(Received March 11, 1963)

Primary and secondary disorders of the kidney are not infrequently observed in cattle, yet little has so far been done to improve the techniques used for the laboratory diagnosis of these conditions. As to adequate information on renal function, the evidence derived from clinical symptoms is incomplete even when supported by thorough urine tests. However, sufficient knowledge on the actual functioning of the kidneys is essential since the therapy, and the economy of therapy, is based on the state of renal function. As disorders of the kidneys are most often observed in the most valuable animals of a breed, the correct elucidation of renal function has great economic importance.

The renal clearance tests commonly used in human medicine are well known in veterinary medicine, too. By means of the different clearance tests the investigators of animal physiology are able to determine the nature of the renal function of several domestic animals. Unfortunately, in veterinary clinical practice no one of these tests can be utilized for diagnostic purposes. In several cases the cost of the materials required for the performance of the test exceeds the value of the animal or the necessary facilities are unavailable to the hospital or clinic.

The most simple method for the examination of renal function in sick cattle is the urine dilution and concentration test, which despite its disadvantages is being widely applied because of its simplicity and because the test is thought to be reliable.

However in view of the peculiarities of the water metabolism of cattle, the value of the above test is rather questionable as far as the examination of suspected renal dysfunction is concerned.

The dilution test can be easily performed in cattle. In our examinations healthy animals were given 50 ml of water per kg body weight into the oesophagus. As a result, the specific weight of the urine dropped to 1000—1005 in 3—5 hours, and started to increase as late as the 10th to 12th hour. In every case a pronounced muscular tremor, lasting for 1—1 $^1/_2$ hours, ensued 15 minutes after the infusion of water. Since it is well known that the kidneys lose their dilution capacity only in an advanced stage of illness, the diagnostic value of the urine-dilution test is insignificant.

The concentration capacity of the kidneys was studied in 10 healthy cows. It was found that thirsting for 24 hours had practically no influence on the specific weight of the urine. Two days later, in about half of the cases a very slight increase (1—3 thousandth) in specific weight was observed, and an increase by 40—50 per cent of the initial value occurred in only 3 animals.

In about one third of the cases, the animals, even after having thirsted and kept on dry food for as long as 3 days, exhibited only a 10—25 per cent increase in the specific weight of the urine (Fig. 1).

As revealed by the above data, the concentration test is insufficient for the examination of cattle. The rumen contents are an important fluid reserve

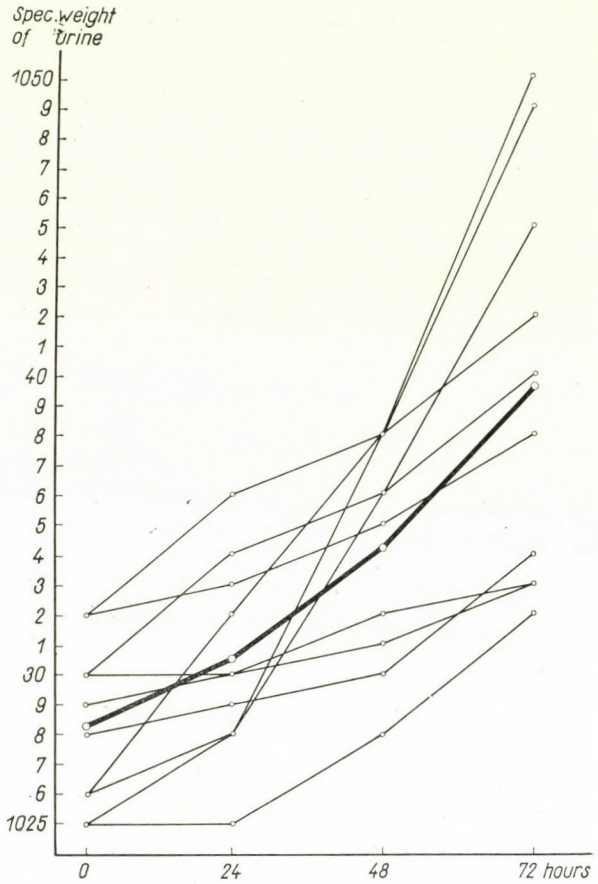


Fig. 1. Thin line, the rise of the specific weight of the urine in thirsting animal; thick line, average value

in the organism of ruminants. The fluid requirements of the thirsting organism are supplied from them. Protracted thirsting is undesirable, even if the animal is healthy and the thirsting of animals with suspected renal insufficiency is beyond consideration.

The present experiments were based on the consideration that, due to the particularities of the veterinary practice, only the simplest clearance tests can be applied. For this reason we *ab ovo* rejected the use of the classic

methods based on the collection of all-day urine sample. The non-fractional clearance tests using continuous infusion at a uniform rate are out of question, since for cattle the securing of the adequate infusion techniques is scarcely possible.

In our opinion, in veterinary medicine only the so-called single-injection, non-urinary clearance tests are useful for diagnostic purposes. For this reason we attempted the use of the fractional clearance test developed by GOODMAN and KINGSLEY (1953). According to the principles of this method, the animals are given a substance which is excreted through the kidneys and its concentration in the blood exhibits a logarithmic decrease, at least, over a short period. The rate of the loss of this substance from the blood permits estimate on the renal function.

Undoubtedly, the results obtained by this method are not quite correct. An undefineable amount of the injected substance disappears in the extracellular space, and an extrarenal excretion is also possible. Perhaps this method of testing does not meet the requirements of an extremely correct test of renal function. For this purpose other tests are more reliable. For the examination of the sick cattle, however, a simple and quick procedure, allowing a reliable estimate of the existence and degree of renal dysfunction had to be selected. The single-injection clearance test seemed to be most suitable for this purpose.

Materials and methods

On the basis of the results of MANNING (1959) in the present examinations mainly phenol-red was used for the clearance tests. This dye is cheap and easily demonstrable in solution. The ratio of the urinary excretion of parenterally administered phenol-red has been a useful means in the diagnostics of kidney disorders during the last decades (ROWNTREE and GERAGHTY (1909)).

Phenol-red is a brownish-red, odourless powder; its chemical formula is $C_{19}H_{14}O_5S$. It is hardly soluble in water; in alkaline substances it dissolves with a violet-red colour. The pH-range of the colour change from yellow to violet is between 6.8—9.3.

In the present studies commercial phenol-red dye of indicator purity was used. Upon intravenous administration, the solutions of this substance elicited in several cases muscular tremor of short duration, raised the frequency of respiration and caused restlessness. For this reason we used freshly prepared purified solutions.

Phenol-red was purified according to the procedure described by ORNDORF and SHERWOOD (1923). The dye was dissolved in concentrate sodium-carbonate solution, and the precipitate formed after the successive addition of dilute hydrochloric acid was collected on filter-paper and dried till powder-dry.

The phenol-red solution was prepared by the method of HAWK (1949). In 1000 ml distilled water 6 gram phenol-red, 17 ml *n* NaOH and 7.5 g NaCl were dissolved. The solution was filtered before being injected.

The concentration of the dye was determined in a Unicam spectrophotometer, at a wave-length of 523 mμ, using 10 mm colorimeter vessels. For comparison different dilutions of a standard phenol-red solution were used. It may be noted that for routine purposes the values determined in a common Stufenphotometer with S 53 filter are entirely satisfactory.

For photometric examination carefully centrifuged non-haemolytic plasma was used. To 2 ml plasma 3 ml of a 0.5 *n* NaOH solution was added. The extinction value of the plasma obtained from blood withdrawn immediately before the injection of phenol-red was also determined.

Experimental

In preliminary experiments the toxicity of the phenol-red was tested on 12 healthy cows. The animals were given 100—120 ml of solution prepared as described above, intravenously, at 2 days' intervals, on 5 occasions. During this period no symptoms of illness were observed, and in the slaughtered cows no pathological lesions could be observed at autopsy. Neither the histological examination of the liver and kidney showed any pathological changes. The excretion rate of phenol-red, as well as the possibilities of an extrarenal excretion, were also studied. For this purpose the urinary excretion of the dye was determined at intervals on 10 healthy cows. A so-called balloon-catheter with a double wall (Rüsch, 30 ml) was inserted into the urethra and fixed within the urinary bladder. After removing the bladder contents, 80—100 ml of an 0.6 per cent phenol-red solution was injected intravenously. For 8 hours the urine was withdrawn every hour, its volume was determined and sampling was made. The urinary concentration of the dye was determined by comparing the extinction values of the samples with those of the standard solution. The amount of phenol-red excreted over a fixed period was obtained by multiplying the results of photometric readings with the ml amount of urine volume excreted during the same period.

According to our results, up to the end of the 8th hour 81.2—94.6 per cent, in average 87.3 per cent, of the parenterally administered dye was excreted in the urine. The bulk of phenol-red, *i.e.* 48.1—82.0 per cent, in average 66 per cent, was excreted during the first hour. During the second hour a considerably smaller, but significant amount of the dye was excreted and later on gradually decreasing amounts of several mg phenol-red were demonstrable in the urine (Fig. 2).

The hepatic secretion of phenol-red was examined on 6 healthy sheep. After the choledochus duct was tied up, through the abdominal wall a biliary

fistula was opened, and the bile drained through a rubber tube was collected in a rubber balloon.

The above examinations revealed that a very little amount of phenol-red, *i.e.* 1.0—4.7 per cent, in average 3.0 per cent, was secreted into the bile. The secretion of the dye was most intensive during the 2nd to 4th hour; the concentration of the dye gradually decreased until the 7th or 8th hour, when phenol-red could not be detected in the bile any more (Fig. 3).

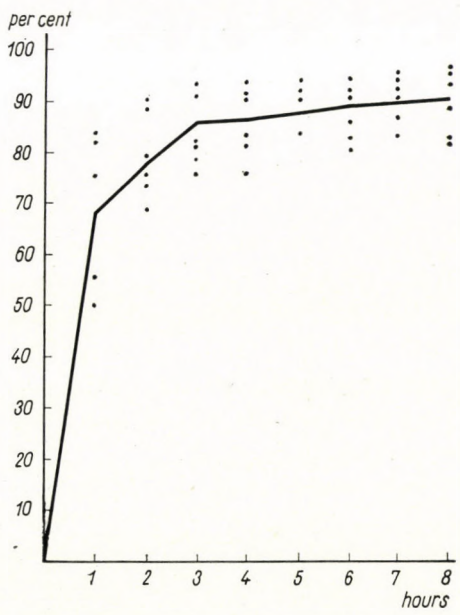


Fig. 2. Line, average percentage of the urinary excretion of phenol-red; dots, results obtained from the experimental animals

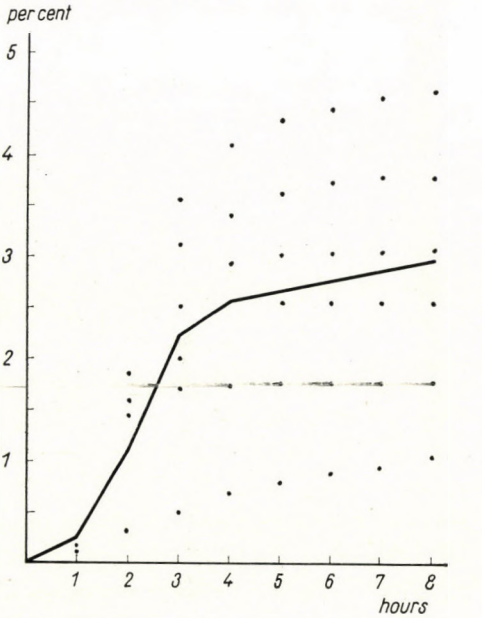


Fig. 3. Line, average percentage of phenol-red excreted in the bile; dots, experimental results obtained from sheep

In order to examine the fractional clearance, 2 ml of an 0.6 per cent phenol-red solution was applied per kg body weight, *e.g.* a cow of 500 kg weight received 100 ml solution by the intravenous route. This amount of inoculum proved sufficient to secure an easily demonstrable, but not excessive, concentration in the blood during the first hour after injection. This dosage is not too strict; slight changes have no influence on the results. Prior to infusion of dye the first blood was withdrawn and the stopper clock started. Between the 20th to 60th minutes after infusion blood samples were taken on at least 2 occasions and tested for the concentration of phenol-red.

The results were plotted against time on semi-logarithmic scale. The blood concentration of phenol-red showed a logarithmic decrease during the period

from 20 to 60 minutes, *i.e.* a straight line was obtained on the semi-logarithmic scale.

As to the calculation of clearance-values, an entirely mechanical way was chosen. The biological half-life ($t_{\frac{1}{2}}$), *i.e.* the time required to reduce the concentration of phenol-red to one half of the initial value, was directly read from the diagram.

With known half-life, the excretion constant (K) was calculated from the equation

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{K} = \frac{0.693}{K} .$$

Hence $K = \frac{0.693}{t_{\frac{1}{2}}}$. By extrapolation of the straight line to the ordinate, the concentration of phenol-red present at t_0 can be determined (x_0). The plasma volume (V) can be calculated by the formula

$$V = \left(\frac{x_y}{x_0} - 1 \right) y,$$

where x_y is the concentration of phenol-red in mg/ml plasma and y is the volume in ml of the injected phenol-red solution. On the basis of the formula $V \times K$, the amount of phenol-red in mg, excreted during 1 minute can be easily determined. The value thus obtained is total clearance (Cl_{tot}), from which the clearance per 1 kg body weight can be calculated by simple division.

Calculation example: In Figure 4 the renal clearance values of a healthy, non-lactiferous cow of 410 kg body weight are presented on a semi-logarithmic scale. The plasma concentration of phenol-red (ordinate) is plotted against the time (abscissa) elapsed since the intravenous administration of the dye. The animal was given 120 ml of an 0.6 per cent solution of phenol-red. The serum concentration of the dye was determined in samples taken at the 26th, 38th, 42nd, 44th and 53rd minutes after administration. The plottings can be connected by a straight line. From the latter the biological half-time was calculated at 20 minutes. In this relation $K = \frac{0.693}{20} = 0.0346$. By extrapolation the initial plasma concentration was obtained as 0.042 mg/ml, and hence the plasma volume, when calculated by means of the formula $V = \left[\frac{6.0}{0.042} - 1 \right] 120$, is 17,023 ml. Thus, according to our calculation the kidneys of the cow cleared off the dye from 589 ml blood per minute.

The normal values of phenol-red clearance were determined by the examination of a total of 20 healthy young or middle-aged cows. The

values of half-life ($t_{1/2}$) were found to fluctuate between the limits 16½—23 minutes, averaging 19½ minutes. Hence the excretion constant, K, ranged from 0.041 to 0.030, in average 0.0347. By means of the plasma volume cal-

Table I

Values of fractional phenol-red clearance in healthy cattle

No.	Description of the animal	Age, year	Body weight kg	$t_{\frac{1}{2}}$ (minutes)	K	Cl	Cl/body weight
1.	heifer	1	130	20	0.033	340	2.6
2.	bullock	2	390	23	0.030	540	1.4
3.	bullock	2	350	21	0.033	475	1.3
4.	heifer	3	450	$18\frac{1}{2}$	0.037	700	1.5
5.	heifer	3	400	$19\frac{1}{2}$	0.035	560	1.4
6.	bullock	2	320	$16\frac{1}{2}$	0.041	470	1.4
7.	cow	8	500	23	0.030	600	1.2
8.	cow	8	450	22	0.031	640	1.4
9.	cow	5	500	23	0.030	685	1.6
10.	bull	1	120	18	0.038	230	1.9
11.	cow	6	480	18	0.038	836	1.7
12.	cow	10	520	19	0.036	900	1.7
13.	cow	8	580	17	0.040	960	1.6
14.	cow	4	350	20	0.033	462	1.4
15.	heifer	2	350	22	0.031	490	1.4
16.	cow	10	550	21	0.033	856	1.5
17.	cow	8	500	17	0.040	1160	2.1
18.	cow	9	400	18	0.038	760	1.9
19.	cow	10	550	19	0.036	828	1.5
20.	cow	7	500	20	0.030	720	1.4

culated as described in the foregoing, and with the known excretion constant, the limit values of clearance obtained for 1 kg body weight were 1.2 and 2.6, the average clearance 1.6.

In further experiments the urinary clearance of the above 20 animals was determined. The values thus obtained were with fair regularity lower by 12—18 per cent than the values of the fractional renal clearance. This difference is, however, of little importance, since the experimental data are evaluated by comparison to normal values.

Since the phenol-red clearance test proved suitable for the aid for the clinical evaluation of renal dysfunction in cattle, in possession of the normal

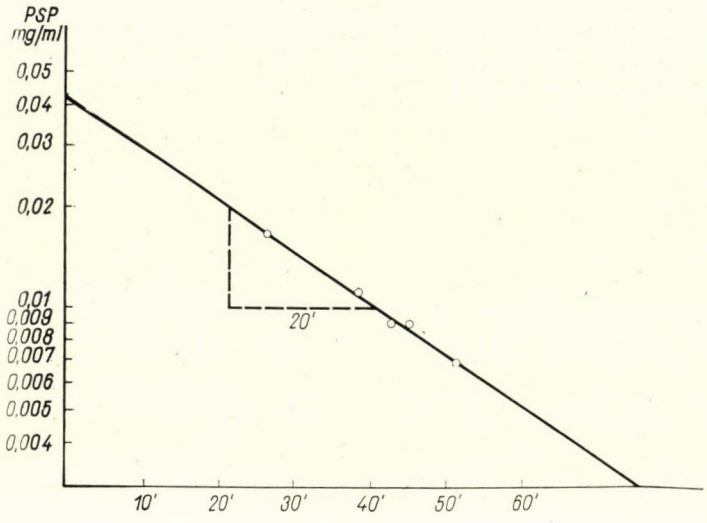


Fig. 4. Fractional clearance values of a healthy cow

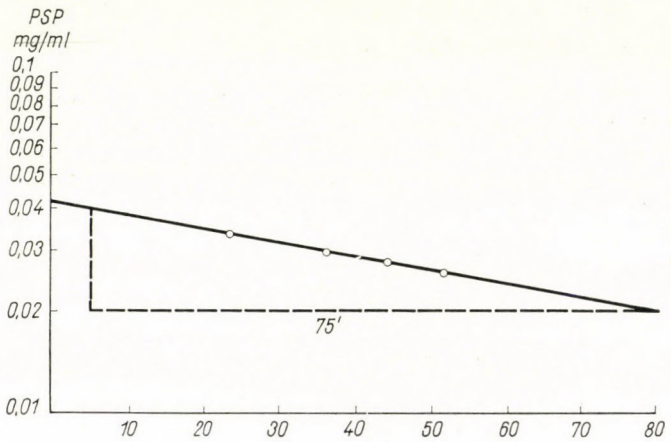


Fig. 5. Fractional clearance values of a heifer with nephritis

values we used this test several times for the examination of cattle with renal insufficiency.

The most characteristic cases observed by us are presented in Table II; in addition, the data of animal No. 6 of the table are plotted on semi-logarithmic scale in Fig. 5.

Table II

Phenol-red test results obtained from cattle with kidney disorder

No. Description of the animal	Diagnosis	$t_{\frac{1}{2}}$	K	Cl	Cl/body weight
1. Cow, 4 years old, 420 kg, pregnant	Traumatic peritonitis Nephritis interst. ac.	61	0.011	222	0.53
2. Bull, 6 years old 500 kg	Severe pulmonary tuberculosis, acute nephrosis	38	0.018	455	0.91
2a. Bull, 6 years old 500 kg	See above, and severe heart insufficiency, 8 days after the previous examination	124	0.0056	134	0.26
3. Heifer, 490 kg	Overcharge of the rumen, enteritis, nephrosis	36	0.019	532	1.06
4. Cow, 6 years old, 480 kg	Diabetes mellitus	28	0.024	720	1.5
5. Cow, 7 years old, 550 kg	Liver degeneration, nephrosis	48	0.018	540	1.0
6. Heifer, 1½ years old, 150 kg	Acute bilateral nephritis	75	0.0091	73	0.5
7. Cow, 12 years old, 450 kg	Pulmonary tuberculosis, mild renal degeneration	26	0.026	754	1.6
8. Bull, 2 years old, 650 kg	Traumatic pericarditis and peritonitis. Mild renal degeneration	31	0.022	880	1.3
9. Cow, 14 years old, 500 kg	Chronic nephritis	40	0.017	374	0.75
10. Cow, 5 years old, 550 kg	Pyelonephritis in the left kidney	21	0.033	758	1.4
11. Ox, 17 years old, 600 kg	Generalized tuberculosis, renal tuberculosis	58	0.012	480	0.8
12. Cow, 6 years old, 450 kg	Semi-acute nephritis in the left kidney, right kidney intact	32	0.021	360	0.9
13. Cow, 6 years old, 550 kg	Traumatic pericarditis, nephritis	40	0.015	465	0.8
14. Cow, 6 years old, 550 kg	Traumatic acute peritonitis, acute nephrosis, cardiac insufficiency	71	0.0097	540	0.6

Discussion

The results of the present studies revealed that the values of biological half-life ($t_{\frac{1}{2}}$) obtained for cows with renal disorder, exceeded the normal values significantly. In the majority of cases the rate of increase was in accordance with the clinical symptoms as well as with the post-mortem pathological and histological findings. Except for the extremely high value ($t_{\frac{1}{2}} = 134$ minutes) recorded under 2/*a*, which was obtained for an animal in advanced state of

cardiac insufficiency, in cases of severe renal disorder the value of $t_{\frac{1}{2}}$ varied between 40 to 75 minutes. In milder cases, especially when the renal disorder and the albuminuria was secondary, the value of $t_{\frac{1}{2}}$ fluctuated between 26 to 38 minutes. The test remained negative in case No. 10, in spite of the pyelonephritis evidenced clinically. It might be supposed that in this case only one of the kidneys was affected.

A detailed evaluation of the results revealed that the values of biological half-life show the closest correlation with the severity of the condition. This observation is also supported by theoretical considerations. The value of total clearance depends on the body size of the animal and therefore it forms no basis for comparison. In order to render it comparable, the total clearance should be considered in relation to the body weight. However this may be remarkably influenced by the changes of the plasma volume/body weight ratio, which is particularly variable in the cattle. Anyway, the determination of body weight is necessary, which may involve further difficulties and sources of error.

Hence the value of total clearance may be influenced also by factors entirely independent of renal function, whereas the biological half-life depends only on the rate of the phenol-red excretion by the kidneys; it is therefore a characteristic, easily obtainable and easily comparable value. The calculation of total renal clearance is necessitated only when the comparison of the method with another clearance-test is attempted, which, however, is outside the field of diagnostics. Anyway, though the calculation of the total renal clearance is laborious, the clearance itself is less characteristic of the renal function than the biological half-life.

SUMMARY

The dye phenol-red may be favourably used for single-injection fractional renal clearance test. Of the intravenously administered dye in average 87.3 and 3.0 per cent are excreted in the urine and bile, respectively, within 8 hours following administration. The plasma concentration of the dye exhibits a logarithmic decrease in the period from 20 to 60 minutes after injection. Out of the data obtained with the above clearance test, the biological half-life ($t_{\frac{1}{2}}$) was found to be most characteristic of the renal function and because of the simplicity of its calculation it proved suitable for use in veterinary clinical practice. In healthy cattle the average value of the biological half-life is 20.6 minutes. In cases of severe renal insufficiency the half-life is 40—75 minutes, while in milder conditions it proved to be 26—38 minutes. In the majority of cases the values of half-life were in accordance with the severity of the clinical symptoms. In the authors' opinion determination of the half-life of phenol-red is a simple and reliable method for testing of the renal function.

REFERENCES

GOODMAN, R. D., KINGSLEY, G. R.: JAMA **153** (1953), 462. HAWK, P. B., OSER, B. L. and SUMMERSON, W. H.: Practical Physiological Chemistry. Philadelphia, 1949. MARSHALL, J.: Amer. J. Physiol. **49** (1931), 77. MANNING, S. P. et al.: Amer. J. of Vet. Res. **20** (1959), 307. ORNDORFF, W. R. and SHERWOOD, J.: Amer. Chem. Soc. **45** (1923), 486. ROWNTREE, L. G. and GERAGHTY, J. T.: J. Pharm. Exp. Ther. **1** (1909), 579.

STUDIES ON THE THYROID GLAND WITH RADIO-IODINE

V. THE INFLUENCE OF FEEDING WITH ANTIBIOTICS ON THE TISSUE METABOLISM OF CHICKENS

By

MARIA STÜTZEL, SUSAN N. GÁSPÁR, A. KEMÉNY and H. BOLDIZSÁR

Department of Physiology (Director: Prof. A. KEMÉNY), University of Veterinary Sciences, Budapest

(Received May 10, 1963)

The recent literature provides full evidence of the growth-promoting effect of antibiotics. There are, however, divergent opinions regarding the nature of this phenomenon.

Most of the authors believe that growth is stimulated by the bacteriostatic effect of antibiotics, while others assume that there is a direct influence of antibiotics on the metabolism of animals. In order to elucidate the problem, experiments were performed by LUCKEY (1956), FORBES and SUPLEE (1958), LEV and FORBES (1959) and others in germ-free animals. However, these experiments failed to present unequivocal results.

There is no agreement as regards the direct influence of antibiotics on the metabolism. BRAUDE and JOHNSON (1953) and VOGE et al. (1958) observed a decrease in the metabolic activity in pigs and rats, respectively, fed with antibiotics, while in the experiments of MORRISON et al. (1955) aureomycin (chlorotetracycline) failed to influence the metabolism of chicks. HOCK et al. (1959) found that feeding with aureomycin reduced the oxygen uptake by chickens elder than 80 days, whereas in chicks younger than 35 days it had no influence whatsoever.

The present experiments were designed to reflect the extent and nature of the influence of terramycin (oxytetracycline), the antibiotic most commonly used in feeds in Hungary, and of the structurally different chloramphenicol, on the metabolism of certain tissues of sexually immature animals.

Materials and methods

Our experiments were performed on a total of 30 seven-week-old Hungarian Yellow chicks of both sexes, supplied from the Small Animal Research Station (Gödöllő, Hungary). Until attaining the 7th week of age, the animals were kept on the diet given in the footnote.* From the beginning of the experi-

*Feed ingredients:

Ground maize	43.0%
Fish meal containing more than 65% crude protein and fat	4.0%
Bony meat meal	5.0%
Soy bean meal containing more than 44% crude protein	15.0%
Extracted sunflower cake with little hull	5.0%
Ground oat	3.0%
Ground barley	5.0%
Wheat germ meal	4.0%
Dried brewery yeast	1.0%
Dried baker's yeast	1.0%

Ingredients of Premix Phylaxia added to 100 kg feed:

Wheat bran	1.94 kg
Oxytetracycline	3.0 g
Vitamin B_{12}	1.5 mg
Vitamin D_3	2.5 mg
Iodinized NaCl	400.0 g
Iron sulphate	30.0 g
Manganese sulphate	20.0 g
Copper sulphate	3.0 g

ment they received the same diet without antibiotics (no antibiotic was added to the supplement) and on attaining the 8th week of age they were divided into 3 groups. Group I received no antibiotic supplement whatever, whereas groups II and III were given terramycin and chlorotetracycline, respectively, in a dose of 1 mg per animal per day. The antibiotic was mixed to a small amount of the basal diet and given prior to the morning feeding. Afterwards the animals were allowed to ingest antibiotic-free feed ad libitum.

The animals were killed by decapitation after 4 to 7 weeks of experimental diet.

The last supply of antibiotic was given 24 hours before decapitation; prior to sacrifice the animals were fasted for 12 hours.

For experiments the tissues were prepared as follows: Both abdominal and thoracic cavities were opened and the organs to be examined were removed immediately after bleeding through the carotid artery. Specimens of gizzard, duodenum, ileum, coecum, liver and thyroid glands were taken out for the investigation. These organs were thoroughly washed in Krebs – Ringer phosphate solution and cut into thin slices. About 100 mg of the slices from each of the organs were placed in a Warburg flask. As medium Krebs – Ringer phosphate solution of pH 7.4, containing 150 mg glucose in 100 ml was used. Carbon dioxide was absorbed with 20 per cent KOH. The measurement of oxygen consumption was started 15 minutes after stabilization of the temperature at 38° C and lasted for 3 hours. The gaseous phase consisted of pure oxygen. Readings were taken at intervals of 30 minutes. The consumption of O_2 was expressed in terms of μl/mg dry matter/hour.

The slices of thyroid gland examined in the Warburg manometer weighed generally less than 100 mg, because the rest was needed for paper chromatography, in order to separate iodine compounds. Simultaneously to the determination of oxygen uptake by the thyroid gland, its capacity to accumulate iodine was tested by mixing I^{131} to the medium.

Paper chromatography was performed as described by TONG and CHAIKOFF (1958) as follows: the thyroid gland was triturated with veronal buffer (pH 8.6) at 0° C, and digested with pancreatin at 37° C for 48 hours. The hydrolysate was centrifuged and from the supernatant an amount corresponding to 0.5 mg thyroid gland was applied to Macherey – Nagel filter paper No. 214. Ammonia-butanol was used as solvent. The chromatograms were developed according to the method of REMENÁR and KERTAI (1959). Chromatograms were also taken after the *in vitro* testing of radio-iodine. The chromatography-strip

Wheat bran	8.0%
Calcium carbonate	3.6%
Vitamin mineral Premix (Phylaxia)	2.4%
	100.0%

was cut into 1 cm pieces, which were assayed for radioactivity with a lead-shielded Geiger—Müller tube. In certain cases also autoradio-chromatograms were taken.

Result

The oxygen consumption of certain tissues of chickens given antibiotics, was assayed with the Warburg method. The results are summarized in Table I, where also the data obtained from the control animals are presented. The intestinal tract, which harbours the microorganisms and has a decisive role in absorbing antibiotics, and other important organs which are related to the organic synthesis and metabolic regulation were chosen for the measurement of oxygen uptake. As shown in Table I, in vitro the oxygen uptake for the animals given terramycin (group II) differed significantly from that for the controls, though not for every tissue. Thus, the O_2-uptake by muscles of the gizzard remained uninfluenced by this antibiotic, which, on the other hand, elicited a significant increase ($p < 0.05$) in the QO_2 of the duodenum, ileum, coecum and thyroid gland. The difference was insignificant for the liver.

In comparison to controls also the ingestion of chloramphenicol appeared to increase the O_2-uptake by the intestinal tissues, but the difference was statistically insignificant, maybe because of the limited number of experimental animals.

In Table II the dry matter contents of the tissues used for the determination of QO_2 are presented. Feeding with the antibiotics in the dosage given above over a period of 4—7 weeks caused no significant changes in the dry matter content of the tissues.

Keeping in view the primary role of the thyroid gland in metabolism, we examined the thyroid function from several points of view. In most cases the O_2-uptake of the thyroid glands and its iodine-accumulating capacity were measured simultaneously.

In the flask containing thyroid slices 30 μC of carrier-free I^{131} was placed. The activity of the tissue slices removed, washed and hydrolyzed with 20 per cent NaOH after incubation for 3 hours, is shown in Table III. The data are given in terms of count/minute/mg wet tissue. In the same table the weights of the thyroid glands per 100 g body weight are also presented.

The I^{131}-uptake by the thyroid glands of chicks given terramycin was lower than that by the control glands, whereas the iodine-accumulation by the chicks given chloramphenicol did not differ from that of the controls. This is in conformance with the observations of SLINGERLAND (1955), who failed to demonstrate any significant alteration of the iodine-accumulating activity after adding chloramphenicol to thyroid glands of sheep *in vitro*.

In several cases we analyzed the thyroid tissues examined *in vitro* also by paper chromatography, in order to identify the organic compounds into

Table I

The effect of the feeding of terramycin or chloramphenicol on the average O_2-uptake by different tissues of chickens (μl O_2/hour/dry matter content mg)

Group	n	Gizzard	n	Duodenum	n	Ileum	n	Coecum	n	Liver	n	Thyroid glands
Control	6	2.28 ±0.24	8	5.06 ±0.22	5	5.86 ±0.47	2	2.93 ±0.02	9	4.53 ±0.17	8	2.65 ±0.17
Terramycin	5	2.06 ±0.15	9	5.54 ±0.23	5	6.27 ±0.55	3	4.34 ±0.29	7	4.18 ±0.41	5	3.41 ±0.31
Chloramphenicol	2	2.26 ±0.40	5	5.51 ±0.50	2	6.28 ±0.52	—	—	4	5.13 ±0.34	4	2.04 ±0.52

n= Number of animals.

Table II

Percentage dry matter content in tissues of chickens given terramycin or chloramphenicol

Group	n	Gizzard	n	Duodenum	n	Ileum	n	Coecum	n	Liver	n	Thyroid glands
Control	6	19.2	8	17.2	5	16.2	2	16.6	9	21.2	2	30.8
Terramycin	5	18.2	9	17.1	5	16.5	3	15.8	7	20.3	3	28.8
Chloramphenicol	2	19.6	5	17.7	2	16.3	—	—	4	21.5	3	32.7

n = Number of animals.

Table III

In vitro I^{131}-uptake and average weight of the thyroid glands per 100 g body weight of chickens given terramycin and chloramphenicol

Group	n	I^{131} uptake N/mg	n	Thyroid glands mg/100 g
Control	6	3536±250	10	6.32±0.72
Terramycin	5	2904±310	10	6.99±0.65
Chloramphenicol	3	3813±454	10	7.54±0.89

n = Number of animals.
N = Count/minute.

which the radio-iodine was incorporated during the 3 hours' incubation period. As shown by the auto-radio-chromatograms, the greatest part of the radio-iodine taken up *in vitro* was incorporated into the iodotyrosines (monoiodotyrosine, MIT, and diiodotyrosine, DIT). At the site corresponding to the location of inorganic iodine only a faint spot was visible (Fig. 1). By assay of the radioactivity of chromatograms with the Geiger—Müller tube it could be calculated

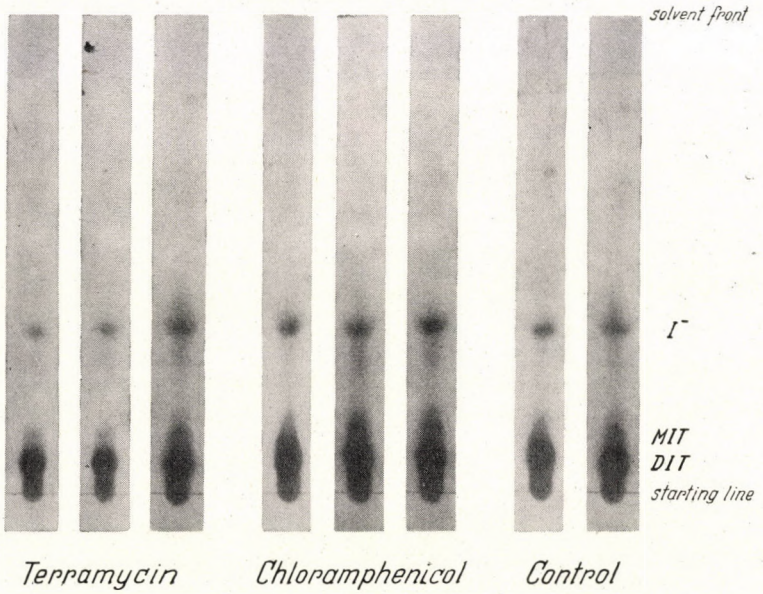


Fig. 1

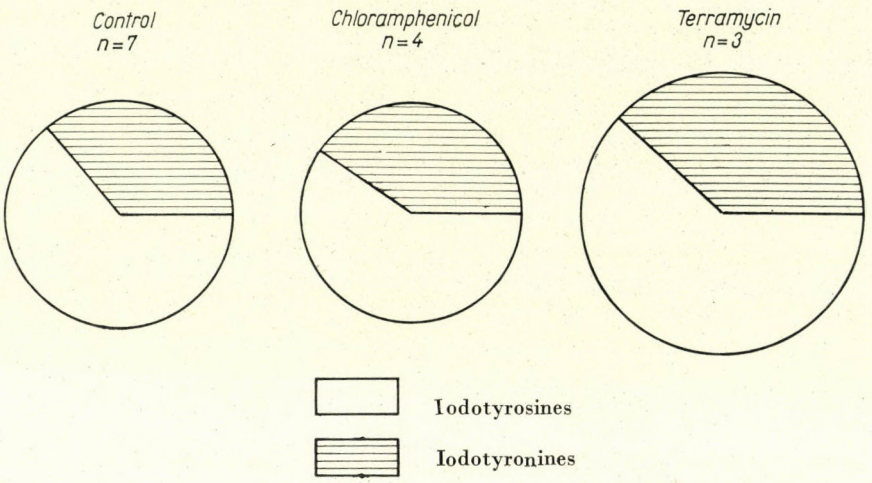
that, independently of the diet, minimum 90 per cent of the iodine-uptake was incorporated into the iodotyrosines.

Furthermore it was examined whether or not the antibiotics supplied *in vivo* over a period of 4—7 weeks have any influence on iodine-uptake from the food (stable iodine uptake) and on the incorporation of iodine into organic compounds. For this reason the thyroid glands of several chicks were analyzed by chromatography immediately after bleeding.

The chromatograms were developed with arsenious acid-cerium sulphate-ferroin reagent (REMENÁR and KERTAI, 1959). Thirty seconds after developing, the contours of the spots were marked with a pencil and the areas were measured with a planimeter. The results are given in mm^2 in Table IV. In 50 per cent of the cases no inorganic iodine was detectable, while in the other 50 per cent the area of the spot was smaller than 20 mm^2. For this reason only the organic compounds are presented in the table. In the chromatograms obtained from

Table IV

The percentage of iodinated products of the thyroid glands of chickens given chloramphenicol and terramycin



Iodotyrosines	289 mm² 64%	.... 258 mm² 60%	.... 401 mm² 62%
Iodotyronines	162 mm² 36%	.... 175 mm² 40%	.... 241 mm² 38%
Total area	451 mm² 100%	.... 433 mm² 100%	.... 642 mm² 100%

the thyroid glands of chicks treated with terramycin, the total area occupied by iodotyrosines and iodotyronines was by about 50 per cent larger than on the chromatograms taken from the thyroid glands of control and chloramphenicol-treated chicks. The ratio of iodotyrosines to iodotyronines was independent of both the antibiotics and the absolute quantity of the iodinated products.

Discussion

The chicks treated with terramycin over a long period exhibited an increased metabolic activity in different segments of the small intestine (duodenum, ileum), in the coecum and in the thyroid glands, as compared to that of the controls.

The increased O_2-uptake of the intestinal tissues leads to the conclusion that, due to the influence of antibiotics, an increased absorption may take place in the intestines. This theory is supported by the results of several authors who investigated absorption from the intestines in relation to the amount of ingested antibiotics. Thus, following treatment with penicillin, MIGICOVSKY et al. (1951) observed in chickens increased absorption of Ca^{45}; BAUMANN found an increased diffusion of xylose in the isolated intestinal loop of chickens

given antibiotics, and DRAPER (1958) reported on a rapid absorption of orally administered C^{14}-lysine in chicks given previously penicillin.

Following the administration of terramycin, increased O_2-uptake and a parallel decrease of iodine accumulation could be observed in the thyroid gland. FREINKEL and INGBAR (1955) demonstrated that the *in vitro* metabolism of the thyroid gland tissues was influenced in a similar way also by other substances, namely by the "uncoupling substances" interrupting the processes of oxidation and phosphorylation, and by the ions of elements belonging to the 7th column of the periodic system. In our experiments the increase of QO_2 and the decrease of I^{131}-uptake are numerically in accordance with the value found by FREINKEL and INGBAR (1955) for the thyroid gland of sheep after adding 5×10^{-5} g 4-nitrophenol or 5×10^{-3} g bromide *in vitro*.

The slow *in vitro* iodine I^{131}-uptake does not agree well with the high level of iodinated amino acids found in the thyroid glands of terramycin-treated chickens which is, apparently, capable of storing larger amounts of hormone, thus it may be supposed that terramycin influences hormone release.

In order to confirm the above assumption, further investigations are in progress regarding the thyroid-hormone level in the circulating blood.

SUMMARY

To 2 groups of 8 week-old chicks terramycin and chloramphenicol were given, respectively, at a dosage 1 mg /day/ animal over periods of 4—7 weeks. In comparison to control animals, following changes could be observed in the tissue metabolism of chicks treated with terramycin: (1) increased O_2-uptake by the duodenum, coecum and thyroid glands; (2) decreased iodine-accumulating capacity by the thyroid gland.

In the thyroid gland of chicks given terramycin, the level of iodotyrosines and iodotyronines was about 50 per cent higher than in the controls.

The above results permit the conclusion that, in addition to its bacteriostatic effect, terramycin has a direct influence on metabolic activity.

Acknowledgement

Authors are indebted to Miss Éva Fodor for excellent technical assistance and to Mrs. P. Varga (X-ray laboratory of the Department for Surgery of the University of Veterinary Sciences) for valuable help in taking the autoradiochromatograms.

REFERENCES

BAUMANN, C. A.: Proc. 1st Intern. Conf. on Use of Antibiotics in Agric., 1956, 47. BRAUDE, R. and JOHNSON, B. C.: J. Nutr. **49** (1953), 505. DRAPER, H. H.: J. Nutr. **64** (1958). 33. FORBES, M. and SUPLEE, W. C.: Proc. Soc. Exper. Biol. (N. Y.) **99** (1958), 110. FREINKEL, N. and INGBAR, S. H.: J. Clin. Endocrinol. and Metabol. **15** (1955), 598. HOCK, A., RISSE, S. and PRANCE, U.: Arch. Tierernährung. **9** (1959), 178. LEV, M. and FORBES, M.: Brit. J. Nutr. **13** (1959), 78. LUCKEY, T. D.: Proc. 1st Intern. Conf. on Use of Antibiotics in Agric., 1956, 150. MIGICOVSKY, B. B., NIELSON, A. M., GLUCK, M. and BURGESS, R.: Arch. Biochem. Biophys. **34** (1951), 479. MORRISON, W. D., HAMILTON, T. S. and SCOTT, H. M.: Poultry Sci. **34** (1955), 78. REMENÁR, B. I. and KERTAI, P.: Kísérletes Orvostudomány **11** (1959), 552. SLINGERLAND, D. W.: J. Clin. Endocrinol. and Metabol. **15** (1955), 131. TONG, W. and CHAIKOFF, I. L.: J. Biol. Chem. **232** (1958), 939. VOGE, G. R., HAUGE, S. M. and ANDREWS, F. N.: Amer. J. Physiol. **192** (1958), 73.

STUDIES ON THE IRON CONCENTRATION AND IRON-BINDING CAPACITY OF THE PIGS' BLOOD PLASMA

By

Z. HORVÁTH, F. KARSAI and L. PAPP

Department and Clinic of Medicine (Head: Z. HORVÁTH), University of Veterinary Sciences, Budapest

(Received June 11, 1963)

The plasma iron (PI) concentration and the iron-binding capacity (IBC) of plasma proteins as well as the percentage saturation of transferrin with iron (TIS %) calculable from the former two values, may give information on the iron saturation of the organism. In the course of studies on piglets suffering from sideropenic anaemia we determined the above values in a large number of healthy and anaemic pigs. In addition, we examined the conditions of the absorption of several parenterally-administrable iron-dextran preparations.

Under natural conditions PI occurs in non-ionized form, in protein bonds. The specific protein capable of binding iron was denominated by HOLMBERG and LAURELL (1947) siderophilin, whereas American authors (SURGENOR et al., 1949, and others) named it transferrin. Every molecule of this protein binds two iron atoms. By electrophoretic separation VAHLQUIST (1941) identified the iron-containing protein as a composition of α- and β-globulins, while according to COHN et al. (1948) electrophoretically it corresponds to β_1-globulin, though its solubility, temperature conditions and stability resemble those of the albumins. In 1954 JASINSKI established that the iron-binding protein is a selective β_1-globulin. One hundred ml of human blood plasma contains about 250 mg siderophilin, which corresponds to about 3 per cent of the total protein content.

Binding of iron to the carrier protein, in the form of ferrihydroxidephosphate (WUHRMANN and JASINSKI, 1955; SILVER, 1958), is accompanied by carbon dioxide uptake (RIVA, 1957).

The finding of KLEIN, FRANKEN and HIRSCHE (1959) that under normal conditions the total PI is bound to transferrin but upon parenteral administration it may circulate also in unbound form is of great interest.

Since the IBC of the plasma is limited, it is also measurable. BROCHNER—MORTENSEN noted as early as in 1943 that upon parenteral administration of iron PI did not rise above a certain level, and supposed that PI is bound to a protein carrier.

LAURELL (1947) gives the average IBC of human blood plasma as 315 μg per 100 ml (= μg %). Since according to most of the literary data, in man the normal PI level is 100 μg%, apparently only 1/3 capacity of the carrier-protein is saturated. The unbound IBC is utilized in cases when large amounts of iron are to be transported.

According to LAURELL 1947, the increases or decreases of the IBC of the plasma are controlled by the actual PI level. However, CARTWRIGHT and WINTROBE (1949) think that the mechanism of iron-transport remains uninfluenced by the changes in PI level, which has only a passive role.

The PI of pigs has been determined by several authors. Thus HENRICUES and ROCHE (1927) give average values 290 and 227 μg% for swine and piglets, respectively. CARTWRIGHT and WINTROBE (1948) found 169 $\pm$ 39 μg%, ALBRITTON (1952) found mean and limit values 169 and 91—247 μg%, respectively.

THODENHÄFER (1953) stated that in slaughtery pigs PI varied from 20 to 400 μg%, remaining in 70 per cent of the cases within the range from 140 to 250 μg%, with a mean of 206 μg%. The mean value given by RIGGERT (1954) is 254 μg%. FRÜH (1955) derived a mean

of 134 μg% from extreme values 99 and 167 μg%. According to KÖHLER (1956), the PI level of sows varies from 180 to 270 μg%, while in adult animals the mean value is 247 μg%. KLAUS (1957) reported on a mean of 234 μg%, with limit values varying from 128 to 338 μg%. As found by BARTKO (1959) in winter farrows the average PI level of day-old piglets is 76 μg%, while in autumn farrows it reaches 172 μg%. The mean values measured for adolescent pigs, boars and sows were 134, 126 and 118 μg%, respectively. The average concentration given by RIEPE (1961) for sows and mast swines were 130 $\pm$ 41 μg% and 157 μg%, derived from extreme values 116—255 and 30—350 μg%, respectively. KÖSTER (1962) measured in adult pigs an average 148 μg iron in 100 ml plasma.

The IBC of swine blood found by KOLB (1956) was 317 $\pm$ 28 μg%. ULLREY et al. (1960) measured the IBC of 14 untreated anaemic pigs varying from 615 to 793 μg%. In pigs treated with iron this value rose to 508—726 μg%. It was also observed that the TIS % decreased even to 2.9 per cent while in some iron-treated pigs it increased to 90.5 per cent.

Experimental

PI concentration was determined in blood samples withdrawn with rust-proof hypodermic needles into centrifuge tubes carefully washed free of iron. Blood coagulation was inhibited with heparin and the samples were centrifuged for 20 minutes at a very low r. p. m. Care was taken that haemolysis be prevented throughout.

PI concentration was determined by the method of BOTHWELL and MALLETT (1955), as modified by LAKOS and LEHOTAI (1960). To 2 ml plasma 1 ml 2 *n* hydrochloric acid was added and after shaking, and stirring with glass rod the mixture was allowed to stand for a few minutes, then the proteins were precipitated with 1 ml of a 20 per cent trichloroacetic acid solution. Again the material was stirred cautiously with a glass rod and centrifuged for 15 minutes at 2000 r. p. m. After centrifugation, 2½ ml of the supernatant was withdrawn and added in a tube to a mixture of 0.025 ml of 10 per cent ascorbic acid and 0.025 ml of 0.4 per cent α_1—α dipyridyl in glacial acetic acid. The pH of the mixture was adjusted to pH 5 by the addition of 1 ml 2 *n* sodium hydroxide, which caused a colour change to rose-red with an intensity depending on the amount of iron present.

When determining the IBC of plasma, prior to the above procedure to 2 ml of blood plasma 4 ml of ferroammoniumsulphate solution 0.5 mg in 100 ml, was added and allowed to stand for 5 minutes. Then 40 cg. magnesium carbonate powder was mixed to it in order to adsorb the excess iron ions. Under stirring up several times with a glass rod, the mixture was allowed to stand for an hour and centrifuged for 15 minutes. From the supernatant 2 ml were withdrawn to an iron-free centrifuge tube.

In several cases, due to the high fat content of the plasma, the solutions were opaque and therefore unsuitable for photometric assay. In such cases after alcali-treatment the solutions were shaken with chloroform and thus made crystal-clear.

Irrespective whether the determination of PI concentration or IBC was performed, after the addition of sodium hydroxide the solutions were allowed to stand for 20 minutes to let it develop the full colour intensity.

The extinction values of our solutions were read against distilled water in a Unicam Sp 500 spectrophotometer, at a wavelength of 510 mμ, using 10-mm cuvettes. As a reference solution, distilled water was used in amounts corresponding to the measured volumes of plasma samples. The blind extinction values varied from 0.30 to 0.38 and they were subtracted from the readings of plasma samples. The correctness of readings is greatly influenced by the

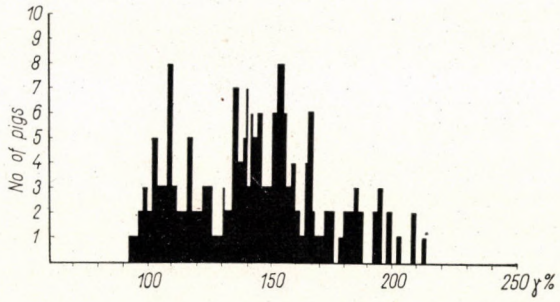


Fig. 1. Normal values of plasma-iron

blind values, which must be sufficiently low. This could be achieved by using best quality pro anal. chemicals, water distilled in glass equipment and cuvettes kept prior to use in hydrochloric acid for at least 24 hours.

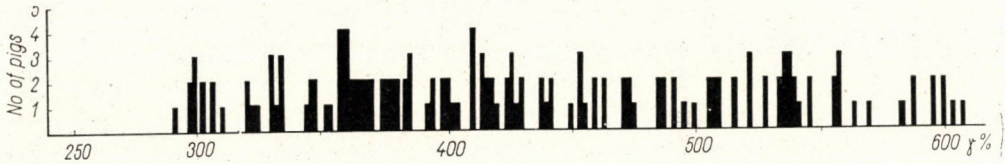


Fig. 2. Normal values of the iron-binding capacity of plasma (total iron-binding capacity)

The values thus obtained were compared to a calibration straight line obtained by plotting the readings of standard solutions containing 100, 150, 200, 250 and 300 μg iron in 100 ml. Thus the iron concentration of the examined plasma samples could be read directly from the straight line, whereas the IBC of plasma was calculated by multiplying the obtained values by 3.

Normal values were measured on 160 healthy pigs of both sexes, belonging to various breeds and none of them younger than 3 months.

It was found that in these animals PI level varied between limit values 96 to 214 μg%, with a mean of 144 μg%; in 80 per cent of the cases the values were within the range of 100—170 μg% (see Fig. 1).

IBC varied from 290 to 606 μg%, with a mean of 427 μg%. Within these limits the individual readings exhibited fairly even distribution (see Fig. 2).

The TIS%, calculated by multiplying the quotient of PI concentration and IBC by 100, varied from 21 to 46 per cent, with an average of 34 per cent.

It ought to be mentioned here that in more than 80 per cent of the cases the values were within the limits 27 to 42 per cent.

After determining the normal values on several hundreds of healthy adult animals, 10—60 days' old piglets were examined for PI concentration, IBC and TIS%. For these, clinically non-anaemic piglets given no iron supplement the PI concentration was found roughly corresponding to the lower limit observed in the above pigs of more than 3 months of age.

Further to this, PI concentration and IBC of plasma were measured in 90 young pigs exhibiting more or less distinct clinical symptoms of anaemia. The results are summarized in Table I.

As shown in the table, in anaemic pigs PI varied between the values 19 and 135 μg%. It was lower than 51 μg% in 19 (21.1 per cent), ranged from 52 to 100 μg% in 45 (50 per cent) and exceeded 100 μg% in 26 (28.9 per cent).

The values of the IBC of plasma varied between the limits 500—1320 μg%; values higher than 600 μg%, i.e. the upper limit of normal values were found in 69 (76.6 per cent) out of the 90 animals.

The TIS% was, however, consistently lower than 20 per cent, in 38 cases (42 per cent) it was even under 10 per cent.

In a further series of experiments the effects on PI level, IBC, and TIS% of parenterally administrable 3 iron-dextran, one iron-hydrodextran and one iron-carboxylmethyldextran preparations were examined. All preparations were injected in a dosage containing 3 mg iron per kg body weight. Besides the blood sample taken immediately before treatment, samplings were made in the 4th, 8th, 12th, 16th, 20th, 24th, 30th, 36th and 48th hours after injection. The untreated control group, consisting of 4 animals, was sampled at the same times to obtain information on the daily physiological fluctuation of PI concentration. The results were as follow.

1. *Iron-dextran preparations*

1/*a Iron Hy Dex* (Pfizer). In the first few hours following the injection of the preparation, a rapid and significant rise of PI level was demonstrable: in the 4th hour 500—800 μg%, 8th hour 800—1200 μg%, 12th hour 1200—1600 μg%. Maximum was reached in the 16th hour, when the values varied in the range from 1350 to 1700 μg%. Afterwards the PI level dropped, but even after 48 hours it was about twofold the initial value (Figs 1 and 4).

Also the IBC of plasma increased relatively rapidly, roughly parallel to the rise of PI level. Thus the initial values varying between 360—450 μg% reached 1000—1600 μg% by the 16th hour. After this time IBC fell parallel to the PI level and by the 48th hour its values were by 10—30 per cent higher than initially.

The TIS% derived from the values of PI concentration and IBC, also exhibited rapid increase, exceeding 100 per cent already by the 4th hour and

Table I

Designation of animals	Plasma-iron concentration μg%	Total iron-binding capacity μg%	Percentage of transferrin-iron saturation
IX/5b/4	81	732	11
IX/5b/5	114	834	14
IX/5b/10	93	1140	8.1
IX/6b/3	70	528	13
IX/6b/11	79	528	15
IX/6b/12	88	586	15
IX/7b/11	44	1029	3.4
VIII/1c/3	60	810	7.4
VIII/1c/6	74	696	11
VIII/2c/1	84	671	12
XV/5	100	633	15
XV/7	95	501	19
XV/8	70	558	13
XV/10	60	564	11
XV/11	107	572	19
XV/12	100	600	17
XIII/4	102	822	13
XIII/45	90	822	11
XIII/56	135	876	15
XIII/65	86	792	11
XIII/66	86	756	11
XIII/75	100	906	10
XIII/77	107	852	11
XIII/78	123	930	13
XIII/84	135	930	14
XIII/86	126	1374	9.2
XIII/95	135	980	13
V/1d/1	84	659	13
V/1d/2	107	612	17
V/1d/3	88	574	15
V/1d/7	56	987	5.7
V/1d/5	102	612	17
V/1d/6	65	885	7.3
IX/1c/3	120	750	16
IX/1c/6	97	648	15
IX/3c/7	130	696	19
IX/5c/2	106	1074	9.9
IX/5c/8	107	786	14
IX/5c/10	110	708	16

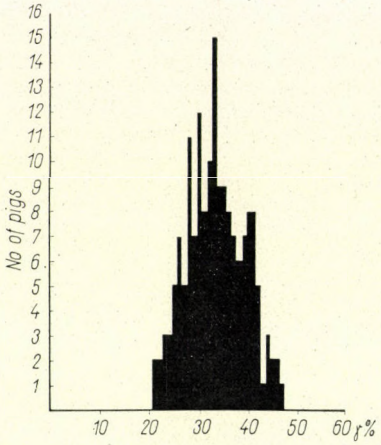


Fig. 3. Normal values of percentage saturation of transferrin with iron

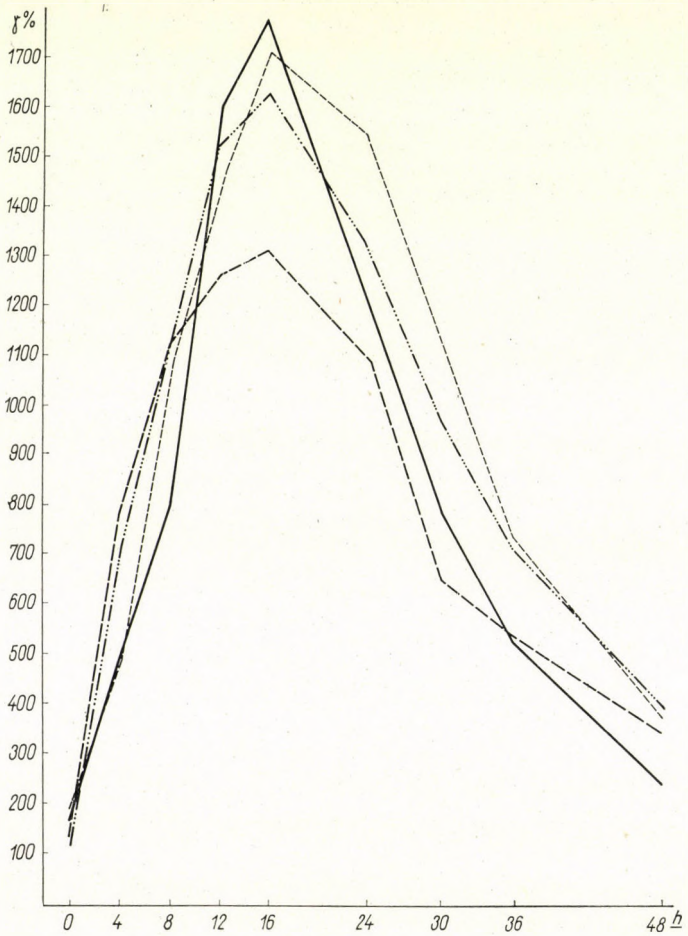


Fig. 4. Changes in plasma-iron concentration upon administration of Iron Hy Dex

remaining above this level till the 24th hour. Alth ough afterwards it decreased below 100 per cent, but still varied between 75— 80 per cent at 48 hours (see Fig. 5).

1/*b Myofer* (Hoechst). Following the administration of this preparation, a rapid rise of PI level attaining 680—1200 μg% by the 4th hour was observed.

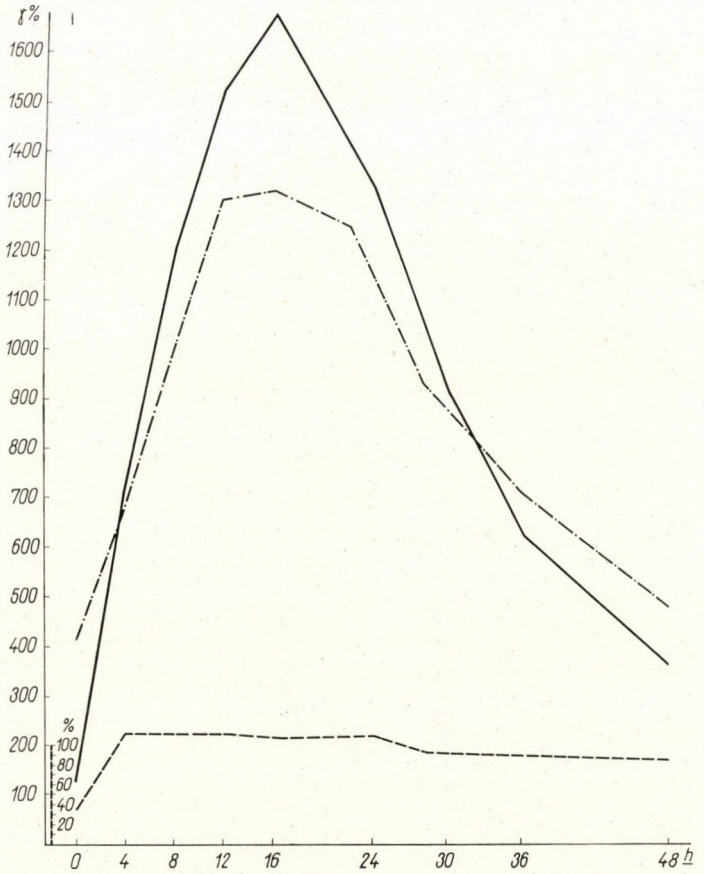


Fig. 5. Changes in plasma-iron concentration (——), total iron-binding capacity of plasma (— . — .) and the percentage of transferrin-iron saturation (- - - -) upon administration of Iron Hy Dex in a typical case

In one of the animals this value increased slightly until the 8th hour, while in the others it exhibited slight decrease by this time. Afterwards the values gradually decreased and by the 48th hour they were only slightly higher than initially (see Fig. 6).

In this case the increase of IBC run almost parallel to the rise in PI concentration and by the end of the observation period it reverted essentially to the initial value.

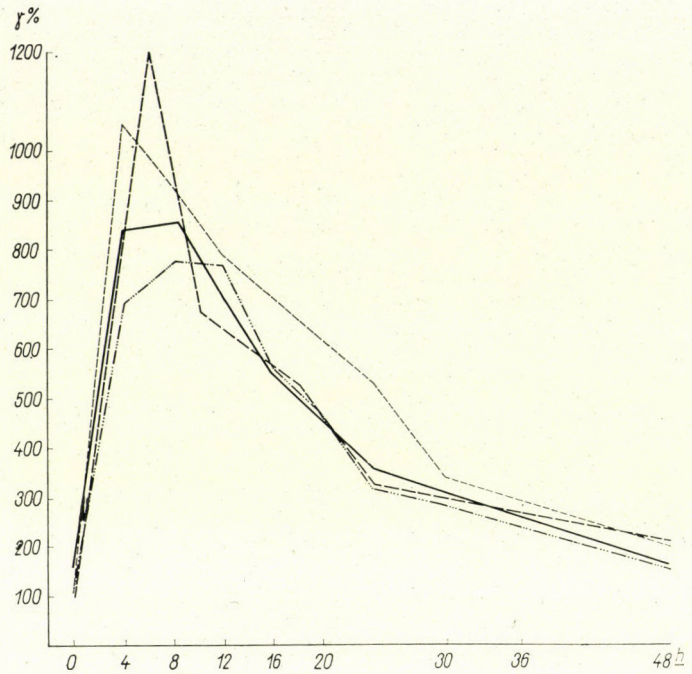


Fig. 6. Changes in plasma-iron concentration upon the administration of Myofer

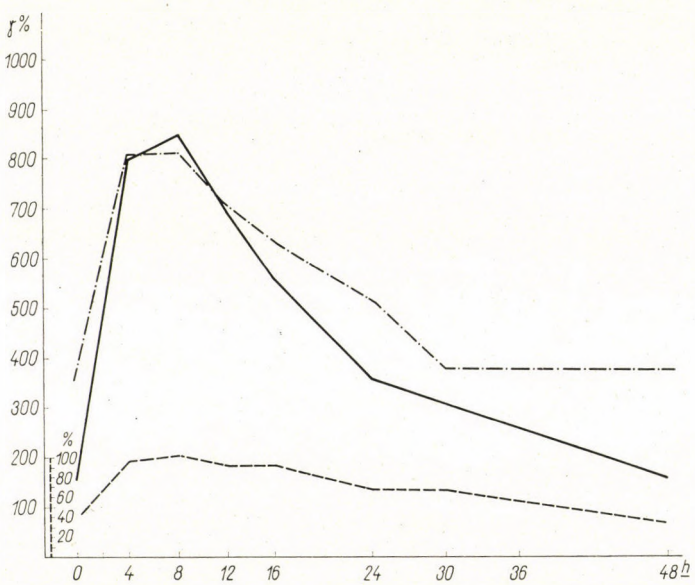


Fig. 7. Changes in plasma-iron concentration (———), total iron-binding capacity (— . — . —) and the percentage saturation of transferrin with iron saturation (- - - -) upon administration of Myofer in a typical case

The TIS% reached 100 per cent already between the 4th and 8th hours, or, in several cases, even exceeded this value, decreasing gradually until the 48th hour when it was only slightly higher than the initial value (see Fig. 7).

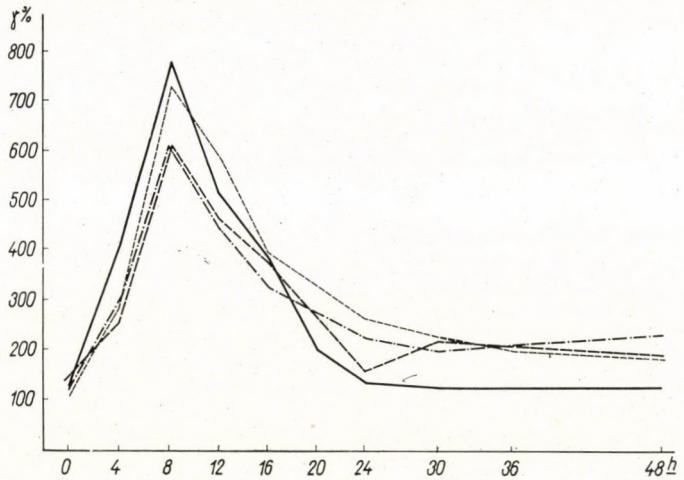


Fig. 8. Changes in plasma-iron concentration upon the administration of Ferridextran

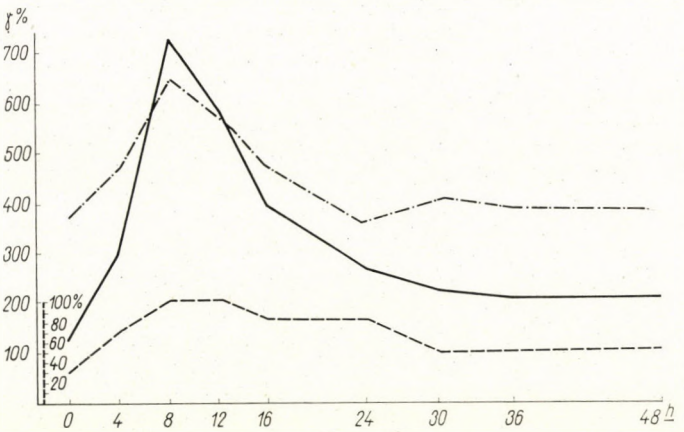


Fig. 9. Changes in plasma-iron (———), total iron-binding capacity of plasma (— . — . —) and the percentage saturation of transferrin with iron (- - - -) upon the administration of Ferridextran in a typical case

1/*c Ferridextran* (Léčiva). After the injection of Ferridextran, the maximum PI concentration, 600—1050 μg per 100 ml, was reached in the 8th hour after injection, followed by a rapid decrease to the original value, or slightly above it, until the 24th hour (see Fig. 8). After some slight fluctuation roughly the initial value was measured in the 48th hour (see Fig. 8).

The IBC of plasma increased parallel to the iron concentration, attaining 500—1000 μg% by the 8th hour and decreasing to the initial level afterwards.

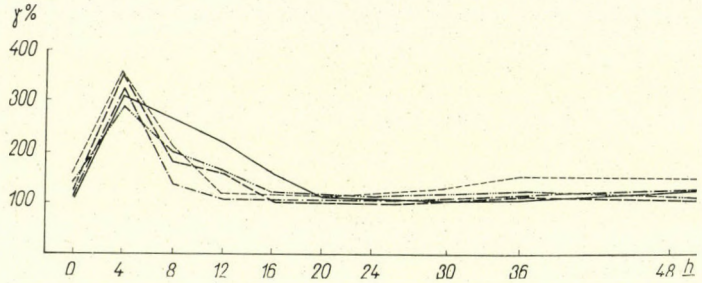


Fig. 10. Changes in the plasma-iron level upon the administration of Ursoferran

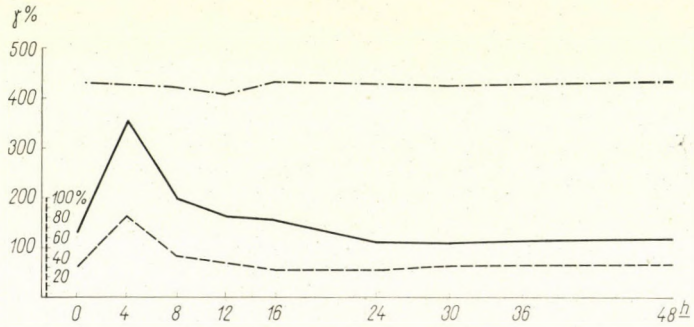


Fig. 11. Changes in plasma-iron level (———), total iron-binding capacity of plasma (— . — . —) and the percentage saturation of transferrin with iron (- - - -) upon the administration of Ursoferran in a typical case

Fig. 12. Changes in plasma-iron upon the administration of Pecuferrol

The TIS% attained or even exceeded 100 per cent between the 8th and 12th hours. From this time on it decreased slowly until the 48th hour, when it was somewhat higher than the initial value (see Fig. 9).

2. *Ursoferran* (Serum-Werk, Bernberg) is a preparation containing iron-carboxymethyldextran, with 20 mg iron content per ml.

Following the administration of this preparation, the increase of PI concentration was moderate, attaining 2—3 fold of the initial value, i.e. 270—350

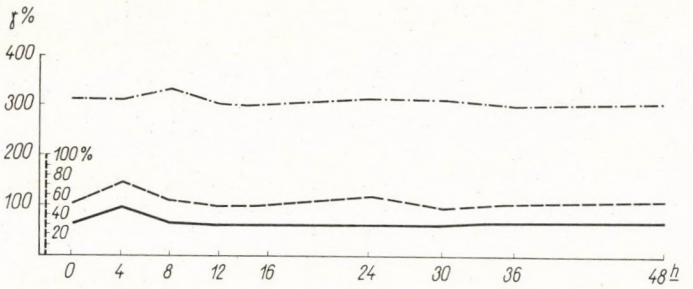


Fig. 13. Changes in plasma-iron (———), total iron-binding capacity (—.—.—.) and the percentage saturation of transferrin with iron saturation (- - - -) upon the administration of Pecuferrol in a typical case

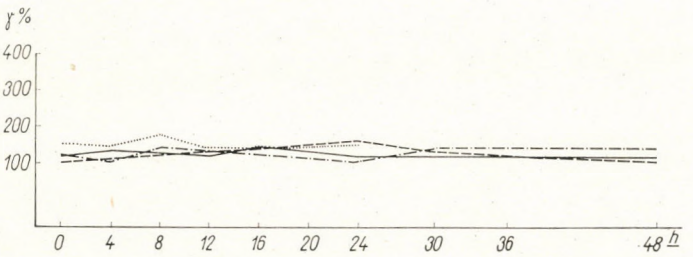


Fig. 14. Changes in the plasma-iron of control animals

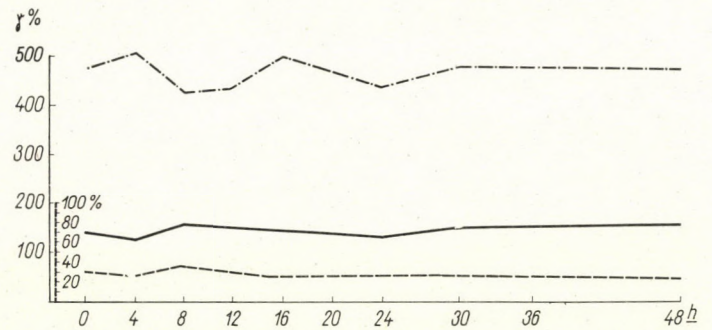


Fig. 15. Changes in the plasma-iron (———), total iron-binding capacity (—.—.—.) and percentage saturation of transferrin with iron (- - - -) of control animals

μg%, in the 4th hour. Later on, after a gradual decrease it reached approximately the initial value by the 16th hour and persisted at this level with some slight fluctuation until the 48th hour (see Fig. 10).

Ursoferran has little influence on the IBC of plasma. During the observation period no significant changes of PI values were found.

The TIS% reached 85 per cent in the 4th hour, then gradually decreased and by the 24th hour it differed only slightly from the initial value (see Fig. 11).

3. *Pecuferrol* (Cela) is a special preparation containing iron-hydrodextran with 100 mg iron per ml.

After administration a very slight, 30—50 per cent, rise of the level was observed in the 4th hour, but the level dropped by the 8th hour, and apart from moderate fluctuations of physiological nature it persisted at the initial level until the 48th hour (see Fig. 12.)

During the observation period the preparation had obviously no influence on the IBC of plasma.

The TIS% rose to 45—55 per cent in the 4th hour, varying later at the level of the original value (see Fig. 13).

4. *Control Group*

PI concentration, IBC of plasma and TIS% fluctuated between 25 and 40 μg%, 50 and 80 μg%, and 2 and 5 per cent, respectively, over an observation period of 48 hours. Feeding times or hours of day had no demonstrable effects on the PI level.

Discussion

The critical evaluation of the results obtained from normal adult pigs revealed that in these animals PI level is somewhat higher and fluctuates between wider limits than the PI level of humans as given in the literature by most of the authors, whereas certain data are suggestive that wider limits and higher mean values were found in man than in the pigs examined by us. In this connection we refer to the studies of MODY et al. (1960), who give for healthy subjects a mean of 175 μg% and limit values varying from 83 to 295 μg%.

The results obtained by us for both mean and limit values of PI level are essentially inconsistent with the findings of THODENHÄFER (1953), RIGGERT (1954), KÖHLER (1956) and others. Although the mean value determined by us does not differ markedly from that found by RIEPE (1961), our extreme values vary in a range narrower than that found in certain cases by the above authors. However, our results represent a fair approximation, or a median range when compared to the values obtained by ALBRITTEN (1952), CARTWRIGHT and WINTROBE (1948), KÖSTER (1962) and FRÜH (1955), since there is no significant difference between their values and ours, even as regards the extreme values.

Anyway, the inconsistency of the extreme values obtained by different authors does not interfere with the general opinion shared also by us that in

determining PI concentration significant individual differences are encountered, which naturally render the detection of sideropenic anaemia difficult.

The main reasons for such fluctuations are the various stress factors. As demonstrated by CARTWRIGHT et al. (1946), HAMILTON et al. (1951) and also others, the function of the anterior pituitary-adrenocortical system influences the PI level. Undoubtedly, also the stress imposed upon the pigs by captivation for blood sampling has an important role.

Another factor is the rhythm of liver function (RECHENBERGER and HEVELKE, 1955). PI concentration is highest in the stage of hepato-cellular secretion, whereas lowest during the assimilation phase. The individual phases follow in a periodic succession.

Further to this, illness and hyperthermia have significant influence on PI concentration, as observed several times also by us.

The total IBC of plasma, varying in the majority of our cases from 300 to 600 μg% differs significantly from both extreme and mean values (300—350 μg%) demonstrated in man.

Our data still deviate considerably in this respect from those published by KOLB (1956), too. When evaluating 160 examination data we found that the mean value was considerably higher and the extreme values varied between much wider limits.

According to our data the TIS% exhibits the least deviation and its mean (34 per cent) is in fair accordance with the respective value in man. The values obtained by us vary within fairly narrow limits because in more than 80 per cent of the cases examined by us the TIS% was within the range from 27 to 42 per cent.

This phenomenon is most probably due to the fact that the organism of healthy pigs is capable of mobilizing transferrin as much as required by the actual PI level. Accordingly, in normal cases, when only physiological fluctuation occurs, the blood proteins have the capacity to carry twice the amount of the plasma-iron actually present in the blood.

Our results are suggestive that by determining the TIS% it is possible to reduce the error involved in the considerable individual fluctuation of PI concentration further to this, more correct evidence may be achieved on sideropenic condition from the value of TIS% than from that of the PI concentration alone.

The computation of the TIS% enables the recognition of latent sideropenia, too. In this condition the PI level is yet unchanged but the iron stores of the organism are nearly exhausted and also a dysfunction of iron-containing tissue enzymes is present (Gewebsanämie). In such cases the decrease of the TIS% is indicative of sideropenia.

The above statements are supported by the results of examinations performed by us on anaemic pigs. Clinically these animals exhibited more or less severe symptoms of anaemia.

In severe cases PI concentration may fall below 51 μg%, occasionally even to a range between 20 and 30 μg%; in one animal a value as low as 19 μg% was measured.

In certain cases the IBC plasma approximated, or even slightly exceeded, the upper limit of the normal value. Due to the relatively low PI level in such cases the TIS% was below the normal level. In 28.9 per cent of cases, despite the persistence of PI concentration above the normal level, i.e. 100 μg%, the IBC of plasma increased significantly, and resulted in a low TIS%.

It is obvious that in the above cases of sideropenia the information obtainable from PI concentration alone would have been incorrect. However, the low value of TIS% evidenced sideropenic condition, which correlated well with the clinical picture.

From the above data it may be concluded that the errors involved in the great individual fluctuation of PI concentration can be reduced by determining the TIS%.

In the group of anaemic pigs selected from several hundred animals, the values of PI concentration, total IBC and TIS% varied between 19—135, 500—1320 μg% and 1.7—19 per cent, respectively. On the basis of PI concentration alone, only 21.1 per cent of the animals, i.e. those exhibiting values under 51 μg%, would have been considered anaemic, while TIS% under 10 per cent revealed anaemic condition in 42 per cent of the animals. Further to this, the necessity of iron therapy was indicated by PI values from 52 to 100 μg% in 50 per cent, and by TIS% values from 10 to 20 per cent in 58 per cent of the cases.

The above results evidence the importance of the calculation of TIS% in the diagnosis of sideropenic anaemia.

However, certain anaemic pigs exhibited extraordinarily low PI levels and simultaneously remarkably high IBC, varying from 1100 to 1300 μg%, i.e. amounting to two- or threefold of the normal mean value. Accordingly, in such cases the TIS% may decrease to 2—5 per cent; in one extreme case it was even as low as 1.7 per cent.

The above data reveal that a proportion of the anaemic pigs examined by us exhibited IBC and TIS% values similar to those observed by ULLREY et al. (1960), but we also obtained results indicating a more severe sideropenic anaemia.

Our experimental data support the supposition, that in pigs sideropenic condition has great influence on both formation and mobilization of transferrin in the blood. IBC values as high as e.g. 1140, 1182 or even 1320 μg% have never been measured in the plasma of healthy pigs. Apparently, it is not due to chance that such extremely high values of IBC occurred consistently in animals exhibiting low or very low PI levels. This phenomenon is of great importance in the routine diagnostical use of PI level determination.

Surprising results were obtained with iron-tolerance tests, performed on pigs in order to examine the influence on PI level and IBC of certain parenterally administrable iron preparations.

Although in three of the preparations *(Iron Hy Dex, Myofer, Ferridextran)* the active substance was uniformly iron-dextran and in every case doses of 3 mg iron per kg body weight were injected, the values obtained for PI level and IBC of plasma during the observation period succeeding the intramuscular injection of the above preparations were remarkably dissimilar.

The highest level of PI was mesured after the administration of *Iron Hy Dex* (Pfizer); in this case the maxima attained 1350—1700 μg%. *Myofer* (Hoechst) gave steeper curves with maxima from 680 μg% to 1200 μg% and a more rapid decline. The maxima were the lowest (600—1050 μg) and declined most rapidly after the administration of *Ferridextran* (Léčiva).

The concentration of iron in 1 ml of Iron Hy Dex, Myofer and Ferridextran is 100 mg, 75 mg and 50 mg, respectively. This sequence correlates well with the sequence of the maximum PI concentration inducible by the administration of these preparations. Apparently, the rise of PI level at various times and in a varying degree does not only depend on the absolute amounts of the administered iron as supposed hitherto but also on the different concentrations of iron-dextran and the absorption conditions influenced thereby.

It is of interest that the iron-carboxymethyl-dextran-containing preparation Ursoferran (Serum-Werk, Bernburg) effected an increase in PI only to a level of 270—350 μg% for a very short time. Similarly, the iron-hydrodextran containing Pecuferrol (Cela) caused only a slight fluctuation, hardly exceeding the physiological limits, only in the 4th hour after being injected.

Further to this, our experimental data are suggestive that the degree of IBC may increase rapidly to a high level, parallel to the increase of PI. This rough parallelism may persist throughout increase or decrease phases so that upon intramuscular administration of iron-dextran preparations the IBC may appear a function of PI. The TIS% may persist at a level of roughly 100 per cent for a longer time. Afterwards the IBC decreases to the initial value, parallel to the drop of the PI level. A condition for the occurrence of this phenomenon is an abrupt rise of the PI to a relatively high level, because a low increase, as induced by the injection of Ursoferran or Pecuferrol has no influence whatever on the alteration of the IBC of plasma. In these cases the values of IBC remained essentially at the original level throughout. The reason for this was that the original IBC of plasma was capable of carrying the total amount of iron introduced into the circulation by the injection of the above preparations, and there was no need for the mobilization of further transferrin. If, however, the unbound IBC of the plasma proved insufficient to carry the total amount of the injected iron, i.e. in case of the administration of Iron Hy Dex, Myofer and Ferridextran, the injections were followed by a rapid increase of the IBC.

Further examinations are to be performed to elucidate what biological mechanism is responsible for the rapid increase and decrease occurring in the IBC of plasma in connection with the alterations of PI. Since the possibility of such a rapid appearance of large amounts of transferrin in the blood appears to be questionable, it seems to be reasonable to assume that under extreme conditions also other protein fractions may be capable of carrying iron.

It should be noted that, according to certain experimental data, the PI concentration may exceed the degree of IBC for some time after the administration of iron-dextran preparations and consequently the TIS% may be higher than 100 per cent. Accordingly, the phenomenon that following parenteral iron supplementation unbound free iron-dextran may transitorily circulate in the blood, observed by KLEIN, FRANKEN and HIRSCHE (1959) in man, is likely to occur in pigs too.

SUMMARY

On the basis of measurements performed on 160 healthy pigs, the mean value of plasma-iron concentration (PI) was found to be 144 μg per 100 ml (μg%) with limit values 96 and 214 μg%, whereas the total iron-binding capacity (IBC) of plasma ranged from 290 to 606 μg%, with a mean of 427 μg%. The mean value of percentage saturation of transferrin with iron (TIS%) was 34 per cent, being in more than 80 per cent of the cases within a range from 27 to 42 per cent.

The sources of error involved in the great individual fluctuations in the iron concentration and IBC of the plasma may be greatly reduced by the determination of the TIS% calculable from the latter two values. The TIS% gives more correct information on the iron saturation of the organism than the determination of PI alone.

Evidence on the validity of the above statement has been derived from the experimental results obtained from 90 pigs with more or less manifest clinical signs of anaemia, selected from several hundreds of animals. In this group PI, IBC, and TIS% varied between 19—135 μg%, 500—1320 μg% and 1.7—19 per cent, respectively. Whilst on the basis of PI values under 51 μg% anaemia was demonstrable in 21.1 per cent of the cases, the TIS% revealed anaemic condition in 42 per cent of the animals. Apart from this the necessity of iron therapy was indicated by the value of PI (values from 52 to 100 μg%) in 50 per cent, whereas by the TIS% (values ranging from 10 to 20 per cent) in 58 per cent of the rest of the animals.

Tolerance tests were performed with different parenterally-administrable iron-dextran-containing preparations on 25 young pigs. The results of these experiments are suggestive that the PI depends not only on the dosage but also on the iron concentration of the preparations.

It was found that the preparations containing iron-hydro-dextran and iron-carboxy-methylhydrodextran are capable of eliciting remarkably smaller rise of PI level than the special iron-dextran preparations.

The IBC of plasma increases parallel to the abrupt rise of PI. However, if the latter increased only moderately, no significant changes could be observed in the IBC of plasma.

In cases of abrupt increase of PI, the IBC of plasma may be transitorily lower than the former. During this period the TIS% may attain or even exceed 100 per cent, indicating the presence of unbound iron-dextran in the blood.

REFERENCES

ALBRITTON, E. C.: Standard values in blood. Philadelphia and London, 1952. BARTKO, P.: Folia Vet. Cassovienses **3** (1959), 291. IDEM: Ibid. **4** (1960), 57. IDEM: Ibid. **5** (1961), 93. BEROFORD, C., GOLDBERG, L. and SMITH, J.: Brit. J. Pharmacol. **12** (1957), 107. BERNÁT, I. and KOVÁCS, E.: Katonaorvosi Szemle, 1956, 882. BERNÁT, I and FÁBER, V.: Acta Med. Hung. **18** (1962), 139. BEUTLER, E.: Amer. J. med. Sci. **234** (1957), 517. BEUTLER,

E.: Ann. Intern. Med. **48** (1958). 60. BEUTLER, E.: Blood **1** (1960), 30. BOTHWELL, J. and MALLETT, C.: Bioch. J. **50** (1955), 599. BRAUNSTEINER, H. et al.: Klin. Wschr., 1952, 394. BRENDSTRUP, P.: Acta Path. Microbiol. Scand. **33** (1953), 129. CARTHWRIGHT, G. and WINTROBE, M.: J. Clin. Invest. **37** (1949), 86. CARTWRIGHT, G. and WINTROBE, M.: J. biol. Chem. **176** (1948), 571. CARTHWRIGHT, G. et al.: J. Clin. Invest. **34** (1946). COHN, S. et Yal.: Blood **3** (1948), 471. FRÜH, U.: Untersuchungen über den Eisengehalt des Blutserums und verschiedener Organe (Leber, Milz, Muskel) bei gesunden und kranken Schweinen. Thesis Zürich, 1955. HAMILTON, L.: Endocrinology **48** (1951), 44. HINSBERG, K. and LANG, K.: Medizinische Chemie für den klinischen und theoretischen Gebrauch. Berlin, 1957. HOLMBERG, J. and LAURELL, S.: Acta Phys. Scand. **14** (1947), 46. JASINSKI, B.: Schweiz. med. Wschr., 1949, 291. JASINSKI, B. and ROTH, O.: Larvierte Eisenmangelkrankheit. Basel, 1954. KIND, A.: Helv. Med. Acta **21** (1954), 402. KLEIN, E., FRANKEN, H. and HIRSCHE, H.: Klin. Wschr., 1959, 244., KOVÁCS, E. and BERNÁT, I.: Katonaorvosi Szemle, 1956, 643. KÖSTER, H.: Der Serumeisen- und Serumkupfergehalt bei gesunden und infizierten Ferkeln im Absatzalter. Thesis. Hannover, 1962. LAKOS, A. and LEHOTAI, L.: Kísérletes Orvostudomány **12** (1960), 661. MARTIN, L. et al.: Brit. J. Pharm. **10** (1955), 375. MODY, B. et al.: J. Group of Hospitals and Grant Med. Coll. **1** (1956), 14. RECHENBERGER, J. and HEVELKE, G.: Zschr. Verdauungs und Stoffwechs. **15** (1955), 12. RIEPE, H.: Eisen- und Kupferbestimmung im Blutserum von Schweine. Thesis. Hannover, 1961. RIGGERT, F.: Über Eisenuntersuchungen bei Saugferkeln. Thesis. Hannover, 1954. RIVA, G.: Das Serumeiweissbild. Bern, 1957. RUMP, S.: Über den Serumeisengehalt bei normal und eiweissmangel ernährten Schweinen, Thesis. Hannover, 1961. SCHADE, A. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.) **97** (1954), 443. SILVER, S. et al.: Radioactive isotopes in clinical practice. Philadelphia, 1958. SURGENOR, L. et al.: J. Clin. Invest. **37** (1949), 1. THODENHÄFERN, H.: Untersuchung über den Eisengehalt des Blutserums vom Schwein. Thesis. Hannover, 1953. ULLREY, E. et al.: J. Nutr. **70** (1960), 187. WUHRMANN, F. and JASINSKI, B.: Klin. Wschr., 1955, 97.

BEITRÄGE ZUR ÄTIOLOGIE DES BLUTIGEN ÖSTRUS VON JUNGKÜHEN

Von

J. HARASZTI

Lehrstuhl und Klinik für Geburtshilfe (Leiter: Prof. K. BÖLCSHÁZY) der Veterinärmedizinischen Universität, Budapest

(Eingegangen am 9. Juli 1963)

ZIETSCHMANN hat bereits 1911 darauf hingewiesen, daß im Uterus junger Kühe anläßlich des Östrus mitunter Blutungen auftreten, die hauptsächlich nach Abklingen der äußeren Östrussymptome in Form von blutigem Scheidenausfluß wahrgenommen werden. Ähnliche Erscheinungen erwähnte auch HAMMOND (1927). Ihrer Meinungen nach ist die Blutung eine Folgeerscheinung der sehr ausgeprägten Hyperämie, die mitunter zur Epithelschwellung und zum Erscheinen von Blutungen im Uteruslumen führt. Die Richtigkeit dieser Auffassung bestätigten auch die Beobachtungen von ZIETSCHMANN und KRÖLLING (1955) sowie VOLLMERHAUS (1957). Die Forscher sind sich darüber einig, daß die Erscheinung mit wechselnder Intensität eher nur bei jungen Tieren vorkommt (ASDELL, 1946). In den letzten 10 Jahren wandte sich indessen die Aufmerksamkeit im Zusammenhang mit der Untersuchung der Krankheitsursachen der Sterilität nicht infektiver Herkunft sowohl in Ungarn wie im Ausland den Fütterungsstörungen zu, die nach Meinung einiger Autoren auch die blutige Brunst der Rinder hervorrufen können. So führen VANDEPLASSCHE (1952) und SCHREIBER (1954) die Funktionsstörungen und pathologischen Veränderungen des Endometriums auf Fütterungsfehler und etwa die Hälfte der Genitalinfektionen auf die infolge Fütterungsanomalien gesteigerte Infektionsbereitschaft zurück. Von den einheimischen Forschern waren die Bahnbrecher auf diesem Gebiet SZÉKY und DÓZSA (1956), HORVÁTH, KISZELY und MÉSZÁROS (1958, 1960, 1961) sowie BECZE und PÁSZTOR (1960). Die Blutungen und anderen Infertilitätsschädigungen innerhalb der einzelnen Bestände beruhen demnach auf unrichtiger Fütterung, in erster Linie auf mangelhafter Vitamin- und Mineralstoffversorgung, insbesondere auf Phosphormangel. Diese bilden die Ursache der funktionellen Endometrialstörung, die neben den histologischen Veränderungen (hochgradige lymphozytäre Infiltration in der Epithelschicht des Endometriums unter der Propria, Vermehrung der Bindegewebszellen und Degeneration der Uterusdrüsen) auch charakteristische Veränderungen im Stoffwechsel des Endometriums hervorruft und sich u. a. in einer Verschiebung der histochemischen Reaktionen — hauptsächlich der Phosphatase- und Glykogenbildung — manifestiert. Sofern die erwähnten Störungen im juvenilen Alter auftreten, äußern sie sich eher mit ovarialem Charakter, im Erwachsenenalter eher mit uterinalem Charakter. Als konkrete Ursache der blutigen Brunst betrachten HORVÁTH, MÉSZÁROS und KISZELY (1958) den Phosphormangel, LOVAS (1962) den Nikotinsäuremangel, während BECZE (1962) die Blutung unter Hinweis auf Literaturangaben als eine Noxe neurohormonaler Herkunft bezeichnet. Die mehrjährigen Beobachtungen von MARSHALL (1956) und PRACHOFF (1959) (beide zit. BECZE) lassen denselben Schluß zu.

Eigene Untersuchungen

Die eigenen Untersuchungen wurden im Mai und Juni 1962 in einem Großbetrieb durchgeführt. In dieser Wirtschaft war nach dem normalen zyklischen Östrus der 2—2½jährigen Jungkühe am 3.—4. Tage ein reichlicher, blutiger, schleimiger Ausfluß aufgetreten. Der blutig-schleimige Fluor hielt etwa 24 Stunden an, wonach das Scheidensekret an den folgenden Tagen, mehr und mehr verblassend, rosafarbig, am 5.—6. Tage nach dem Östrus farblos

wurde und schließlich nicht mehr zutage trat. In dieser Zeit war keine wesentliche Störung im Allgemeinzustand der Tiere zu beobachten. Eine Ausnahme bildeten zwei Kalben, bei denen mehr blutiges Sekret auftrat als bei den anderen Tieren und die am Blutungstage etwas matter waren und weniger fraßen. Wegen des ungünstigen, kalten, windigen Frühlingswetters wurden die Tiere erst Mitte Mai auf die Weide geschickt, doch bekamen sie auch schon etwa 2 Wochen zuvor grünes Mähfutter. Im übrigen bestand das Futter der Kalben aus gemischtem Silofutter mittelmäßiger Qualität, Wiesenheu und Futterstroh. Die stichprobenartig bei 5 Kühen und 5 Kalben vorgenommenen Blutserumuntersuchungen ergaben folgende Durchschnittswerte: Anorg. Phosphor 5—6,2 mg%, Kalzium 10—13 mg%, Karotin 180—270 mg%. Die niedrigeren Karotin- und Phosphorwerte kamen eher bei den untersuchten Kalben vor. Die Tiere waren gut entwickelt und in guter Kondition. Bei der Rektaluntersuchung hatten die Ovarien im allgemeinen die Größe und Form einer kleinen Pflaume, auch waren sie bei der Betastung elastisch. An ihrer Oberfläche fühlten wir mehrere kleinere pralle und elastische Erhebungen. Die Uterushörner waren fingerdick und kontrahierten lebhaft bei der Betastung. Späterhin entnahmen wir dem Endometrium von 16 Jungkalben an dem Tage, an welchem das auf den Östrus folgende blutige Sekret erschien, oder am nächsten Tage bioptisches Material. Ein Teil dieses Materials wurde für die Zwecke der Hämatoxylin-Eosinfärbung sogleich nach Herausnahme in 10%iger Formalinlösung fixiert, der andere Teil zum Nachweis der alkalischen und sauren Phosphatase-Enzyme bzw. nach der LISON-VOKAERschen Fixierung zum Glykogennachweis verwendet. Nach Fixierung und Paraffineinbettung wurden an den 7 μ dicken Schnitten die Hämatoxylin-Eosinfärbung, der alkalische und saure Phosphatasenachweis und die HOTCHKISSsche Perjodsäurefärbung vorgenommen.

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen

Das Endometrium war mit ein-zweischichtigem, unzusammenhängendem Zylinderepithel von mäßiger Höhe besetzt. Stellenweise befindet sich wenig Sekret an der Epitheloberfläche, in dem hier und da hellere runde oder ovale desquamierte Zellkerne und Erythrozyten zu sehen sind. Die Zellkerne weisen Eierform auf und färben sich gut. An mehreren Stellen erhebt sich das dünner gewordene Epithel von der Subepithelialschicht bzw. löst es sich ab oder hat sich schon in Fetzen desquamiert. Die Epithelzellen der Schleimhaut sind mäßig länglich und zeigen geringe Sekretproduktion. Im Bereich des breiten Stratum compactum sitzen die Stromazellen kompakt, eine Auflockerung sieht man nur in der dem Stratum reticulare nahen Region. In der Stratum compactum-Schicht ist das Kapillarnetz hyperämisch, perivaskulär sind freie Erythrozyten anzutreffen. Die Stromazellen des Stratum reticulare haben einen

fortsatzartigen Körper, die Zellkerne sind oval, nicht selten geschwellt und etwas heller. Hin und wieder, hauptsächlich perivaskulär und im Umkreis der Drüsen, treten neutrophile Granulozyten und Lymphozyten in Erscheinung. In diesem Bereich sieht man ein ausgeprägt diffuses Ödem, und das Serum enthält auch Erythrozyten. Nicht selten ist die Propria so hochgradig ödematös infiltriert, daß die Uterusdrüsen als selbständige Inseln erscheinen. Auffallend sind die zahlreichen kleineren und größeren erweiterten Blutgefäße. Perivaskulär sehen wir große ödematöse Gebiete. Stellenweise ist auch die Wand der

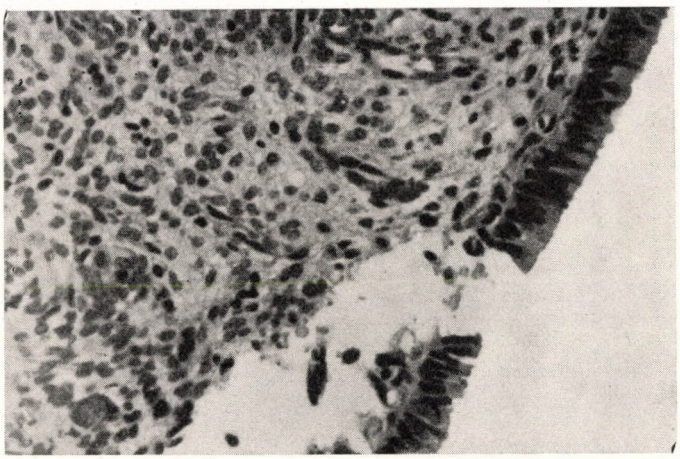


Abb. 1. Endometrium einer Kalbe. Das Epithel erhebt sich von der Basis. 150fache Vergrößerung

Gefäße so stark infiltriert, daß die Gefäßwandschichten nicht mehr erkennbar sind. Die herausgetretenen Erythrozyten finden wir nicht nur in der Wand der destruierten Gefäße, sondern auch frei neben den Kapillaren. Lebhafte Drüsenhypertrophie und Drüsenproliferation sind wahrnehmbar. Die Drüsenendkammern zeigen ein variables Bild. Erweiterte Endkammern wechseln mit weniger erweiterten ab, und nicht selten sieht man die aus knäuelartig angeordneten Drüsenepithelzellhaufen bestehenden Drüsenausführungsgänge. Die Endkammern sind meistens mit ungeordnetem, wiederholt auch in mehreren Reihen angeordnetem, mäßig hohem, wenig Plasma enthaltendem Drüsenepithel ausgekleidet. Hier und da sieht man verstreut einen schmalen hellen Hof um einzelne Drüsenepithelzellen. Im Lumen der Drüsenendkammern tritt ein körniges Sekret an der Oberfläche der Zellen hervor. Die Epithelzellen der tiefer gelegenen Drüsen sind niedrig, ihr Kern ist klein, füllt den Zellkörper fast ganz aus und ist dunkel gefärbt. In ihrem Lumen ist wenig körniges Sekret sichtbar. Im Hohlraum der Drüsenendkammern sind fast überall desquamierte, abgestoßene Epithelzellen in wechselnder Menge vorzufinden. In den tieferen Regio-

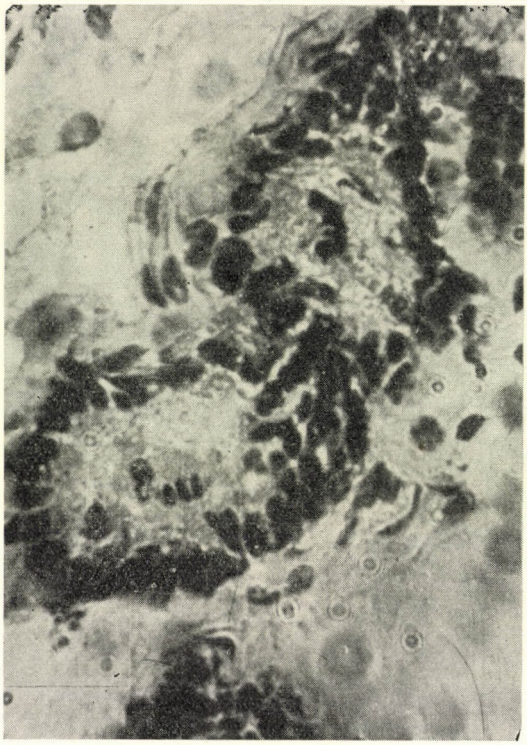


Abb. 2. Mit mäßig hohem Drüsenepithel ausgekleideter Drüsenendkammerabschnitt. Körniges Sekret und desquamierte Drüsenepithelzellen im Lumen. 400fache Vergrößerung

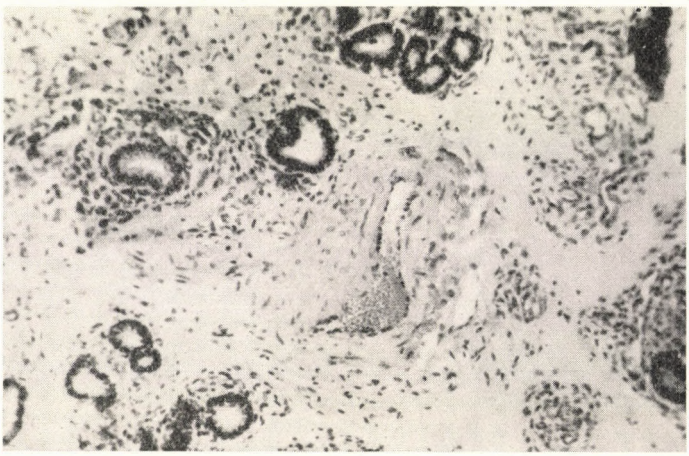


Abb. 3. Stark erweitertes Blutgefäß im aufgelockerten Stroma. 90fache Vergrößerung

nen des Stratum reticulare ist bereits weniger Infiltration wahrnehmbar, die Fasern und Kerne sind dichter angeordnet und dunkler gefärbt.

Bei den histochemischen Untersuchungen war die Glykogenbildung kaum wahrnehmbar bzw. negativ. In der erhobenen oder gerade noch an ihrem Platze befindlichen spärlichen oberflächlichen Epithelschicht ist mittelstarke Alkaliphosphatase-Reaktion an der Oberfläche der Epithelzellen zu beobachten. Gleichzeitig zeigen alle Stromaschichten im Umkreis sowohl der Gefäße wie Drüsen eine ungewöhnlich starke Reaktion. Das Drüsenepithel reagiert sehr schwach, kaum positiv. Die Reaktion der sauren Phosphatase im Epithel und unmittelbar im subepithelialen Stroma ist mäßig, in den Drüsenepithelzellen negativ.

Zusammengefaßt darf festgestellt werden, daß das Erscheinen des blutigen Östrussekretes nicht ausschließlich den Haltungs- und Fütterungsfehlern zur Last geschrieben werden kann; dies geht sowohl aus den Resultaten der Blutuntersuchungen als auch daraus hervor, daß die Erscheinung nur bei Kalben vorkam (zu etwa 70%, bei 21 von 30 Tieren), bei den Kühen jedoch nicht, obwohl sie dasselbe Futter erhielten. Auch die Gewebselemente im Endometrium der Kalben zeigten nicht das gewohnte, für die normale Zyklusfunktion bezeichnende Bild. Das Stroma enthält ein reichliches, erweitertes Kapillarnetz. In der Propria, hauptsächlich in ihrem mittleren Drittel, war ungewöhnlich starkes Ödem, perivaskulär und in den ödematösen Gebieten waren herausgetretene Erythrozyten zu sehen. Die Drüsenepithelzellen zeigten kaum oder nur in geringem Maße Sekretproduktion. Ein Teil der Drüsenepithelzellen war degeneriert und der Hohlraum der Drüsen mit abgestoßenen Epithelzellen und Sekretkonglomerat angefüllt. Besonders charakteristisch waren die histochemischen Befunde. Eine auffallend intensive Alkaliphosphatase-Reaktion im Stroma und zugleich eine geringe, kaum wahrnehmbare Glykogenerzeugung im ganzen Endometrium traten zutage. MEYER erwähnte bereits 1913, das Erscheinen von Glykogen sei ein Charakteristikum der Sekretion. Nach ATKINSON und ELSTMANN (1947) nimmt die Enzymwirkung der Alkaliphosphatase mit der Erhöhung des Östronspiegels zu, während sie bei fortschreitender Sekretion langsam schwächer wird. Laut OBER (1950) ist die Steigerung oder Verringerung der Enzymwirkung von Follikulin und Progestin abhängig. Ersteres steigert, letzteres vermindert ihre Aktivität. KISZELY (1963) stellte gleichfalls bei Gewebskulturuntersuchung fest, daß Glykogengehalt und Phosphataseaktivität des Endometriums in umgekehrtem Verhältnis zueinander stehen.

Der hohe Alkaliphosphatase- und negative Glykogenwert bei den 16 untersuchten Kalben spricht für ein ungünstiges Östron-Progesteron-Verhältnis. Dasselbe bekräftigt auch die schwache Reaktion der sauren Phosphatase, die nur im Oberflächenepithel mäßig positiv, in den anderen Schichten aber negativ war, obwohl in der normalen Sekretionsphase gewöhnlich ein stark

positiver Wert zutage tritt; dabei erfolgten die histologischen Untersuchungen hauptsächlich am 4.—5. Tage nach dem Östrus, zu einem Zeitpunkt also, zu dem unter normalen Verhältnissen der Follikulinspiegel wesentlich sinken und der Progesteronspiegel bedeutend steigen müßte. In diesem Falle bleibt aber die von Progesteron abhängige Glykogenproduktion aus. Da die Follikulinwirkung durch das wenige, sich antagonistisch verhaltende Progesteron nicht gehemmt wird, bleibt sie unverändert stark und verlängert die für den Östrus an und für sich charakteristische aktive Hyperämie. Im vorliegenden Fall ist somit das quantitative und zeitliche Mißverhältnis zwischen Östron- und Progesteronspiegel, die Verschiebung ihres normalen Verhältnisses zugunsten von Östron, die Ursache der permanenten Hyperämie, die zur Erhebung bzw. Desquamation des Oberflächenepithels sowie zum Auftreten von Blutungen per diapedesim führt und — nachdem sie auf die Oberfläche des Endometriums gelangt — die Verfärbung des Östrusschleims zustande bringt. Diese hormonale »lokale Disharmonie« zwischen Östron und Progesteron läuft in der Regel innerhalb von 3—4 Tagen nach dem äußeren Erscheinen des Östrus ab und endet, wenn auch verspätet, zugunsten des einen höheren Spiegel zeigenden Progesterons, so daß reichlicher, blutiger, schleimiger Scheidenausfluß in Erscheinung tritt. Sehr wahrscheinlich bewirkt dieser Prozeß auch eine zeitliche Verschiebung der Ovulation. Für diese Überlegung spricht übrigens auch die praktische Beobachtung, daß eine etwa 50%ige Konzeption erreicht werden kann, wenn die Befruchtung in dieser Periode wiederholt wird. Es handelt sich hier um eine zweifache endokrine Störung: einerseits zieht sie die Veränderung des Stoffwechsels nach sich, anderseits stellt die neurohormonale Störung an der Grenze des juvenilen und Erwachsenenalters eine Folge der Veränderung und vorübergehenden Schwankung des Stoffwechsels dar. Dieser Zustand wird nicht selten noch durch Fütterungsstörungen verschlimmert, welche auch die Adenohypophysenfunktion schädlich beeinflussen. Eben deshalb normalisiert sich die vorübergehende endokrine Störung rasch, wenn sich das Tier viel im Freien bewegt und zugleich mit genügend Vitaminen, anorganischen Substanzen und Eiweißstoffen versorgt wird. Im ausgewachsenen Alter (bei Kühen) kommt die Anomalie nur noch ausnahmsweise vor. Dieser im Grunde genommen noch nicht pathologische Prozeß kann sich zu einem solchen entwickeln, wenn auf das junge Tier in diesem kritischen Stadium des beginnenden Sexuallebens schwere Haltungs- und Fütterungsschäden einwirken, die schließlich zum Endometrialkatarrh, zur Dysfunktion der Ovarien, mit einem Wort zur chronischen Infertilität führen können.

ZUSAMMENFASSUNG

Histologische und histochemische Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß der blutige Östrusschleim der Jungkühe auf der zeitlichen und quantitativen Verschiebung des Östron- und Progesteronspiegels zugunsten von Östron und zugleich auf einer Verzögerung der Ovulation beruht. Es handelt sich lediglich um eine vorübergehende neurohormonale Störung, die eine nicht als pathologisch zu bezeichnende Manifestation des sich aktivierenden Sexuallebens an der Grenze des Jungvieh- und Erwachsenenalters der Kuh darstellt.

LITERATUR

ASDELL: Patterns of mammalian reproduction. London, 1946. ATKINSON und ELSTMANN: Endocrinology **40** (1947), 3. BECZE: Magyar Állatorovosok Lapja (MÁL), 1962, 227. BECZE und PÁSZTOR: MÁL, 1960, 296. HAMMOND: The physiology of reproduction in the cow. London, 1927. HORVÁTH, KISZELY und MÉSZÁROS: MÁL, 1958, 233; 1960, 291; 1961, 299. KISZELY: Acta Morph. Hung. **3** (1963), 197. LOVAS: MÁL, 1962, 36. MEYER: Arch. Gyn. **100** (1913), 172. OBER: W. kl. Wschr. **26** (1950), 9. SCHREIBER: Tierärztl. Umsch., 1954, 270. SZÉKY und DÓZSA: Acta Vet.Hung. **6** (1956), 259. VANDEPLASSCHE: Deutsch. Tierärztl.Wschrft., 1952, 89. VOLLMERHAUS: Untersuchungen über die normalen zyklischen Veränderungen der Uterusschleimhaut des Rindes. Inaug. Diss. Giessen, 1957. ZIETZSCHMANN: Berl. Tierärztl. Wschr., 1921, 433, 445, 517. ZIETZSCHMANN und KRÖLLING: Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte der Haustiere. Berlin und Hamburg, 1955.

DIE WIRKSAMKEITSPRÜFUNG DER RAUSCHBRAND-VAKZINE

Von

GY. KUCSERA

Staatliches Kontrollinstitut für Veterinärimpfstoffe (Direktor: E. SIMONYI), Budapest

(Eingegangen am 18. Juli 1963)

Zur Prävention von Rauschbrand wird in der Praxis seit Jahrzehnten Formol-Vakzine benutzt, die wir — ebenso wie die anderen Impfstoffe — vor der Ausgabe auf ihre Reinheit, Unschädlichkeit und Wirksamkeit untersuchen. Die Wirksamkeitsprüfung erfolgte bisher an Meerschweinchen. Die mit der Vakzine immunisierten Meerschweinchen bekommen 3 Wochen nach der Impfung zugleich mit ungeimpften Kontrolltieren intramuskulär eine letale Dosis von virulenten Rauschbrandbazillen (bzw. deren Leberbouillonkultur). Nach der Prüfungsvorschrift war diejenige Vakzine geeignet, nach deren Verabreichung die geimpften Tiere am Leben blieben, während die ungeimpften innerhalb von 2—4 Tagen eingingen.

Bei diesem Prüfungsverfahren kam es indessen häufig vor, daß einzelne immunisierte Meerschweinchen verendeten, gleichzeitig aber einige ungeimpfte Kontrolltiere trotz der Infektion am Leben blieben. Der Versuch mußte daher wiederholt werden, und die unsicheren Resultate gestatteten nicht eine zuverlässige Beurteilung der Wirksamkeit.

Angesichts der geschilderten Schwierigkeiten war man schon seit langem der Ansicht, daß die Wirksamkeitsprüfung der Rauschbrand-Vakzine auf zuverlässigere Grundlagen gestellt werden muß. Die Forschungsarbeiten von HENDERSON und ROBERTS erneuernd, untersuchten PERSONEUS, COOPER und MARTINI die virulenzaktivierende Wirkung der Kalziumchloridlösung auf die Rauschbrand-Sporensuspension. Nach ihren Feststellungen werden die Meerschweinchen und weißen Mäuse bereits durch die intramuskuläre Impfung mit wenigen, in 3%iger $CaCl_2$-Lösung suspendierten Sporen sicher getötet. Bei ihren mit umfangreichen Mäusegruppen vorgenommenen Versuchen vermochten sie auch Unterschiede in der Virulenz der einzelnen Clostridium chauvoei- (feseri-) Stämme nachzuweisen.

Es erschien daher als ein gangbarer Weg, die aktivierende Eigenschaft der $CaCl_2$-Lösung bei der Prüfung der Rauschbrand-Vakzine im Interesse eines sicher positiven Ausfalls der Infektion auszuwerten. Erwünscht schien es fernerhin, die Eignung der Vakzine neben Meerschweinchen auch an einem anderen Versuchstier zu untersuchen.

Zur Standardisierung der Infektion benötigten wir eine Cl. chauvoei-Sporensuspension, die homogen war und längere Zeit ohne Wirkungsvermin-

derung sowie ohne die Gefahr einer Verunreinigung mit fremden Keimen aufbewahrt werden konnte.

Für die Herstellung einer derartigen Sporensuspension war die in anaeroben Kulturen im allgemeinen benutzte TAROZZIsche Leberbouillon ungeeignet, weil sie auch nach gründlichster Zerreibung nur eine sehr grobe Suspension ergab und die gleichmäßige Verteilung der Masse nicht gewährleistet werden konnte. Deshalb setzten wir der gewöhnlichen Pferdefleischbouillon nach Erhitzung im Wasserbad bei 100° C während 30 Minuten und plötzlicher Abkühlung 10% steriles Pferdeblutserum zu. Die auf diese Weise behandelte Bouillon wurde sogleich eingeimpft und — mit Paraffin steril verschlossen — bei 37° C inkubiert. Mit diesem Züchtungsverfahren erzielten wir eine sehr günstige Bakterienentwicklung, die auch aus der starken Gasentwicklung hervorging. Versäumten wir die Zugabe von Pferdeblutserum, so entwickelten sich die Rauschbrandbazillen nur sehr schwach (die Typen C und D von Cl. perfringens vermehrten sich bei Anwendung der beschriebenen Technik gut auch in dieser, Blutserum nicht enthaltenden Bouillon).

Die serumhaltigen Cl. chauvoei-Bouillonkulturen ließen wir 48 Stunden im Thermostaten und dann noch 10 Wochen bei Zimmertemperatur stehen. Die Kulturen mit vollkommener Sporenbildung wurden zentrifugiert und anschließend mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, die zur Vermeidung einer Infektion mit fremden Keimen Kristallviolett (in der Endverdünnung 1 : 150 000), Natriumazid (in der Endverdünnung 1 : 1500) und Chloralhydrat (in der Endverdünnung 1 : 1250) enthielt. Nach dem Waschen resuspendierten wir das Sporensediment in einer dieselben Konservierungsmittel enthaltenden physiologischen Kochsalzlösung auf die Weise, daß die Suspensionsflüssigkeit nur etwa die Hälfte der ursprünglichen Bouillonkultur ausmachte. Die so gewonnene konservierte Sporensuspension wurde im Interesse einer gleichmäßigeren Sporenverteilung 30 Minuten mit Glasperlen geschüttelt und 24 Stunden bei 37° C in den Thermostaten gestellt. Gegenüber der Keimzahl von 10^6—10^7 der ursprünglichen Bouillonkulturen betrug die Keimzahl in der hergestellten Sporensuspension trotz der Einkonzentration — wahrscheinlich infolge der Waschverluste — 10^6, doch enthielt sie keine fremden Keime. Die Suspension wurde in der glasperlenhaltigen Flasche bei Kühltemperatur mit Gummistöpsel verschlossen aufbewahrt und vor Gebrauch stets gründlich geschüttelt. Diese Sporensuspension benutzen wir seit mehr als 2 Jahren, ohne daß sich die Sporenzahl oder die Pathogenität verringert hätte oder eine Verunreinigung mit fremden Keimen zustande gekommen wäre.

Die Pathogenität der Sporensuspension titrierten wir an Meerschweinchen, Mäusen und Schafen. Von der mit 3% $CaCl_2$ verdünnten Sporensuspension wurden die 300—400 g schweren Meerschweinchen, wenn wir 0,3 ml von der Verdünnung 10^{-5} in den Oberschenkelmuskel impften, binnen 36—72 Stunden getötet. Nach Injektion stärkerer Verdünnungen verendeten die

Tiere erst mehrere Tage später und nicht sicher. Die gleichzeitig mit den mittels physiologischer Kochsalzlösung zubereiteten Verdünnungen behandelten Meerschweinchen blieben am Leben, ja selbst die unverdünnte Sporensuspension führte das Ableben der Meerschweinchen nur unsicher herbei. Bei den allein mit 0,3 ml 3%igem $CaCl_2$ intramuskulär beimpften Meerschweinchen sahen wir keinerlei Erkrankungssymptome.

Auf Grund der Untersuchungen von PERSONEUS und Mitarbeitern führten wir Versuche an weißen Mäusen durch. Als Versuchstier wäre die Maus dem Meerschweinchen gegenüber deshalb vorteilhaft, weil sie billiger ist und die Untersuchungen daher mit größeren Versuchsgruppen vorgenommen werden könnten. Dies würde auch die Wertbestimmung der Vakzine ermöglichen und die Reproduzierbarkeit des Versuches erleichtern. Anfangs infizierten wir die Mäuse mit 0,25 ml der mit 3%igem $CaCl_2$ verdünnten, mehrere Monate alten TAROZZIschen Leberbouillonkulturen in den Oberschenkelmuskel. Später benutzten wir 10% Pferdeblutserum enthaltende Bouillonkulturen. Schließlich diente als Infektionsmaterial die aus diesen Bouillonkulturen zubereitete Sporensuspension. Wie die an mehreren hundert Mäusen durchgeführten Versuche zeigten, ergibt die Anwendung der TAROZZIschen Leberbouillonkulturen aus den bereits erwähnten Gründen — namentlich deshalb, weil trotz der sorgfältigsten Zerreibung keine homogene Suspension aus ihnen hergestellt werden kann — keine zuverlässigen Resultate. Von den serumhaltigen Bouillonkulturen und noch eher von den mit 3%igem $CaCl_2$ zubereiteten Verdünnungen der Sporensuspension wurden die Mäuse bereits etwas regelmäßiger getötet Der Titer der Sporensuspension betrug bei diesen Versuchen $LD_{50}\,10^{-5}$—10^{-6}. Ferner fiel auf, daß mit der Mäusetitrierung ein Virulenzunterschied zwischen den bei unseren Untersuchungen benutzten 2 Rauschbrand-Laboratoriumsstämmen festzustellen war. Während der Mäusetiter des Stammes Nr. 1 10^{-5}—10^{-6} betrug, machte der des Stammes Nr. 9 nur 10^{-2}—10^{-3} aus. Bei den weiteren Versuchen verwendeten wir den Stamm Nr. 1. Bei Titration der serumhaltigen Bouillonkulturen beobachteten wir, daß die Pathogenität der länger bei Zimmertemperatur aufbewahrten Kulturen, an Mäusen titriert, eine gewisse Zeit lang zunahm. Während der Mäusetiter der 24stündigen Kulturen 10^{-4} war, betrug der der 48stündigen $10^{-4,5}$, der der 72stündigen $10^{-5,5}$ und der der 5—7tägigen gleicherweise 10^{-6} LD_{50}.

Als Versuchstier erprobten wir auch das Schaf, und zwar 6—12 Monate alte nicht geimpfte Tiere. In Übereinstimmung mit TOMIĆ und FORŠEK stellten wir fest, daß die Schafe der Cl. chauvoei-Infektion gegenüber wesentlich größere Empfindlichkeit zeigen als Meerschweinchen oder Mäuse. Von den zur Prüfung von Vakzinen als ungeimpfte Kontrolltiere benutzten 59 Schafen wurden 54 mit 0,5 ml Brei der 48stündigen TAROZZIschen Leberbouillonkultur von Cl. chauvoei und 5 mit 0,5 ml der mit 3%igem $CaCl_2$ zubereiteten Verdünnung 10^{-2} der weiter oben beschriebenen Sporensuspension intramuskulär in die

Oberschenkelinnenseite infiziert. 56 der 59 ungeimpften Schafe gingen ein (95%). Sämtliche 3 am Leben gebliebene Tiere waren mit TAROZZIscher Bouillonkultur geimpft worden. Eines der Tiere zeigte vorübergehend klinische Symptome (Hinken, Schwellung im Umkreis der Impfstelle, Fieber, Freßunlust), während die anderen beiden nicht einmal erkrankten. Im allgemeinen erkrankten die Schafe 12—72 Stunden nach der Infektion, und 20—96, im Durchschnitt 40 Stunden später verendeten sie unter den für Rauschbrand charakteristischen klinischen und pathologisch-anatomischen Symptomen. Aus der Tatsache, daß nur 190 von den zur Prüfung der Vakzinen benutzten ungeimpften 222 Kontrollmeerschweinchen (85,5%) eingegangen sind, geht hervor, daß das Schaf auf die Rauschbrand-Infektion empfindlicher reagiert als das Meerschweinchen. Die Mäuse erwiesen sich noch weniger empfindlich als die Meerschweinchen. Von den mit 0,25 ml der TAROZZIschen Cl. chauvoei- und serumhaltigen Bouillonkulturen sowie der auf die beschriebene Weise zubereiteten Sporensuspensionen in den Oberschenkel infizierten 78 Mäusen sind nur 47 (60,2%) eingegangen.

Den Versuchsergebnissen zufolge können die Schafe auch besser als die Meerschweinchen oder Mäuse gegen Rauschbrand immunisiert werden. Von den 1954—1962 untersuchten 45 Rauschbrand-Formolvakzinen wurden anläßlich der Aktivitätsuntersuchungen 53 der mit 3—4 ml subkutan geimpften 263 Meerschweinchen (20,1%) nach Infektion von Rauschbrand getötet. Zugleich gingen nur 4 der mit 5 ml Vakzine immunisierten Schafe (5,1%) ein. Und auch von diesen litten 2 an einer anderen Krankheit (Lungenhelminthose, Leberegelseuche), so daß sie hochgradig kachektisch waren. Dies erklärt, warum die Impfung keine Immunisierung herbeiführte. Von den mit 0,25 ml der Versuchsvakzinen subkutan geimpften 114 Mäusen sind nach der Infektion 61 (55,2%) eingegangen.

Die Ergebnisse der beschriebenen Versuche ermöglichten es, die Infektion bei der Wirksamkeitsprüfung der Rauschbrand-Vakzine zu standardisieren. Durch die intramuskuläre Einspritzung der in 3%igem $CaCl_2$ suspendierten Cl. chauvoei-Sporen werden von den Versuchstieren die Meerschweinchen und Schafe sicher getötet. Hingegen zeigen die Schafe entschieden größere Empfindlichkeit der Rauschbrand-Infektion gegenüber als die Meerschweinchen. Die Mäuse verenden nach der Infektion nur unsystematisch und ziemlich unregelmäßig. Die zur Infektion benutzte Sporensuspension vermag man mit Chemikalien so zu konservieren, daß sie im Kühlschrank mindestens 2 Jahre aufbewahrt werden kann, ohne daß eine Verunreinigung mit fremden Sporen und eine Verminderung der Sporenzahl sowie der Pathogenität eintritt. Die mit den Rauschbrand-Formolvakzinen vorgenommenen Schutzproben bestätigten, daß Schafe besser immunisiert werden können als Meerschweinchen.Auf dieser Grundlage werden nunmehr auf unseren Vorschlag hin bei der Wirksamkeitsprüfung der Rauschbrand-Vakzine Schafe statt Meerschweinchen

verwendet. Auf diese Weise läßt sich nicht nur die Wirksamkeit, sondern auch die Unschädlichkeit der Vakzine zuverlässiger feststellen, weil die Prüfung an Tieren derselben Art erfolgt, an der sie zur Anwendung kommt.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Wirksamkeitsprüfung der Rauschbrand-Vakzine mit der Meerschweinchen-Schutzprobe ergab unsichere Resultate. Es wurden Untersuchungen durchgeführt in der Absicht, für die Prüfung ein geeigneteres Versuchstier als das Meerschweinchen zu ermitteln und um die Infektion zu standardisieren. Die zur Standardisierung der Infektion benötigte Sporensuspension wurde so hergestellt, daß man gewöhnliche Pferdefleischbouillon 30 Minuten bei 100° C im Wasserbad erhitzte, dann plötzlich abkühlte und 10% steriles Pferdeblutserum zusetzte. Nach sofortiger Einimpfung wurden die Bouillons mit sterilem Paraffin verschlossen und 2 Tage bei 37° C inkubiert, anschließend noch 10 Wochen bei Zimmertemperatur aufbewahrt, dann zentrifugiert, einmal gewaschen und schließlich in einer etwa der Hälfte der ursprünglichen Bouillonkultur entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert, die zur Prophylaxe einer nachträglichen Verunreinigung Chemikalien (Kristallviolett 1 : 150 000, Natriumazid 1 : 1500 und Chloralhydrat 1 : 1250) enthielt. Die auf diese Weise hergestellte Sporensuspension bewahrte 2 Jahre lang die Sporenzahl sowie Pathogenität und war frei von fremden Keimen. Von der Suspension, mit 3%igem $CaCl_2$ verdünnt und in der Verdünnung 10^{-5} intramuskulär injiziert, wurden die Meerschweinchen sicher getötet. Neben den Meerschweinchenversuchen sind Infektions- und Immunisierungsversuche auch mit 6—12 Monate alten Schafen und 20 g schweren weißen Mäusen durchgeführt worden, wobei sich herausstellte, daß die Schafe der Cl. chauvoei-Infektion gegenüber am empfindlichsten sind, zugleich aber auch mit der Rauschbrand-Formolvakzine am besten immunisiert werden können. Während von den immunisierten Schafen nach der 3 Wochen später vorgenommenen Infektion nur 5,1% der geimpften Tiere verendeten, gingen 20,1% der Meerschweinchen bzw. 55,2% der Mäuse ein. Von den Rauschbrand gegenüber empfänglichen Kontrolltieren sind unter Wirkung der Infektion 95% der Schafe, 85,5% der Meerschweinchen und nur 60,2% der Mäuse zugrunde gegangen.

Auf Grund der Untersuchungsergebnisse wird empfohlen, die Wirksamkeitsprüfung der Rauschbrand-Vakzine an Schafen unter Benutzung einer entsprechenden Sporensuspension durchzuführen und hierbei die Infektion zu standardisieren.

LITERATUR

Pelczar, M. J. jun. et al.: Manual of Microbiological Methods. New York, 1957. Personeus, G. R., Cooper, M. S. und Martini, F. V.: Cornell Vet. **47** (1957), 361; Cornell Vet. **50** (1960), 302. Tomić, L. und Frošek, Z.: Vet. Arch. (Zagreb) **29** (1959), 347.

PREPARATION OF EXPERIMENTAL VACCINE AGAINST THE CHRONIC PARATYPHOID OF PIGS

III. FIELD TRIALS WITH FORMOLIZED ALUMINIUM-HYDROXIDE-ADSORBED, SALMONELLA TYPHI-SUIS VACCINE

By

M. PALYUSIK

Department of Epizootiology (Director: Prof. R. MANNINGER), University of Veterinary Sciences, Budapest

(Received July 22, 1963)

In the course of our previous studies pigs free of infection were immunized under laboratory conditions with an aluminium-hydroxide-adsorbed, formolized vaccine; a part of the pigs on one occasion at 3 months of age, the rest on two occasions at suckling age. Of the former 83 per cent, and of the latter, 50 per cent survived a massive artificial challenge (PALYUSIK 1964b and PALYUSIK 1964c).

In the present paper the results of field trial with formolized aluminium-hydroxide-adsorbed vaccine are described. As field trials are inevitably performed in infected stocks, the possibility had to be considered that in such stocks the active immunization will be too late at 3 months of age, by which time the active mesenchyme of the pig has sufficiently developed. Fatal cases of Voldagsen paratyphoid are known to occur mostly among pigs weaned at 3—4 months of age.

The vaccine prepared by PFEILER and KOHLSTOCK (1914) against Voldagsen paratyphoid was tested under laboratory circumstances only. By field trials performed with the vaccine prepared by SEVER and SCHNEIDER (1940) it was revealed that the immunity conferred by this vaccine was incomplete and lasted for 3—4 months only. However, the precipitated, formolized vaccine of IVANOV (1952) found wide practical application. In the Soviet Union a vaccine prepared against the paratyphoid of piglets (supposedly not Voldagsen paratyphoid) has been used for the immunization of suckling pigs (TSHUTSHKINA, 1950; OVS'YANOV *et al.*, 1957), pregnant sows (GARANIN, 1952) and for both pregnant sows and their litters (ANTIPIN, 1957, 1959; BABINKIN, 1953; IVANOV, 1961; LIPEC, 1955; MAKSIMENKO, 1955; SEREZHENKO, 1960). At present the concentrated formolized vaccine of MAL'YAVIN (1956), effective against the paratyphoid, pasteurellosis and diplococcal septicemia of pigs, is the officially approved paratyphoid vaccine in the Soviet Union (BOIKO, 1959).

Experimental

Preparation of formolized aluminium-hydroxide-adsorbed paratyphoid vaccine

For the purpose of field trial several batches of the formolized aluminium-hydroxide-adsorbed paratyphoid vaccine were prepared according to the procedures described earlier (PALYUSIK, 1963, 1964a, b, c), except that the

diphasic *Salmonella typhi-suis* bacteria were incubated for a longer time, i.e. for 48 hours at 37° C, on common agar in Roux flasks. The purity of the cultures was tested on samples taken from every flask during the first 24 hours of incubation. The samples were examined under the microscope and subcultured. After incubation the cultures were washed off the agar with saline. As suggested by Joó (1960), the usual washing of the dense bacterium suspension by repeated centrifugation was omitted, so that the antigens dissolved in the saline and in the condense water were also utilized in the vaccine. In accordance with our previous experiences, the density of the bacterium suspension was adjusted to absorb 76—77 per cent of light in "Labor one-cell" photometer*, i.e. the final suspension contained approximately 7.4×10^9 live germs per ml. The bacteria were adsorbed to 2 per cent aluminium-hydroxide, produced by the Phylaxia State Institute for Biological Products, Budapest. In dependence on the aluminium-hydroxide used (common or loose gel), 25 to 60 ml were added to every 100 ml of vaccine. The bacteria were killed with 0.5 per cent formalin, which also served for preservation. The pH of the vaccine was adjusted to 7.2.

The sterility of the vaccine was tested by cultivation under aerobic and anaerobic conditons, as well as by inoculation into guinea pigs.

Inoculation reaction.

General reaction.

In suckling piglets and weaned pigs free of infection, no general symptoms were observed even when doses as large as 10 ml were given.

However, in apparently healthy animals belonging to stock infected with Voldagsen paratyphoid, clinically more or less manifest, generalized side reactions could be observed.

In one of the infected stocks the generalized inoculation reaction was studied after subcutaneous vaccination. The severity of the symptoms was dependent on the age of the animal. In brood male hogs of about 130 kg body weight, 15 ml doses of the vaccine caused no inoculation reaction whatever, whereas the weanlings, 14—19 kg in weight, inoculated with 3—5 ml vaccine exhibited depressed appetite and slight tiredness on the day of vaccination. However, no other untoward effects of the vaccine could be observed in these young animals. The reaction to the administration of 10 ml vaccine was very severe in adult pigs of 50—55 kg weight. These animals rested much on the day of vaccination and also on the following day, and their food ingestion was poor, if any.

In order to examine the effect of vaccination in pigs suffering from Voldagsen paratyphoid, 11 sick animals, belonging to an infected farm stock, were

* Made in Hungary.

given 4 ml vaccine each. Simultaneously, another 11 sick animals were used as unvaccinated controls. The 22 animals received no drug therapy, and all of them died of the Voldagsen-paratyphoid, the vaccinated pigs earlier than the unvaccinated ones, and the former also exhibited more severe lesions at autopsy.

Among the clinically healthy animals of the infected stock the vaccination was never fatal in outcome.

Local reaction. The local reaction exhibited by suckling pigs and partly also by weanlings and adult pigs, regardless whether they belonged to infected or non-infected stock, was an itching pain of short duration immediately upon vaccination and later a swelling at the site of injection, where occasionally a superficial cutaneous necrosis of lentil-size developed.

Results

In co-operation with the competent veterinarians in charge of the stock used for the field trial, the author first vaccinated weaned pigs and later only suckling pigs in several swine-breeding farms and bacon-pig-raising stations, situated in different parts of Hungary. The effectiveness of the experimental vaccine was evaluated on the basis of the data obtained from a total of 5487 animals, out of which 2657 were vaccinated and 2830 were used as unvaccinated controls. These figures do not represent all the animals involved in the field trial.* The immunized pigs were labelled by ear-perforation. Voldagsen paratyphoid was diagnosed at post-mortem examination, and, if necessary, by bacteriological tests.

Immunization of weaned pigs. Generally the weaned pigs were given 1 $\times$ 4 ml vaccine subscutaneously; occasionally some animals received 1 $\times$ 2 ml or 2 $\times$ 2 ml. In the latter case the interval between the two vaccinations was 3 or 4 weeks. In the majority of cases the observation of experimental animals was possible for 3—6 months following vaccination, whereas in several

* The data obtained from a strict experiment performed on 200 vaccinated and 200 unvaccinated weanlings could not be included in the evaluation of the field trial. Out of these animals not one died of Voldagsen paratyphoid throughout an observation period of 10 months, although among their mates not admitted to the experiment, 8 fatal cases of the disease occurred. At two other farms, where fatal cases of Voldagsen paratyphoid occurred prior to vaccination, no fatalities occurred during the subsequent observation period. In another experiment, out of 239 vaccinated weanlings only 4 died of Voldagsen paratyphoid during an observation period of 9 months; since, however, no animal was left unvaccinated in this group, the results obtained were excluded from the general evaluation. In this case we vaccinated the whole stock at request of the manager of the collective farm, because at the same farm a previous experimental vaccination, including control animals, had had favourable results.

In a farm hog cholera, in another a disease caused by haemolytic *E. coli* interfered with the evaluation of vaccination. In several cases the results could not be collected for different reasons.

cases the observation period was as short as 1½ months and only occasionally could be prolonged to 8½—10 months. The results are summarized in Table I.

Table I

Results of active immunization of weaned pigs against Voldagsen paratyphoid

Date of first vaccination	Age of vaccinated animals (weeks)	Dosage (ml)	Interval between the two vaccinations (weeks)	Observation period (months)	Immunized		Control	
					Total	Died of Voldagsen paratyphoid	Total	Died of Voldagsen paratyphoid
24th February	10—12	2×2	4	8½	50	2	50	10
25th February	9—10	2×2	4	8	70	1	76	11
2nd June	8—12	1×4	—	2	107	18	28	22
3rd June	8—12	1×4	—	3	218	16	181	26
13th June	10	1×4	—	5½	29	1	24	2
16th June	12	1×4	—	6	70	3	65	19
2nd July	8—24	1×4	—	3	23	7	20	5
2nd August	10	1×4	—	4	86	1	71	6
3rd August	12—16	1×2	—	2	100	10	405	92
25th August	8—10	1×4	—	6	50	2	52	11
16th September	10	1×4	—	2½	71	2	79	4
24th October	10	1×4	—	1½	156	2	183	5
18th November	10	2×2	3	4½	96	12	118	19
23rd December	10	1×4	—	4	124	37	33	14
				Total	1250	114	1385	246
						9.12 per cent		17.75 per cent

As shown in Table I, in comparison to vaccinated animals, the number of fatal cases of Voldagsen paratyphoid was almost twofold among the unvaccinated controls. Examination of the results obtained revealed that active immunization was remarkably less effective in stock massively infected with Voldagsen paratyphoid and in stocks where hygienic conditions and feeding were inadequate.

In sum, active immunization protected 48.65 per cent of the vaccinated weaned pigs.

Immunization of suckling pigs. In view of the fact that in infected stock active immunization of weaned pigs is not of full practical value, the immunization of suckling pigs was attempted. As we had no knowledge of the state of infection of the sows in the infected stocks, every litter was divided into two parts, one of which was vaccinated and the other served

as unvaccinated control. The piglets were weaned at 8 to 10 weeks of age. As far as it was possible, the two vaccinations were timed to be finished prior to weaning. The results of active immunization are summarized in Table II.

Table II

Results of active immunization of suckling pigs against Voldagsen paratyphoid

Date of first vaccination	Age of sucklings at the first vaccination (weeks)	Dosage (ml)	Interval between the two vaccinations (weeks)	Observation period (months)	Immunized		Control	
					Total	Died of Voldagsen paratyphoid	Total	Died of Voldagsen paratyphoid
24th February	7—8	2×2	4	8½	35	1	30	6
24th February	4—5	2×2	2	8½	43	—	42	7
25th February	6—8	2×2	4	8	25	1	23	5
28th March	5—9	2×2	4	3½	296	—	280	7
24th August	5—6	2×2	3	7	473	—	439	6
25th August	5	2×2	2	6	45	1	43	7
15th September	5—6	2×2	2	3	490	4	588	14
			Total		1407	7	1445	52
						0.49 per cent		3.59 per cent

Whenever a vaccination schedule different from the above was applied, the results were either poor or irreal.*

As shown in Table II, out of the 1445 sucklings used as non-infected controls, 52 (3.6 per cent) died of Voldagsen paratyphoid during an observation period of 3 to $8^1/_2$ months, whereas out of 1407 immunized sucklings only 7 (0.5 per cent) died of the disease.

Accordingly, paratyphoid vaccine afforded protection to 86.18 per cent of the suckling pigs.

* In a stock massively infected with Voldagsen paratyphoid, too young, i.e. 4 weeks old suckling piglets were vaccinated similarly to weaned animals, with 1 × 4 ml vaccine. Out of the 12 vaccinated piglets 3, whereas out of the 14 unvaccinated controls 4 died of Voldagsen paratyphoid during an observation period of 3 months. At another farm 5-week-old suckling piglets received 2 × 2 ml vaccine, each at an interval of 3 weeks; in this case, however, the litters were not halved but the whole group of sucklings — 264 animals — were vaccinated. The unvaccinated controls, 3 weeks older sucklings 273 in number, were kept at a great distance from the vaccinated group. Out of the vaccinated and unvaccinated animals 9 and 3, respectively, died of Voldagsen paratyphoid. Naturally, the results of these experiments are unsuitable for comparison.

Statistical evaluation of the experimental results by means of the $\varkappa^2$-test

Regardless of whether the evaluation is based on data obtained from weaned pigs or from sucklings, the statistical calculations show that the differences are markedly significant, i.e. $P \ll 0.01$. This indicates that the protection obtained in the present experiments was not accidental but resulted from the active immune state of the animals. The value of P was calculated by means of a variant of the $\varkappa^2$ test, the so-called 2×2 contingency table, using the formula

$$\varkappa^2 = \sum\left(\frac{d^2}{m}\right)$$

The value of P was read from the table $\varkappa^2$ (degree of freedom = 1).

Vaccination of pregnant sows.

In stock infected with Voldagsen paratyphoid a total of 103 pregnant sows were vaccinated during the 3rd to 4th month of pregnancy, mainly with the aim to observe the inoculation reactions caused by vaccination. Most animals were given 5 ml, the rest 4 or 10 ml, by the subcutaneous route. The experimental vaccine caused neither general symptoms, nor abortion in any of the cases. Accordingly, the vaccine may be safely used for the immunization of pregnant sows. The possibility of the transmission of maternal immunity through the colostrum was studied by observing the litters of 12 vaccinated sows, i.e. a total of 129 piglets, for a period of more than half a year. Out of the progeny of sows immunized during pregnancy, only 1 piglet died of Voldagsen paratyphoid, whereas in the control group, consisting of 140 piglets from 12 unvaccinated sows, 15 animals died of the disease.

Discussion

As it is generally known, vaccines prepared of killed pathogens do not confer complete immunity. However, the results of the present experiments permit the conclusion that the formolized aluminium-hydroxide-adsorbed paratyphoid vaccine has relatively high immunogenic effect in field use. Accordingly, although insufficient for the eradication of the disease, the vaccine may be favourably used for the reduction of economical losses in infected stocks.

Author is indebted to Dr. A. Bakonyi, Dr. T. Bakucz, Dr. Gy. Belláń, Dr. I. Debreczeni, Dr. I. Erőss, Dr. K. Fönyedi, Dr. G. Hegedűs, Dr. M. Kajtár, Dr. P. Kapp, Dr. Z. Kiss, Dr. F. Kocsis, Dr. F. Molnár, Dr. D. Orosz, Dr. T. Polner, Dr. J. Rózsa, Dr. L. Schalkház, Dr. I. Sima, Dr. I. Szita, Dr. L. Szombatfalvy, Dr. L. Szabó, Dr. M. Szűcs, Dr. D. Tanczer, Dr. J. Váczi, and Dr. Piroska Vékes for valuable co-operation.

SUMMARY

During a field trial in pig stock infected with Voldagsen paratyphoid, formolized aluminium-hydroxide-adsorbed vaccine prepared of *Salmonella typhi-suis* bacteria gave following results:

Out of a total of 1250 weaned pigs given mostly 1 × 4 ml vaccine, 114 animals (9.12 per cent), and out of the 1385 unvaccinated controls 246 animals (17.75 per cent) died of Voldagsen paratyphoid, i.e. the rate of protection 48.65 per cent among pigs vaccinated during the weanling age.

Active immunization at the suckling age proved much more effective. As a result of vaccination of the litter halves with 2 × 2 ml vaccine at intervals of 2 to 4 weeks, only 7 (0.5 per cent) out of 1407 immunized piglets died of the disease, whereas losses from Voldagsen paratyphoid involved 3.6 per cent (52 animals) of the 1445 unvaccinated controls. Consequently, the rate of protection achieved by immunization at the suckling age was 86.18 per cent.

The value of P was markedly significant in both cases ($P \ll 0.01$).

Four to 10 ml amounts of the vaccine caused no inoculation reaction in sows in the 3rd or 4th month of pregnancy. Out of 129 piglets from 12 sows vaccinated during pregnancy 1, while out of 140 piglets from 12 unvaccinated sows 15 died of Voldagsen paratyphoid.

REFERENCES

Антипин, В. И: Ветеринария, 1957, 5/29. Антипин, В. И: Ветеринария, 1959, 7/45. Бабинькин, П. А.: Ветеринария, 1953, 8/23. Бойко, А. А.: Ветеринарное законодательство. Москва, 1959, 868 and 958. Чучкина, Е. А.: Ветеринария, 1950, 6/31. Гаранин. Ф. В.: Ветеринария, 1952, 1/42. Иванов, М. М.: Болезни свиней. Москва, 1961. Иванов, М. М.: Труды государственного научно-контрольного института ветеринарных препаратов **3** (1952), 16. Joó, I.: Annales Immunologiae Hungaricae **3** (1960), 11. Липец, Ш. З.: Ветеринария, 1955, 11/38. Максименко, А.: Ветеринария, 1955, 11/38. Малявин, А. Г.: Труды государственного научно-контрольного института ветеринарных препаратов **6** (1956), 266. Овсянов, Н. И. and Пастухов, М. Й.: Труды всесоюзного института экспериментальной ветеринарии **20** (1957), 333. Palyusik, M.: Magyar Állatorvosok Lapja, 1963, 442. Idem: Acta Vet. Hung. **14** (1964a), 71. Idem: Magyar Állatorvosok Lapja, 1964b, 37. Idem: Acta Vet. Hung. **14** (1964c), 77. Pfeiler, W. and Kohlstock, A.: Arch. Tierheilk. **40** (1914), 114. Sever, J. and Schneider, L.: Közl. az összehasonlító élet- és kórtan köréből **29** (1940), 1. Сереженко, И. Т. and Кругликов, Б. А.: Ветеринария, 1960, 8/42.

THE INCIDENCE OF REGIONAL ILEITIS IN PIGS AND IN A RABBIT

By

I. Szabó and A. Széky

Central Veterinary Institute (Director: T. Kádár), Budapest

(Received August 23, 1963)

In human medicine the term "regional ileitis" or "ileitis terminalis" has been used for a condition of unknown etiology, characterized by a marked thickening of the distal portion of the wall of the ileum and stenosis of the iliac lumen. In the present paper we report the occurrence of this pathological picture in several pigs and one rabbit and correlate our observations with literary data available on this disease, which is rather uncommon in veterinary practice.

Literature

The clinical symptoms and pathological lesions observed in regional ileitis were first described by Crohn et al. (1932). For this reason it is often called Crohn's disease. Ever since numerous authors, including Hungarians, have dealt with this subject, mainly human cases have been studied.

On the basis of the description of Crohn et al., several authors distinguished acute and chronic forms of the disease. The acute form was mostly observed in children, whereas the chronic one in persons of 20—40 years of age. The clinical symptoms of the acute form, which is said to be characterized by the proliferation of the mucous membrane of the intestine, may often be mistaken for appendicitis. The chronic form, however, is easily diagnosed even by clinical and/or X-ray examinations. (Field, Buntain and Jennings, 1953; Löblovics and Besznyák, 1962.)

Initially only the lesions of the distal iliac loop were observed. Later on, similar lesions were found also in other portions of the small intestine and in the large intestine as well. For this reason the name "enteritis terminalis" was suggested by Király (1949). Recently, however, the term 'regional ileitis" has been used most frequently (Löblovics and Besznyák, 1962).

According to Haranghy (1959), the thickening of the intestinal wall is caused by tissue proliferation, infiltrated with lymphocytes, plasmocytes and eosinophils. Giant cells of variable shape, some of them of Langhans-type, may also occur. In the proliferating tissue several foci, formed of epitheloids and giant cells, similar to tubercles, but not turning caseous, were also observed. Because of the marked shrinking of the proliferated tissue, the intestinal lumen becomes remarkably narrow. In the stenotic segment of the ileum the destruction of the mucous membrane and hypertrophy of the mesenteric lymph nodes take place. Perforation is rather uncommon in human cases (Löblovics and Besznyák, 1962).

The symptoms of acute regional ileitis develop within a few days. The chronic form may be preceded by indefinite symptoms of several months (Király, 1949 Lazarits and Major 1951). The most characteristic clinical signs of the disease are abdominal pain, convulsions, vomiting, fever and diarrhoea. In man, regional ileitis is mostly a surgical case. The radical resection of the affected intestinal portion gives better results than does internal therapy (Löblovics and Besznyák, 1962).

A disease resembling the entity known in human medicine as regional ileitis, or "ileitis terminalis", was observed in pigs by Emsbo (1951), Field, Buntain and Jennings (1953),

and SVEND (1955), in dogs by STRANDE, SOMMERS and PETRAK (1954), in albino rats by GEIL, DAVIS and THOMPSON (1961). The histological findings in dogs with regional enterocolitis were similar to those of regional ileitis in man, but the lesions resembled those elicited by CROHN's disease in man only macroscopically; histological examination revealed not only granuloma-like tissue proliferation in the submucosa but also a muscular hypertrophy with few eosinophils and no giant cells. This phenomenon was designated by SVEND (1955) as "muscular hypertrophy of the ileum". The disease observed in pigs often involved the perforation of the ileum and consequent peritonitis.

The etiology of the disease could not be elucidated as yet. Certain data on regional ileitis in man suggest that this disease is some kind of a tuberculous process. Several authors argue in favour of viral etiology. However, up to now no bacterial or viral agent could be demonstrated.

FIELD, BUNTAIN and JENNINGS (1953) suggested that hereditary disposition might have an etiological role, while according to SVEND (1955) the primary factor of the muscular hypertrophy of the ileum is idiopathy, and, similarly to the spasm of pylorus, the partial stenosis of the ileo-coecal orifice may be of secondary importance. SVEND believes that in most cases the stenosis is functional and is due to insufficient innervation of the ileo-coecal sphincter.

A similar explanation was given by VANEK (1955), namely that regional ileitis might be a consequence of recurrent circulation disturbances, becoming more severe every time. Others, however, rejected VANEK's theory and, in accordance with the prevailing trend of interest, suggested allergic etiology (VÉCSEI, 1958).

Experimental procedure and results

Pathological examinations. In our institute pig carcasses submitted for diagnostic examination have been regularly examined for regional ileitis. In the affected animals the wall of the distal portion of the ileum was remarkably thickened, the lumen was stenotic and a marked dilatation or segmented distension of the ileac portion lying proximal to affected area could be observed. We found that the cause of death was perforation of the dilated intestinal portion and consequent peritonitis. Upon laying open the abdominal cavity, generalized fibrinopurulent peritonitis was found. Usually, the ample fibrinous exudate caused a conglomerate-like adhesion of the intestinal loops in the proximity of the perforation. From the perforated intestine the contents usually passed either into the abdominal cavity or into the cavity formed by the conglomerated intestinal loops. In one animal the adhesion was of such degree that the intestinal content could pass through the cavity formed. The animal survived this circumscribed peritonitis, which was only discovered at the post-mortem examination of a group of pigs weighing 100 kg each, after they were slaughtered because of hog cholera.

In the course of the last 10 years we observed a total of 25 cases of regional ileitis. The pathological lesions found at the necropsy of these animals were uniform and well-distinguishable from the changes elicited by other diseases. The thickening of the iliac wall was most expressed in the proximity of the ileo-coecal orifice. The thickened segment was of span length, or even longer. Further from the coecum both the thickening of the intestinal wall and the stenosis of the lumen were less pronounced, though present in certain parts of the ileum. In the proximity of the coecum the wall of the ileum was frequent-

ly 1 cm thick, and the lumen was as narrow as a thin pencil or a knitting needle. At a certain distance from the coecum the lumen was not stenotic but exhibited local distensions. The segmented distension resulted in a remarkable thinning of the intestinal wall. Rupture of the intestinal wall mostly occurred in the thin dilated portions.

Histological examination. Specimens of affected intestinal segments (ileum and the damaged part of the ileo-coecal orifice) from 12 pigs were examined histopathologically. The specimens were fixed in 10 per cent formalin and embedded in paraffin. The transversally and longitudinally cut sections of 5—6 μ thickness were stained with haemalaun-eosin, iron-haematoxylin and picrofuchsin, according to VAN GIESON.

The histological sections revealed marked thickening of certain layers of the intestinal wall. The thickness of the iliac wall was 6 to 10 fold that of the normal animals of comparable age and weight (Fig. 1, Table 1).

Table 1

Comparison of the thickness of the layers of the iliac wall of normal pigs and pigs with regional ileitis

Iliac layers	Thickness in μ	
	Normal pigs	Pigs with regional ileitis
Lamina muscularis mucosae	24—33	132—247
Lamina submucosa	66—80	315—360
Inner circular layer of the muscular tunica	221—230	1.950—2.030
Outer circular layer of the muscular tunica	115—127	645—720
Tunica serosa	16.5—19.8	99—198

The intestinal epithelium became detached from the surface of the villi, and only epithelial islets or, in the lumen, dissociated cells were left.

Due to hyperplasia of the tunica propria, the distances between the crypts of Lieberkühn increased. The proliferation of the connective tissue layer of the mucous membrane was uneven. In the majority of cases the propria was uniformly infiltrated by eosinophils. The lamina muscularis of the mucosa was markedly thickened and in the folds it broadened out in fan-like fashion (Fig. 2). The thickening of the muscular layer was most marked in the folds of the mucous membrane.

The submucosa broadened and developed to a massive fibrous connective tissue containing a large number of fibroblasts and a rich vascular network (Fig. 3).

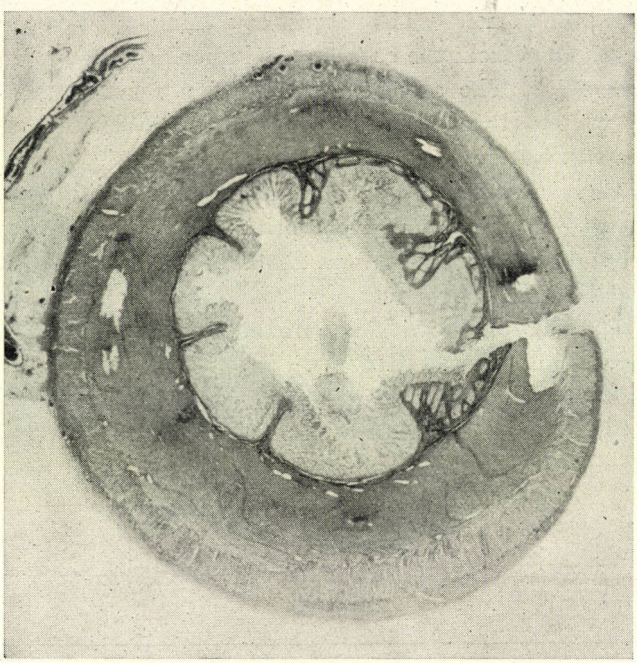


Fig. 1. Regional ileitis in pig. Cross-section of the ileum. The intestinal lumen is stenotic. The layers, especially the muscular layer of the small intestinal portion, are markedly thickened. Haemalaun-eosin stain. Magnification ×6

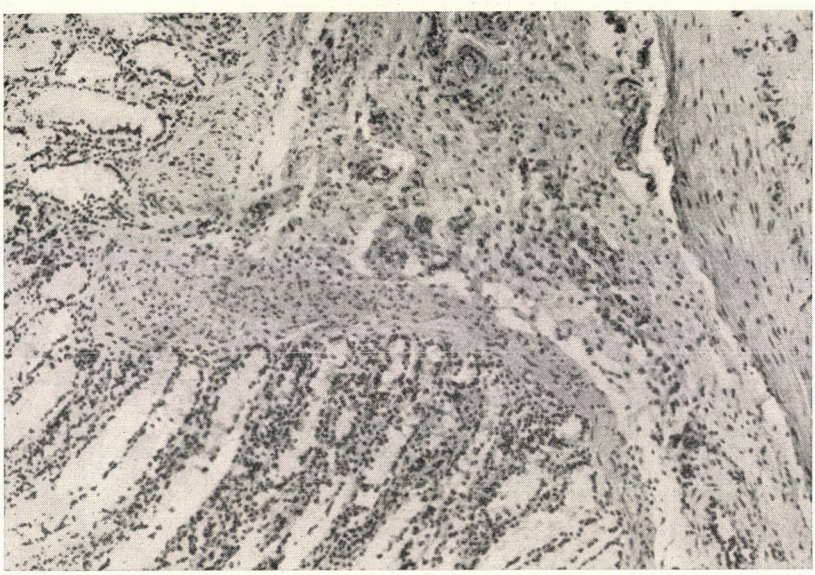


Fig. 2. Regional ileitis in pig. Part of the mucous membrane of the ileum. Under the crypts of Lieberkühn the thickening and broadening of the lamina muscularis mucosae is well visible. Haemalaun-eosin stain. Magnification ×20

Fig. 3. Regional ileitis in pig. A segment of the submucous connective tissue of the ileum. The connective tissue is rich in blood vessels and fibroblasts, and its consistency is compact and fibrous. In the middle of the picture a group of degenerated ganglion cells of the plexus Meissneri, while on its left side part of a lymph node is visible. Haemalaun-eosin stain. Magnification ×410

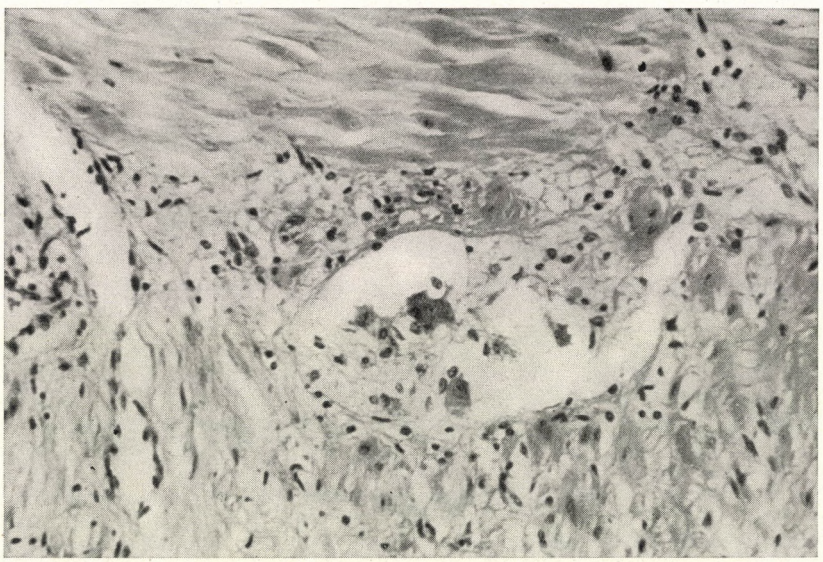


Fig. 4. Regional ileitis in pig. Segment of the muscular layer of the iliac wall. At the top of the picture the inner circular, while at its bottom the outer longitudinal, muscular layer is visible. In the middle, between the two layers, a group of degenerated Auerbach plexus cells is present. Haemalaun-eosin stain. Magnification ×410

Both circular and longitudinal layers of the smooth muscle were found to be markedly thickened, but generally the hyperplasia of the internal circular layer was more marked (Fig. 1).

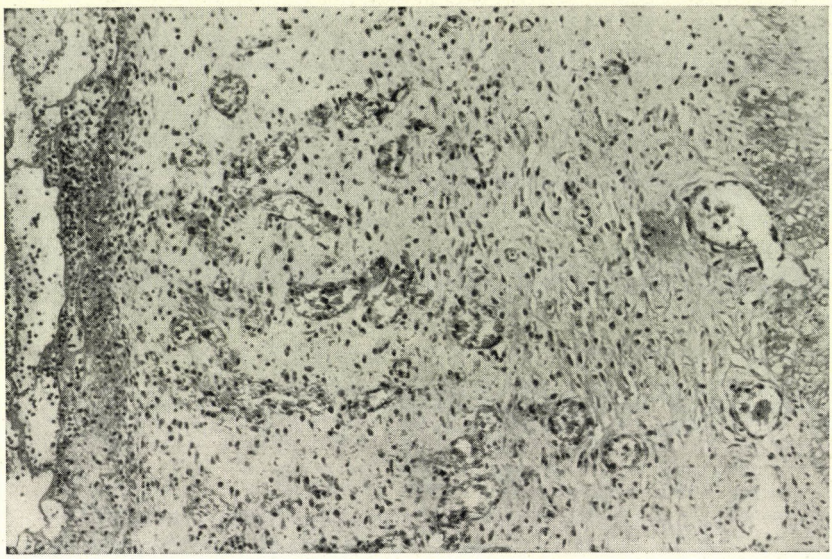


Fig. 5. Regional ileitis in pig. Segment of the serous membrane of the ileum. The markedly distended subserosa is rich in blood vessels and fibroblasts and covered by fibrinous exudate, infiltrated with inflammatory cells. Haemalaun-eosin stain. Magnification ×220

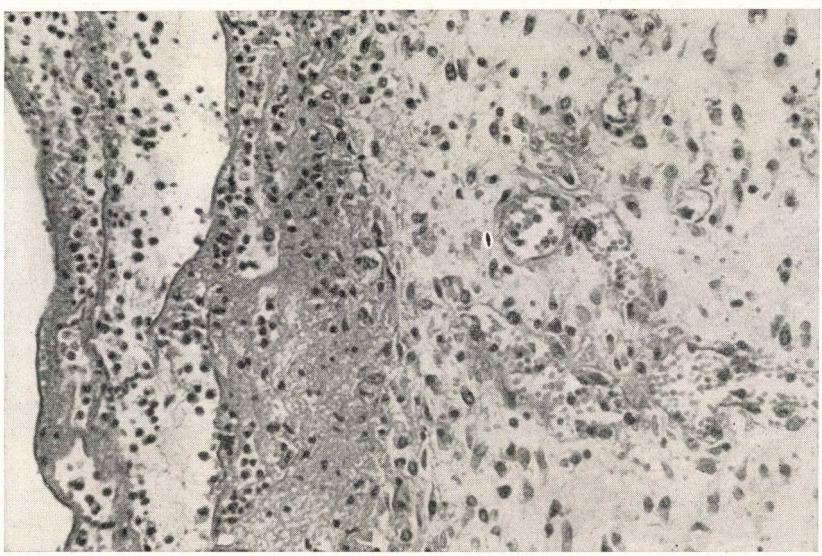


Fig. 6. Regional ileitis in pig. The same as Fig. 5. × 410

Most ganglion cells in the plexus submucosus Meissneri and plexus myentericus Auerbachi exhibited regressive lesions. The neurons were swollen, vacuolate or shrunken, and due to tigrolysis, the tigroid granules disappeared. In the ganglions' neurons shrinking or lysis of nuclei was observed. In several neurons the nucleus was no longer recognizable (Figs. 3 and 4).

The connective tissue of the serous membrane broadened and developed a compact and fibrous consistency, rich in fibroblasts and blood vessels. In several animals the serosa was covered by a fibrinous exudate (Fig. 5) containing a large number of inflammatory cells, mainly neutrophilic leukocytes (Fig. 6). In such cases the connective tissue transformed into an angiofibroblast layer, rich in proliferating capillaries, and infiltrated from the direction of the abdominal cavity with a moderate number of inflammatory cells (Fig. 6).

Discussion

The regional ileitis cases observed by us occurred in both large and small swine herds. No cumulation of cases could be observed in any of the herds.

Except for 1 animal, the pig carcasses examined were 3 to 6 months old. In comparison to their healthy mates, the growth and nutritional status of the pigs with regional ileitis were only insignificantly retarded. Prior to death these animals exhibited pathological symptoms for 1 or 2 days only; long, lasting illness was never observed. These observations indicate that so long as no occlusion of the iliac lumen occurs, the life processes remain relatively unaffected. We refer here to the 10-month-old pig of 100 kg weight which, after being slaughtered because of hog cholera showed regional ileitis as an accessory symptom.

Since regional ileitis occurs rather infrequently, it is of importance only for differential diagnosis and comparative pathology. If adequate knowledge on this condition is lacking, it may be difficult to distinguish it from other intestinal affections, e.g. salmonellosis caused by *S. typhi suis* var. Voldagsen, or the oedema-disease of pigs. However, a thorough examination at necropsy and the knowledge of the details summarized in the present paper enable a correct diagnosis, in practically every case. Apart from the fact that the chronic ulcerous enteritis caused by *S. typhi suis* var. Voldagsen is of entirely different character, bacteriological examination may be helpful.

The thickening of the wall of the ileum, caused by hypertrophy of the lamina muscularis mucosae, and, above all, hypertrophy of the muscular membrane were also observed in a rabbit which died of experimental infection with Aujeszky's disease virus. However, in spite of the marked thickening of the iliac wall and the presence of muscular hypertrophy, the lumen of the ileum was not as narrow as in the deceased pigs. This may be the reason why the

epithelium of the mucous membrane remained unaffected. Again, no eosinophilic infiltration could be observed in the mucosa. In the absence of perforation no peritonitis occurred.

From the cases observed by us, no definite evidence could be derived on the etiology of the disease. The sporadic nature of incidence as well as the absence of secondary cases within the same stock, practically exclude the role of both hereditary disposition and infectious agent, at least as far as the etiology of regional ileitis in pigs is concerned. The theory of SVEND that regional ileitis is a consequence of innervation insufficiency in the ileo-coecal sphincter, has much more support. The regressive lesions of plexal neurons found in histological sections of intestinal segments are likewise indicative of the role of innervation insufficiency. According to our opinion the hypertrophy of the muscular layer may be exclusively due to functional disorder. In pigs an occasional conspicuous enlargement of iliac lymph follicle complexes was observed. The swollen lymph follicles cause a remarkable narrowing of the lumen, since the ileocoecal valve inhibits the distension of the terminal segment of the ileum. The transport of intestinal contents through the stenotic lumen requires muscular hyperactivity. A chronic condition results in hypertrophy and consequent stenosis of the muscular layer giving rise to distension of the adjacent intestinal segments and to the consequent lesions as well.

SUMMARY

A condition similar to the etiologically unidentified disease termed "regional ileitis" or "ileitis terminalis" in man was observed in 25 pigs and one rabbit over a period of 10 years. The disease is characterized by hypertrophy of the wall in the terminal portion of the ileum and marked stenosis of the lumen in the same intestinal segment. Stenosis resulted in distension and rupture of the adjacent intestinal portions, which gave rise to fatal peritonitis. Histologically, hypertrophy was demonstrable in every layer of the affected intestinal segment, but it was most marked in the muscular layer. From the present results and the data in the literature it is concluded that regional ileitis results from compensatory hypertrophy.

REFERENCES

CROHN, B. B., GINZBURG, L. and OPPENHEIMER, G. D.: JAMA. **99** (1932), 1323. EHRENPREIS, TH., LEGERKRANTZ, R. and RUDHE, V.: Acta Paed. **51** (1962), 238. EMSBO, P.: Nord. Vet. Med. **3** (1951), 1. FIELD, H. J., BUNTAIN, D. and JENNINGS, A. R.: J. Comp. Path. **63** (1953). 153. GEIL, R. G., DAVIS, C. L. and THOMPSON, S. W.: Amer. J. Vet. Res. **22** (1961), 932. HARANGHY, L.: Általános Kórbonctan. Budapest, 1959. KIRÁLY, J.: Orvosok Lapja, 1949, 641. KOVÁCS, K. and VADÁSZ, GY.: Gyermekgyógyászat **10** (1959), 91. LAZARITS, J. and MAJOR, ZS.: Orv. Hetil., 1951, 1373. LÖBLOVICS, J. and BESZNYÁK, J.: Orv. Hetil., 1962, 1461. STRANDEY, A., SOMMERS, S. C. and PETRAK, M.: Arch. Path. **57** (1954), 357. SVEND, N. W.: JAVMA **127** (1955), 437. VANEK, J.: Zbl. vgl. Path. und path. Anat. **94** (1955), 157. VÉCSEI, A.: Kísérleti Orvostudomány **10** (1958), 321.

ОБ УРОВНЕ СОВРЕМЕННЫХ ЗАМЕНИТЕЛЕЙ ПЛАЗМЫ В КРОВИ

I. ФОРМИРОВАНИЕ УРОВНЯ ДЕКСТРАНА В ПЛАЗМЕ

ДЬ. ЛАМИ

Кафедра и Клиника внутренних незаразных болезней (Дир.: Акад. Я. Мочи)
Ветеринарного Института, Будапешт
(Поступило 16 Сентября 1963 г.)

Среди требований к заменителям плазмы почти все авторы (**Bohmansson, Rosenkvist, Thorsén et Wilander, 1946; Bohmansson, Thorsén et Wilander, 1948; Gropper, Raisz et Amspacher, 1952; Maycock, 1952; Vészi, 1952; Hammarsten, Heller et Ebert, 1953; Kasszán, 1953; Atienza et Zalamea, 1954; Fekete, 1954; Möller, 1956; Sterba, Firt et Hejhal, 1957; Stenszkyné, 1958; Sörés, 1960**) подчеркивают, чтобы заменитель долго не циркулировал в кровеносных сосудах.

Это поведение заменителей плазмы довольно тщательно изучено в отношении человека и некоторых лабораторных животных. Нет у нас однако данных по этому вопросу у сельскохозяйственных животных.

По Грёнвал и Ингелман (**Grönwall et Ingelman, 1945**) после введения здоровым собакам терапевтической дозы декстрана, последний уже к 3.—4. дню в крови животных не обнаруживается. Сходны наблюдения Бомансон, Розенквист, Торсен и Виландер (**Bohmannsson, Rosenkvist, Thorsén et Wilander**) Атьенза и Заламеа (**Atienza et Zalamea, 1954**) и Блум (**Bloom, 1956**) о поведении декстрана в организме человека. Бомансон, Торсен и Виландер (1948), повторив эксперимент получили такой же результат, однако другим специалистам (**Bull, Ricketts, Squire, Maycock, Spooner, Mollison et Paterson, 1949; Norlander, Troell et Aberg, 1955**) удалось обнаружить декстран в плазме человека даже к 7. дню. Ингелман (1949) считает реальным свойство падения концентрации декстрана в плазме, ибо в экспериментах с животными ему не удавалось обнаружить после 5 дней этого вещества в плазме. Торсен (1949) даже после введения больших доз (1—2 л) декстрана людям к 4. дню находил это вещество в плазме только в следах. Данные Ивановича (**Ivanovics, 1950**), касающиеся лабораторных животных, в согласии с вышеупомянутым. Гроте, Кнутсон и Болман (**Grotte, Knutson et Bollman, 1951**), Армстронг, Давни, Фергусон и Уильямс (**Armstrong, Downey, Ferguson et Williams, 1954**), Молисон и Рени (**Mollison et Rennie, 1954**), Васерман и Майерсон (**Wasserman et Mayerson 1954**), подобно Шимон и Касан, (**Simon et Kasszán, 1955**) этот вопрос изучали во взаимосвязи с молекулярным весом препаратов и пришли к единогласному выводу, согласно которому чем больше молекулярный вес, тем выше концентрация препарата в плазме и, соответственно, дольше циркуляция препарата в кровеносных сосудах. Очень интересно наблюдение Аберга (**Aberg, 1952**) об установлении концентрации декстрана в плазме на определенном уровне с 6 часа от момента введения; понижение уровня имело место только после истечения этого времени. Хамарстен и Хеллер (**Hammarsten et Heller, 1952**), затем Хамарстен, Хеллер и Эберт (1953) не находили разницы в понижении концентрации у людей, от которых до введения декстрана пускали кровь и людей, от которых предварительно не пускали крови. Нарат, Казела и Канджелоси (**Narat, Casella et Cangelosi 1952**) вводили кроликам в брюшную полость 15 мг/кг декстрана и в плазме обнаруживали декстрановый препарат в течение 5 дней. Раис и Стинсон (**Raisz et Stinson, 1952**) сообщают о быстром падении уровня декстрана в плазме так как в их экспериментах в плазме собак, от которых до введения препарата брали кровь, после 3 часов им удалось выявить

только 35—40%-ов количества введенного препарата. Первым Торсен (1948), а потом Уилсон, Эстэс, Дойл, Блум и Уарен (**Wilson, Estes, Doyle, Bloom et Warren, 1952**) указали на то, что на формирование концентрации декстрана в плазме влияют размер тела, размер поверхности тела; вес, степень обезкровления и количество введенного препарата. После введения меченного C^{14} декстрана Тери, Юйл, Голодец и Филлипс (**Terry, Yuile, Golodetz et Phillips, 1953**) находили декстран в плазме собак 3 дня подряд. Айхлер, Апел и Себенинг (**Eichler, Appel et Sebening, 1954**), работая с меченным декстраном, после введения препаратов разной концентрации как правило находили, что 10%-ный раствор задерживается в плазме дольше, чем 6%-ный раствор. Гор, Болтэ и Лангенберг (**Gohr, Bolte et Langenberg, 1954**) в плазме кроликов выявляли декстран 3—5 дней подряд. В их эксперименте не было разницы в формировании уровня декстрана в плазме, если вводили разные дозы препарата животным. Семплэ (**Semple, 1954**) в плазме собак после 24 часов от момента введения находил 20—50%-ов количества введенного декстрана, после 48 часов — 10—25%-ов. Подобны наблюдения Янг, Гантон и Семплэ (**Young, Gunton et Semple, 1954**) с той только разницей, что они препарат находили в плазме обезкровленных собак немножко дольше.

Собственные исследования

Целью моих исследований явилось изучение формирования уровня декстрана в плазме некоторых сельскохозяйственных животных с одной стороны и определение времени полного изчезновения препарата из кровеносных сосудов с другой. Эти два вопроса важны не только для медицины. Они представляют интерес и для сравнительной физиологии, следовательно — ветеринарии.

Методика

Интрадекс, препарат **Glaxo Laboratories Ltd.** выпускаемый в готовом для введения виде в бутылках емкости 540 мл, содержащий 6%-ный раствор декстрана на изотоническом растворе поваренной соли, вводился в дозе 0,25—0,1—1,0 г/кг в пересчете на действующее начало в артерию. Мг %-ная концентрация декстрана в плазме определялась в образцах крови, полученных от разных видов животных в определенное время.

Большинство специалистов при определении декстрана в плазме пользуется методом Меткаф и Русло (**Metcalf et Rousselot, 1952**) или Якобсон и Хансен (**Jacobsson et Hansen 1952**). Я лично пользовался последним методом. Им можно добиться удолетворяющих практические (лабораторные) требования результатов. (Метод детально описан в других работах автора — Лами, 1962, 1963). Ради полноты нужно упомянуть, что венгерские специалисты (Редеи и Надь — **Rédei et Nagy, 1961**) в недавном прошлом разработали новый способ определения декстрана в плазме.

В последовательных экспериментах мною изучался декстран в плазме лошадей, жеребят, телят, собак и, отчасти, кроликов.

Для экспериментов подбирались группы здоровых животных, от которых не брали еще крови, стоявших до опыта в течение 2 недель под тщательным книнческим наблюдением. До начала и во время продолжительного эксперимента ежедневный рацион лошадей и жеребят состоял из 2,5 кг

овса и 5 кг лугового сена, рацион телят — из овсяной крупы с отрубьями и сена вволю, собаки получали обычный корм животных клиники (кукурузная каша с рисом и лошадиным мясом), кролики же получали овес, луговое сено и кормовую свеклу (иногда морковь).

Эксперименты проводились на 12 лошадях легковой породы обоих полов, возраста 4—6 лет, средней упитанности, живого веса 290—330 кг; на 10 жеребятах-кобылках возраста 8—9 месяцев, хорошей упитанности, живого веса 204—255 кг, на 6 слабо развитых телках полугодичного возраста венгерской пестрой породы, живого веса 70—105 кг, лечившихся в клинике внутренних болезней против стригущего лишая, на 25 собаках разных пород и пола, хорошей упитанности, веса 7—18 кг, возраста 8 месяцев — 8 лет и на 76 хорошо упитанных молодых кроликах разного пола, веса 2,3—2,5 кг.

Всем животным за исключением 6 жеребят я вводил в вену по 1 г/кг декстрана. Среди 6 жеребят четыре получили по 0,5 г/кг, а два 0,25 г/кг декстрана.

Для определения уровня декстрана в плазме образца крови от лошадей брались: через пять минуть после введения, потом по 12. день каждые 12 часов, а с 13. дня по 21. — каждые сутки; от жеребят — после 1/4, 1/2, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16 и 20 часов, а с 1. по 14. день раз в сутки; от телят — после 1/4, 1/2, 1, 2, 4, 6, 8, 10 и 12 часов и с 1. по 10. день раз в сутки; от собак — после 1/2, 1, 2, 4 и 6 часов и между 1. и 8. днем каждые сутки; от кроликов же в течение 12 часов каждый второй час и позже после 1—3 и 7 дней. Несмотря на разницу в моментах получения крови от разных видов животных сравнение уровня декстрана в плазме этих животных является реальным ибо значительная часть этих моментов совпала друг с другом.

Результаты

Лошади, телята, собаки и кролики легко переносили введение относительно больших доз Интрадекса, которая у лошадей равнялась 4833—5500 мл-ам, у телят — 1166—1750 мл-ам, у собак — 117—300 мл-ам, а у кроликов 40 мл-ам. Жеребята — поскольку у них применялись три разных дозы — получили 1070—3700 мл Интрадекса. Среди них у одного, получившего 0,7 г/кг декстрана через 40 минут после введения препарата наступила дрожь и в области коленной складки и живота он стал потеть. После 30 минут дрожь исчезла и после 1 1/2 часа он перестал потеть. У другого жеребенка получившего 1,0 г/кг декстрана от 70. минуты после введения препарата наступила дрожь коленных мускул. Она длилась не дольше 10 минут. Температура только у этих двух жеребят была после обеда в день введения препарата на несколько десятых градусов выше таковой остальных (38,2° С и 37,9° С). В этот день все без исключения жеребята вечером без остатка

Таблица 1

Концентрация декстрана (мг%) в плазме лошадей

№ п. п.	время после введения													
	5 мин.	12 час.	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	6,5
	дней													
1.	2146	1823	1529	1250	1103	1058	985	955	897	853	808	706	588	456
2.	2117	1999	1529	1250	1117	1044	985	955	926	853	794	720	603	470
3.	2146	1823	1558	1235	1103	1058	1000	941	882	867	808	720	588	470
4.	2146	1823	1529	1250	1103	1058	985	955	897	853	808	720	588	470
5.	1970	1705	1499	1338	1220	1147	1117	1058	1014	985	882	808	676	676
6.	2029	1676	1470	1323	1176	1161	1102	1058	1014	985	882	808	735	676
7.	2029	1705	1441	1338	1147	1147	1117	1073	1000	1000	897	838	720	691
8.	1999	1705	1470	1338	1176	1147	1117	1058	1014	985	882	823	706	676
9.	2029	1823	1441	1294	1220	1132	1102	1102	1073	941	882	779	720	735
10.	2058	1852	1499	1279	1205	1147	1117	1102	1073	941	882	808	735	720
11.	2029	1852	1470	1294	1205	1117	1161	1102	1058	955	853	808	750	720
12.	2029	1852	1470	1294	1205	1132	1132	1102	1073	941	867	794	735	720
	средние													
	2060	1803	1492	1290	1165	1112	1077	1038	993	930	854	778	679	623

поели предоставленный им корм (концентрат и грубый корм) и после часа выпили по 1 ведру воды. В последующие дни наблюдения в поведении жеребят отклонений от нормы не обнаружено.

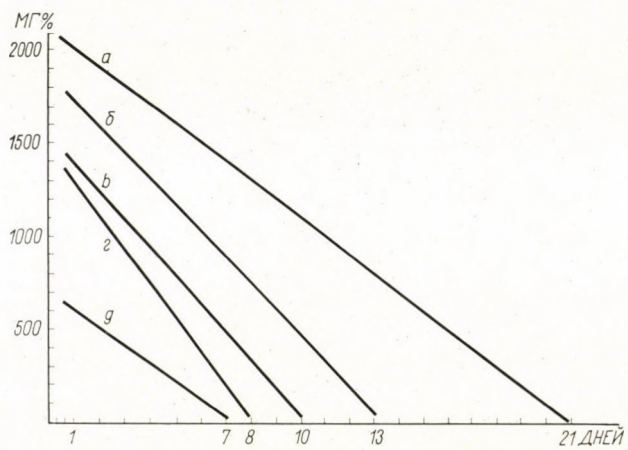


Рис. 1. Формирование уровня декстрана в плазме после внутривенного введения дозы 1,0 г/кг. *а*, лошадь; *б*, жеребенок; *в*, теленок; *г*, собака; *д*, кролик

после введения в вену 1,0 г/кг препарата

дения декстрана																		
7	7,5	8	8,5	9	9,5	10	10,5	11	11,5	12	13	14	15	16	17	19	21	22
дней																		
367	265	191	147	132	118	88	88	73	44	0								
382	265	206	176	88	118	103	73	88	59	15	0							
382	279	191	162	103	132	88	103	73	15	0								
382	265	191	162	103	118	88	88	73	44	0								
661	573	500	470	441	397	367	338	294	279	250	250	162	118	44	44	0		
661	573	500	470	441	397	382	338	309	250	191	162	118	73	44	15	0		
632	578	514	456	456	382	367	338	294	162	88	15	0						
647	573	500	470	441	397	367	338	294	118	88	44	15	0					
632	632	500	514	456	412	397	382	338	338	235	235	191	162	88	73	15	15	0
661	632	529	514	456	397	397	397	338	309	206	162	88	44	29	15	0		
661	647	544	500	470	412	382	367	338	206	162	73	44	15	0				
647	632	514	514	450	412	397	382	338	162	118	88	15	0					
значения																		
559	492	407	379	337	308	285	269	237	165	113	86	53	34	17	12	1	1	0

После введения 1,0 г/кг декстрана у лошадей после 5 минут образовался очень высокий уровень препарата в плазме (2060 мг%), который к 2. дню понизился до 1165 мг%. С 2. по 12. день уровень декстрана постепенно понизился до значения 113 мг%. С 12. дня кривая снижения уровня декстрана в плазме стала еще более пологой. Согласно табл. 1. к двенадцатому дню декстран уже не у всех лошадей удалось обнаружить в плазме, а с 19. дня он обнаруживался только у одной лошади в концентрации 15 мг%.

Очень характерно, что у жеребят из-за разных доз в концентрации декстрана в плазме имелась существенная разница: после 15 минут от момента введения препарата при дозе 1,0 г/кг в плазме было в среднем 1823 мг% декстрана, при дозе 0,5 г/кг — 1058 мг% и при дозе 0,25 г/кг — 514 мг%. Циферные данные формирования уровня декстрана в плазме собраны в табл. 2. При всех трех дозах уже в течение первых суток наступило резкое, но не одинаковое снижение концентрации. Если сравнить средние значения мг%-ов после 15 минут со значениями, полученными после 24 часов, то видно, что при бóльшей дозе снижение уровня менее резко, чем при меньшей дозе. Значение уровня декстрана при наибольшей дозе после 24 минут представляло собой только 59,6%-ов (1088 мг%) уровня после 15 минут (1823 мг%), при средней дозе — только 55,5%-ов (588 мг% и 1058 мг%), а при наименьшей

Таблица 2

Содержание (мг %) декстрана в плазме жеребят

№ п. п.	Доза	время после введения									
		1/4	1/2	1	2	4	6	8	10	12	16
1.		1793	1793	1764	1735	1588	1470	1441	1441	1382	1323
2.		1852	1823	1794	1764	1617	1499	1499	1470	1352	1352
3.	1,0 г/кг	1823	1823	1794	1823	1735	1676	1529	1470	1411	1323
4.		1823	1823	1764	1793	1705	1705	1499	1499	1441	1352
	в среднем:	1823	1815	1779	1779	1661	1587	1492	1470	1396	1337
5.		1058	911	882	1000	882	794	735	764	735	676
6.		1029	941	911	1000	853	823	764	794	764	706
7.	0,5 г/кг	1058	1000	882	1000	911	882	794	764	735	706
8.		1088	1000	853	1000	882	853	795	794	735	706
	в среднем:	1058	963	880	1000	882	838	772	779	742	698
9.		529	500	550	441	382	382	353	353	323	323
10.	0,25 г/кг	500	470	500	470	412	382	382	353	323	323
	в среднем:	514	485	500	455	397	382	367	353	323	323

дозе — только 51,5%-ов (265 мг% и 514 мг% соответственно). Характер понижения декстрана в плазме в последующих днях таков же, как и в течение первых суток.

В экспериментах на лошадях меня заинтересовал и такой частичный вопрос, когда появляется и как долго обнаруживается декстран в экссудате брюшины экспериментальных животных. Из-за этой цели через день после введения декстрана в экссудате брюшины 3 лошадей сначала ежедневно, а позже каждый второй день изучалось содержание декстрана и получены следующие данные:

Количество декстрана мг% к				
1.	2.	3.	5.	7.
дню после введения				
0	30	132	73	0
0	15	147	88	15
0	44	162	103	0
В среднем: 0	30	147	88	5

после внутривенного введения разных доз

дения декстрана

20 часов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13 дней
1235	1058	1014	882	603	544	470	382	132	294	176	147	73	29
1235	1088	1029	897	573	544	470	367	338	294	191	132	59	29
1176	1088	1029	926	603	573	456	382	323	235	162	118	59	29
1147	1117	1029	941	617	590	470	297	309	250	147	103	59	29
1198	1088	1025	911	599	555	466	382	331	268	169	125	62	29
647	588	456	382	220	162	162	103	73	29				
676	559	485	297	220	176	176	118	88	29				
676	588	470	412	265	176	162	132	73	29				
706	617	441	397	250	191	162	118	73	29				
676	588	463	397	239	176	165	118	77	29				
294	265	235	176	103	88	59	44						
323	265	235	162	118	103	73	44						
308	265	235	169	110	95	66	44						

Согласно полученным данным с 2. дня после введения по 7. день декстран обнаруживается и в экссудате брюшины лошадей. Концентрация декстрана в этой жидкости кульминирует (147 мг%) к 3. дню после введения препарата.

В плазме телят 1/4 часа после введения 1,0 г/кг декстрана уже обнаруживалось 1911 мг% этого вещества. К 2. часу однако уровень этого вещества резко понизился — до 1416 мг%. После этого наблюдалось равномерное понижение декстрана в плазме, в которой после 24 часов он имелся только в концентрации 121 мг%. Значение после 24 часов равнялось только 48,1%-ам значения 1/4 часа после введения препарата. Данные табл. 3 четко показывают постепенное падение уровня декстрана в плазме с значения 921 мг% первого дня до значения 612 мг% четвертого дня. К 5. дню снова наступило резкое понижение (до 335 мг%) и к 10. дню в плазме телят декстран имелся в средней концентрации 15 мг%.

В плазме собак 30 минут после введения декстрана препарат имелся в концентрации 1564 мг%, которая к 24. часу равнялась уже только 886 мг%-ам, а к 8. дню — только 9 мг%-ам. Формирование уровня декстрана в плазме собак показывают данные табл. 4.

Таблица 3

Содержание (мг%) декстрана в плазме телят

№ п. п.	время после вве-							
	1/4 часа	1/2	1	2	4	6	8	10
1.	1852	1735	1588	1411	1323	1264	1264	1234
2.	1852	1764	1558	1382	1352	1294	1235	1205
3.	1882	1764	1558	1411	1323	1294	1294	1234
4.	1970	1823	1646	1441	1323	1323	1264	1264
5.	1940	1823	1646	1470	1323	1294	1294	1239
6.	1970	1794	1646	1411	1352	1352	1294	1264
	в среднем: 1911	1784	1607	1416	1333	1303	1274	1240

В плазме кроликов к 2. часу после введения декстрана последний имелся в средней концентрации 647 мг%, которая при постепенном понижении на 7. день равнялась уже только 15 мг%-ам. В экспериментальной группе были однако животные, в плазме которых к этому времени уже не удавалось обнаружить декстран.

Выводы

В плазме лошадей, жеребят и телят декстран циркулирует намного дольше, чем в плазме человека. Полное исчезновение декстрана из кровяного русла при введении его в дозе 1,0 г/кг у лошадей наступает после трех недель, у жеребят с немногим дольше, чем после двух недель, у телят — после 10 дней, у собак — к 8.—9. дню, у кроликов — к 7. дню.

Динамика выделения декстрана из организма в первую очередь зависит от дозы. В пользу этого говорят результаты экспериментов на жеребятах. При введении 1,0 г/кг декстрана к 13. дню он имелся в плазме в средней концентрации 29 мг%-ов; такая же концентрация наблюдалась и при введении дозы 0,5 г/кг, но к 9. дню, тогда как при наименьшей дозе (0,25 г/кг) уже к 7. дню удавалось обнаружить относительно низкую концентрацию препарата в плазме (44 мг% в среднем).

Имелась одна очень заметная разница в формировании уровня декстрана в плазме лошадей и в плазме жеребят. Эта разница проявлялась в том, что при одинаковых дозах (1,0 г/кг), при тех же сроках времени определения уровня декстрана, у лошадей, как правило, получались значения, превышающие значения от жеребят. Явление можно кроме разницы в поверхности тела объяснить и тем, что с возрастом наступает относительное умень-

после внутривенного введения дозы **1,0** г/кг.

дения декстрана										
12 часов	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 дней
1205	911	823	764	617	338	250	191	118	59	29
1235	911	823	735	588	338	257	198	103	44	15
1176	941	794	735	617	323	235	162	88	73	29
1176	882	764	676	647	323	206	147	73	59	15
1176	911	794	647	588	338	220	154	103	29	0
1235	970	773	706	617	353	220	132	88	44	0
1200	921	789	710	612	335	231	164	95	51	15

шение объема плазмы и это, следовательно, ведет к бóльшему «сконцентрированию» декстрана у лошадей, чем у жеребят.

При одинаковых дозах декстрана у разных видов животных по-разному формировалась концентрация препарата в плазме; уменьшение концентрации и исчезновение декстрана из крови наступало в такой форме, как на это можно было судить по разности размеров поверхности тела отдельных видов животных (см. рис.).

Из реакции двух жеребят после введения декстрана (мышечная дрожь, и т. д.) нельзя сделать никаких выводов ни в одну сторону, ибо один среди реагировавших получил в пересчете на живой вес только половину дозы другого.

РЕЗЮМЕ

На лошадях, жеребятах, телятах, собаках и кроликах изучалось формирование концентрации декстрана в плазме и его исчезнование из кровяного русла. После введения 1,0 г/кг декстрана в вену у разных видов животных уровень препарата в плазме формировался по-разному. В плазме лошадей декстран обнаруживался три недели, в плазме жеребят — больше двух недель, в плазме телят — больше десяти дней, в плазме собак — 8—9 дней и в плазме кроликов — 7 дней.

В процессе исчезновения из плазмы декстран появился и во выпоте брюшины лошадей, где он обнаруживался с 2. (30 мг%) по 7. день (5 мг%) после введения; пик его обнаруживаемости в этой жидкости (147 мг%) наблюдался к 3. дню.

Все экспериментальные животные хорошо переносили относительно большие дозы Индрадекса. Только у двух жеребят наблюдалась мышечная дрожь.

Декстран определялся в плазме методом Якобсон и Хансен.

ЛИТЕРАТУРА

Aberg, B.: Some Experiments on Partly Hydrolysed Bacterial Dextran. Диссертация. Stockholm, 1952. Armstrong, J. B., Downey, J. A., Ferguson, M. H. и Williams, H. R.: Canad. J. Biochem. and Physiol. **32** (1954), 636. Atienza, R. Y. и Zalamea, R. U.: J. Philippine Med. Assoc. **30** (1954), 346. Bloom, W. L.: J. Labor. Clin. Med. **47** (1956), 938. Bohmansson,

Таблица 4

Содержание (мг%) декстрана в плазме собак после внутривенного введения дозы **1,0** г/кг

№ п. п.	время после введения декстрана												
	1/2	1	2	4	6 часов	1	2	3	4	5	6	7	8 дней
1.	1485	1367	1235	1132	1102	911	794	544	265	191	132	44	15
2.	1455	1338	1176	1117	1102	882	750	559	235	176	147	59	15
3.	1514	1308	1147	1044	1029	926	735	588	294	136	88	29	0
4.	1588	1455	1294	1161	1000	867	676	544	323	162	73	15	0
5.	1749	1676	1558	1411	1205	1029	985	735	367	206	132	59	15
6.	1646	1543	1470	1308	1191	1058	1014	750	309	220	118	44	15
7.	1588	1485	1367	1264	1102	926	750	706	220	191	88	29	0
8.	1470	1396	1323	1161	1029	750	632	514	309	162	59	15	0
9.	1455	1441	1338	1279	1176	1044	779	529	353	191	103	44	0
10.	1396	1367	1264	1147	1117	794	529	265	118	103	44	15	0
11.	1382	1382	1249	1161	1102	808	500	265	103	15	15	0	
12.	1426	1338	1294	1117	1073	764	559	235	147	88	59	15	0
13.	1617	1455	1367	1279	1191	1000	823	588	412	250	147	118	15
14.	1588	1470	1383	1191	1014	706	529	309	220	206	88	15	0
15.	1455	1455	1294	1147	897	764	676	515	309	220	132	73	15
16.	1999	1867	1779	1676	1558	823	603	265	147	59	59	59	59
17.	1588	1485	1338	1264	1102	794	632	326	220	162	103	44	15
18.	1646	1514	1441	1279	1161	1029	985	720	279	191	88	15	0
19.	1499	1426	1352	1191	1058	779	661	544	338	191	88	44	29
20.	1661	1573	1411	1323	1205	955	838	544	338	191	103	44	0
21.	1411	1396	1279	1191	1161	838	529	294	132	44	44	15	0
22.	1705	1632	1514	1367	1161	985	941	691	323	162	88	15	0
23.	1617	1529	1411	1323	1220	941	740	485	279	147	88	44	15
24.	1470	1382	1338	1161	1117	808	603	279	191	122	103	44	15
25.	1690	1617	1499	1352	1147	970	926	676	309	147	73	15	0
	средние значения:												
	1564	1476	1364	1242	1128	886	728	503	262	162	90	36	9

G., Rosenkvist, H., Thorsén, G. и Wilander, O.: Acta Chirurg. Scand. **94** (1946), 149. Bohmansson, G., Thorsén, G. и Wilander, O.: J. Internat. Chirurg. **8** (1948), 890. Bull, J. P., Ricketts, C., Souire, J. R., Maycock, W. d'A., Spooner, S. J. L., Mollison, P. L. и Paterson, J. C. S.: Lancet **256** (1949), 134. Eichler, O., Appel, J. и Sebening, F.: Klin. Wschr. **32** (1954), 127. Fekete, Gy.: Orv. Hetilap, 1954, 781. Gohr, H., Bolte, A. и Langenberg, A.: Zschr. ges. innere Med. u. ihre Grenzgebiete **9** (1954), 380. Gropper, A. L., Raisz, L. G. и Amspacher, W. H.: Surg., Gynec. and Obst. **95** (1952), 521. Grotte, G., Knutson, R. C. и Bollman, J. L.: J. Labor. Clin. Med. **3** (1951), **577**. Grönwall, A. и Ingelman, B. Nature **155** (1945), 45. Hammarsten, J. F. и Heller, B. I.: J. Labor. Clin. Med. **40** (1952:),

807. HAMMARSTEN, J. F., HELLER, B. I. и EBERT, R. V.: J. Clin. Invest. **32** (1953), 340. INGELMAN, B.: Upsala Läkareförenings Förhandlingar **54** (1949), 107. IVANOVICS, GY.: Acta Physiol. Hung. **1—2** (1950—1951), 27. JACOBSSON, L. и HANSEN, H.: Scand. J. Clin. and Labor. Invest. **4** (1952), 352. KASSZÁN, B.: Magy. Kémikusok Lapja, 1953, 205. LAMI, GY.: Kísérletes vizsgálatok modern plazmapótszerekkel. Канд. диссертация. Будапешт, 1962. LAMI, GY.: Magy. Állatorv. Lapja, 1962, 454. LAMI, GY.: Acta Vet. Hung. **13** (1963), 43. MAYCOCK, W. d'A.: Practitioner **169** (1952), 668. METCALF, W. и ROUSSELOT, L. M.: J. Labor. Clin. Med. **40** (1952), 901. MOLLISON, A. W. и RENNIE, J. B.: Brit. Med. J. (1954), 893. MÖLLER, H.: Physiologie und Klinik der Bluttransfusion. Jena, 1956. NARAT, J. K., CASELLA, Ph. A. и CANGELOSI, J. P.: Arch. Surg. **64** (1952), 80. NORLANDER, O., TROELL, L. и ABERG, B.: Acta Chirurg. Scand. **109** (1955), 1. RAISZ, L. G. и STINSON, I. T.: J. Labor. Clin. Med. **40** (1952), 880. RÉDEI, A. и NAGY, S.: Kísérleti Orvostudomány **13** (1961), 446. SEMPLE, R. E.: Amer. J. Physiol. **176** (1954), 113. SEMPLE, R. E.: Canad. J. Bichem. Physiol. **32** (1954), 670. SIMON, S. и KASZSZÁN, B.: Acta Physiol. Hung. **8** (1955), 155. SÖRÉS, B.: Vérátömlesztés. Orsz. Vértranszfuz. Szolg. Kiadv. Budapest, 1960. STENSZKY, E.: Gyógyszerészet **2** (1958), 233. STERBA, O., FIRT, P. и HEJHAL, L.: „Probleme der biologischen Bewertung von Plasmaersatzmitteln" Доклад, прочитанный на симпозиуме о дериватах крови и кровезаменителях. Варшава, 1957 декабрь. TERRY, R., YUILE, CH., L., GOLODETZ, A. и PHILLIPS, C. E.: J. Labor. Clin. Med. **42** (1953), 6. THORSÉN, G.: Lancet **256** (1949), 132. VÉSZI, I.: Honvédorvos, 1952, 105.; **4** (1952), 455. WASSERMAN, K. и MAYERSON, H. S.: Amer. J. Physiol. **176** (1954), 104. WILSON, J. S., ESTES, E. H., DOYLE, J. T., BLOOM, W. L. и WARREN, J. V.: Amer. J. Med. Sci. **223** (1952), 364. YOUNG, D. M., GUNTON, R. W. и SEMPLE, R. E.: Canad. Med. Assoc. **70** (1954), 564.

ÜBER DEN PLASMASPIEGEL DER MODERNEN PLASMAERSATZMITTEL

I. Die Entwicklung des Dextran-Plasmaspiegels

GY. LAMI

An Pferden, Fohlen, Kälbern, Hunden und Kaninchen wurden die Dextran-Plasmakonzentration und das Verschwinden der Substanz aus der Blutbahn untersucht. Nach iv. Einspritzung von 1,0 g/kg Dextran kam eine jeweils andere Dextran-Plasmakonzentration bei den verschiedenen Haustierarten zustande. Im Plasma konnte das Dextran bei Pferden 3 Wochen, bei Fohlen mehr als 2 Wochen, bei Kälbern länger als 10 Tage, bei Hunden 8—9 Tage und bei Kaninchen 7 Tage nachgewiesen werden.

Im Verlauf des Verschwindens aus der Blutbahn erschien das Dextran auch in der Intraabdominalflüssigkeit der Pferde, in der es vom 2. Tage nach der Infusion an (30 mg%) bis zum 7. Tage (5 mg%) nachgewiesen werden konnte; der Höchstwert (147 mg%) wurde am 3. Tage ermittelt.

Sämtliche Versuchstierarten tolerierten gut die Einspritzung der verhältnismäßig großen Intradexmenge, nur bei zwei Fohlen war vorübergehender Muskeltremor zu beobachten.

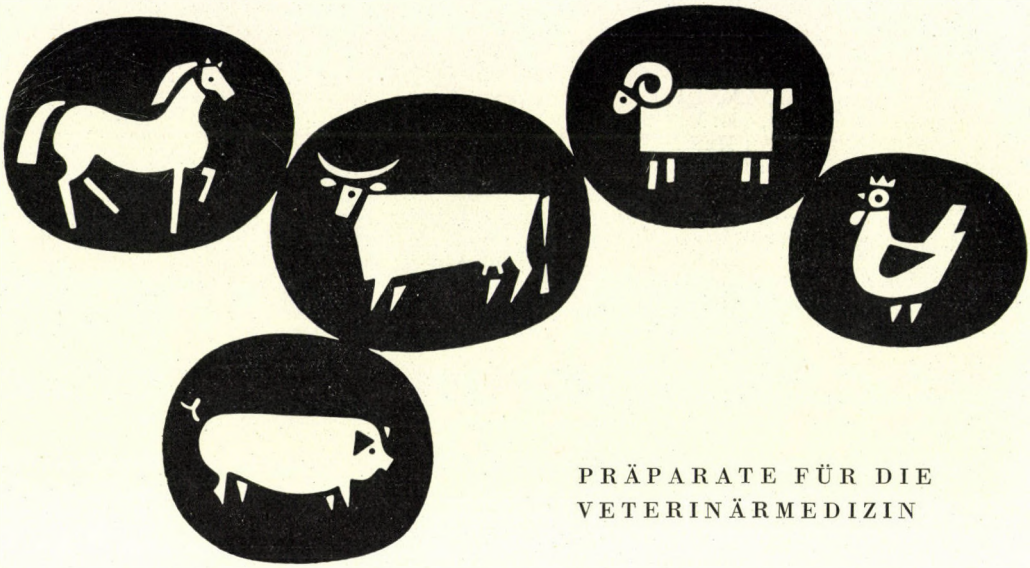
Die Dextranbestimmung im Plasma erfolgte nach der Methode von JACOBSSON und HANSEN.

Printed in Hungary

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója — Műszaki szerkesztő: Farkas Sándor

A kézirat nyomdába érkezett: 1964. IV. 17. — Terjedelem: 8,75 (A/5) ív, 44 ábra

64.58761 Akadémiai Nyomda, Budapest. — Felelős vezető: Bernát György



PRÄPARATE FÜR DIE
VETERINÄRMEDIZIN

Chemotherapeutika

Antibiotika

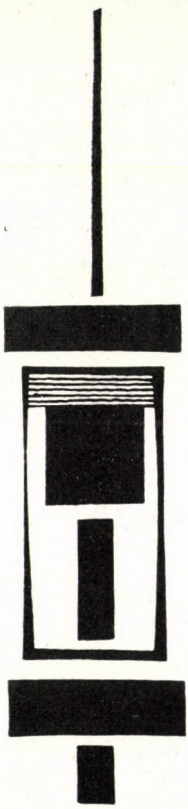
Anthelmintica

Hormonpräparate

Vitamine

Futterergänzungsmittel

Sera und Vakzine usw.



MEDIMPEX

UNGARISCHES AUSSENHANDELSUNTERNEHMEN
FÜR PHARMAZEUTISCHE PRODUKTE

UNGARN BUDAPEST 5 · POSTFACH 126

ACTA VETERINARIA
ТОМ XIV – ВЫП. 2

РЕЗЮМЕ

СОЕДИНЕНИЕ — КОНЕЧНЫЙ ПРОДУКТ ДЕТОКСИКАЦИИ В ВЫДЕЛЕНИЯХ ПОЛОВЫХ ПУТЕЙ КОРОВ

Ж. НЕМЕТ-ГАШПАР

В выделениях половых путей коров обнаружена (Cseh и Gáspár, 1963) органическая кислота неизвестной структуры. Ради выяснения физиологического значения кислоты автор попыталась химически идентифицировать обнаруженную кислоту. На основании поведения кислоты при бумажной хроматографии и абсорбционного спектра продукта, полученного в реакции кислоты с п-диметиламинобензалдегидом, оказалось, что это гиппуровая кислота.

ДИАГНОСЦИРОВАНИЕ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИИ ПОЧЕК У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ПОМОЩИ ФЕНОЛКРАСНОЙ

З. ХОРВАТ и Ф. КАРШАИ

Фенолкрасная является удобным средством для одноинъекционного фракционированного определения коэффициента очищения плазмы. Мочей выделяется в течение 8 часов в среднем 87,3% краски, желчью же — 3%. Концентрация краски в сыворотке между 20—60 минутами после введения по логарифмической пропорции прямолинейно понижается. Среди значений, исчисляемых при помощи метода, наиболее характерным для функционального состояния почек, и для клинического применения из-за несложности исчисления наиболее удобным авторы считают значение биологического деления ($t_{1/2}$). У здорового крупного рогатого скота это значение равняется 20,6 минутам. При тяжелых поражениях почек оно равнялось 40—75 минутам, при менее тяжелых — 26—38 минутам. Полученные значения в большинстве случаев соответствовали степени поражения. На основании своих наблюдений авторы приходят к тому убеждению, что описанный способ определения функционального состояния почек практичен, удовлетворяет клиническим требованиям.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ПОМОЩИ МЕЧЕННОГО ЙОДА

V. Влияние скармливания антибиотиков на обмен веществ тканей цыплят

М. ШТЮЦЕЛЬ, Ж. НЕМЕТ-ГАШПАР, А. КЕМЕНЬ и Х. БОЛДИЖАР

Цыплятам возраста 8 недель в течение 4—7 недель скармливали ежедневно 1 мг (на голову) террамицина (хлорамфеникол).

У экспериментальных животных в отношении к контрольным обнаружены следующие изменения в обмене тканей: 1) потребность тонкой и слепой кишок и щитовидной железы в кислороде повысилась; 2) способность щитовидной железы накоплять йод понизилась.

В щитовидной железе животных, получавших террамицин, уровень йодтиронинов и йодтирозинов на 50% выше, чем у контрольных животных.

На основании полученных данных можно предполагать, что при бактериостатическом эффекте террамицин действует непосредственно и на обмен веществ.

О СОДЕРЖАНИИ ЖЕЛЕЗА И ЖЕЛЕЗОСВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ СЫВОРОТКИ СВИНЕЙ

ХОРВАТ З., КАРШАИ Ф. и ПАПП Л.

На основании изучения образцов крови 160 здоровых свиней авторы нашли, что уровень железа в среднем равняется 144 γ%-ам при крайних значениях 96—214 γ%, железосвязывающая же способности сыворотки (total Fe capacity) — 427 γ%, при крайних значениях 290—606 γ%. Среднее значение сатурации равнялось 34%-ам (у 80% случаев оно колебалось в пределах 27—42%).

Степень погрешностей, обусловленных широким диапазоном индивидуального колебания, процентом сатурации, исчисляемым из уровня железа в сыворотке и из железосвязывающей способности, можно значительно снизить. Необходимую снабженность организма железом % сатурации отражает более верно, чем само значение уровня железа сыворотки.

Доказательством этому служат данные исследований на клинически разной степени анемичных 90 поросятах. У этой группы животных уровень железа колебался в пределах 19—135 γ%, железосвязывающая способность сыворотки — в пределах 500—1320 γ%, а % сатурации — в пределах 1,7—19. На основании значения уровня железа (ниже 51 γ%) только 21,1% животных нужно бы декларировать сильно страдающим от недостатка железа, базируясь же на %-е сатурации, 42% животных декларировано сильно анемичными. Значение уровня железа в сыворотке (52—100 γ%) только у 50% животных указывало на нужность лечения железом, тогда как процент сатурации (10—20%) у 58% животных говорил за нужность терапии.

При помощи разных препаратов железа на 25 подсвинках проводились эксперименты нагрузки железом. Данные экспериментов по даче содержащих железистый декстран препаратов показали, что на формирование уровня железа в сыворотке влияет не только доза, но и концентрация железа в препаратах.

Препараты с гидродекстраном железа или с карбоксиметилдекстраном железа далеко не повышают уровень железа сыворотки в такой степени, как препараты с декстраном железа.

Железосвязывающая способность сыворотки заметно и пропорционально повышается после толчкообразного повышения уровня железа сыворотки. Под влиянием относительно низких значений железа в сыворотке железосвязывающая способность существенно не изменяется.

Если уровень железа сильно повышается, темп повышения железосвязывающей способности может отстать, она может быть ниже уровня железа в плазме. Тогда % сатурации достигает значения 100, указывая на то, что в крови циркулирует с белком не связанный декстран железа.

ДАННЫЕ К ЭТИОЛОГИИ КРОВЯНОЙ ТЕЧКИ У ТЕЛОК

Я. ХАРАСТИ

На основании гистологических и гистохимических исследований автор приходит к заключению, согласно которому причиной кровяной слизи течки является сдвиг во времени и количества эстрона по сравнению с прогестероном с одновременным удлинением срока овуляции. Это нейрогормональное расстройство только временного характера и является непатологическим проявлением активизации половой жизни.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЭМКАРА

ДЬ. КУЧЕРА

Изучение эффективности вакцины против эмкара пробой защиты морской свинки давало нестойкие результаты. Автор начал поиски за лучшим экспериментальным животным как морская свинка и занялся разработкой стандартизации заражения. Нужную для стандартизации суспенсию спор автор получал таким образом, что обычный лошадиный бульон кипятил 30 мин. на водяной бане при 100° С, затем его быстро охлаждал и добавлял к нему 10% стерильной лошадиной сыворотки. После заражения бульон закрывался стерильным парафином и потом выдерживался два дня при температуре 37° С.

После этого содержавшуюся при комнатной температуре в течение 10 недель культуру центрифугировал, раз промывал и ресуспендировал в физиологическом растворе поваренной соли (содержащей дезинфицирующие вещества — кристаллфиолетовый раствор соотношения 1:150 000, разбавленный раствор в 1:1500 азида натрия и хлоралгидрат в соотношении 1:1250) половины оригинального объема культуры. Полученная этим способом суспенсия спор в течение двухлетнего хранения в холодильнике не теряла на качестве спор и патогенности и соблюдала стерильность. Суспенсия на 3%-ном растворе солянокислого кальция при разведении в 10^{-5} и введении в мышцу всегда убивала морскую свинку. Кроме морских свинок автором велись эксперименты по заражению и защите и на овцах возраста 1/2—1 года и мышах веса 20 г. Автор пришел к заключению, согласно которому овца наиболее чувствительна к заражению Cl. **chauvoei**, но зато их можно наилучше иммунизировать адсорбированной вакциной против эмкара. Среди овец от повторного заражения после трех недель от вакцинации погибло 5,1% привитых животных, тогда как среди морских свинок погибло 20,1% животных, а среди мышей — 55,2% животных. После заражения восприимчивых, невакционировавшихся животных погибло 95% среди овец, 85,5% среди морских свинок и 60,2% среди мышей.

На основании данных исследований автор рекомендует испробовать вакцину против эмкара на овцах при помощи соответствующей суспенсии спор, стандартизовав заражение.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО ПОЛУЧЕНИЮ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРАТИФА СВИНЕЙ

III. Испробование на свиньях в условиях практики адсорбированной к гидроокиси алюминия вакцины, содержащей убитые формалином бактерии **Salmonella typhi-suis**

М. ПАЛЮШИК

При помощи вакцины, адсорбированной к гидроокиси алюминия, содержащей убитые формалином бактерии **Salmonella typhi-suis**, в неблагополучных по хроническому (Фолдагсен) паратифу хозяйствах автор добился следующих успехов.

В группе свиней в 1250 голов, привитых 1×4 мл-ами вакцины в большинстве случаев после отбивки и в возрасте молодняка, от хронического паратифа погибло 114 (9,12%) животных, тогда как среди 1385 контрольных, непривитых животных, зарегистрировано 246 (17,75%) случаев падежа от этой болезни. Из этого явствует, что вакцина спасла от гибели 48,65%-ов отбитых подсвинков и молодняка, которые без прививки погибли бы от паратифа Фолдагсен.

Намного эффективнее оказалась активная иммунизация поросят в подсосный период их жизни. Половина пометов дважды иммунизировалась 2 мл-ами вакцины с промежутком времени в 2—4 недели. Среди 1047 таким способом привитых животных погибло от хронического паратифа 7 (0,5%) среди 1445 контрольных поросят — 52 (3,6%). Значит, активной иммунизацией в подсосный период можно добиться 86,18%-ой защиты.

Значение P в обоих случаях сильно сигнификантно ($P < 0{,}01$).

У свиноматок к 3—4. месяцу беременности прививка 4—10 мл-ами вакцины не вызывает прививочной реакции. Среди 129 поросят двенадцати свиноматок, иммунизированных в период беременности, погиб от хронического паратифа 1, тогда как среди 140 поросят двенадцати неиммунизированных свиноматок — погибло 15.

ILEITIS REGIONALIS У ПОРОСЯТ И КРОЛИКОВ

И. САБО и А. СЕКИ

Изменения неизвестной этиологии, известные в медицине под термином **ileitis regionalis** или **ileitis terminalis** за период 10 лет наблюдались у 25 свиней и 1 кролика. Характерным признаком изменения является гипертрофия терминального конца подвздошной кишки и, вследствие этого, существенное сужение просвета этого отдела кишечника. Из-за сужения участок кишки перед изменением расширен, он иногда рвется. Это вызывает перитонит и гибель животных. Гистологические исследования показали, что все слои стенки кишечника гипертрофированы, но бросается в глаза гипертрофия мышечного слоя. На основании анализа литературных и собственных данных развитие патологической картины считают компенсирующей гипертрофией.

The *Acta Veterinaria* publish papers on veterinary science in English, German, French and Russian.

The *Acta Veterinaria* appear in parts of varying size, making up volumes.

Manuscripts should be addressed to:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Correspondence with the editors and publishers should be sent to the same address.

The rate of subscription to the *Acta Veterinaria* is 110 forints a volume. Orders may be placed with "*Kultúra*" Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest I., Fő utca 32. — Account No. 43-790-057-181) or with representatives abroad.

Les *Acta Veterinaria* paraissent en français, allemand, anglais et russe et publient des travaux du domaine des sciences vétérinaires.

Les *Acta Veterinaria* sont publiés sous forme de fascicules qui seront réunis en volumes.

On est prié d'envoyer les manuscrits destinés à la rédaction à l'adresse suivante:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix d'abonnement est de 110 forints par volume.

On peut s'abonner à l'Entreprise pour le Commerce Extérieur de Livres et Journaux «*Kultúra*» (Budapest I., Fő utca 32. — Compte-courent No. 43-790-057-181) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

«*Acta Veterinaria*» публикуют трактаты из области ветеринарных наук на русском, французском, английском и немецком языках.

«*Acta Veterinaria*» выходят отдельными выпусками разного объема. Несколько выпусков составляют один том.

Предназначенные для публикации рукописи следует направлять по адресу:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

По этому же адресу следует направлять всякую корреспонденцию для редакции и администрации.

Подписная цена «*Acta Veterinaria*» — 110 форинтов за том. Заказы принимает предприятие по внешней торговле книг и газет «*Kultúra*» (Budapest I., Fő utca 32. Текущий счет № 43-790-057-181), или его заграничные представительства и уполномоченные.

26,— Ft

INDEX

SUSAN, N. GÁSPÁR: Demonstration of a Detoxication End Product in the Genital Secretion of Cows 139

ДАШ, М.: К вопросу изучения морфологической изменчивости Piroplasma caballi (Nutallet Strickland, 1910) в трупе 145

ЛАМИ, Дь.: Данные к выделению декстрана с мочей 151

HORVÁTH, Z. and KARSAI, F.: Demonstration of Renal Dysfunction in Cattle by Phenol-Red Clearance 161

STÜTZEL, M., SUSAN N. GÁSPÁR, KEMÉNY, A. and BOLDIZSÁR, H.: Studies on the Thyroid Gland with Radio-Iodine. V. The Influence of Feeding with Antibiotics on the Tissue Metabolism of Chickens 171

HORVÁTH, Z., KARSAI, F. and PAPP, L.: Studies on the Iron Concentration and Iron-Binding Capacity of the Pigs' Blood Plasma 179

HARASZTI, J.: Beiträge zur Ätiologie des blutigen Östrus von Jungkühen..... 197

KUCSERA, GY.: Die Wirksamkeitsprüfung der Rauschbrand-Vakzine..... 205

PALYUSIK, M.: Preparation of Experimental Vaccine against Chronic Paratyphoid of Pigs. III. Field Trials with Formolized Aluminium-Hydroxide-Adsorbed Salmonella typhi-suis Vaccine 211

SZABÓ, I. and SZÉKY, A.: The Incidence of Regional Ileitis in Pigs and in a Rabbit..... 219

ЛАМИ, Дь.: Об уровне современных заменителей плазмы в крови. I. Формирование уровня декстрана в плазме 227

Index: 26,026

ACTA VETERINARIA

ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

T. KÁDÁR, J. KOVÁCS, R. MANNINGER,
J. MÉSZÁROS, S. MÉSZÁROS, J. MÓCSY, J. SÁLYI

REDIGIT

A. KOTLÁN

TOMUS XIV FASCICULUS 3

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST
1964

ACTA VETERINARIA

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTŐSÉG: BUDAPEST VII., LANDLER J. U. 2. KIADÓHIVATAL: BUDAPEST V., ALKOTMÁNY U. 21.

Techn. szerk.: KOBULEJ TIBOR

Az *Acta Veterinaria* német, angol, francia és orosz nyelven közöl állatorvostudományi értekezéseket.

Az *Acta Veterinaria* változó terjedelmű füzetekben jelenik meg, több füzet alkot egy kötetet.

A közlésre szánt kéziratok a következő címre küldendők:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztőségi és kiadóhivatali levelezés.

Az *Acta Veterinaria* előfizetési ára kötetenként belföldre 80 Ft, külföldre 110 Ft. Megrendelhető a belföld számára az „*Akadémiai Kiadó*"-nál (Budapest V., Alkotmány utca 21. Bankszámla 05-915-111-46), a külföld számára pedig a „*Kultúra*" Könyv- és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest I., Fő utca 32. Bankszámla 43-790-057-181 sz.) vagy annak külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

Die *Acta Veterinaria* veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereiche der Veterinärwissenschaften in deutscher, englischer, französischer und russischer Sprache.

Die Acta Veterinaria erscheinen in Heften wechselnden Umfanges. Mehrere Hefte bilden einen Band.

Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind an folgende Adresse zu senden:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

An die gleiche Anschrift ist auch jede für die Redaktion und den Verlag bestimmte Korrespondenz zu senden.

Abonnementspreis pro Band: 110 forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Außenhandels-Unternehmen »*Kultúra*« (Budapest I., Fő utca 32. Bankkonto Nr. 43-790-057-181) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.

ISOLATION OF ADENOVIRUS STRAINS FROM CALVES WITH VIRUS DIARRHOEA

By

A. BARTHA and P. ÁLDÁSY

Department of Epizootiology (Director: J. MÉSZÁROS), University of Veterinary Sciences, Budapest, and Institute for Veterinary Hygiene (Director: P. ÁLDÁSY), Miskolc

(Received September 28, 1963)

The adenovirus group appears to be one of those quite satisfactorily defined in the taxonomy of viruses. Up to now a total of 38 types of this group have been described. Most of them were isolated from humans, the remainder originated from monkeys, dogs, mice, chickens or calves. The etiological relation of some types of adenoviruses to certain diseases of the eye or respiratory tract in man has been fairly well established. No similar etiological relations were, however, demonstrated between adenoviruses isolated from animals and any specific disease. (With the probable exception of the virus of canine hepatitis which is supposed to belong to the adenovirus group). Members of the adenovirus group can only be propagated in cultures of epithelial cells from animals phylogenetically related to those yielding the virus. The infected tissue culture cells develop characteristic acidophilic nuclear inclusions. The viruses resist both ether and chloroform treatment and their temperature sensitivity is relatively low. All strains appear to have a common complement-fixing antigen. At the final stage of the viral cycle the icosahedral virusparticles accumulate in a crystalline pattern in the nucleus. The diameter of mature virus particles is 82 mμ.

Up to now there has been but the reports of KLEIN et al. (1959, 1960) available on the isolation of 2 adenovirus-like agents from faecal samples of healthy cattle. Both strains possessed the group-specific complement fixing antigen. None of these two agents was found to be able to produce any clinical symptoms in artificially infected calves. Nevertheless, both grew well in calf- or monkey-kidney tissue cultures and produced the typical acidophilic nuclear inclusions.

From excrets, secrets and organ extracts of young calves suffering from, or died of, viral diarrhoea we succeeded to isolate in calf testicle cell monolayers 3 strains which were etiologically unrelated to the actual illness and exhibited certain characteristics of adenoviruses.

Materials and methods

Primary kidney or testicle cell monolayer cultures were prepared by trypsinization, from calves slaughtered for utility purposes. The growth medium

consisted of Hanks' solution containing 15 per cent calf serum, 0.5 per cent lactalbumin hydrolysate and the usual antibiotics.

The kidney and testicle cell cultures were generally ready for use after 4 and 2 days of incubation, respectively. At that time the medium was changed for Hanks' solution containing 0.5 per cent lactalbumin hydrolysate and the tissue cultures were inoculated each with 0.1 ml of the supernatants of samples of secret, faeces or organ emulsion, suspended and centrifuged in 5 to 10 volumes of Hanks' solution. Transfers were made with 0.1 ml of the fluid phase of the infected cultures, irrespective whether or not there was any cytopathogenic change present in the culture. A total of 10 consecutive passages were usually made from each culture. In order to detect the cytopathic changes, the cultures were examined with a low-power microscope on the 7th day after incubation. If there were cytopathic changes present, the cultures were fixed, embedded in collodion, and the sections were stained with Mayer's hemalaun-eosine.

With one of the strains isolated we inoculated two 6-week-old calves, one of them intranasally and the other by the intravenous route. The sera of these two animals and of the contacts of those yielding the strains were tested for neutralizing antibodies in tissue cultures. For this purpose 100 $TCID_{50}$ of virus in a volume of 0.1 ml were added to each member of a twofold dilution series of serum, and prior to inoculation into tissue cultures the mixtures were incubated for 1 hour at 37° C. Results were read on the 7th day of incubation. The same method was used for testing of the sera of rabbits immunized with 6 intravenous injections of 5 ml virus at 7 days' intervals.

The chloroform-resistance of the strains was examined as follows: Virus was extracted from the cells by two cycles of freezing and thawing. To the supernatant obtained by centrifugation of the suspension 20 per cent by volume of chloroform was added and thoroughly mixed. The mixture was kept at +4° C overnight, then centrifuged and titrated in tissue cultures using inocula of 0.1 ml. The results were read after an incubation period of 7 days.

The isolates were inoculated intranasally or intramuscularly to rabbits, guinea pigs, albino rats and mice. Groups of 10 days' old embryonated eggs were also inoculated into the amniotic cavity and yolk sac as well as onto the chorioallantoic membrane.

Haemagglutination tests with the fluid phase of infected tissue cultures were performed by the method of TAKÁTSY. Twofold dilution series of virus-containing supernatants were tested against suspensions of chicken, sheep, guinea pig, albino rat, or mouse erythrocytes at both 37° and 4° C.

The thermoresistance of the strains was tested at 60° C in the water bath. Samples were taken after 1, 3, 5 and 10 minutes of incubation and titrated in calf-testicle cell cultures.

Results

In the summer of 1962 two simultaneous outbreaks of virus diarrhoea were observed in two calf-breeds, 60 kilometres apart, in the environment of the town Miskolc. The isolation of the etiological agent was attempted by inoculation of calf kidney and calf testicle cell cultures with samples of organ extracts of animals died of the disease and with those of excrets and secrets of affected animals, in the way described above. No agent etiologically related

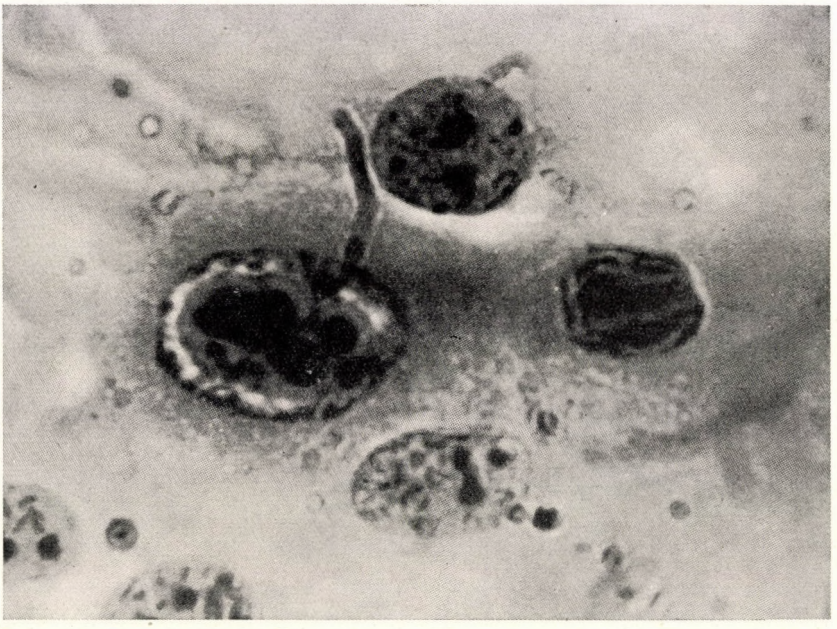


Fig. 1. Intranuclear inclusions in epithelial cells of calf testicle culture infected with bovine adenovirus strain THT. Stained H. & E. Magnification: 1200

to diarrhoea was isolated. In calf-testicle cell cultures, however, the presence of another cytopathogenic agent was observed. Two dead animals from one farm (TH) yielded one strain each. Isolation was successful from a lung specimen (THT) in the one, and from the intestinal contents (THB) in the other case. A third strain (TKO) was isolated from the nasal secret of an animal from the other farm.

All the 3 strains produced cytopathic effects only after 6 to 8 blind passages in calf-testicle cell cultures. None of them had any effect in calf-kidney cultures. Upon further passaging the appearance of the cytopathic effect became regular in the epithelial elements of calf-testicle cultures, while the fibroblastic elements remained intact throughout.

The morphology of cytopathic changes was typical and could readily be observed also in native cultures. As soon as 3 to 5 days after inoculation, some of the epithelial cells rounded off and appeared to be enlarged. Gradually more and more cells became involved and finally no normal epithelial elements were present. The affected cells were readily observable in the network of normal fibroblasts.

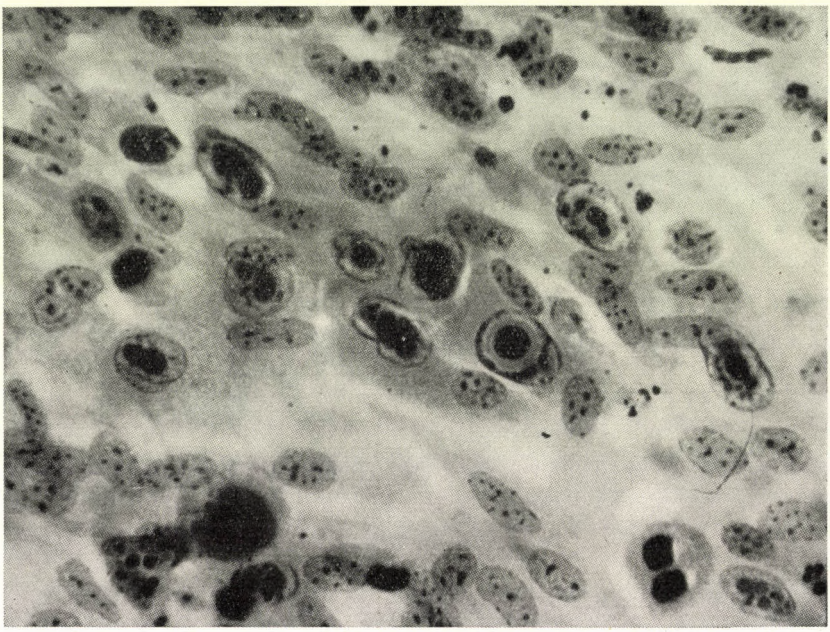


Fig. 2. Intranuclear inclusions in epithelial cells of calf testicle culture infected with bovine adenovirus strain THT. Stained H. & E. Magnification: 400

In preparations stained with Meyer's hemalaun-eosin the morphology of cytopathic changes was very characteristic. The earliest sign was swelling of the nuclei. This was followed by the development of irregularly-shaped, though sharply bordered, granula consisting of the oxy- or basochromatine material of the nucleus. Later on a fusion of the oxychromatine granula took place, resulting in the formation of first 4 to 5, later 1 to 2 regular, spherical, large acidophilic inclusions located in the centre of the nucleus. The inclusion consisted of a central, sharply-bordered core of dark red colour surrounded by a paler red, slightly undulated area. The basochromatine granules were attached to the thickened nuclear membrane. At this stage of nuclear damage there was still no visible change in the cytoplasm. On further progress of the cytopathic events the swollen nucleus began to shrink, i.e. the thickened membrane approached and finally became attached to the unaltered central

acidophilic inclusion body. At last the nucleus measured but the half its original size in diameter, the remnant being a homogeneous dark blue-coloured structure. Parallel to the shrinking of the nucleus the eosiniphilia of the cytoplasm increased and at the complete degeneration of the former, the latter became but a dark red-coloured shrunken structure.

In contrast to the two strains described by KLEIN et al., none of the 3 strains isolated in our laboratory had any cytopathic effect nor did they multiply in calf-kidney tissue cultures. The supernatant of the 3rd calf-kidney passage material did not produce cytopathic effect when inoculated into calf testicle cultures. Similarly, no cytopathogenicity or multiplication of either strain was observable in HeLa cells.

The yield of the viruses in calf-testicle tissue culture was relatively low, being 10^3 and 10^3 to 10^4 $TCID_{50}$ per 0.1 ml in the 10th and 20th passages, respectively.

The fluid phase of tissue cultures infected with virus failed to agglutinate guinea-pig, chicken, sheep, albino rat or mouse red blood cells both at 37° and 4° C.

All 3 strains were chloroform-resistant, i.e. no drop in their titres could be observed upon treatment with chloroform.

The resistance of the 3 strains in general seemed to be higher than the usual. On storage at +4° C for one year, the titre decreased by 1 logarithmic unit only. The strains resisted heat treatment, *viz.* infective virus could be recovered after 5 minutes, but not after 10 minutes, at 60° C. Data concerning the heat tolerance of our strains are presented in Table I.

Table I

Heat tolerance of the isolates

	$TCID_{50}$ per ml after treatment for				
	0	1	3	5	10
	minutes at 60° C				
THT	10^3	10^3	10^1	10^0	∅
THB	10^3	10^3	10^1	10^0	∅
TKO	10^4	10^3	10^1	10^1	∅

None of the isolated strains was capable of producing any clinically manifest illness in the inoculated animals. Neither intravenous nor intranasal inoculation resulted in illness in two 6 weeks old calves. Rabbits, albino mice, rats and guinea pigs remained invariably free of any symptoms after either intramuscular or intranasal inoculation of any of the three strains. No virus multiplication could be observed in the embryonated egg.

Serum samples from four contacts and from two artificially-infected calves were tested for neutralizing antibodies against the 3 isolates and the viruses of virus diarrhoea, infective rhinotracheitis and of parainfluenza 3 as well. Similar tests were carried out with sera from rabbits hyperimmunized with the isolated adenovirus strains. The data presented in Table 2 reveal that the sera of artifically-infected calves and those of hyperimmunized rabbits contained antibodies only to the isolate. Out of the sera of the 4 contacts there was only one containing these antibodies, two had antibodies against parainfluenza 3 virus, while all four contained neutralizing antibodies against the viral diarrhoea agent. No antibodies against infectious rhinotracheitis virus were found in any of the blood samples.

Table II

Neutralization tests with serum samples from animals infected artificially with the isolates and from the contacts

Serum			Virus			
			THT	Virus diarrhoea	Para-influenza 3	Rhino-tracheitis
Calves	infected	1.	1 : 16	∅	∅	∅
		2.	1 : 8	∅	∅	∅
	contact	1.	1 : 8	1 : 32	1 : 8	∅
		2.	∅	1 : 16	1 : 16	∅
		3.	∅	1 : 16	∅	∅
		4.	∅	1 : 8	∅	∅
Rabbits	hyper-immune	1.	1 : 16	∅	∅	∅
		2.	1 : 32	∅	∅	∅

Sera from the infected calf No. 1 and from the hyperimmune rabbit No. 2 were kindly tested for human adenovirus antibody content in the Virus Dept. of the State Institute of Hygiene, Budapest. Both sera were positive for complement fixing antibodies against the group-specific soluble antigen of human adenoviruses.

Discussion

We succeeded in isolating 3 strains from different clinical and necropsy samples taken from calves ill with, or died of, virus diarrhoea. The strains were found to be identical with each other but different from any strain isolated up to now from calves with the same symptoms. No etiological role could be attributed to the agent isolated, as antibodies to the isolates were

missing from most survivors of virus diarrhoea and the calves infected artificially with the agent did not develop the disease either. In spite of the fact that we failed to isolate the cytopathogenic strains of virus diarrhoea from this epizootic, the presence of these agents should be considered as an accidental coincidence. The isolates appear to belong to the adenovirus group on the basis of their main characters, *viz.* resistance to chloroform, replication exclusively in epithelial cells, production of acidophilic nuclear inclusions, low yield of virus in tissue culture, relative heat resistance, lack of pathogenicity for laboratory animals and calves. The 2 strains isolated by KLEIN et al. exhibited essentially the same characteristics except that they grew in calf-kidney epithelial cultures. The strains of KLEIN et al. had a complement-fixing antigen related to that of human adenoviruses. Such antigen was detectable in our strains too. Thus we think that also our strains may be classified as adenoviruses.

The virus isolated in our laboratory failed to produce any disease in inoculated calves or laboratory animals. This, however, does not mean that it will fail to do so under any other condition. Thus we would draw attention to the necessity of examining the incidence and also the possible etiological role of adenoviruses in the increasing number of etiologically ill-defined infections of calves.

SUMMARY

From calves with virus diarrhoea three strains of an agent apparently belonging to the adenovirus group were isolated in calf-testicle cell cultures. The strains did not multiply in any of the other epithelial cell cultures tested. In the epithelial cells of calf testicle cultures the virus produced characteristic acidophilic inclusions. The virus yield was relatively low, amounting to 10^3—10^4 $TCID_{50}$ per 0.1 ml only. The agent was resistant to chloroform and survived for 5 minutes at 60° C. It has complement fixing antigen common with that of human adenoviruses. The isolates failed to produce symptoms when inoculated into calves or common laboratory animals. This observation, however, does not exclude their possible pathogenicity under conditions different from those established in our experiments.

REFERENCES

KLEIN, M., EARLEY, E. and ZELLAT, J.: Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.) **102** (1959), 1.
KLEIN, M., ZELLAT, J. and MICHAELSON, T. C.: Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.) **105** (1960), 340.

ZWEI NEUE MONOGENETISCHE EGELARTEN

Von

K. MOLNÁR

Parasitologische Abteilung des Forschungsinstituts für Veterinärmedizin
(Direktor: J. MÉSZÁROS) der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest

(Eingegangen am 1. Oktober 1963)

In früheren Arbeiten (MOLNÁR, 1962, 1963; MOLNÁR und NÉMETH, 1962) habe ich bereits über das Vorkommen mehrerer monogenetischer Egel in Ungarn berichtet. Die angetroffenen Arten sind in den benachbarten Ländern schon früher beschrieben worden. Nachstehend gebe ich die Beschreibung von zwei Egeln, die in der zur Verfügung stehenden Fachliteratur nicht erwähnt wurden, weshalb ich glaube, daß sie neue Arten repräsentieren.

I.

Im Verlauf der Jahre 1962—1963 haben wir in der Donau unterhalb von Budapest von 50 *Chondrostoma nasus* regelmäßig die Kiemenwürmer eingesammelt. Auf Grund der Untersuchungen darf festgestellt werden, daß die Vertreter der Gattung *Dactylogyrus* zu allen Jahreszeiten angetroffen werden können und im allgemeinen gemischt vorkommen.

Von diesen ist das Vorkommen von *Dactylogyrus chondrostomi* Malewitzkaja, 1941, in der Donau wohlbekannt (ROMAN, 1960). Sehr häufig ist auch *Dactylogyrus vistulae* Prost, 1957, an den Kiemen der Knorpelmäuler vorzufinden, obschon diese Art von diesem Fisch noch nicht erwähnt wurde. Da indessen die von ROMAN (1960) über *Dactylogyrus similis* Wegener, 1909 sp., mitgeteilte Beschreibung und Zeichnung eigentlich *Dactylogyrus vistulae* entspricht, muß angenommen werden, daß *Dactylogyrus vistulae* auch im rumänischen Donauabschnitt vorkommt, so daß diese Art unter Richtigstellung des vorigen Namens im Wassergebiet der Donau als gewöhnlich bezeichnet werden kann.

Im Verlauf unserer Untersuchungen sahen wir an Chondrostoma sehr häufig *Dactylogyrus chondrostomi* ähnliche, aber von diesen in wesentlichen morphologischen Merkmalen abweichende monogenetische Exemplare, die zweifellos als eine neue Art angesehen werden müssen. Die Ähnlichkeit beruht auf der vollkommenen Übereinstimmung des Kopulationsorgans der erwähnten beiden Arten, der Unterschied aber tritt in sehr wesentlichen Abweichungen des Hakenapparates zutage. Auf diese Eigentümlichkeiten

haben GUSSEV und Mitarbeiter (1962) bereits hingewiesen. ERGENS (1959) fand gleichfalls an Chondrostoma eine neue Dactylogyrus-Art, die er mit dem von MARKEWITSCH (1933) an *Rutilus frisii* beschriebenen *Dactylogyrus nybelini* identifizierte, wobei er Chondrostoma als neuen Wirt dieser Egelart verbuchte. Da jedoch das Kopulationsorgan der erwähnten neuen Art in diesem Fall wesentlich von dem des seitens MARKEWITSCH (1933) beschriebenen *Dactylogyrus nybelini* abweicht und auch ein beträchtlicher Unterschied in der Form und Größe der ventralen Verbindungsplatten besteht, ist wahrscheinlich die seitens ERGENS von Chondrostoma beschriebene und mit *Dactylogyrus nybelini* identifizierte Art mit der von mir beschriebenen identisch, um so mehr als die von ERGENS veröffentlichten Zeichnungen den von mir publizierten gleichen und wesentlich von MARKEWITSCHS Abbildungen abweichen.

Die erwähnte Egelart schmarotzt an den Kiemen sowohl der in der Donau wie in der Theiß vorkommenden Knorpelmäuler.

Die differenzierenden Merkmale der Arten und die Beschreibung der neuen Art gebe ich auf Grund der Grenzwerte der Ausmaße von je 10 Parasiten im folgenden an.

*Dactylogyrus ergensi** n. sp.

Körperlänge 0,56—0,80 mm, Körperbreite 0,08—0,16 mm. Die beiden Zentralhaken haben eine Länge von 0,04—0,042 mm. Beide Wurzelfortsätze sind gut entwickelt; der dorsale Wurzelfortsatz ist 0,016 mm, der ventrale

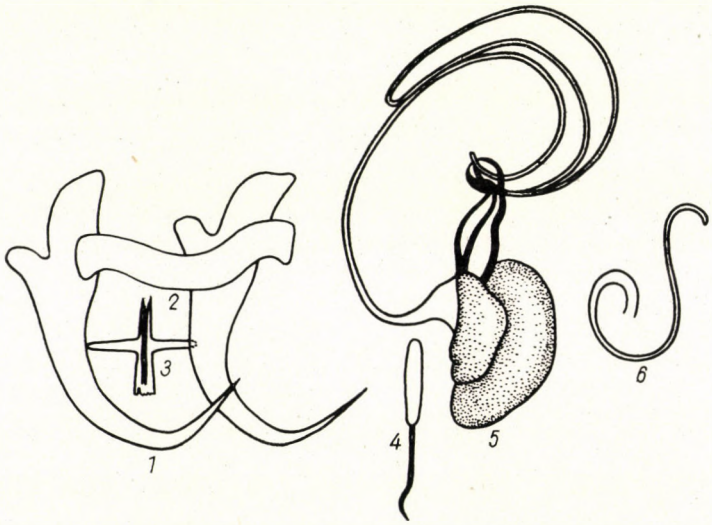


Abb. 1. Dactylogyrus ergensi sp. n. 1, Zentralhaken; 2, dorsale Verbindungsplatte; 3, ventrale Verbindungsplatte; 4, Randhaken; 5, Kopulationsorgan; 6, vaginales Chitingerüst*

* Zu Ehren des namhaften tschechoslowakischen Forschers ERGENS benannt.

0,005—0,007 mm lang. Der Krallenabschnitt ist schwach gebogen und weist zwei deutlich wahrnehmbare Knickungen auf. Der Basalabschnitt hat eine Länge von 0,031—0,033 mm, der apikale eine solche von 0,012 mm. Die dorsale Verbindungsplatte ist länglich, an den beiden Enden und in der Mitte nach unten gebogen, 0,029—0,031 mm breit und 0,005—0,006 mm lang. Die ventrale Verbindungsplatte ist kreuzförmig, ihre Längsfortsätze sind durch eine Spalte in zwei Abschnitte geteilt. Die ventrale Verbindungsplatte hat eine Breite von 0,014—0,017 mm und eine Länge von 0,013—0,017 mm.

Die 14 Randhaken sind ziemlich einheitlich, der Stiel ist gut entwickelt, der Krallenabschnitt offen. Das Ausmaß der Randhaken beträgt durchschnittlich 0,028 mm (Grenzwerte 0,025—0,032 mm), des Stielabschnitts 0,013—0,016 mm, der Hakenspitze 0,006—0,007 mm.

Das Kopulationsorgan stimmt in jeder Hinsicht mit dem von MALEWITZKAJA (1941) an *Dactylogyrus chondrostomi* beschriebenen überein; seine Länge variiert zwischen 0,041 und 0,057 mm. Das vaginale Chitingebilde ist entweder eine S-förmige oder unregelmäßige gebogene Röhre, deren Länge je nach der Sichtbarkeit stark variiert; im allgemeinen ist es 0,024—0,028 mm lang.

Vergleicht man die hier beschriebene Art mit *Dactylogyrus chondrostomi*, so ist festzustellen, daß hinsichtlich des Kopulationsorgans und des Vaginalgebildes keinerlei Unterschiede bestehen, jedoch die an der Haftscheibe anzutreffenden Formationen morphologisch entschieden voneinander abweichen. Der Zentralhaken von *Dactylogyrus chondrostomi* ist erheblich größer als jener der hier besprochenen Art. Der ventrale Wurzelfortsatz ist bei der ersteren Art lediglich 1/5 so groß wie der dorsale, während an den Exemplaren der letzteren Art auch der ventrale gut entwickelt ist. Die Form der dorsalen Verbindungsplatte weicht bei *Dactylogyrus chondrostomi* ganz und gar von der typischen ab, während wir bei der hier beschriebenen Art die für Dactylogyrus charakteristische längliche Platte vorfinden. Bei *Dactylogyrus chondrostomi* ist die ventrale Verbindungsplatte nicht anzutreffen, wogegen jene der anderen Art deutlich wahrgenommen werden kann. Die Länge der Randhaken übersteigt bei der neu beschriebenen Art die der Randhaken von *Dactylogyrus chondrostomi;* insbesondere in der Ausgeprägtheit des Stiels weicht die hier beschriebene neue Egelart von *Dactylogyrus chondrostomi* ab.

Zwischen der neuen Art und der an der Plötze vorkommenden Art *Dactylogyrus nybelini* besteht ein wesentlicher Unterschied in der Form des Kopulationsorgans. Die ventrale Verbindungsplatte der ersteren Art ist einem Kreuz aus gleich langen Fortsätzen ähnlich, während die ventrale Verbindungsplatte der von MARKEWITSCH beschriebenen Art *Dactylogyrus nybelini* aus drei Fortsätzen besteht. Sowohl der dorsale wie der ventrale Wurzelfortsatz der mittleren Haken ist bei der neu beschriebenen Art länger als die von MARKEWITSCH und KULAKOWSKAJA bei *Dactylogyrus nybelini* angegebenen Ausmaße.

Zu Vergleichszwecken sind in der nachfolgenden Tabelle die Angaben der drei Parasitenarten sowie die von ERGENS mitgeteilten Ausmaße zusammengefaßt. Die Maße von *Dactylogyrus chondrostomi* beruhen auf eigenen Messungen.

Tabelle

	Dactylogyrus chondrostomi mm	*Dactylogyrus nybelini* (nach MARKEWITSCH) mm	*Dactylogyrus nybelini* (nach ERGENS) mm	*Dactylogyrus ergensi* mm
Körperlänge	0,56 —0,68	—	—	0,56 —0,80
Körperbreite	0,07 —0,10	—	—	0,08 —0,16
Länge der Zentralhaken	0,056—0,064	0,04	0,041—0,043	0,040—0,042
Basalabschnitt	0,046—0,050	—	0,032—0,034	0,031—0,033
Dorsaler Wurzelfortsatz	0,021—0,024	0,01	0,015—0,017	0,016
Ventraler Wurzelfortsatz	0,003—0,004	0,004	0,004—0,006	0,005—0,007
Spitzenlänge	0,013—0,016	—	0,013—0,015	0,012
Breite der dorsalen Verbindungsplatte	0,023—0,024	0,035	0,026	0,029—0,031
Länge der dorsalen Verbindungsplatte	0,017—0,018	0,005	0,005—0,007	0,005—0,006
Breite der ventralen Verbindungsplatte	—	—	0,020—0,022	0,014—0,017
Länge der ventralen Verbindungsplatte	—	0,015	0,015—0,017	0,013—0,017
Länge der Randhaken	0,019—0,025	0,026—0,029	0,024—0,028	0,025—0,032
Stiellänge	0,007—0,009	—	—	0,013—0,016
Spitzenlänge	0,006—0,008	—	—	0,006—0,007
Länge des Kopulationsorgans	0,041—0,055	0,040	0,032—0,039	0,041—0,057
Länge des Vaginalgebildes	0,048	—	0,064	0,024—0,028

II.

Ein charakteristischer, obschon nicht häufig vorkommender Fisch der natronhaltigen Seen in Ungarn ist der Hundsfisch *(Umbra krameri)*, über dessen Schmarotzer wir nur sehr wenig wissen. Im Verlauf von parasitologischen Untersuchungen gelang es mir in den letzten Jahren, von den Flossen dieser Fischart einen *Gyrodactylus* einzusammeln, der sich in mehreren wesentlichen morphologischen Eigentümlichkeiten von den bisher bekannten Arten unterscheidet. Wegen der mit dem Einfangen des Fisches verknüpften Schwierigkeiten konnten die Untersuchungen nur in den trockenen Monaten Juli

und August durchgeführt werden. Insgesamt untersuchten wir 37 Hundsfische. Auf Grund von 9 Exemplaren, die von 5 in Laktophenol als Dauerpräparate aufgearbeiteten Fischen stammen, kann ich folgende Beschreibung der neuen Art geben:

Gyrodactylus hungaricus n. sp.

Körperlänge 0,47—0,54 mm, Körperbreite 0,12—0,15 mm. Die Haftscheibe ist 0,08—0,09 mm lang und 0,09—0,1 mm breit. An der Haftscheibe sitzen 2 Zentral- und 16 Randhaken. Die Zentralhaken sind gleichmäßig schmal und haben eine Länge von 0,061—0,063 mm. Der Basalabschnitt ist 0,040—0,042 mm lang. Der dorsale Wurzelfortsatz hat eine Länge von 0,020—0,021

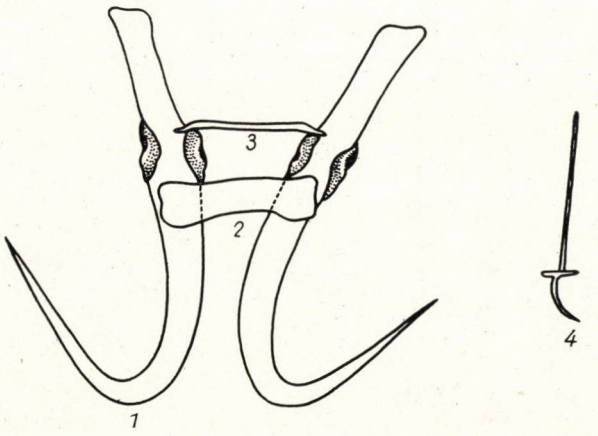


Abb. 2. Gyrodactylus hungaricus sp. n. 1, Zentralhaken; 2, Hauptverbindungsplatte; 3, Verbindungsplatte zwischen den äußeren Fortsätzen; 4, Randhaken

mm. Die Spitze der Haken ist stark zurückgebogen und 0,024—0,026 mm lang. Die 0,024—0,025 mm breite Hauptverbindungsplatte ist länglich und an beiden Enden etwas kompakter; in der Mitte ist sie 0,005, an den beiden Rändern 0,006 mm lang. Die die äußeren Fortsätze verbindende Platte hat eine Breite von 0,024—0,026 mm und eine Länge von 0,002 mm.

Die 16 Randhaken sind gleichmäßig 0,028—0,030 mm lang. Die ziemlich großen Krallen sind offen und 0,008 mm lang; der Querschnitt der Krallenwurzel beträgt 0,005 mm, der Stiel hat eine Länge von 0,020—0,022 mm.

Die vorerwähnte Gyrodactylus-Spezies unterscheidet sich wesentlich von den anderen Gyrodactylus-Arten, und zwar einerseits durch die großen Krallen an den Randhaken, anderseits in beträchtlichem Maße durch ihre schmaleren mittleren Haken selbst von den ihr morphologisch am nächsten stehenden Arten (z. B. der Gruppe *Gyrodactylus wageneri* [Malmberg]).

ZUSAMMENFASSUNG

Zwei neue monogenetische Egelarten wurden beschrieben. An den Kiemen von *Chondrostoma nasus* ist *Dactylogyrus ergensi* n. sp., an den Flossen des Hundsfisches *(Umbra krameri) Gyrodactylus hungaricus* n. sp. anzutreffen. *Dactylogyrus ergensi* n. sp. läßt sich auf Grund der morphologischen Erscheinungsform der Haken sowie von *Dactylogyrus nybelini* auch in der Form des Kopulationsorgans gut differenzieren. Ebenso weisen die Haken von *Gyrodactylus hungaricus* wesentliche morphologische Eigentümlichkeiten auf und unterscheiden sich in dieser Hinsicht von sämtlichen bisher bekannten Gyrodactylus-Spezies.

LITERATUR

Быховский, Б. Е. und Mitarb.: Определитель паразитов пресноводных рыб СССР. Москва—Ленинград, 1962. Ergens, R.: Československá parasitologie **6** (1951), 1. Idem: Věstník Československé Zoologické Společnosti **23** (1959), 2. Malmberg, C.: Skrifter Södra Sveriges Fiskeriförening Arsskrift, 1956, 19—46. Markewitsch, A. P.: Zool. Anzeiger **103** (1933), 18—21. Molnár, K.: Annal. Biol. Tihany **29** (1962), 117—127. Idem: Állattani közlemények **50** (1963), 1—4. Molnár, K. und Németh, I.: Acta Vet. Hung. **12** (1962), 3. Prost, M.: Acta Parasitol. Polon. **5** (1957), 14. Roman, E.: Fauna Republici Populare Romine. Bucuresti, 1960.

SURVEY ON THE EXPERIMENTAL AND LITERARY BASIS OF THE CONTROL OF AVIAN LEUCOTIC COMPLEX IN HUNGARY

By

K. BAMBERGER

Veterinary Medical Research Institute (Director: J. MÉSZÁROS), Hungarian Academy of Sciences, Budapest

(Received October 5, 1963)

Up to 1955 losses by avian leucosis including tumours and all forms of lymphomatosis involved about 2 per cent of died or emergency-slaughtered mature fowls in Hungary. This percentage showed little change for years (BAMBERGER et al., 1957). Establishment of large-scale poultry-breeding and production farms was started in 1947 and such institutions increased considerably in number over the period 1953—1957 (MÁRTHA, 1960). Parallel to this, the loss rose to 5.7 per cent, which is more than twofold the initial value (BAMBERGER, 1959a). From 1957 on, poultry industry continued developing without significant increase in the percentage of losses. In 1961 all forms of avian leucoses were found in 7.8 per cent of the cadavers of adult poultry (BOKORI, 1962). Thus at present losses from avian leucosis are relatively low in Hungary, which is a result of the effective control measures introduced since 1958.

The principles applied in Hungary for the control of avian leucoses have been discussed several times (BAMBERGER, 1959a, b; 1961a, b; 1962). However, no data have been published either on their experimental basis, or on the literary data from which certain details had derived. The present paper was written with the aim to fill this gap, the more as principles similar to those applied in the control of avian leucosis in Hungary have been considered in several other countries too (VOIGT and HILLE, 1962; MEHNER, 1962).

A report on the status of the control of avian leucosis was given by HUTT and COLE at the Tenth World's Poultry Congress in 1954. These authors noted: "The most important factors determining the outcome, *i.e.* the subsequent mortality from leucosis, seem to be (1) the genetic constitution of the birds, (2) their age at exposure, and (3) the severity of that exposure". Thus, the control of the disease should be based on the isolation of chicks from the adult stock and the establishment of breeds with genetic resistance to avian leucosis. Both methods proved ineffective when applied separately so that in practice their joint application was advised. HUTT and COLE suggested to provide hatcheries and live stocks with resistant strains, or at least with cockerels from resistant strains produced by breeders of pedigreed poultry, and to isolate completely the newly-procured chicks from the adult stock in the raising farms. The practicability of the above principles was evaluated by BLAXLAND in 1956. He stated that since the identification of carriers is mostly impossible and egg transmission of the agent is frequent, the sanitary measures are necessarily incomplete and the establishment of strains with genetic resistance is impracticable on a national level. BLAXLAND noted that besides the above 3 factors also certain environmental influences may have a role in determining

losses by leucosis. In this connection he refers to GORDON, COLES and STACEY (1955), who established that rearing chicks in isolation is not always as effective as it had been originally hoped. BLAXLAND also cites COLES (1954, 1955a, b), who found that the financial expenditure involved in the establishment of genetically resistant strains is beyond the means of most breeders. In accordance with the above authors, BLAXLAND also supposed that unlike infected stocks, in non-infected ones breeding from hens rather than pullets may occasionally result in a decrease rather than increase of the genetic resistance.

LÖLIGER (1957) does not raise the question of choice between pullet-bred and hen-bred chickens. He emphasizes besides the importance of rigorous sanitary measures and the establishment of strains with high genetic resistance the importance of high mineral concentrations in the food.

According to GYLSTORFF (1960), the control of leucosis by breeding exclusively from older hens and rearing chickens in complete isolation until 14—16 weeks old is entirely impracticable in the long run because of the enormous costs involved. GYLSTORFF suggested that under the guidance of district animal hygienic centres, breeders should make common efforts to establish genetically resistant lines. As a condition for this is the exact knowledge on the status of leucosis infection in the stock, the laboratories must help by doing the histological processing of every chicken cadaver submitted.

On the basis of literary data and their own experiences, FOMINA, SIDOROV, KONTRIMAVITSHUS and ZHUBTZEVA (1961) found that the conditions of management have no influence on losses by leucosis, whereas the feeding of the animals has a very important role. Losses by leucosis were considerably higher in stocks where the animals were fed on large amounts of autoclaved protein than in stocks where such a diet was not available. According to FOMINA and co-workers, the increase of losses is due to the autoclaved protein.

VOIGT and HILLE (1962) stated that breeding from several years old hens is entirely sufficient for the eradication of leucosis. MEHNER (1962) has been definitely against pullet-breeding, not only from the point of view of leucosis but also for the sake of the control of other diseases.

In Hungary, CSONTOS and SÁLYI (1939) made sharp distinction between measures against avian leucosis and other tumours, and Marek's fowl paralysis (neurolymphomatosis). According to the above authors, tumours develop spontaneously and therefore no special control is necessary, while Marek's fowl paralysis has not occurred in Hungary since 1907, except in stocks imported from abroad. For the control of Marek's fowl paralysis, CSONTOS and SÁLYI suggested the employment of very rigorous measures: breed animals must not be procured from flocks where the disease is present. If the incidence of avian leucosis is discovered in a flock, the whole flock must be slaughtered, their premises disinfected, and used for the housing of a new flock only after a half year.

For the control of avian leucosis and Marek's fowl paralysis, MANNINGER and MÓCSY (1954) suggested emergency slaughter of sick and suspicious animals, establishment of genetically resistant lines, complete isolation of newly purchased chickens for 4 to 6 weeks, separate premises for young and adult chickens and satisfactory management and feeding.

BAMBERGER, DERZSY and ELEK (1957) demonstrated the joint incidence of avian leucosis, other tumours and lymphomatosis over the whole country. In view of this fact these authors recommended the application of joint measures for the control of these diseases.

In 1959 MANNINGER and MÓCSY suggested breeding from hens and cocks older than 2 years as a preventive measure against both avian leucosis and Marek's fowl paralysis. BAMBERGER (1959a, b) pointed out that in order to reduce losses from all forms of leucoses, the progeny of 2 years old or elder layers should be used exclusively for the replacement of breeding stocks, whereas eggs from younger layers be utilized in broiler production. Thus the economical losses involved in breeding from older animals can be avoided.

In 1962 BAMBERGER established that the control of leucosis should be based on the rearing of chickens in complete isolation until 10 weeks old and on the replacement of breeder flocks with the progeny of layers older than 1 year. In breeder flocks the eggs produced by layers younger than 1 year may be utilized in broiler production and, if necessary, also for the establishment of utility breeds. In the latter the use of eggs produced by layers younger than 1 year has naturally no objection, but these eggs must not be used for breeding purposes. The increasing importance of avian leucosis arisen parallel to the establishment of poultry breeding on a large scale, is mainly due to the general practice of breeders regularly using layers younger than 1 year for breeding purposes, and due only in a lesser degree to the conditions of management and feeding.

Materials and methods

The present examinations were conducted partly in the laboratory and partly in poultry flocks bred on a large scale.

For artificial infection of the animals two strains of erythroblastosis virus, one Rous' sarcoma virus strain and one strain of the virus of Marek's fowl paralysis were used. One of the erythroblastosis virus strains was kindly supplied from the Department of Pathological Anatomy of the University of Copenhagen (Engelbreth-Holm). According to ECKERT et al. (1956) this strain was pure erythroblastosis virus. The other strains were isolated in Hungary from animals with natural infection.

Erythroblastosis virus was given intravenously, the Rous' sarcoma virus intramuscularly and the virus of Marek's fowl paralysis intraperitoneally. As an inoculum the supernatant of a 10 per cent cell suspension centrifuged at 3000 rpm for 5 minutes was used from each virus material. Dosages were 0.1 ml intravenously, and 0.5 ml intramuscularly and intraperitoneally, each containing about 1000 to 10,000 lethal doses.

As test animals several days to 1 week old chickens of leghorn breed were used. The animals were fed on normal commercial feed modified in some of the experiments.

During the field examinations no artificial infection was made because we had the aim to study the epidemic under natural conditions.

The control of avian leucosis has been interpreted as the elimination of the increase of losses resulting not only from this disease but also from all sorts of tumours and lymphomatosis as well.

Experimental

1. Two groups of chickens kept on different diets were infected intravenously with erythroblastosis virus when 1 week old. The chickens were of the same origin and the two diets differed only in their protein content of 16 and 22 per cent digestable protein, respectively. Upon infection the chickens died of erythroblastosis in both groups, but the interval between infection and death was different. Fatalities occurred more rapidly in the group receiving the higher protein concentration.

The results could be reproduced several times. Chickens given a still lower concentration of protein were considerably retarded in growth which interfered with the development of lesions characteristic of erythroblastosis. Death was preceded by cachectic symptoms and the signs of erythroblastosis were frequently not manifest.

2. Rous' sarcoma virus was given under similar conditions. Two groups of 1 week old chickens kept on feeds containing 16 and 22 per cent of digestable

protein, respectively, were infected intramuscularly. Regarding the number of fatalities no significant differences were observable between the two groups; differences in the rapidity of the process were, however, statistically significant. In the group given 22 per cent protein, tumours were developed earlier and grew larger in size, resulting in more rapid death than in the group given 16 per cent protein.

The results could be reproduced several times. In animals given still lower concentration of protein, tumour growth was less distinct. In such cases the animals died in consequence of the low protein supplies. At the necropsy of these animals the ratio of tumour incidence was similar to that observed in animals receiving normal or higher concentrations of protein, but tumours were generally much smaller, having apparently no role in the cachectic symptoms, nor in the fatal outcome of the disease. The results of the experiments described under paragraphs 1. and 2. are summarized in Table 1.

Table 1

The effect of artificial infection with erythroblastosis and Rous'sarcoma virus on chickens fed on diets with different protein content

Virus	Group	Per cent dietary protein	No. of infected chicks	Survived	Died	Average survival time 100 : velocity = day	$\bar{x}$ Average velocity of death 100 : day	t	p per cent
Erythroblastosis	1	16	24	0	24	11.0	9.1	2.2	$<5'$
	2	22	23	0	23	9.7	10.3		
Rous' sarcoma	1	16	24	5	19	23.8	4.2	3.4	$<1''$
	2	22	24	2	22	12.7	7.9		

$\bar{x}$ = arithmetical mean, t = t-value of the two-sample t-test, p = probability in per cent
' = difference significant, '' = difference highly significant.

Instead of the survival time after infection the "velocity of death" (100 : day) was used for the evaluation of the results. Namely, contrary to the former, the latter is in direct relation to the pathogenic effect of the agent. Besides this advantage, its distribution is more readily evaluated statistically. This method enables, on the one hand, the demonstration of differences in spite of the fact that there is no distinct difference between the extreme values. (In the experiment with erythroblastosis, the extreme values are 7—17 days and 7—15 days in groups 1 and 2, respectively.) On the other hand, it allows to involve the animals still alive at the end of the experiment (2, resp. 5 animals in the experiment with Rous' sarcoma virus). Accordingly, the average survival time is given in terms of the average "velocity of death", i.e. as a harmonic mean.

It ought to be mentioned here that the "common" standard deviation calculated from the data of the two groups infected with erythroblastosis virus was s = 1.9, while in the experiment with Rous' sarcoma virus it was s = 3.8. Thus the distance of average values measured in standard deviations is 2/3 in the erythroblastosis and 1 in the Rous' sarcoma case.

3. In order to study contact infection, in several cases an equal number of non-infected chickens was kept together with those infected with the viruses of erythroblastosis, Rous' sarcoma and Marek's fowl paralysis, respectively. The number of the contacts exposed to the former two was more than 300, while those used with the latter group were about 100 in number. It was found that despite the fatalities occurring among the infected chickens in dependence of the inoculum used, their non-infected contacts did not contract any form of leucosis during an observation period of one and a half year.

4. An old-established breeder flock was examined for the incidence of leucosis. In this flock losses from leucosis did not exceed 1 per cent, varying in a range from 0.06 to 0.8 per cent for several years.

Histologically, the percentages of lymphomatosis or lymphadenosis, connective tissue tumours, erythro- or myeloblastosis and other tumors were 70 per cent, 16 per cent, 6 per cent and 8 per cent, respectively. In certain families high incidence was found. Marek's fowl paralysis was not observable in any of the cases.

The breeder flock in question is of great importance in Hungarian poultry industry. From this flock hatchery eggs, day-old chickens, partly-raised chicks and cockerels have been supplied to different newly established units. Thus it seemed necessary to study the percentage of yearly losses from leucosis existing in units supplied from the above old-established breeder flock.

5. Examinations were conducted in 3 such newly established units. It was found that in these stocks the incidence of leucosis and the yearly losses resulting from it were both higher than in the original flock. The percentage of the different conditions was, however, very similar, except for a limited number of cases exhibiting Marek's fowl paralysis in the new units.

6. Upon examination of another old-established breeder flock and the connected new units, we had similar experiences. In the old unit the yearly losses from leucosis varied from 0.04 to 0.5 per cent, whereas in the new ones they were 2 to 5 times higher. Exceptionally also Marek's fowl paralysis occurred in the new units, although it was never observed in the old one. The only difference in the management of the old and new units was that whilst in the former brood eggs were used exclusively from layers elder than 1 year, the latter were operated mainly with eggs from the same layers before reaching 1 year of age. The feed of the animals was essentially similar in both old and new units.

7. In order to establish a large stock within a short time, and also for various economical reasons, in the new poultry industry units the yearly replacement of the breeder flock by her own progeny was introduced. In five farms we had opportunity to follow up the incidence of leucosis in breeder flocks replaced yearly according to the above system.

It was found that in these flocks a regular increase of yearly losses from leucosis took place. The rate of increase is demonstrable also mathematically. The actual data obtained and the regression equations are shown in Table 2.

Table 2

Percentages of yearly losses from leucosis in breeder flocks replaced yearly by their own progeny

	O year (before the introduction of the replacement system)	No. of years during which the replacement system has been applied				Regression equation
		1	2	3	4	
Flock No. 1	0.6% 0.6	1.8% 1.9	5.8% 5.8	18.2% 17.9	52.4% 55.4	$y = 0.6 \cdot 3.1^x$
Flock No. 2	0.8% 0.8	1.7% 1.8	3.5% 4.2	8.6% 9.7	24.3% 22.4	$y = 0.8 \cdot 2.3^x$
Flock No. 3	0.06% 0.06	0.1% 0.3	1.3% 1.4	7.2% 6.7	42.8% 32.1	$y = 0.06 \cdot 4.8^x$
Flock No. 4	0.04% 0.04	0.5% 0.2	1.2% 0.6	1.8% 2.2	5.2% 8.3	$y = 0.04 \cdot 3.8^x$
Flock No. 5	0.2% 0.2	2.0% 0.6	2.5% 2.0	6.3% 6.6	16.3% 21.0	$y = 0.2 \cdot 3.2^x$
Average	0.3% 0.3	1.2% 0.9	2.9% 2.5	8.4% 7.3	28.2% 21.2	$y = 0.3 \cdot 2.9^x$

Regression equation: $y = y_0 \cdot a^x$

Note : In the upper row the actual, while in the lower the computed values are given.

y = Percentage of yearly losses from leucosis.
y_0 = The value of "y" in the year preceding the introduction of the replacement system.
x = Number of years.
a = A constant indicating the slope of the logarithmic straight line, varying by stock. The value of "a" is determined by the conditions of management and feeding and, also, by the virulence of the agent present in the stock.

The data shown in the Table are plotted graphically in Fig. 1.

Both Table 2 and Fig. 1 evidence that in the majority of cases the computed linear regression correlates well with the actual values. A remarkable deviation of the actual and theoretical values occurred in a few cases only. The slope of the straight line, which is indicative of the rate of increase of losses, is essentially similar for most flocks, though in a few cases the straight lines were divergent from the majority.

In most flocks the yearly losses from leucosis have reached about 10 per cent in the 3rd year; out of the 5 flocks examined, losses amounted to 20 per cent in only one. During the 4th year a further increase of losses was observed: losses were below 10 per cent in only one flock, whereas in the other four they fluctuated between 16 to 52 per cent.

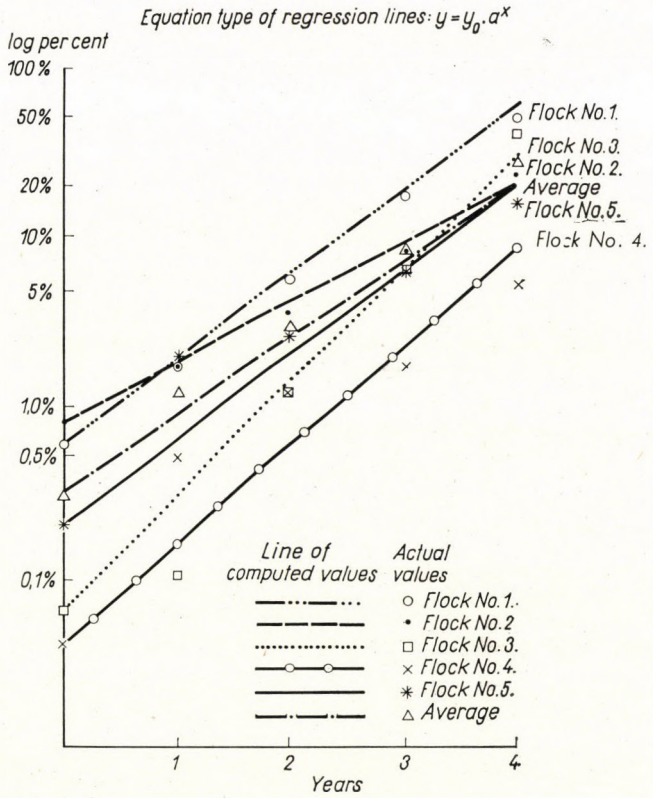


Fig. 1. Percentage of yearly losses from leucosis in breeder flocks replaced every year by their own progeny

The slope of the straight line is determined by two constant values characteristic of the flock. The value y_0 is the percentage of yearly losses having resulted from leucosis prior to the introduction of the yearly replacement of the flock, *i.e.* when the number of years was $x = 0$. This is a known value, while the other constant "a" is unknown at the beginning of the experiment. If y_0 is regarded constant, the rate of the increase of losses depends only on the value of "a". If both y_0 and "a" are known, on the basis of the equation the eventual increase of losses during the next year can be foretold.

In order to express the slope of the line with "*a*" only, we regarded the value of y_0 constant. For every flock the value "*a*", calculated by regression equations, represents the slope of the intersection line being the nearest approximation of the actual values of yearly losses from leucosis.

In the examined 5 flocks dissimilar values were obtained for "*a*", varying from 2.3 to 4.8. It is, however, apparent that except for slight fluctuations, the losses increased from year to year "*a*"-times.

8. Since the rate of increase of yearly losses from leucosis is determined by the value of "*a*" which was found rather variable for the individual flocks, we thought it important to elucidate what factors are influencing the variability of "*a*". This was achieved by studying the conditions of management in flocks Nos. 2, 3 and 4.

The value of "*a*" was lowest for flock No. 2. In this flock only eggs from layers elder than 9 months were used for breeding purposes and chickens were reared in complete isolation.

In flock No. 3 the value of "*a*" was highest among all the examined flocks. It was found that in this flock from the 2nd year on also eggs from very young 6 to 7 months old layers were used for breeding purposes and also the isolation of chickens from adults was inadequate. The influence of the change in management on the value of "*a*" is shown in Fig. 2, which shows the actual and computed values obtained for flocks Nos. 3 and 4.

Fig. 2 shows that during the first year in flock No. 3 the actual value was considerably lower than the computed value and the slope of the former is consistently much less steep than that of the line computed on the basis of all values of *y*. Accordingly, during the first year the actual value of the line "*a*" was much lower than the computed value. However, during the 2nd year parallel to changes in the management, the ascension of the actual values was much steeper than the slope of the straight line. Consequently, if the isolation of chicks is incomplete and breeding is made from 6 to 7 months old layers, "*a*" will reach a high value.

As visible in Fig. 2, the situation was reverse in flock No. 4. For this flock the actual value of "*a*" was considerably higher in the first year than the "*a*" value computed from the values of *y*. In this flock 8 to 9 months old layers were used throughout for breeding purposes. The only change in management was that during the second year the hatches were reared in complete isolation for 10 weeks, while during the 1st year they were kept in the rearing house for only 5—6 weeks and their contact with the previous hatch could not be completely prevented.

A marked increase in the value of "*a*" was observed also in other flocks, where layers of about 2 years of age were used if contact was allowed between day-old chicks and chickens older than 5 to 6 weeks. In a stock the abrupt

increase of "*a*" occurred after the admittance of imported animals, which introduced most probably a highly virulent infection.

Consequently, the value of "*a*" is influenced by the degree of isolation provided for chicks up to the 10th week of life from older animals belonging to the age groups from 5—6 weeks to 12 months.

In the flocks studied by us, the value of "*a*" was scarcely higher than 2 if adequate isolation was provided and brood eggs were obtained from layers

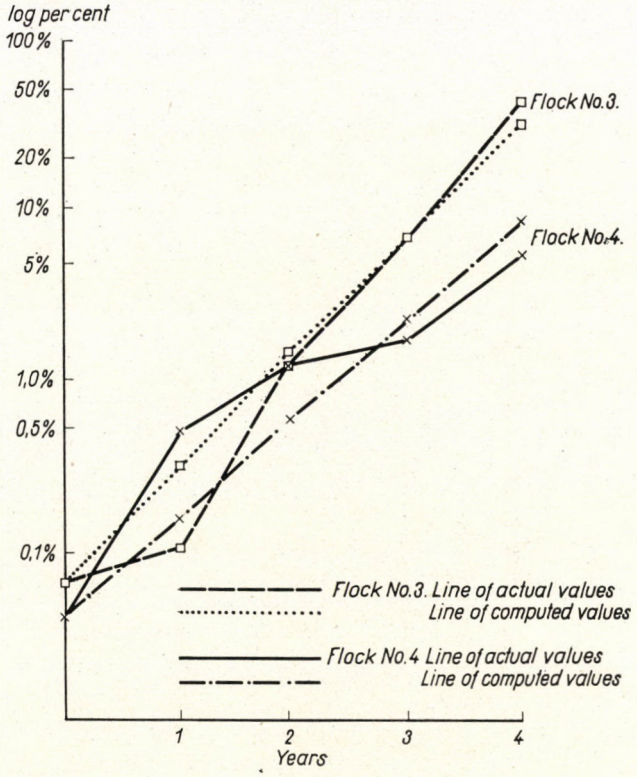


Fig. 2. Comparison of actual and computed values obtained from flocks No. 3. and No. 4.

not younger than 9 months. If, however, isolation was incomplete, or eggs from young pullets were used for breeding purposes, the value of "*a*" exceeded 3 or even 4.

In every stock where the breed animals were reared from the progeny of layers elder than 1 year, the yearly losses from leucosis decreased to 0.5 to 2.0 per cent, independently of the percentage of losses existing in the parent flock.

Discussion

In the control of infectious diseases the knowledge of the factors promoting (I) the spreading of the disease and (II) the increase of losses in the stock is essential.

I. The spreading of avian leucosis is greatly enhanced by the fact that the identification of the carriers transmitting the agent also through the egg is impossible by clinical and laboratory methods. As a result of the dissemination of the infection by egg transmission, all stocks bred on a large scale are infected with avian leucosis in a higher or lower degree (BAMBERGER, DERZSY and ELEK, 1957; HUTT and COLE, 1954).

As revealed by our examinations, the degree of latent infection, i.e. the role of the animals in spreading the infection is dependent on their age. From the point of view of transmission of the agent, poultry are most dangerous from 5—6 weeks to 12 months of age. Birds older than 12 months transmit agents through the egg to a much lesser degree than younger ones. In no case we observed the spreading from chicks artificially infected when day-old or one-week-old to non-infected contacts reared together with them under natural conditions. Apparently, only the infectious material transmitted through the eggs of hens younger than 12 months, or the discharges of older (from 5—6 weeks to 12 months old) animals are capable of infecting susceptible day-old chicks to a degree giving rise to economically important morbidity and fatality rates in the stock.

Accordingly, with regard to the control of avian leucosis day-old chicks should be hatched only from the eggs of hens older than 12 months and the chicks should be reared in complete isolation from elder (5—6 weeks to 12 months old) animals. For the same reason the rigorous disinfection of the premises before housing a new breed is of equal importance.

II. On the basis of literary data (HUTT and COLE, 1954; BLAXLAND, 1956; FOMINA et al., 1961) the factors influencing the extent of losses in the stock are following: (1) genetic resistance, (2) age of the animals at infection, (3) massivity of the infection, and (4) the diet.

1. As it is well known, genetic resistance to avian leucosis decreases gradually through a succession of pullet-bred lines. The reason for this is partly the absence of natural selection which results in the multiplication of the progeny of susceptible families, and partly the increase in the percentage of infected eggs.

We observed that regular breeding from layers younger than 1 year resulted in a regular increase of losses from leucosis. The yearly increase of losses can be formulated mathematically as follows:

$$y = y_0 \cdot a^x$$

where y is the percentage of yearly loss related to the stock, y_0 is the yearly loss existing in the year before starting with the system of yearly replacement, and x is the number of years over which the yearly replacement of the breeder flock has been employed. The value "a" is a constant varying from stock to stock, indicating the rapidity of the increase of yearly losses. If in a flock the environmental and dietary conditions are constant, apart from minor fluctuations the yearly losses from leucosis will continue increasing "a"-times from year to year.

In the course of our studies the values of "a" varied from 2.3 to 4.8 for the individual stocks. We found that the value of "a" is determined by factors responsible for the age at which the animals are most susceptible and for the degree of infection as well. These factors are (a) the isolation of day-old chicks from older (5—6 weeks to 12 months old) animals and (b) the age of layers whose progeny is used for the completion of the breeder flock.

If the isolation of hatches is incomplete and the progeny of very young, 6—7 months old, layers are included into the breeder flock, the value of "a" will be high. In such cases the animals are exposed to massive infection when very young and there is no time for the establishment of natural selection against leucosis; thus, rapid increase of yearly losses from this disease takes place. If, however, the isolation of young animals from adult ones is satisfactory and breeder flocks are supplemented with hatches from elder layers, the value of "a" will decrease.

According to our observations, the use of hatches from layers elder than 12 months for the completion of the breeder flock enables the employment of less rigorous measures in the isolation of day-old chicks. Provided no infectious material has been introduced from outside, the value of "a" will be 1. In this case the straight line runs parallel to the axis x, *i.e.* except for some slight fluctuation, the yearly losses from leucosis remain constant in the flock.

Since the losses increase exponentially, upon consistent breeding from pullets they remain low in the first two years even if the value of "a" is high. In the stocks examined by us the yearly loss approximated 10 per cent in the 3rd year, whereas in the 4th year it already exceeded 20 per cent. These observations are suggestive that breeding from layers younger than 1 year may be continued for 3 years without the danger of economically relevant increase in the losses from leucosis. Accordingly, the effective control of leucosis does not exclude the use of pullet-bred progeny in production flocks and utility breeds, whereas pullet-bred birds must not be used in breeder flocks.

Whilst the breeding from layers younger than 1 year automatically increases the susceptibility of the animals, breeding from layers older than 1 year results in an automatical increase of genetic resistance. Accordingly, it is not necessary to keep breeders older than 2 or 3 years, because the exclusion

of layers younger than 1 year appears to be entirely sufficient as a control measure against avian leucosis.

2. Our present results support the observation that the losses arising in a flock are largely influenced by the age at which the animals are subject to exposure. Above all, the day-old chicks should be protected from all kinds of exposure.

3. We observed that also the degree of infection is dependent on the age of the animals. Among poultry from 5—6 weeks to 12 months of age, latent infections occur generally in a large number, contributing to the dissemination of the agent and to the severity of the condition as well. Apparently, animals younger than 5 weeks do not spread infection even if infected themselves, and animals older than 12 months present but little danger as a source of infection, most probably because in consequence of natural selection latent infections occur less frequently among them.

As to the massivity of infection, the infectious materials introduced from other flocks, in particular from abroad, are of special importance. Therefore the animals procured from other flocks must be isolated and in case they have been imported from abroad only their progeny may be allowed to mix up with the breeder flock.

4. The results of our examinations support the observation that dietary factors have an influence on losses. We had no opportunity to study this problem in the field, but our laboratory findings are supportive of this theory. In poultry groups fed on a diet with high protein content, the death of the animals ensued more rapidly than in groups kept on a feed with lower protein content. It seems to be probable that in older animals, provided the infectious material is of low virulence, the organism acquires resistance to viral infection if the latency period is longer, while if shorter, no adequate defense reactions can develope. Thus, the shortening of the latency period by ample protein supplies may have a role in the increase of losses.

Summarizing the results obtained from literary data and our own examinations, the conditions for the elimination of the factors enhancing the losses from leucosis are following:

1. For the completion of breeder flocks only the progeny of hens older than 1 year should be used. Thus the massivity of the infection can be diminished and also the genetic resistance of the flock will increase.

2. Young chicks should be reared in complete isolation from older animals, in particular from 5—6 weeks to 12 months old ones. Before populated with a new hatch, the rearing premises must be carefully disinfected. Thus the susceptible young chicks can be saved from too massive exposure.

3. Birds introduced from outside must be rigorously isolated, in order to save the stock from the possibility of introducing agents of higher virulence.

4. The animals should be provided with appropriate feed, with special respect to protein content which, however, must not exceed the requirements of the growing animal.

5. There is no need to keep layers older than 2 years. The progeny of layers younger than 1 year can be used without risk in production farms and utility breeds. Thus, inconsistent with the statement of GYLSTORFF (1960), the breeding from older hens does not involve economic losses.

SUMMARY

In the present paper the methods suggested for the control of avian leucosis in Hungary and abroad are described under reference to the relevant literary data.

On the basis of his own experiments the author has confirmed the opinion that in a flock losses from leucosis are generally influenced by the following four factors: (1) the genetic resistance of the birds; (2) the age of the animals at the time of infection; (3) the massiveness of exposure, and (4) the feeding.

It could be demonstrated that regular breeding from layers younger than 1 year results necessarily in a year-by-year increase of losses. In mathematical terms the increase is generally expressed by the equation $y = y_0 \cdot a^x$ where the value of "a" varies for the individual flocks, depending on the established conditions of management, *i.e.* from the way of isolation of chicks, and from the age at which layers are utilized for the production of brood eggs. The value "x" is the number of years, and "y" is the percentage of yearly losses related to the flock, while "y_0" represents the yearly loss existing in the year preceding the introduction of the yearly replacement system in the breeder flock.

From the above 4 factors the first 3 may be eliminated if an adequate isolation of rearing chicks and of imported birds is provided for, and for the completion of the breeder flock only eggs from layers older than 1 year are used. Thus, provided the animals are kept on uniform diet, in the above equation the value of "a" will be 1, *i.e.* no increase of losses will occur.

This method of prevention does not involve economic disadvantages, because layers younger than 1 year can be utilized for the production of broilers and layers and for the establishment of utility breeds.

Acknowledgements

The author is indebted to DR. P. ÁLDÁSY, DR. J. GUOTH, DR. G. HORVÁTH, DR. J. JANZSÓ, DR. M. JUHÁSZ, G. KÁRPÁTI, DR. S. KISS, DR. J. KULLA, DR. J. PARISIS, A. SCHUSKA, DR. F. SZŐKE, DR. Z. TEMESI, B. VÁRADI and DR. L. ZSIGMOND for their valuable cooperation in compiling the data. The mathematical and statistical calculations were performed according to the instructions of J. FISCHER, research worker in the Institute for Mathematical Research of the Hungarian Academy of Sciences.

REFERENCES

BAMBERGER, K.: Baromfiipar **6** (1959a), 239. IDEM: Magyar Állatorvosok Lapja, 1959b, 387. IDEM: Magyar Mezőgazdaság **16** (1961a), 21. IDEM: Kisállattenyésztés, 1961b. IDEM: Magyar Állatorvosok Lapja, 1962, 20. BAMBERGER, K., DERZSY, D. and ELEK, P.: Magyar Állatorvosok Lapja, 1957, 77. BOKORI, J.: Magyar Állatorvosok Lapja, 1962, 247. BLAXLAND, J. D.: Veterinary Record **68** (1956), 525. COLES, R.: Poultry Science **33** (1954), 350. COLES, R.: Brit. Vet. J. **111** (1955), 235. COLES, R.: Poultry Science **34** (1955b) 312. CSONTOS, J. and SÁLYI, GY.: Állatorvosi Lapok, 1939, 347. ECKERT, E. A., BEARD, D. and BEARD, J. W.: J. Nat. Canc. Inst. **16** (1956), 1099. ФОМИНА, А. Я., СИДОРОВ, Н. В., КОНТРИМАВИЧУС, Л. М. and ЗУБЦОВА, Р. А.: Труды Всесоюзного Института Экспериментальной Ветеринарии **24** (1961), 114. GORDON, R. F., COLES, R. and STACEY, C. G.: Veterinary Record **67** (1955), 297. GYLSTORFF, J.: Zbl. f. Veterinärmedizin **7** (1960), 210. HUTT, F. B. and COLE, R. K.: World's Poultry Congress **10** (1954); LÖLIGER, H. CH.: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 1957, 34. MANNINGER, R. and MÓCSY, J.: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. Jena, 1954. IDEM: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. Jena, 1959. MEHNER, A.: Lehrbuch der Geflügelzucht. Hamburg und Berlin, 1962. MÁRTHA, ZS.: Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományok Osztályának Közleményei **18** (1960), 373. VOIGT, A. and HILLE, G.: Monatshefte für Veterinärmedizin, 1962, 252.

ZUR FRAGE DER KAROTINVERSORGUNG VON RINDERN

Von

L. URBÁNYI

Abteilung für Tierphysiologie und Fütterung
des Forschungsinstituts für Tierzucht, Budapest

(Eingegangen am 8. Oktober 1963)

Bei der modernen Tierzucht im Großbetrieb widmen wir besondere Sorgfalt der reichhaltigen Karotinversorgung unserer Nutztiere, weil dadurch der Vitamin A-Bedarf der Tiere wenigstens zum Teil gewährleistet werden kann. Besondere Bedeutung kommt dieser Versorgung bei der Haltung und Fütterung von Rindern zu, weil die Vitamin A-Versorgung dieser Tiere ausschließlich durch das im Futter enthaltene Karotin gesichert wird.

Zahlreiche Untersuchungsergebnisse bestätigen, daß die natürliche Nahrung des grasfressenden Rindes in den Frühjahrs- und Sommermonaten eine sehr reichhaltige Karotinversorgung garantiert, jedoch im Winter gelangen die Tiere, wenn sie im allgemeinen getrocknetes Halmfutter bekommen — mit Ausnahme der Silagen von guter Qualität — in der Regel zu einer sehr geringen, oft unzureichenden Karotinmenge. Unter besonderen Witterungsverhältnissen, nach einem mit Dürre einhergehenden trockenen Sommer oder Nachsommer kommt es sogar vor, daß selbst das Gras der Weiden keine genügende Karotinversorgung für die Tiere bietet. Das größtenteils höchstens Strohwert besitzende Gras der sonnenverbrannten trockenen Weiden enthält keine nennenswerte Karotinmenge. Hauptsächlich mit diesem Umstand pflegt man die verhältnismäßig weit verbreitete temporäre Infertilität der Rinder in dieser Periode in Zusammenhang zu bringen, obschon neben dem Karotingehalt auch andere alimentäre Faktoren bei der Entwicklung dieses Leidens eine wesentliche Rolle spielen (STÄHLIN, 1957; URBÁNYI, 1959, 1961). Eben deshalb beansprucht die Betonung der primären oder womöglich determinierenden Rolle der mangelhaften Karotinversorgung im Zustandekommen des Leidens mehr Umsicht und Vorsicht, weil die Richtigkeit dieser Auffassung lediglich durch die Gleichzeitigkeit des zu dieser Zeit ungenügenden Karotingehaltes der Weiden und des Auftretens der Krankheit gestützt wird, wobei wir jedoch die sehr bedeutenden Karotinreserven außer acht lassen, die von den Tieren vor Eintritt der Trockenheit, im Frühjahr bzw. Frühsommer mit dem Grünfutter in ihrem Organismus angehäuft wurden. Es stehen verhältnismäßig wenige Angaben darüber zur Verfügung, wie der tierische Organismus auf die Form der Karotinversorgung reagiert, welche die in der Betriebspraxis übliche Fütterung gewährleistet. Aus diesem Grunde schien es angezeigt, die Entwicklung des Karotinspiegels im Blutserum der Rinder unter den wechselnden Verhältnissen der Praxis an möglichst zahlreichen Tieren und längere Zeit hindurch zu untersuchen, weil wir auf diese Weise sicherlich eine bessere Orientierung über die Ergebnisse der betrieblichen Karotinversorgung und über die Natur der möglicherweise notwendig werdenden weiteren Maßnahmen gewinnen können, als wenn wir allein den Karotingehalt des Futters und dessen oft sehr variable Ausnutzbarkeit zugrunde legen.

Die zur Beurteilung der Karotinversorgung des einheimischen Rinderbestandes dienenden Untersuchungen wurden bei einem Kuhbestand mit hohem Karotinbedarf vorgenommen. Dem Blut der Infertilitätsuntersuchungen unterworfenen Kühe entnahmen wir, meistens monatlich, entsprechende

Proben, in denen wir den Karotingehalt durch Untersuchung des spontan daraus entstehenden Serums bestimmten. Daneben wurde stets auch die Futterversorgung der Tiere berücksichtigt, die sie längere Zeit hindurch erhielten.

Untersuchungsmethoden

Den Karotingehalt im Serum der Kühe ermittelten wir nach der aus der klinischen Diagnostik wohlbekannten Methode kolorimetrischer Bestimmungen (BÁLINT, 1952). Zu diesem Zweck wurden 2 ml Blutserum mit ebensoviel 96%igem Alkohol und dann mit genau 4 ml Petroläther mehrmals gründlich zusammengeschüttelt, und nach genügend langem Stehen verglichen wir die Gelbfärbung der separierten Petrolätherschicht mit der Färbung der petrolätherhaltigen Karotinlösung von bekannter Konzentration. Dieses bekannte Verfahren modifizierten wir insofern, als wir die Eiweißfällung und Karotinauslösung in einem speziell für diesen Zweck hergestellten 200 mm langen, mit eingeschliffenem Stöpsel verschließbaren Glasröhrchen mit 12 mm Durchmesser vornahmen, dessen Kalibration bei 4 und 8 ml die Korrektion des Petrolätherverlustes erleichterte, der nach den Zusammenschüttelungen durch Kontraktion und Verdunstung verursacht wird. Überdies benutzten wir zur Bestimmung der Farbstärken anstelle der petrolätherhaltigen Karotinlösung, deren Konzentration sich wegen der Verdunstung rasch ändert, eine wäßrige Kaliumbichromatlösung als Vergleichslösung, nachdem wir festgestellt hatten, daß durch Ergänzung der genau 0,70%igen Kaliumbichromatlösung von 20 auf 100 ml eine Lösung hergestellt werden kann, deren Färbung mit der der im selben Volumen 1000 gamma Karotin enthaltenden Petroläther lösung genau übereinstimmt. Hiervon ausgehend, führten wir nach Zubereitung von Kaliumbichromatlösung mit einer je 100 ml 200 gamma Karotin entsprechenden Konzentration die Farbvergleichungen bzw. Bestimmungen des Karotingehaltes im einfachen DUBOSCQschen Kolorimeter durch.

Ergebnisse

Die Entwicklung des Karotingehaltes im Blut der Kühe untersuchten wir in Proben, die von Tieren aus Molkereien in den verschiedensten Landesteilen stammten. Während eines ganzen Jahres, einen Monat ausgenommen, wurden 1139 Kühe in 88 Betrieben untersucht. Die Ergebnisse der in den verschiedenen Monaten vorgenommenen Untersuchungen sind in Tabelle I zusammengefaßt.

Aus der Tabelle geht vor allem hervor, daß der Karotingehalt im Blutserum der Kühe im Jahresdurchschnitt 507 gamma% ausmacht, während sich die monatlichen Durchschnittswerte zwischen 137 und 1082 gamma% bewegen. Die niedrigsten durchschnittlichen Monatswerte treten im Dezember

und Januar, sodann im März und April zutage. Diese Werte liegen ausnahmslos unter 200 gamma%. Wesentlich größere Abweichungen sehen wir unter den individuellen Werten, die auf das ganze Jahr bezogen zwischen 0 und 2667 gamma% schwanken. Sicherlich beruht diese hochgradige Variabilität auf dem außerordentlich schwankenden Karotingehalt des jeweils verbrauchten Halmfutters. Auffallenderweise ist jedoch das Maximum der individuellen Werte stets wesentlich höher als der noch als ausreichend betrachtete Minimalwert von 200 gamma%. Dieser Umstand gestattet den Schluß, daß mit entsprechender Fütterung selbst in den Wintermonaten die zufriedenstellende Karotinversorgung der Kühe lediglich durch richtige Wahl der üblichen Futtermittel und ihre Verfütterung in genügender Menge garantiert werden kann.

Tabelle I

Entwicklung des Karotingehaltes im Blutserum der Kühe im Jahre 1962

Monat	Zahl der untersuchten Molkereien	Zahl der untersuchten Tiere	Karotingehalt in gamma%		
			Minimum	Maximum	Durchschnitt
I.	6	60	39	444	137
II.	9	124	66	625	227
III.	7	74	13	364	182
IV.	14	155	0	620	188
V.	5	57	114	1250	474
VI.	7	78	556	2286	1070
VII.	8	139	328	2667	1082
VIII.	—	—	—	—	—
IX.	6	98	309	1951	835
X.	20	260	68	1633	478
XI.	4	79	161	645	369
XII.	2	15	64	228	138
Insgesamt	88	1139	0	2667	507

Den Einfluß der Fütterung auf den Karotingehalt im Blut der Kühe untersuchten wir gesondert, indem wir die Angaben derjenigen Molkereien zusammenstellten, in denen die genaue Menge der vom Gesichtspunkt der Karotinversorgung verfütterten Halmfuttersorten präzise festgestellt werden konnte. Tabelle II veranschaulicht die diesbezüglichen Angaben. Hier ist angegeben, welchen Einfluß die Verfütterung von Grün-, Silo- und Trockenfutter auf den Karotingehalt im Blutserum der Kühe bzw. auf dessen Durchschnittswert ausübt. Die Angaben beziehen sich auf insgesamt 455 Kühe in 37 Molkereien.

Tabelle II

Einfluß der Fütterung auf den Karotingehalt im Blutserum der Kühe

Fütterung	Zahl der untersuchten Molkereien	Zahl der untersuchten Tiere	Karotingehalt in gamma%		
			Minimum	Maximum	Durchschnitt
Grünfutter					
Silomais im Juni, mindestens 20 kg ..	2	27	456	2105	1257
Grünfutter, mindestens 30 kg	10	120	454	2286	1058
Weide im Juni-Juli	1	6	479	1096	828
Weide im September-Oktober	1	22	335	889	584
Maisstroh im September, mindestens 30 kg	1	10	138	296	236
Silageverfütterung					
Silomais-Silage im Februar, mindestens 25 kg	5	82	101	689	300
Silomaisstroh-Silage im Februar, mindestens 20 kg	2	18	124	470	279
mindestens 15 kg	2	20	52	282	144
mindestens 10 kg	7	65	38	270	107
mindestens 5 kg	3	25	0	65	20
Trockenfütterung Märzheu 3—4 kg und Stroh oder Maisstroh	3	60	0	0	0

Wie aus Tabelle II ersichtlich, ist der Karotingehalt im Blutserum der Kühe zur Zeit der Grünfutterversorgung im allgemeinen sehr hoch. Weiterhin läßt sich feststellen, daß der Karotingehalt im Blutserum nicht nur während des sommerlichen Weidens, sondern auch im September-Oktober noch auffallend hohe Werte zeigt. Aus dem Gesichtswinkel der Praxis ist besonders beachtenswert, daß das Ende September geschnittene frische Maisstroh, in einer Menge von 30 kg verfüttert, eine im Durchschnitt entsprechende Karotinversorgung zu sichern imstande ist. Eine ebenso gute Karotinversorgung gewährleistet auch die Anwendung von Silagefutter, wenn es aus wertvollen, frischen Pflanzen zubereitet wird. Im Hinblick darauf, daß die Karotinversorgung im Winter im allgemeinen oder überwiegend durch die aus Silomais bzw. Silomaisstroh hergestellten Silagen gewährleistet wird, enthält die Tabelle verhältnismäßig viele einschlägige Angaben.

Wie diesen Angaben entnommen werden kann, gelangen die Tiere auch im Winter durch Verfütterung von täglich 20—25 kg Silomais- bzw. Silomaisstrohsilage zu einer genügenden Karotinmenge. Die gleichzeitige Verfütterung von weniger Strohsilage mit anderen, trockenen Halmfuttern reicht hierzu nicht aus. Ebensowenig bekommt die Kuh eine genügende Karotinmenge,

wenn man 3—4 kg Märzheu mit Strohsorten oder Maisstroh vermischt verfüttert. Hiernach ist aus dem Gesichtswinkel der Praxis die Feststellung wichtig, daß selbst die aus dem rechtzeitig geschnittenen frischen Maisstroh zubereitete Silage, wenn sie in einer Menge von mindestens täglich 20 kg verfüttert wird, auch im Winter den Karotinbedarf der Kühe deckt. Infolgedessen müssen wir mit dem nicht zu unterschätzenden Karotingehalt der qualitativ einwandfreien Silage, die aus dem in frischem Zustand geschnittenen Maisstroh zubereitet werden kann, in der Praxis unbedingt rechnen, bevor wir an kostspieligere Lösungen herangehen.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Karotingehalt im Blutserum von 1139 aus insgesamt 88 einheimischen Molkereien stammenden Kühen wurde bestimmt, um klarzustellen, wie sich dieser Wert monatlich und durchschnittlich bei der gegenwärtig üblichen Betriebsfütterung ändert.

Die Untersuchungen ergaben, daß der Karotingehalt des Blutserums der Kühe im Jahresdurchschnitt 507 gamma% ausmacht, während sich die monatlichen Durchschnittswerte zwischen 137 und 1082 gamma% bewegen. Die niedrigsten monatlichen Durchschnittswerte entfallen auf die Wintermonate. In dieser Zeit schwanken die individuellen Werte innerhalb sehr breiter Grenzen, zwischen 0 und 625 gamma%, indessen waren niemals niedrigere Höchstwerte als 200 gamma% festzustellen. Diese Schwankungen stehen im Zusammenhang mit dem Karotingehalt der verfütterten Halmfutterarten.

Die höchsten Karotinwerte im Blutserum der Kühe (durchschnittlich 236—1257 gamma%) treten während der Aufnahme von Grünfutter in Erscheinung. Selbst das rechtzeitig geschnittene Maisstroh, fernerhin im Winter die aus Silomais und Silomaisstroh zubereitete Silage gewährleisten die Karotinversorgung, wenn täglich mindestens 20—25 kg verfüttert werden. Eine geringere Strohsilagemenge sowie eine Heumenge von 3—4 kg reichen bei Verfütterung von Stroh oder Maisstroh nicht aus, um den Tieren die nötige Karotinmenge zuzuführen. Infolgedessen muß mit dem nicht zu unterschätzenden Karotingehalt des in frischem Zustand geschnittenen Maisstrohs und der daraus zubereiteten Silage unbedingt gerechnet werden, bevor man in der Praxis kostspieligere Lösungen versucht.

LITERATUR

BÁLINT, P.: Klinikai laboratóriumi diagn. módszerek. Budapest, 1952. STÄHLIN, A.: Die Beurteilung der Futtermittel. II. Teil. Methodenbuch Bd. XII. Radebeul und Berlin, 1957. URBÁNYI, L.: Wesen, Bedeutung und Abwehrmöglichkeiten der temporären Infertilität alimentärer Herkunft (ungar.). Generaldirektion der Staatl. Wirtschaften, Landwirtschaftsministerium, Budapest, 1959. URBÁNYI, L.: Zeitgemäße Fragen der betrieblichen Fütterung von Rindern, unter Berücksichtigung der häufiger auftretenden Stoffwechselstörungen. (ungar.). Generaldirektion der Staatl. Wirtschaften, Landwirtschaftsministerium, Budapest, 1951.

WEITERE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE RACHITIS DER JUNGEN MASTBULLEN

Von

L. URBÁNYI

Abteilung für Tierphysiologie und Fütterung
des Forschungsinstituts für Tierzucht, Budapest

(Eingegangen am 8. Oktober 1963)

Auf Grund früherer Erfahrungen wird fast allgemein die Auffassung vertreten, die Versorgung von Mastrindern zähle zu den einfachsten Aufgaben der Fütterungspraxis. In beträchtlichem Maße unterstützte diese Auffassung der Umstand, daß die Mästung der im Besitz totaler Anpassungsfähigkeit befindlichen vollentwickelten Merztiere sowie der älteren Jungochsen in bezug auf Haltung und Fütterung sozusagen niemals eine besondere Sorge für die tägliche Praxis bedeutete. Man wandte daher verhältnismäßig geringe Aufmerksamkeit der veränderten Lage zu, als in den modernen Großbetrieben die Mästung von Tieren in Angriff genommen wurde, die ganz jung und der Haltung sowie Fütterung gegenüber viel anspruchsvoller waren, weil sich ihr Organismus und Knochenskelett noch in voller Entwicklung befanden. Seit dieser Zeit traten immer häufiger Schwierigkeiten auf diesem Gebiet in Erscheinung, besonders bei der Mästung junger Bullen, und zwar hauptsächlich deshalb, weil die Praxis den sich mit dem Alter der Tiere ändernden besonderen Anforderungen nicht genügend Beachtung schenkte und die Mästung den früheren Anschauungen entsprechend überwiegend auf die traditionelle, für die vollentwickelten Tiere zumeist zweckentsprechende Weise durchführte.

Unlängst wiesen wir, gestützt auf konkrete Fälle, darauf hin (URBÁNYI u. MÉSZÁROS, 1961), daß die stimulierende (treibende) Fütterung der Tiere, die Vernachlässigung gewisser alimentär-physiologischer Bedingungen bzw. die traditionelle Mästungsform, zu sehr schweren Stoffwechselstörungen und im Zusammenhang damit zu Verknöcherungsschwierigkeiten, ja sogar zur ausgesprochen rachitischen Erkrankung der zur Mast eingestellten jungen Bullen führen kann. Selbstverständlich können ähnliche Störungen nicht nur in diesen Fällen, sondern mehr oder minder stets auftreten, wenn die Mästung der jungen Tiere unter ähnlichen Bedingungen erfolgt. Im Hinblick darauf, daß es sich hierbei um eine vom Gesichtspunkt des Gesundheitszustandes, der Futterverwertung, Gewichtszunahme der Masttiere, der Wirtschaftlichkeit der Mästung sowie Steigerung der Fleischproduktion überaus wichtige Frage handelt, schien es angezeigt, die Ergebnisse der gegenwärtigen Praxis näher zu untersuchen, um so mehr, als auf diesem Gebiet immer häufiger ungünstige Erfahrungen, insbesondere bei der Mästung junger Bullen gemacht werden.

Im Verlauf unserer zwecks Klarstellung der praktischen Verhältnisse und im Interesse einer Behebung der Ursachen dieser ungünstigen Erfahrungen durchgeführten Untersuchungen studierten wir die Verhältnisse hauptsächlich in denjenigen Mastbetrieben, in denen im Zusammenhang mit der

Bullenmast über die fehlerhafte Knochenentwicklung, Bewegungsschwierigkeiten oder die ungenügende Gewichtsentwicklung bzw. jähe Gewichtsverluste insbesondere bei den jungen Tieren geklagt wurde. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle untersuchten wir eingehend die Unterbringung der Tiere, ihre frühere und derzeitige Fütterung, den Umfang der Gewichtszunahme, die äußeren Manifestationen etwaiger Störungen in ihrer Knochenentwicklung, ihr Verhalten bei der Bewegung bzw. beim Gehen, außerdem in vielen Fällen ihre Blutzusammensetzung. Falls Notschlachtungen notwendig wurden, untersuchten wir stets auch den Aschegehalt eines Femurs oder beider Femora dieser Tiere, um daraus Schlüsse auf den Grad der Knochenverkalkung ziehen zu können.

Untersuchungsmethoden

Die Beurteilung der Fütterung erfolgte durch Vergleich der durchschnittlichen Zusammensetzung des vorgeschriebenen bzw. tatsächlich verzehrten täglichen Futters mit dem effektiven Tagesbedarf des fraglichen Masttieres. Hierbei berücksichtigten wir nicht nur die absolute Menge der Nährstoffe, sondern auch ihre auf die Trockensubstanz bezogenen Konzentrationen. Bei den jeweiligen vergleichenden Blutuntersuchungen wurde der Serumkalk durch Titration mit Permanganat, der anorganische Phosphor sowie das Karotin nach einem anderwärts ausführlich beschriebenen kolorimetrischen Verfahren (URBÁNYI, 1932, 1931, 1963) bestimmt. Den Femuraschegehalt ermittelten wir nach einem zu diesem Zweck ausgearbeiteten Verfahren (URBÁNYI, 1962) aus dem direkt bestimmten spezifischen Gewicht (spez. Gew.) durch Berechnung auf Grund nachfolgender Gleichung:

$$\text{Asche}\,\% = \frac{148{,}6\,(\text{spez. Gew.} - 1{,}043)}{\text{spez. Gew.}}$$

Der Verkalkungsgrad wird in dem auf die unter intakten Verhältnissen charakteristischen Aschewerte bezogenen Prozentsatz der auf diese Weise gewonnenen Werte ausgedrückt.

Ergebnisse

Bisher erstreckten sich unsere Untersuchungen auf Mastbetriebe von 38 staatlichen Wirtschaften und größeren Produktionsgenossenschaften, in denen Unregelmäßigkeiten bei der Bullenmast zutage traten. Aus 9 Betrieben wurden insgesamt 118 Blutproben, aus 28 Betrieben insgesamt 33 Femurproben beschafft und im Verlauf des Studiums der Mastbedingungen untersucht. Die Resultate lassen sich folgendermaßen zusammenfassen.

Die Mast der jungen Bullen erfolgte in den untersuchten Betrieben ausnahmslos auf traditionelle Weise, in geschlossenen Ställen. Die der Kälberzucht entwachsenen Tiere gelangen nach ihrer Ankettung bis zum Abschluß der Mast sozusagen niemals an die frische Luft bzw. ans Sonnenlicht. Von verhältnismäßig wenig Ausnahmen abgesehen, geschieht die Mästung im allgemeinen in gut gepflegten, aber ziemlich dunklen Ställen. In manchen Betrieben sind die Ställe stark überfüllt. Angesichts ihrer beschränkten Bewegungsmöglichkeiten liegen die Tiere verhältnismäßig viel. Anläßlich der eingehenderen Untersuchung sind auffallend viele Tiere mit Gelenkschwellungen und Verdickungen im Bestand festzustellen. Häufig sieht man, daß sich die in ihrer Ruhe gestörten Tiere schwerfällig erheben und ein längeres Herumführen in der Regel nicht durchhalten. Sie gehen unsicher, oft steif, hinkend, ja mitunter verspüren sie auch Schmerzen.

Die Fütterung der Tiere erfolgt überall im wesentlichen gleichartig. Anfangs bekommen die neben etwas Halmfutter hauptsächlich mit Vollmilch bzw. Magermilch und Kraftfutter aufgezogenen Kälber im Verlauf ihrer Mästung in reichlicher Menge Halmfutter von zumeist schwacher Qualität sowie 2—5 kg Kraftfutter. Der verdauliche Eiweiß-, Kalk- und Phosphorgehalt des Futters ist ebenso wie seine Ausgeglichenheit häufig sehr mangelhaft. Demgegenüber kann fast immer festgestellt werden, daß die Nahrung einen genügenden, ja allzu reichlichen Stärkewert enthält. Besonders fällt dies auf, wenn wir die Nährstoffmengen nicht in absoluten Zahlen, sondern in Form der auf die verzehrte Trockensubstanz bezogenen Konzentrationswerte (Urbányi, 1962, 1961) betrachten. Die Menge der täglich nötigen Nährstoffe wird nämlich meistens in einer so großen Trockenstoffmasse vorgeschrieben, daß die Tiere außerstande sind, diese restlos aufzunehmen. Auf diese Weise gelangt das Tier neben dem ausreichenden, ja oft unverhältnismäßig hohen Stärkewert im Vergleich zu seinem Bedarf von den zum Aufbau seiner Körpersubstanz unerläßlichen Nährstoffen, wie verdaulichem Eiweiß, Kalk und Phosphor, zu ungenügenden Mengen, so daß sich dieser Mangel im Verlauf der Mästung in ständig schwererem Maße auswirkt. Hierzu kommt, daß die sich dauernd im Stall aufhaltenden Tiere Vitamin D nicht regelmäßig bekommen, die die Kalzifikation stimulierenden mechanischen Bewegungsreize fehlen, ja außerdem häufig auch nicht für die zufriedenstellende Versorgung mit Trinkwasser, Futtersalz bzw. Kalziumkarbonat gesorgt wird.

Die monatliche Gewichtszunahme der Tiere hat sich ungeachtet der geschilderten Verhältnisse zum Teil als auffallend günstig erwiesen, obschon in einzelnen Betrieben hochgradige Schwankungen in dieser Beziehung zutage traten. Weiterhin ist festzustellen, daß die Gewichtszunahme der Tiere, die anfangs monatlich etwa 32—40 kg, bisweilen auch noch mehr ausmacht, nach einer gewissen Zeit, besonders gegen Ende der Mästung, jäh nachläßt oder ganz ins Stocken kommt, ja nicht selten tritt statt der Gewichtszunahme

ein ansehnlicher Gewichtsverlust ein. Auf die Störungen wird aber die Aufmerksamkeit meistens nicht hierdurch, sondern durch den Umstand gelenkt, daß manche der sich am besten entwickelnden Tiere gegen Ende der Mast auffallend viel liegen, ja sogar bei der Fütterung liegen bleiben. Bei diesen Tieren sind die Gelenke auffallend geschwollen und druckempfindlich, und unter diesen kommen die meisten Notschlachtungen vor.

Bei den Blutuntersuchungen, insbesondere durch die Bestimmung des Serumkalk- und anorganischen P-Gehalts, läßt sich der Einfluß der ungünstigen Fütterung auf den Stoffumsatz bis zu einem gewissen Maße nachweisen. Zur Orientierung entnahmen wir in 6 Betrieben, wo mindestens 40—60% der Mastkälber als mehr oder minder rachitisch bezeichnet werden mußten, 60 Blutproben, in 3 anderen Betrieben, in denen Anzeichen dieser Erkrankung überhaupt nicht in Erscheinung traten, insgesamt 58 Blutproben zur Durchführung vergleichender Blutuntersuchungen. Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle I enthalten.

Tabelle I

Zusammensetzung des Blutserums von 14—18 Monate alten Mastbullen

Nr.	Anzahl der Proben	Ca mg%	Anorg. P mg%	Karotin gamma%
			Kranke Tiere	
1.	25	9,27 (8,14—10,25)	5,19 (4,03—6,84)	429 (144— 852)
2.	11	9,19 (8,29—10,20)	5,26 (3,81—6,59)	201 (124— 288)
3.	8	10,91 (9,88—11,66)	5,43 (4,53—6,48)	143 (85— 268)
4.	7	9,36 (9,01— 9,79)	5,81 (4,63—7,08)	142 (92— 202)
5.	5	9,07 (8,30— 9,93)	5,31 (4,25—6,51)	181 (148— 198)
6.	4	8,27 (7,66— 8,53)	3,78 (3,32—5,05)	378 (310— 449)
Durchschnitt	60	9,41 (7,66—11,66)	5,22 (3,32—7,08)	291 (85— 852)
			Gesunde Tiere	
1.	40	10,21 (9,14—10,91)	7,13 (5,67—8,30)	967 (505—1951)
2.	9	10,28 (9,95—10,58)	7,33 (6,03—8,08)	286 (210— 370)
3.	9	10,03 (8,65—10,93)	7,51 (4,91—8,62)	209 (148— 320)
Durchschnitt	58	10,20 (8,65—10,93)	7,22 (4,91—8,62)	744 (148—1951)

Wie aus den Befunden ohne weiteres hervorgeht, enthält das Blutserum der als krank qualifizierten Stierkälber im Vergleich zu dem der gesunden weniger Ca sowie auffallend weniger anorg. P und überdies, obwohl dieser Tatsache keine größere Bedeutung zukommt, auch weniger Karotin. Jedenfalls beweist dieses Ergebnis, daß die nicht ganz zufriedenstellende Fütterung

eine nachweisbare Stoffumsatzstörung aufrechterhält und sich die Rachitis der Masttiere auf dieser Grundlage entwickelt hat.

Die Resultate der Knochenuntersuchungen unterstützen die Richtigkeit dieser Feststellung. An den sezierten Femora der notgeschlachteten Tiere sind die üblichen Anzeichen der Verknöcherungsstörung direkt oder nach dem Aufsägen meistens deutlich zu sehen: die mehr oder weniger ausgebreiteten distalen Knochenenden, die Erosionen an den Knorpelplatten, die mangelhafte Kalzifikation der darunter liegenden Schichten, die Zickzackform und Ungleichmäßigkeit der die Grenze zwischen der Epi- und Diaphyse anzei-

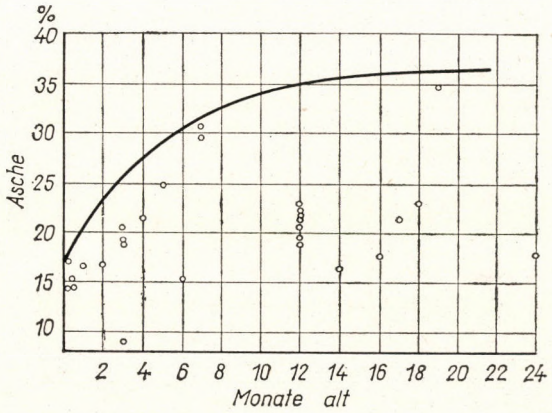


Abb. 1. Aschegehalt der untersuchten Femora. Die Punkte an der Kurve zeigen den Aschegehalt der gesunden, die verstreuten Punkte den der kranken Knochen an

genden Kalzifikationslinie usw., kurz alles, was makroskopisch beobachtet werden kann. Die mikroskopische Untersuchung der Knochenschnitte würde sicherlich ein noch variableres Bild ergeben, nachdem als Ursachen des Leidens verschiedenartige Faktoren in Frage kommen (neben dem Fehlen von Mineralstoffen Mangel an Licht bzw. Vitamin D, unzureichende Eiweißversorgung, ungünstige Haltungsverhältnisse, Bewegungsmangel, Alter, Gewichtszunahme usw.).

Den Zustand des Knochenbaus der Tiere untersuchten wir nicht histologisch, sondern aus praktischen Gründen vorwiegend durch Bestimmung des spezifischen Gewichtes bzw. Aschegehaltes des Femurs. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen veranschaulicht einerseits Tabelle II, anderseits die an Hand dieser Resultate konstruierte Abb. 1. In der Tabelle sind das Alter der Tiere, die Länge, das absolute Gewicht, spezifische Gewicht und der Aschegehalt der Femora sowie die Angaben über den Verkalkungsgrad des Knochens zusammengefaßt. Letzteren Befund ermittelten wir durch Vergleich des Aschegehaltes im frischen Femur mit dem für normale Verhältnisse charakteristischen Aschewert (s. die Punkte in der Kurve der Abbildung).

Tabelle II

Ergebnisse der Knochenuntersuchungen

Nr.	Alter der Bullen	Femurlänge cm	Femurgewicht g	Spez. Gewicht des Femurs g/ml	Aschegehalt des Femurs %	Kalzifikationsgrad des Femurs %
1.	3 Tage	20,5	318	1,132	11,69	66
2.	4 „	21,0	446	1,179	17,14	97
3.	4 „	22,6	506	1,155	14,41	81
4.	6 „	21,5	532	1,154	14,29	80
5.	8 „	24,2	626	1,164	15,44	85
6.	14 „	23,0	545	1,165	15,56	83
7.	1 Monat	24,0	608	1,174	16,58	81
8.	2 Monate	30,7	1033	1,177	16,91	73
9.	3 „	28,4	961	1,199	19,33	75
10.	3 „	21,8	510	1,194	18,79	73
11.	3 „	24,0	751	1,208	20,29	79
12.	3 „	26,2	739	1,114	9,47	37
13.	4 „	26,5	916	1,208	20,29	74
14.	4 „	26,8	823	1,227	22,28	81
15.	4 „	26,8	1380	1,227	22,28	81
16.	5 „	31,4	1368	1,253	24,90	85
17.	6 „	30,8	955	1,162	15,22	50
18.	7 „	28,9	705	1,302	29,56	95
19.	7 „	28,2	902	1,311	30,35	76
20.	7 „	29,0	922	1,120	10,21	32
21.	12 „	35,3	1524	1,195	18,90	54
22.	12 „	36,8	1764	1,222	20,76	62
23.	12 „	37,2	1768	1,201	19,63	56
24.	12 „	37,3	1761	1,211	20,61	59
25.	12 „	38,5	1988	1,223	21,87	62
26.	12 „	38,3	2086	1,225	22,07	63
27.	12 „	39,5	2008	1,222	21,76	62
28.	14 „	39,8	1871	1,172	16,35	46
29.	16 „	36,9	1881	1,175	16,70	47
30.	17 „	42,6	2379	1,235	23,10	65
31.	18 „	37,0	2073	1,234	23,00	64
32.	18 „	41,4	2712	1,361	34,71	97
33.	24 „	35,5	1777	1,185	17,81	49

Aus Tabelle II geht vor allem hervor, daß der Zahlenwert der auf das Femur bezüglichen Angaben mit dem fortschreitenden Alter der Tiere im allgemeinen ansteigt. Indessen erfolgt diese Zunahme keineswegs gleichmäßig, als Zeichen dafür, daß die Entwicklung der Knochen außer vom Alter von der jeweiligen Haltung und Fütterung sehr wesentlich beeinflußt wird. Wie aus den Tabellenangaben, noch eher aber aus der Abbildung klar ersichtlich, ist der Aschegehalt der untersuchten Knochen stets niedriger als der für normale Verhältnisse bezeichnende Wert.

Festgestellt werden darf weiterhin, daß die in dieser Hinsicht in Erscheinung tretenden Abweichungen in der Periode der Milchverfütterung, also im ganz jungen Alter, im allgemeinen geringer sind als später, wenn die älter werdenden Tiere ausschließlich Pflanzenfutter aufnehmen. Bis zum Alter von 6 Monaten macht der Verkalkungsgrad des Knochenbaus der Tiere durchschnittlich 77 (37—97) %, bei den älteren Tieren 62 (32—97) % aus. Unter den älteren Tieren finden wir nur ein einziges (Nr. 32), dessen Wert dem erwünschten nahekommt. Hierbei handelt es sich jedoch um ein Tier, das einem Bestand angehört, bei dem wir die Kalk-, Phosphor- und Vitamin D-Versorgung unter unveränderten Haltungs- und Fütterungsverhältnissen zwecks Behebung gerade der Verknöcherungsstörungen geregelt haben.

Die Bedeutung der angeführten Befunde für die Praxis ergibt sich im wesentlichen daraus, daß sie nicht nur für die notgeschlachteten Tiere, sondern auch für die Mehrzahl der mit diesen gemeinsam gehaltenen und gefütterten Tiere, letzten Endes also für den gesamten Mastbestand gelten. Angesichts dessen, daß der Mastbestand der Betriebe, in denen die Untersuchungen vorgenommen wurden, 60—130, durchschnittlich 100 Tiere umfaßt, und im Hinblick darauf, daß 40—60% der untersuchten Bestände ebenso wie der notgeschlachteten Tiere mehr oder minder, aber nachweisbar an Ossifikationsstörungen leiden, zeigt jeder Befund der Tabelle bzw. jeder der in der Abbildung dargestellten Punkte im Grunde den ungünstigen Zustand von 40—60 Tieren an.

Nach alledem müssen wir feststellen, daß die gegenwärtige Mästungsform der jungen Bullen, sei es wegen des niedrigen Eiweiß- und Mineralstoffgehaltes der vorgeschriebenen Nahrung oder der ungünstigen Ausnutzung der Mineralstoffe, sei es wegen der unvorteilhaften Haltungsverhältnisse, sich schädlich auf den Gesundheitszustand und die Futterverwertung der Masttiere auswirkt, wodurch offenkundig auch das wirtschaftliche Ergebnis der Mästung beträchtlich herabgesetzt wird. Dieser Umstand macht es erforderlich, die traditionelle Form der Mästung abzuändern und den Anforderungen der rationellen und in jeder Hinsicht zufriedenstellenden Fütterung in verstärktem Maße Genüge zu tun. Dies ist um so eher zu empfehlen, als die bei der Mästung junger Bullen häufig auftretenden Stoffumsatzstörungen und ihre Folgen verhältnismäßig leicht abgewehrt bzw. verhindert werden können. Sofern die Knochen-

schädigungen bei den Mastbullen in größerem Umfange auftraten, hat es sich als wirksam erwiesen, wenn die schwerere Störungen zeigenden Tiere längere Zeit im Freien gehalten wurden, wir für ihre Bewegung sorgten und ihre Nahrung, wie die des ganzen Bestandes, nötigenfalls mit Kalziumkarbonat oder phosphorsauren Kalkpräparaten sowie regelmäßigen Vitamin D-Gaben in entsprechender Menge ergänzt wurde. Dieselben Maßnahmen werden auch zur Prophylaxe des Leidens gute Dienste leisten, insbesondere wenn wir gleichzeitig für die natürlichere Haltung der Masttiere Sorge tragen.

ZUSAMMENFASSUNG

In Fortsetzung früherer Studien wurden in 38 Großbetrieben, die sich mit Bullenmast beschäftigen und in denen besonders viele Beschwerden im Zusammenhang mit der Knochenentwicklung der Bullenmastkälber zutage traten, eingehende Untersuchungen über das Ausmaß und die Ursachen der Ossifikationsstörungen vorgenommen. Neben dem Studium der Mastbedingungen erstreckten sich die Untersuchungen auf 118 Blutproben und 33 Femurknochen.

Es stellte sich heraus, daß 40—60% der auf traditionelle Weise in Ställen gemästeten Bullenkälber Ossifikationsstörungen aufwiesen und rachitisch waren. Das Femur der noch nicht 6 Monate alten Tiere zeigte im Vergleich zum Normalzustand durchschnittlich lediglich 77 (37—97) %ige, das der älteren Tiere 62 (32—97) %ige Kalzifikation.

Die massenhaft auftretende Erkrankung läßt sich beheben, indem man die Mineralstoffmenge im Futter der Tiere erhöht und gleichzeitig für die perorale Verabreichung einer entsprechenden Vitamin D-Menge sorgt bzw. die Tiere an frischer Luft und dem Sonnenlicht ausgesetzt hält. Im wesentlichen ebenso vermag man der Entwicklung des Leidens vorzubeugen.

LITERATUR

URBÁNYI, L.: Állattenyésztés **11** (1962), 251. IDEM: Mezőg. Kutatások **5** (1932), 441. IDEM: Mezőg. Kutatások **4** (1931), 163. IDEM: Állattenyésztés **13** (1963), 5. IDEM: Magyar Állatorvosok Lapja, 1962, 99. IDEM: Zeitgemäße Fragen der betrieblichen Fütterung von Rindern, unter Berücksichtigung der häufiger auftretenden Stoffumsatzstörungen (ungar.). Generaldirektion der Staatl. Wirtschaften des Landwirtschaftsministeriums, Budapest, 1961. URBÁNYI, L. und MÉSZÁROS, I.: Állattenyésztés **10** (1961), 85; Acta Vet. Hung. **9** (1961), 409.

VERSUCHE ZUR AKTIVEN IMMUNISIERUNG VON RINDERN, HUNDEN UND NERZEN GEGEN DIE AUJESZKYSCHE KRANKHEIT

Von

J. KOJNOK

Staatliches Impfstoffproduktionsinstitut Phylaxia
(Direktor: J. MOLNÁR), Budapest

(Eingegangen am 6. November 1963)

Wie frühere Versuche und praktische Erfahrungen gezeigt haben, lassen sich Schweine und Schafe mit der aus dem von BARTHA (1961) isolierten attenuierten Aujeszkyschen Virusstamm (Variante »K«) hergestellten Vakzine immunisieren (BARTHA, KOJNOK, 1962; BARÓCSAY, TANCZER, 1962; POSGAY, 1963). In Ungarn kommt der Aujeszkyschen Krankheit, von den beiden erwähnten Tierarten abgesehen, noch unter den Rindern und Hunden Bedeutung zu, doch wissen wir aus der Fachliteratur, daß die Krankheit im Ausland auch unter den Nerzen hin und wieder schwere Schäden verursacht. Infolgedessen schien es zweckmäßig, festzustellen, ob diese Vakzine zur Immunisierung von Rindern, Hunden und Nerzen verwendet werden kann.

In der Literatur teilte bisher ŠKODA (1962) Angaben über erfolgreiche Kälberimmunisierungsversuche mit einer modifizierten Virus-Vakzine mit; über aktive Immunisierungsversuche mit lebendem Virus an Hunden und Nerzen haben wir keine Kenntnis.

Eigene Untersuchungen

Material und Methoden

Kälber : 3—6 Monate altes buntscheckiges Jungvieh.

Hunde : 3—60 Monate alte Bastardtiere.

Nerze : 12—18 Monate alte Tiere.

Vakzine : Von Phylaxia in Verkehr gebrachte Vakzine gegen die Aujeszkysche Krankheit.

Immunisierungsmethode : Ein Teil der Tiere wurde einmal, der andere Teil 3 Wochen nach der ersten Impfung zum zweitenmal geimpft: Kälber und Hunde intramuskulär, Nerze subkutan.

Blutentnahme : Bei Rindern wurde die Blutprobe aus der Jugularvene, bei Hunden durch Herzpunktion entnommen. Die Blutentnahme erfolgte bei den einmal geimpften Tieren am 21. Tage nach der Impfung, bei den zweimal geimpften Tieren am 14. Tage nach der zweiten Impfung.

Virusneutralisierungsprobe : Nach der früher beschriebenen Methode (SIMONYI, 1960).

Zur Infektion benutztes Virus : In Gewebekulturen vermehrtes virulentes Virus.

Verfahren und Zeitpunkt der Infektion : Die einmal geimpften Tiere wurden am 21. Tage nach der Impfung, die zweimal geimpften am 14. Tage nach der zweiten Impfung intramuskulär infiziert.

Ergebnisse

I. Immunisierung von Rindern

Die Ergebnisse der Rinderversuche veranschaulichen Tabelle I und II. Bei diesen Untersuchungen mußten wir uns mit verhältnismäßig kleinen Tiergruppen begnügen, weil der hohe Wert der Tiere die Inanspruchnahme von noch mehr Rindern nicht gestattete.

Tabelle I

Erscheinen von virusneutralisierenden Antikörpern im Blutserum der mit Vakzine geimpften Rinder

Nr. der Tiere	Alter (Monate)	Vakzine-Dosis (ml) Impfung I.	Vakzine-Dosis (ml) Impfung II.	Titer der Sera vor der Impfung	Titer der Sera nach der I. Impfung	Titer der Sera nach der II. Impfung	Neutralisierte Virusmenge
236	5	2	—	∅	∅	—	100 $TCID_{50}$
339	5	1	—	∅	∅	—	
193	3	1	2	∅	∅	1 : 8	
311	5	1	2	∅	∅	1 : 4	
144	4	2	2	∅	∅	1 : 4	
269	5	2	2	∅	∅	1 : 8	
195	6	4	2	∅	∅	1 : 4	
295	5	Kontrolle	—	∅	∅	∅	
489	6	Kontrolle	—	∅	∅	∅	

∅ = Das Serum hat nicht neutralisiert.

Tabelle II

Infektionsergebnis bei den mit der Vakzine geimpften Rindern

Nr. der Tiere	Vakzine-Dosis (ml) I. Impfung	Vakzine-Dosis (ml) II. Impfung	Ergebnis der Infektion	Menge und Titer des Infektionsvirus
339	1	—	verendet	1 ml
193	1	2	lebt	$5 \times 10^{5.5} TCID_{50}$
489	Kontrolltier		verendet	

Die Impfung wurde von den Tieren reaktionsfrei toleriert. Die Beobachtung der Immunitätsentwicklung ergab, daß wir durch zwei Impfungen eine sich in Anwesenheit von virusneutralisierenden Antikörpern bzw. in der Abwehr der letalen Infektion manifestierende Immunantwort bekommen. Nach diesem Ergebnis darf man also feststellen, daß sich die Vakzine zur aktiven Immunisierung von Rindern eignet.

II. Immunisierung von Hunden

Die Resultate der an Hunden verschiedenen Alters durchgeführten vier Versuche sind in Tabelle III zusammengefaßt.

Tabelle III

Verlauf und Ergebnis der Hundeimmunisierungsversuche

Nr. der Tiere	Alter (Monate)	Vakzine-Dosis (ml) I. Impfung	Vakzine-Dosis (ml) II. Impfung	Impfreaktion	Titer der Sera vor der Impfung	Titer der Sera nach der Impfung	Ergebnis der Infektion	Menge und Titer des Infektionsvirus
1	3 1/2	5	—	Am 6.7.Tage matt	⌀	1 : 2	Am Leben	0,5 ml $10^{3,5}$ $TCID_{50}$
2	3	1	—	Am 6.7. Tage hinfällig	⌀	—		
3	12	0,5	—	Am 7. Tage verendet	⌀	cc	Am Leben	
4	60	5	—		⌀	⌀	+	
5	3	1	0,2	Am 6.7. Tage matt	⌀	1 : 2	Am Leben	
6	3	5	0,2	Am 6.7.8. Tage matt	⌀	1 : 2	Am Leben	
7	3	1	0,2		⌀	⌀	+	
8	60	1	1		⌀	cc	Am Leben	
9	3	5	1		⌀	1 : 2	Am Leben	
10	48	1	1		⌀	1 : 2	Am Leben	
11	5	1	1		⌀	1 : 8	Am Leben	
12	3 1/2	0,5	1	Am 7.8. Tage hinfällig	⌀	1 : 8	Am Leben	
13	3 1/2	1	1		⌀	1 : 8	Am Leben	
14	3	Kontrolltier					+	
15	3	,,					+	
16	3 1/2	,,					+	
17	48	,,					+	

⌀ = Das Serum hat nicht neutralisiert.
cc = Nur unverdünntes Serum hat neutralisiert.
\+ = Verendet.

Bei diesem Versuch stellten wir fest, daß — wie auch aus Tabelle III hervorgeht — mit einer Impfreaktion gerechnet werden muß, die zum Verenden jüngerer Tiere führen kann. Von den 3—3 1/2 Monate alten 8 jungen Hunden wiesen nämlich 5 nach der ersten Impfung 2—3 Tage anhaltende Appetitlosigkeit, Fieber, Atemnot und auf die hinteren Extremitäten beschränkte Bewegungsstörungen auf, und eines dieser Tiere ging ein. Im Blut

der eine Reaktion zeigenden Hunde konnte das Virus in der Fieberperiode nicht nachgewiesen werden. An den älteren Tieren haben wir keine Impfreaktionen wahrgenommen.

Bei Untersuchung der Immunität konstatierten wir, daß virusneutralisierende Antikörper im Blutserum von Hunden — im Gegensatz zu den Rindern — schon nach einmaliger Impfung erscheinen können, aber die wiederholte Impfung den Antikörperspiegel auch hier zu erhöhen vermag. Indessen begegneten wir bei diesen Versuchen, sowohl unter den einmal wie unter den zweimal geimpften Tieren solchen, die nicht immunisiert wurden, deren Serum keine Antikörper enthielt und welche die Infektion nicht überlebten. Bei den Hunden stimmten die Ergebnisse der Virusneutralisierungsproben und der Infektion völlig überein; die in ihrem Serum virusneutralisierende Antikörper enthaltenden Tiere überlebten die letale Infektion, während die Tiere ohne Antikörper eingingen. Weiterhin zeigten die Untersuchungen, daß die Größe der Impfdosis weder die Impfreaktion noch die Immunitätsentwicklung bewertbar beeinflußte.

III. Immunisierung von Nerzen

Die Ergebnisse der Nerzversuche sind in Tabelle IV enthalten. Angesichts des hohen Preises dieser Tiere konnten wir die Untersuchungen nur an 4 Nerzen vornehmen, so daß die Resultate eher nur als informativ angesehen werden können.

Tabelle IV

Ablauf des Nerzimmunisierungsversuches

Nr. der Tiere	Vakzine-Dosis (ml)	Zustand nach der Vakzinierung	Menge und Titer des Infektionsvirus	Ergebnis der Infektion
1	0,2	Am 5. Tage appetitlos, am 6. Tage eingegangen	0,2 ml, $10^{-4,5}$ $TCID_{50}$	—
2	0,25	Vom 5. Tage an krank, am 12. Tage eingegangen		—
3	1,0	Keine Reaktion		Verendet
4	Kontrolle	—		Verendet

Nach den Versuchsergebnissen kann die Vakzine in ihrer gegenwärtigen Form bei Nerzen nicht verwendet werden, weil entweder die Impfreaktion bereits zum letalen Ausgang führt oder weil die Tiere, auch wenn sie die Impfung überleben, keine Immunität erwerben.

Besprechung

Die Vakzine, die unter Verwendung des von BARTHA isolierten attenuierten Aujeszkyschen Virusstammes hergestellt wird, eignet sich zur aktiven Immunisierung von Rindern und über ein gewisses Alter hinaus der meisten Hunde, aber in ihrer derzeitigen Form nicht zur Impfung von Nerzen. Mit den zu zufriedenstellenden Resultaten führenden Untersuchungen an Rindern und Hunden hat die Versuchsreihe ihren Abschluß gefunden, welche die Feststellung der Immunisierungsmöglichkeiten bzw. -bedingungen bei den der Krankheit gegenüber empfänglichsten und unter den einheimischen Verhältnissen wichtigsten Haustieren (Rinder, Schafe, Schweine, Hunde) bezweckte. Es beruht auf den Antigeneigenschaften der Vakzine, daß diese vier einander ziemlich weitstehenden Tierarten (Pflanzen- und Fleischfresser) in einem den Bedürfnissen der Praxis entsprechendem Maße immunisiert werden können. (Aus dieser Beobachtung dürfen wir indessen ohne weitere Versuche keine verallgemeinernden Schlußfolgerungen auf andere Tierarten ziehen, weil wir z. B. bei den gleichfalls fleischfressenden Nerzen zu negativen Resultaten gelangten.)

In bezug auf die Empfindlichkeit der Vakzine gegenüber konstatierten wir einen Unterschied zwischen den Pflanzen- und Allesfressern (Rindern, Schafen und Schweinen) einerseits und den Fleischfressern (Hunden und Nerzen) anderseits. Unter den ersteren war eine Impfreaktion selbst bei den jungen Tieren nicht zu beobachten, während diese unter den jungen Tieren der letzteren Gruppe häufig vorkam. Bei den Nerzen ist die Empfindlichkeit auch der ausgewachsenen Tiere von solchem Ausmaß, daß sie die Anwendung der Vakzine geradezu verhindert. Sicherlich ist es auch auf den Unterschied zwischen den Arten zurückzuführen, daß die Pflanzen- und Allesfresser nach zwei Impfungen fast ausnahmslos Immunität erwarben, während wir unter den fleischfressenden Hunden einem Tier begegneten, das auch nach zwei Impfungen keine Immunität gewann. Die Ursache dieser Erscheinung kennen wir nicht, doch müssen wir an die auffallend verschiedene individuelle Reaktionsbereitschaft der Hunde denken, die auch ALMÁSSY (1961) anläßlich der auf die künstliche tuberkulöse Infektion folgenden Tuberkulin-Proben bei Hunden beobachtete. Bei seinen Untersuchungen reagierte nur etwa die Hälfte der unter gleichen Bedingungen infizierten und gehaltenen Tiere auf das Tuberkulin, die andere Hälfte jedoch nicht, obschon ihre Sektion Tuberkulosedurchseuchung ergab. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß Immunität und Allergie als zwei verschiedene Begriffe anzusehen sind, deutet diese Ähnlichkeit der Erfahrungen darauf hin, daß die auffallende individuelle Variabilität der Reaktionsbereitschaft zu den artspezifischen Eigenschaften der Hunde rechnet.

Bekanntermaßen ist die Infektionsquelle der Rinder in der Praxis hauptsächlich unter den erkrankten Schweinen (KOJNOK, 1962), die der Hunde

und Nerze im Verzehren der Abfälle auf dem Schweineschlachthof zu suchen (MANNINGER, 1939). An Hand dieser Beobachtungen und vorliegender Untersuchungen sind wir der Meinung, daß Rinder und Hunde, wenn keine infektionsfreie Umgebung gewährleistet werden kann, mittels Vakzine-Impfung immunisiert werden sollen, während an Nerze roh nur solcher Schlachthofabfall verfüttert werden darf, dessen Virusfreiheit dadurch gesichert wird, daß die Aujeszkysche Krankheit im Aufnahmebereich des Schlachthofes nicht vorkommt. Muß man mit dem Vorhandensein der Krankheit rechnen, so darf der Schlachthofabfall nur gekocht verfüttert werden.

ZUSAMMENFASSUNG

In Untersuchungen mit der das gegen die Aujeszkysche Krankheit attenuierte Virus (Variante »K«) enthaltenden Vakzine wurde festgestellt, daß Rinder und mit wenigen Ausnahmen auch Hunde mit dieser Vakzine aktiv immunisiert werden können. Rindern vermittelt nur zweimalige Impfung entsprechende Immunität, während Hunde schon nach einmaliger Impfung Immunität erwerben, aber das Ausmaß des Schutzes durch die wiederholte Impfung auch hier erhöht wird. Bei jungen Hunden muß sehr selten mit einer zum Verenden führenden Impfreaktion gerechnet werden. Zur Immunisierung von Nerzen ist die Vakzine in ihrer gegenwärtigen Form nicht geeignet.

*

Herrn Tierarzt P. KISHONTI und den Leitern der Lehrwirtschaft des Landwirtschaftlichen Technikums in Orosháza danken wir auch an dieser Stelle für die bei den Rinderversuchen geleistete Hilfe.

LITERATUR

ALMÁSSY, K.: Persönliche Mitteilung. BARÓCSAY, GY. und TANCZER, D.: Magyar Állatorvosok Lapja (MÁL), 1962, 350. BARTHA, A.: MÁL, 1961, 42. BARTHA, A. und KOJNOK, J.: MÁL, 1962, 321. KOJNOK, J.: Acta Vet. Hung. **12** (1962), 53. MANNINGER, R.: A házi emlősök fertőző betegségei. Budapest, 1939. POSGAY, E.: MÁL, 1963, 369. SIMONYI, E.: MÁL, 1960, 50. ŠKODA, R.: Acta Virol. **6** (1962), 189.

LIEGT BEI ANÄMISCHEN FERKELN DYSPROTEINÄMIE VOR?

Von

Z. HORVÁTH und L. PAPP

Lehrstuhl und Klinik für Innere Medizin (Direktor: Dozent Z. HORVÁTH)
der Veterinärmedizinischen Universität, Budapest

(Eingegangen am 6. Januar 1964)

Von einem dysproteinämischen Zustand sprechen wir, wenn die quantitativen und qualitativen Werte der Serumeiweißfraktionen oder des Gesamteiweißspiegels außerhalb der normalen Grenzwerte liegen.

Die Untersuchung der Beziehungen zwischen Anämie und Dysproteinämie liefert wertvolle Angaben über die Ätiologie, welche die Grundlage der kausalen Behandlung bildet, insbesondere wenn wir berücksichtigen, daß KÖHLER (1956) und SCHULZE (1957) die Störung im Eiweißumsatz als fundamentale Ursache der Ferkelanämie betrachten, so daß die richtige Bezeichnung der Krankheit ihrer Meinung nach hypochrome Eiweißmangelanämie wäre. Dem Eisenmangel fällt hiernach nur eine nebensächliche, untergeordnete Rolle bei der Ferkelanämie zu, während das Fehlen der zur Hämoglobinbildung unentbehrlichen Eiweißkomponente, des Globins, die eigentliche Ursache darstellt. Ihre Meinung stützen sie auf die Beobachtung, daß ein niedriger Serumeisenspiegel bei kaum 1/5 der klinisch anämisch erscheinenden Ferkel vorliegt, während dieser in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle innerhalb der Normalwerte bleibt. KÖHLER (1956) stellte bei anämischen Ferkeln vom Normalen abweichende Gesamteiweiß- sowie Albumin- und Gammaglobulinwerte fest, ohne daß einheitliche Resultate zutage getreten wären. Die Ferkelanämie wird auch weniger als ein Eiweißmangelzustand angesehen, sondern eher als eine Störung in der zur Globinbildung unentbehrlichen Aminosäurenversorgung (Histidin). PRINZ und Mitarbeiter (1955) konstatierten eine Senkung der Erythrozytenzahl und niedrige Hämoglobinwerte bei den mit Eiweißmangelfutter ernährten Schweinen.

Der anomal niedrige Albuminspiegel und die hohen Gammaglobulinwerte normalisierten sich bei anämischen Tieren nach Verfütterung von tierischem Eiweiß. Im Zusammenhang mit der Ferkelanämie erwähnen andere (PRINZ und MOCH, 1955) das Anwachsen der Serumalbuminfraktion und die gleichzeitige Senkung der Gammaglobulinfraktion, während BEHRENS (1957) zwei grundlegende Formen der Ferkelanämie unterscheidet. Die eine ist die sog. Eiweißmangelanämie (Inanitionsanämie), eine Folgeerscheinung der Ernährung trächtiger Sauen mit Eiweißmangelfutter, während sich die sog. echte Anämie der Ferkel seiner Ansicht nach auf Eisenmangelgrundlage entwickelt.

Bei unseren Untersuchungen setzten wir uns das Ziel, durch die Bestimmung der Serumeiweißfraktions- und Gesamteiweißwerte bei den Ferkeln, die auf Grund der Befunde der Plasmaeisensättigung (Saturations-%), des Hämatokritwertes, Hämoglobinwertes und der Erythrozytendurchmesser als anämisch festgestellt wurden, Angaben zu gewinnen, aus denen hervorgeht, ob die hyposiderosebedingte, mikrozytäre, hypochrome, oligozytämische Anämie mit Dysproteinämie einhergeht.

Untersuchungsmaterial und Methoden

Die Untersuchungen wurden an 10, 21 und 60 Tage alten 143 in unterschiedlichem Maße anämischen und 61 gesunden Ferkeln vorgenommen.

Für die Eiweißbestimmungen benutzten wir Serum, das von dem der vorderen Hohlvene des Ferkels entnommenen Blut nach mehrstündiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur gewonnen wurde, bei den anderen Untersuchungen mit Heparin in der Gerinnung gehemmtes Vollblut.

Die Eiweißfraktionen wurden nach der papierelelektrophoretischen Methode getrennt. Die Elektrophorese des auf Filterpapier Macherey—Nagel 614 übertragenen Serums erfolgte bei einer Spannungssenkung von 6 V/cm unter Verwendung von Veronalnatrium-, Natriumazetat- und Salzsäurepuffer pH = 8,6 und Ionenstärke 0,1. Nach 12stündiger Wanderung färbten wir die Papierstreifen mit den Eiweißfraktionen (Albumin, alpha-, beta-, gamma-Globulin) mit saurer Fuchsinlösung, dann wurden die einzelnen Fraktionen getrennt und der zur Eiweißmenge im Verhältnis stehende Farbstoff mit Lauge herausgelöst, wonach wir die Fraktionen nach Rücksäuerung im Pulfrichschen Photometer unter Verwendung des Filters S 53 bestimmten.

Die Gesamteiweißbestimmung geschah nach dem kolorimetrischen Mikro-Kjeldahl-Verfahren (P. BÁLINT, 1955). Den Plasmaeisenspiegel und die Eisenbindungskapazität bestimmten wir nach der von LAKOS und LEHOTAI (1960) modifizierten BETWELL und MALLETschen Methode (1955). Der Saturations-Prozentsatz ergibt sich aus der Multiplikation des Quotienten der Eisenbindungsfähigkeit und des Plasmaeisenspiegels mit 100. Den Hämoglobinwert stellten wir nach dem Zyanhämoglobinverfahren, den Hämatokritwert nach Zentrifugieren in der 50 mm langen Hämatokritröhre während 30 Minuten mit der Drehungszahl 3000 fest. Die Messung des Erythrozytendurchmessers erfolgte mit dem (sowjetischen) Schrauben-Mikrookular MOV-I-15 in der Weise, daß wir von jedem Blutausstrich den durchschnittlichen Durchmesser von 50 roten Blutkörperchen nahmen.

Als schwer anämisch bezeichneten wir die Ferkel, bei denen der Saturationswert nicht höher war als 12%, der Hämatokritwert unter 18%, der Hämoglobinwert unter 6 g% blieb, bzw. der Erythrozytendurchmesser um mindestens 0,4 μ weniger ausmachte als der Wert im Neugeborenenalter. Als mäßig anämisch betrachteten wir diejenigen Ferkel, bei denen der Saturationswert 12—20%, der Hämatokritwert 18—28% und der Hämoglobinwert 6—9 g% betrug, bzw. der Erythrozytendurchmesser um 0,2—0,4 μ geringer war als im Neugeborenenalter.

Je nachdem, auf Grund von wieviel Angaben sich die 10, 21 und 50—60 Tage alten Ferkel als anämisch erwiesen, faßten wir die Eiweißbestimmungsresultate in vier Gruppen zusammen, welche die Tabelle veranschaulicht.

Besprechung

Untersuchen wir die Altersverteilung der tabellarisch zusammengefaßten, in verschiedenem Maße anämisch befundenen 143 Ferkel, so fällt uns sogleich in die Augen, daß von den 10 Tage alten 40 Ferkeln 15 (37,5%), von den 21

Tage alten 59 Ferkeln 19 (32,2%), dagegen von den 50—60 Tage alten 44 Tieren lediglich 7 (15,9%) auf Grund von 4 bzw. 3 Befunden anämisch waren, d.h. die Zahl der schwer anämischen Fälle mit fortschreitendem Alter beträchtlich abnahm. Diese Tatsache stützt die praktische Beobachtung, wonach die Ferkel im Alter von 50—60 Tagen entweder infolge der Anämie zugrunde gehen oder sich ihr Wachstum derart verlangsamt, daß die mit dem Futter dem Organismus zugeführten hämatopoetischen Elemente den Bedarf der Hämoglobinbildung decken, so daß die Anämie auch ohne Behandlung verschwindet oder nachläßt. Von diesen Tieren wird jedoch das Futter ihr ganzes Leben hindurch schlecht verwertet.

Wenn wir die Serumgesamteiweißwerte jedoch bei den verschieden schweren Anämieformen untersuchen, so finden wir diese bei den 10 Tage alten Ferkeln im Verhältnis zu den Werten der gesunden Tiere vermindert bzw. im Verhältnis zur Progression der Anämie erhöht, im Alter von 50—60 Tagen aber gerade im Gegenteil verringert, während im Alter von 21 Tagen nahezu unveränderte Werte zutage treten. Noch schwieriger gestaltet sich die Auswertung, wenn wir auch die Grenzwerte berücksichtigen, laut welchen selbst die Differenzen zwischen den einzelnen Altersgruppen ganz verschwinden. Die Gesamteiweißwerte der anämischen Ferkel weichen von dem in der Literatur für gesunde Schweine geltenden 7,5 g%igen Befund (6,5—8,5 g%) nicht wesentlich ab, d. h. in unseren Fällen waren die verschieden schwerer Formen der Ferkelanämie nicht von eindeutigen Veränderungen des Serumgesamteiweißspiegels begleitet. Im Zusammenhang mit den Gesamteiweißwerten können wir demnach die Ferkelanämie kaum als eine in Verbindung mit Dysproteinämie auftretende Krankheitsform bezeichnen.

Nicht viel anders gestaltet sich unsere Auffassung, wenn wir die quantitativen Resultate der Serumeiweißfraktionen mit den verschieden schweren Formen der Ferkelanämie vergleichen. Zwar waren die Albuminwerte bei den 10 Tage alten schwer anämischen Ferkeln um 9,3% niedriger als die aus der Literatur bekannten Befunde (45%), diese Senkung trat aber weder bei den 21 Tage alten noch bei den 50—60 Tage alten anämischen Ferkeln in Erscheinung, so daß sie nicht zur Anämie in Beziehung gebracht werden kann.

Von den Serumeiweißfraktionen hat sich alpha-Globulin im Vergleich zum 16,3%igen Normalwert etwas vermehrt, während bei den quantitativen gamma-Globulinveränderungen keinerlei Zusammenhang mit der Anämie festgestellt werden kann. Besondere Aufmerksamkeit widmeten wir der Serumbeta-Globulinfraktion, da ja der Transport des ionisierten Eisens im Plasma von Transferin besorgt wird, dem bei der Entwicklung des beta-Globulinspiegels eine bedeutende Rolle zufällt.

Wie aus den Tabellenangaben hervorgeht, besteht in der Regel ein Zusammenhang zwischen der Schwere der Ferkelanämie und der Vermehrung der beta-Globulinfraktion. Vergleichen wir nämlich in den einzelnen Alters-

Tabelle 1

Serumeiweißwerte bei anämischen und gesunden Ferkeln

Alter	Anzahl der untersuchten Tiere (n)	Laut wieviel Befunden anämisch?	Gesamteiweiß-Durchschnittswert in g %	Albumin-Durchschnittswert in relativen %	alpha-Globulin-Durchschnittswert in relativen %	beta-Globulin-Durchschnittswert in relativen %	gamma-Globulin-Durchschnittswert in relativen %
10 Tage alt	8	4	7,5 ± 0,2	41,6 ± 1,3	19,3 ± 0,9	19,0 ± 0,9	20,1 ± 1,1
	7	3	7,1 ± 0,3	41,3 ± 1,9	18,6 ± 0,8	20,7 ± 1,2	19,4 ± 1,6
	8	2	7,0 ± 0,4	43,5 ± 1,4	15,8 ± 1,3	21,2 ± 1,0	19,5 ± 0,7
	17	1	7,0 ± 0,4	43,6 ± 1,0	16,3 ± 0,7	18,5 ± 0,6	21,6 ± 0,6
	9	0	7,8 ± 0,5	44,9 ± 1,7	16,3 ± 0,5	18,6 ± 0,8	20,2 ± 1,5
21 Tage alt	9	4	7,1 ± 0,6	45,1 ± 1,6	18,4 ± 1,0	19,5 ± 0,8	17,0 ± 1,3
	10	3	7,0 ± 0,2	45,5 ± 2,5	19,5 ± 1,1	19,2 ± 0,4	15,8 ± 1,5
	17	2	7,5 ± 0,3	46,5 ± 1,4	18,4 ± 0,7	18,5 ± 0,7	16,6 ± 0,8
	23	1	6,9 ± 0,3	46,8 ± 2,2	19,1 ± 1,1	16,9 ± 0,7	17,2 ± 1,2
	16	0	7,1 ± 0,3	44,5 ± 1,4	18,7 ± 0,5	16,9 ± 0,7	19,9 ± 1,5
50—60 Tage alt	1	4	4,5 ±	—	—	—	—
	6	3	6,2 ± 0,4	44,0 ± 1,9	19,9 ± 1,0	17,3 ± 0,7	18,8 ± 1,3
	14	2	7,0 ± 0,3	44,2 ± 1,4	20,8 ± 0,9	17,2 ± 0,8	17,8 ± 0,9
	23	1	6,0 ± 0,3	46,0 ± 1,0	19,8 ± 0,8	15,7 ± 0,7	18,5 ± 0,6
	36	0	6,4 ± 0,2	42,9 ± 1,4	19,2 ± 0,4	17,1 ± 0,6	20,8 ± 0,8

gruppen die Werte der beta-Fraktion im Serum der auf Grund von 4, 3, 2 Befunden als anämisch festgestellten Tiere mit den Werten der auf Grund 1 Befundes anämischen und der gesunden Tiere, so stellt sich heraus, daß die Durchschnittswerte der schwer anämischen Tiere die letzteren in der Regel übersteigen. Wir müssen annehmen, daß der Eisenmangelzustand des Organismus zur Vermehrung der zum Eisentransport geeigneten beta-Fraktion im Serum führt.

Für die Wahrscheinlichkeit dieses Zusammenhanges spricht auch unsere frühere Beobachtung (HORVÁTH und KARSAI), nach der die Eisenaufnahmefähigkeit (latente Eisenbindungskapazität) des Blutplasmas der anämischen Ferkel, deren Wert hauptsächlich von der beta-Globulinmenge im Serum abhängt, wesentlich erhöht ist.

Die Tatsache, daß der Zusammenhang zwischen der Schwere der Anämie und der Vermehrung der beta-Globulinfraktion in der Gruppe der 21 Tage alten Tiere am ausgeprägtesten zutage tritt, d. h. innerhalb der Gruppe, in der die meisten schweren Anämiefälle vorkommen, steht durchaus im Einklang mit der praktischen Erfahrung, daß die Krankheit bei den 10 Tage alten

Ferkeln *noch nicht*, bei den 50—60 Tage alten aber *schon nicht* in schwerer Form erscheint.

Die biometrische Aufarbeitung unserer Ergebnisse mit Hilfe der »t«-Probe zeigt, daß die Menge der beta-Globulinfraktion im Serum der 21 Tage alten, auf Grund von 4 oder 3 Befunden als anämisch bezeichneten Ferkel den bei gesunden Ferkeln festgestellten Wert signifikant übersteigt ($0{,}02 > P < 0{,}05$).

Als wir die vereinigten Werte der auf Grund von 4, 3 oder 2 Befunden als anämisch festgestellten Ferkel mit den Resultaten der gesunden Tiere verglichen, erwies sich die Signifikanz noch stärker ($0{,}01 > P < 0{,}02$).

Bemerkt sei, daß wir bei den Ferkeln mit besonders hoher beta-Globulinfraktion (23,9, 24,1, 24,3, 25,2%) konsequenterweise sehr niedrige Eisensättigungswerte (Saturationswert unter 12%) selbst dann ermittelten, wenn sie sich nur auf Grund dieses einen Befundes als anämisch erwiesen.

In der Gruppe der 10 Tage alten, auf Grund von 4, 3 oder 2 Befunden als anämisch bezeichneten Tiere unterscheidet sich die beta-Globulinmenge im Serum nicht signifikant von den Ergebnissen, die auf Grund 1 Befundes oder nicht anämisch waren. Ziehen wir aber bei der Beurteilung der Anämie allein die Eisensättigung im Serum in Betracht, so können wir konstatieren, daß sich die beta-Globulinmenge bei den auf Grund des Saturationswertes als anämisch oder gesund bezeichneten Tieren signifikant unterscheidet ($P = 0{,}05$). Wir nehmen an, daß sich bei Ferkeln im Alter von 10 Tagen der Eisenmangelzustand des Organismus häufig bereits entwickelt, ohne daß noch für die Anämie bezeichnende Veränderungen im Hämoglobin-, Hämatokrit- und Erythrozytendurchmesserwert in Erscheinung treten würden.

Unsere Untersuchungsergebnisse bestätigen somit die Vermutung, daß auch bei Ferkeln Fälle sog. latenter Anämie (maskierter Eisenmangel) vorkommen, bei denen die Hämoglobin-, Hämatokrit- und Erythrozytendurchmesserwerte noch nahezu normal sind, auf welche jedoch, da die Eisenreserven des Organismus im Schwinden sind und die Eisenversorgung der Gewebsenzyme beeinträchtigt ist, der niedrige Eisensättigungswert im Plasma und die Vermehrung der beta-Globulinfraktion im Serum hinweisen. Im Hinblick darauf, daß wir auf die tatsächliche Transferinmenge Rückschlüsse nur aus immunochemischen oder auf der Bestimmung des Eisenbindungsvermögens beruhenden Untersuchungen ziehen können, wollen wir die mit der Anämie zusammenhängenden weiteren Eigentümlichkeiten der beta-Serumeiweißfraktion in nächster Zeit unter Verwendung von radioaktivem Eisen klarzustellen versuchen.

ZUSAMMENFASSUNG

Um festzustellen, ob die Ferkelanämie von Dysproteinämie begleitet ist, wurden die Gesamteiweißwerte und Eiweißfraktionen im Serum von 143 in verschiedenem Maße anämischen und 61 gesunden Ferkeln untersucht. Die Feststellung des Progressionsgrades der Ferkelanämie erfolgte durch Bestimmung der Plasmaeisensättigung (Saturations-%), des Hämoglobin- und Hämatokritwertes sowie des Erythrozytendurchmessers. Zwischen den Gesamt-

eiweißwerten, den quantitativen Albumin-, alpha- und gamma-Globulinwerten sowie dem Progressionsgrad der Anämie konnte bei den auf Grund Befunde (s. Tabelle) als anämisch bezeichneten und den gesunden Ferkeln keinerlei Zusammenhang festgestellt werden. Die Serum-beta-Globulinfraktion erwies sich jedoch im Vergleich zu den gesunden Tieren bei den anämischen konsequenterweise höher, und zwar in der Regel proportional zur Schwere der Anämie. Nach den Untersuchungsergebnissen führt der Eisenmangelzustand des Organismus zur Vermehrung der den Eisentransport bewerkstelligenden beta-Globulinfraktion. Die Serum-beta-Globulinfraktion war bei den 21 Tage alten, in verschiedenem Maße anämischen Ferkeln signifikant höher ($0{,}01 > P < 0{,}02$) als bei den gesunden Tieren gleichen Alters. Die Sideropenie tritt bei den 10 Tage alten Ferkeln in der Regel *noch nicht*, bei den 50—60 Tage alten Tieren dagegen *nicht mehr* in so schwerer Form zutage, daß sie eine signifikante Vermehrung der beta-Globulinmenge im Serum zeitigen würde. Nach den Beobachtungen deuten die niedrige Plasmasättigung (Saturationswert unter 12%) und der hohe Serum-beta-Globulinwert selbst dann auf einen Eisenmangelzustand des Organismus, wenn Hämoglobin-, Hämatokritwert und Erythrozytendurchmesser fast normal geblieben sind. Es wird die Meinung vertreten, daß durch die Bestimmung der Serum-beta-Globulinfraktion die Erkennung der sog. latenten Sideropeniefälle erleichtert wird. In den untersuchten Fällen beruhte die Ferkelanämie auf Eisenmangel und stand, soweit es die Gesamteiweiß-, Albumin-, alpha- und gamma-Globulinwerte betraf, in keinem Zusammenhang mit Dysproteinämie.

*

Auch an dieser Stelle sei Universitätsadjunkt Gy. Tölgyesi und Laboratoriumsassistentin Frau I. Tolnay für ihre Hilfe bei den Laborarbeiten gedankt.

LITERATUR

Bálint, P.: Klinikai laboratóriumi diagnosztika. Budapest, 1955. Horváth, Z. und Karsai, F.: Acta Vet. Hung. **XIV** (1964), 295. Köhler, H.: D. T. W., 1957, 57. Lakos, A. und Lehotai, L.: Kísérleti Orvostudomány **12** (1960), 661. Prinz, W., Moch, M., Fahr, R. und Krenvitt, W.: D. T. W., 1955, 357. Speisebecher, G.: Aufzuchtstörungen bei Ferkeln und Jungschweinen. Inaug. Diss. München, 1963. Schulze, H.: Zur Beurteilung des Eisens bei der Anämie der Ferkel. Inaug. Diss. Hannover, 1957.

ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE-STÄMME EINES NEUEN SEROTYPS UND IHRE BEDEUTUNG IN DER SERODIAGNOSTIK DER ROTLAUFBAKTERIEN

Von

GY. KUCSERA

Staatliches Kontrollinstitut für Veterinärimpfstoffe (Direktor: E. SIMONYI), Budapest

(Eingegangen am 27. Januar 1964)

In den letzten Jahren sind in der serologischen Typisierung der Schweinerotlaufbakterien neue Resultate zutage getreten, die sich zweifellos nicht nur auf ihre Serodiagnostik, sondern auch auf die Ätiologie des Schweinerotlaufs auswirken werden.

Die früheren Feststellungen über die Serotypen von *Erysipelothrix rhusiopathiae* (E. r.) wurden durch die Untersuchungsergebnisse mehrerer Autoren wesentlich erweitert. Die Typenbestimmungen von WATTS, ATKINSON sowie DÉDIÉ, SZENT-IVÁNYI und anderen ergänzte zuerst HEUNER, der von mehreren, bislang als N-Typus betrachteten Schweinerotlaufstämmen konstatierte, daß diese, Kaninchen eingeimpft die Produktion von Antikörpern auslösen. Die mit den Kulturen dieser Stämme erzeugten, präzipierenden Sera geben nur mit dem homologen Haptenextrakt eine positive Präzipitationsreaktion, während sie mit dem Haptenextrakt anderer Stämme nicht reagieren. Derartige Rotlaufstämme wurden von HEUNER (1958) mit der Bezeichnung C und D, von MURASE und Mitarbeitern (1959) mit den Bezeichnungen C, D und Fr und von mir (1962) als E beschrieben.

Hiernach schien es erwünscht, mehrere Schweinerotlaufbakterienstämme unserer Stammsammlung, die weder mit dem A- noch mit dem B-typusspezifischen Serum eine positive Präzipitationsreaktion gaben, d. h. nach der bisherigen Auffassung dem Serotyp N angehörten, näher zu untersuchen.

In diese Untersuchungen wurden 12 derartige im Laboratorium seit Jahren aufrechterhaltene Rotlaufstämme verschiedener Herkunft einbezogen. Mit sämtlichen Stämmen erzeugten wir präzipitierendes Serum aus Kaninchen. Die Serumerzeugung wurde mittels serienmäßiger intravenöser Einspritzung erst der mit Formalin abgetöteten, dann der lebenden Bakterienkulturen vorgenommen. Im Besitz der präzipitierenden Sera führten wir die Präzipitations-Röhrchenprobe mit dem hitzebehandelten Salzsäure-Haptenextrakt sämtlicher 12 Rotlaufstämme sowie der bereits früher bestimmten Rotlaufstämme der Serotypen A_1, A_2, B, C, D und E und mit den von sämtlichen Stämmen erzeugten Sera schachbrettartig aus (Tabelle). Von den Haptenextrakten der 12 Stämme präzipitierte keiner mit den typusspezifischen Sera A_1, A_2, B, C, D und E. Dessenungeachtet gaben die präzipitierenden Sera von 8 Stämmen außer mit dem eigenen Haptenextrakt mit dem Extrakt des Stammes vom Serotyp A_1 sowie auch untereinander eine positive Präzipitationsreaktion von unterschiedlicher Intensität. Die Sera von 3 Stämmen reagierten

weder mit dem homologen noch mit dem heterologen Haptenextrakt. Unter den 12 untersuchten Stämmen fanden wir einen Rotlaufstamm, dessen präzipitierendes Serum nur mit dem eigenen Haptenextrakt reagierte. Diesen Stamm hatten wir anläßlich einer früheren Untersuchung von den Mandeln eines mit Adsorbatvakzine immunisierten Schweins in vivo isoliert.

Tabelle 1

Antiserum / Antigen	A360	EW2	B4	NF4El	WiEl	Dogger-schabe	K	Sárvár	Szolnok
A360	++++	–	–	–	–	–	–	+++	++
EW2	+++	++++	–	–	–	–	–	+++	++
B4	–	–	++++	++++	–	–	–	–	–
NF4El	–	–	++++	++++	–	–	–	–	–
WiEl	–	–	–	–	++++	–	–	–	–
Dogger-schabe	–	–	–	–	–	++++	–	–	–
K	–	–	–	–	–	–	++++	–	–
Sárvár	–	–	–	–	–	–	–	+++	–
Szolnok	–	–	–	–	–	–	–	–	++
11	–	–	–	–	–	–	–	–	++
Al73	–	–	–	–	–	–	–	++	+
Tápé	–	–	–	–	–	–	–	++++	+++
A49	–	–	–	–	–	–	–	++++	+++
N30	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Bp XII/1	–	–	–	–	–	–	–	–	+
N	–	–	–	–	–	–	–	–	–
B14	–	–	–	–	–	–	–	–	–
B42	–	–	–	–	–	–	–	–	–
IV 12/8	–	–	–	–	–	–	–	–	–
IV 12/9	–	–	–	–	–	–	–	–	–
IV 12/10	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Zunächst wünschten wir die mit den 8 Rotlaufstämmen der ersten Gruppe gewonnenen Untersuchungsergebnisse zu klären. Deshalb streichten wir diese Stämme auf Agarplatten aus und isolierten sodann je 10 separierte Bakterienkolonien von jedem Stamm. Aus den Subkulturen wurden Haptenextrakte hergestellt und die Präzipitationsprobe mit diesen erneut ausgeführt. Es stellte sich heraus, daß bei jedem Stamm ein Teil der Subkulturen mit dem aus sich selber erzeugten und mit dem Typusserum A_1 positiv reagierte, während der andere Teil mit beiden Sera eine negative Präzipitationsreaktion gab.

Nachdem wir die Morphologie der Subkulturen eingehender untersucht hatten, stellten wir fest, daß sich die positive Reaktion gebenden Kulturen im Kolonietypus S, die negativ reagierenden im Kolonietypus R entwickelten. Die fraglichen 8 Rotlaufstämme enthielten somit — wahrscheinlich infolge der langdauernden Aufenthalten am künstlichen Nährboden — auch mehr oder

11	Al73	Tápé	A49	N30	Bp XII/1	N	B14	B42	IV. 12/8	Serotyp
++++	++	++++	++	+	++++	–	–	–	–	A_1
–	–	+++	++	–	–	–	–	–	–	A_2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	B_1
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	B_2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	C
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	D
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	E
–	–	++	–	–	–	–	–	–	–	A_1
+	+	+++	++	+++	+++	–	–	–	–	A_1
–	–	++++	+++	+++	+++	–	–	–	–	A_1
++	+++	++++	–	+	–	–	–	–	–	A_1
++	–	++++	+++	+++	+++	–	–	–	–	A_1
++++	++	++++	++++	+++	+++	–	–	–	–	A_1
+	–	++	–	+++	–	–	–	–	–	A_1
–	–	+	–	–	+++	–	–	–	–	A_2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	N
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	N
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	N
–	–	–	–	–	–	–	–	–	++++	G
–	–	–	–	–	–	–	–	–	+++	G
–	–	–	–	–	–	–	–	–	+++	G

weniger R-Varianten, die ihr Präzipitierungsvermögen bekanntermaßen verlieren. Interessant ist jedoch der Umstand, daß während in den hitzebehandelten Salzsäure-Extrakt, der aus den ursprünglich 20—40% R-Kolonievarianten enthaltenden Rotlaufstämmen hergestellt worden war, keine mit der Präzipitationsprobe nachweisbare A_1-Haptenmenge gelangte, die serienmäßige Einimpfung erst von formalinbehandelten, dann lebenden Bouillonkulturen der Stämme bei den Kaninchen eine ausreichende Antigenwirkung ausübte, um A_1-präzipitinhaltiges typusspezifisches Serum zu gewinnen.

Auf Grund dieser Erfahrungen stellten wir auch von den anderen zur Untersuchung herangezogenen Stämmen Subkulturen her und prüften sorgfältig nach, daß bei den Versuchen einheitliche, sich im Kolonietypus S entwickelnde Populationen zur Verwendung kommen.

Von den 3 Rotlaufstämmen der zweiten Gruppe ermittelten wir, daß sie dem Serotyp N zugereiht werden können. Die Stämme reagierten nicht nur nicht mit spezifischen präzipitierenden Sera anderer Serotypen, sondern die mit ihnen erzeugten Sera gaben sowohl mit dem aus dem homologen als auch aus dem heterologen Stamm zubereiteten Haptenextrakt eine negative Präzipitationsreaktion.

Endlich unterzogen wir den aus der Tonsille eines immunisierten Schweins isolierten Rotlaufstamm, dessen präzipitierendes Serum nur mit dem eigenen Haptenextrakt reagierte, einer eingehenden Untersuchung. Auf den üblichen Nährböden zeigte dieser Stamm in der Entwicklung und Kolonieform keine Abweichungen. Seine 10% Pferdeblutserum enthaltende Bouillonkultur agglutinierte nicht die roten Hühnerblutkörperchen. Mittels Intrakutanimpfung untersucht, rief sie bei rotlaufempfindlichen Schweinen keine pathologischen Veränderungen hervor. Infolgedessen muß dieser Schweinerotlauf-Bakterienstamm als Repräsentant eines neuen Serotyps angesehen werden, der über ein spezifisches, säurelösliches Antigen verfügt, das von den bisher bekannten abweicht. Es scheint am zweckmäßigsten, den neuen Serotyp mit dem Buchstaben G zu bezeichnen.

In unserer Stammsammlung werden noch 2 bisher als N-Typus bezeichnete Stämme aufrechterhalten, die von den Tonsillen desselben Schweines wie der oben beschriebene Stamm isoliert wurden. Der hitzebehandelte Salzsäure-Haptenextrakt dieser beiden Stämme gab mit dem präzipitierenden Serum des obigen Stammes von neuem Serotyp ausgeprägt positive Reaktion. Auf dieser Grundlage qualifizierten wir diese beiden Rotlaufstämme gleichfalls als Serotyp G.

Über die ätiologische Bedeutung der klassischen Serotypen A, B und N hat sich an Hand der bisherigen Erfahrungen die Auffassung entwickelt, daß der Serotyp A fast ausschließlich mit der septikämischen Form des Schweinerotlaufs und der Serotyp B mit anderen Krankheitsformen in Zusammenhang gebracht werden muß, während die Serotypen B und N von gesunden Schweinen isoliert werden können. Die Rotlaufstämme C und D HEUNERS stammten von Fischen. MURASE und Mitarbeiter isolierten ihre Stämme vom Serotyp C, D und Fr aus den Tonsillen gesunder Schweine und Rinder und von Fischen. Die unserseits als Serotyp E und G bezeichneten Stämme züchteten wir ebenfalls von Fischen bzw. aus den Tonsillen von gesunden, gegen Schweinerotlauf immunisierten Schweinen. In Übereinstimmung mit MURASE stellten auch wir im Jahre 1961 fest, daß unter den Stämmen, die von den an der septikämischen Form des Schweinerotlaufs eingegangenen oder geschlachteten Schwei-

nen isoliert wurden, niemals ein Stamm von speziellem Serotyp angetroffen werden konnte.

Aus alledem dürfen wir schließen, daß der Erreger des Schweinerotlaufs als Epiphyt oder Saprophyt ein spezielles säurelösliches Hapten besitzt, während er als pathogenes Bakterium in einer entschieden zum Serotyp A bzw. B gehörigen Form in Erscheinung tritt. Die Zusammenhänge zwischen den beiden Erscheinungsformen, die wechselseitige Umwandlung können wir, obwohl diese Frage eingehend untersucht wurde, noch nicht als geklärt ansehen. Die serologische Typusumbildung der Rotlaufbakterientypen A, B und N wird von HUBRIG (1962) neuerdings als »Phasenveränderung« bezeichnet. Aber auch diese Hypothese gibt keine zufriedenstellende Erklärung der Frage.

Aus HEUNERS, MURASES und den eigenen Untersuchungen geht hervor, daß das säurelösliche Antigen der Schweinerotlaufbakterien in wesentlich mehr Varianten vorkommt, als bisher angenommen wurde. Deshalb genügt es zur vollständigen Antigenanalyse eines Rotlaufstammes nicht, die Präzipitationsprobe mit den Sera sämtlicher bekannten Serotypen vorzunehmen. Sofern nämlich der hitzebehandelte Salzsäure-Extrakt eines Rotlaufstammes mit keinem einzigen Typusserum eine positive Reaktion gibt, können wir den untersuchten Stamm nur dann als dem Typ N zugehörig betrachten, wenn wir mit dem Stamm auch Serum erzeugen und dieses selbst den homologen Haptenextrakt nicht präzipitiert. Im Gegensatz zur bisherigen Auffassung ist es daher zur zuverlässigen Bestimmung jedes N-Stammes unerläßlich, aus Kaninchen mit dem Stamm präzipitierendes Serum zu erzeugen und damit die erforderlichen Kontrolluntersuchungen durchzuführen. Wenn diese Untersuchungsmethode ganz allgemein zur Anwendung kommen wird, so werden die Forscher wahrscheinlich Gelegenheit haben, das Vorhandensein zahlreicher neuer Serotypen zu konstatieren, und dies wird zweifellos zur weiteren Klarstellung der Ätiologie des Schweinerotlaufs beitragen.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Haptenextrakt von drei Schweinerotlaufstämmen, die aus den Tonsillen von gegen Rotlauf immunisierten Schweinen in vivo isoliert wurden, gab eine negative Präzipitationsreaktion mit den typusspezifischen Sera A_1, A_2, B_1, B_2, C, D und E. Das mit einem der drei Stämme in Kaninchen erzeugte Typusserum präzipitierte nur den Haptenextrakt dieser drei Stämme. Die mit den Haptenextrakten von Stämmen anderer Serotypen vorgenommene Präzipitationsprobe fiel konsequent negativ aus. Auf Grund der Untersuchungsergebnisse repräsentieren diese Stämme einen neuen Serotyp, der zweckmäßigerweise mit dem Buchstaben G bezeichnet wird.

Es muß angenommen werden, daß die säurelöslichen Antigene der Rotlaufbakterien in mehr Varianten vorkommen, als bisher vorausgesetzt wurde. Infolgedessen kann nur derjenige sich in S-Kolonieform entwickelnde Rotlaufstamm als dem N-Typ zugehörig bezeichnet werden, von dem festgestellt wurde, daß das mit dem Stamm erzeugte Serum selbst den homologen Haptenextrakt nicht präzipitiert.

Es wird die Ansicht vertreten, daß das Schweinerotlaufbakterium als Krankheitserreger entschieden in einer zum Serotyp A bzw. B gehörigen Form in Erscheinung tritt. Demgegenüber besitzt es als Epiphyt oder Saprophyt ein spezielles säurelösliches Hapten.

LITERATUR

ATKINSON, N.: Austr. J. Exp. Biol. **19** (1941), 45. DÉDIÉ, K.: Monatshefte f. Vet. Med. **4** (1949), 7. HEUNER, F.: Arch. f. Exp. Vet. Med. **12** (1958), 40. HUBRIG, TH.: Ztbl. f. Bakt. I Orig. **186** (1962), 344. KUCSERA, GY.: Acta Vet. Hung. **8** (1958), 128. KUCSERA, GY.: Acta Vet. Hung. **9** (1959), 13. KUCSERA, GY.: Acta Vet. Hung. **12** (1962), 43. KUCSERA, GY.: Acta Vet. Hung. **13** (1963), 61. MURASE, N., SUZUKI, K., NAKAHARA, T.: Jap. J. of Vet. Sci. **21** (1959), 114. MURASE, N., SUZUKI, K., ISAYAMA, Y., MURATA, M.: Jap. J. of Vet. Sci. **21** (1959), 215. MURASE, N., SUZUKI, K., NAKAHARA, T.: Jap. J. of Vet. Sci. **21** (1959), 177. MURASE, N., EBI, Y.: Jap. J. of Vet. Sci. **22** (1960), 1. SZENT-IVÁNYI, T.: Magyar Állatorvosok Lapja, 1952, 93. WATTS, P. S.: J. Path. and Bact. **50** (1940), 355.

ОБ УРОВНЕ СОВРЕМЕННЫХ ПЛАЗМОЗАМЕНИТЕЛЕЙ В КРОВИ

II. ФОРМИРОВАНИЕ УРОВНЯ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА В ПЛАЗМЕ

ДЬ. ЛАМИ

Кафедра и клиника внутренних незаразных болезней (дир.: акад. Я. Мочи) Ветеринарного института, Будапешт

(Поступило 16 сентяаря 1963 г.)

Во время второй мировой войны в Германии поливинилпирролидон широко применялся в качестве плазмозаменителя (Хехт и Везе — **Hecht et Weese**, 1943). Препарат оказался полезным не только как плазмозаменитель, но и в других отраслях медицины и ветеринарии. Шуберт (**Schubert**, 1948, 1950, 1951) использовал с терапевтической целью эмбатические свойства препарата, ибо маломолекулярный поливинилпирролидон оказался хорошим детоксикантом. Это свойство препарата в зарубежной литературе означается как «**Serumwäsche**», «**Gewebswäsche**», «**Zellwäsche**» (Мёллер — **Möller**, 1956), «**vehicle function**» (Гропер, Райс и Амшпахер — **Gropper, Raisz et Amspacher**, 1952). С точки практики нельзя пренебречь такими свойствами поливинилпирролидона как торможение сращения брюшины (Хюттл и Шомоди — **Hüttl et Somogyi**, 1959), уплотнение стенки кровеносных сосудов (Бикел и Дикхоф — **Bieckel et Dieckhoff**, 1954) и пролонгирование эффекта медикаментов (Гропер, Райс и Амшпахер, 1952, Бачкаи и Халмош — **Bácskai et Halmos**, 1954; Смирк — **Smirk**, 1952).

Литература богата данными формирования уровня декстрана в плазме, но мало количество работ по этому вопросу с поливинилпирролидоном.

Нара, Казела и Кангелоси (**Narat, Casella et Cangelosi**, 1952) белым крысам вводили в брюшную полость по 1,5 мл поливинилпирролидона на 20 г живого веса. В течение суток весь препарат из брюшной полости рассосался. Но значения формирования уровня препарата в плазме показывали широкий диапазон колебания. Армстронг, Доуни, Фергусон и Уилямс (**Armstrong, Downey, Ferguson et Williams**, 1954) после введения людям 1000 мл препарата, содержащего поливинилпирролидон, находили его в плазме в концентрации 760 мг% (590—900 мг%), но концентрация препарата очень скоро понизилась. Дженкинс, Кредел и Маккорд (**Jenkins, Kredel et McCord**, 1956) к 2. часу после введения находили только половину препарата в крови.

Собственные исследования

Формирование уровня поливинилпирролидона я изучал на собаках. Я работал с двумья препаратами, выпускаемыми фабрикой Байер. Один из них — Перистон — молекулярного веса 30 000 (4,0 г поливинилпирролидона, 0,7 г NaCl, 0,042 г KCl, 0,05 г $CaCl_2$, 0,025 г $NaHCO_3$, 0,0005 г $MgCl_2$ в 100 г-ах H_2O); другой — Перистон-N — молекулярного веса 12 600 (6,0 г поливинилпирролидона, 0,55 г NaCl, 0,042 г KCl, 0,05 г $CaCl_2$, 0,023 г $NaHCO_3$, 0,0005 г $MgCl_2$ в 100 г-ах H_2O).

Методика

Эти препараты разного молекулярного веса вводились медленно собакам в вену, в подогретом до температуры тела форме, в дозе 0,5—1,0 г действующего вещества на кг живого веса. Через час и 12 часов после введения препарата, позже по 17. день ежедневно определялась концентрация поливинилпирролидона в плазме животных. Определение содержания поливинилпирролидона осуществлялось в содержащей гепарин плазме. Наступивший случайно гемолиз не мешал исследованиям.

Определение поливинилпирролидона в плазме

В литературе я нашел только две работы о химическом определении поливинилпирролидона в жидкостях тела. Драбе и Рейнхолд (**Drabbe et Reinhold**, 1952) рекомендуют применять простую пробу турбидитации фенола. Пулэн и Пиет (**Poullain et Piette**, 1948) применяют цветную реакцию в определении поливинилпирролидона; с йодом он дает цвет махагони. Интенсивность цвета пропорциональна концентрации поливинилпирролидона.

Определение поливинилпирролидона в плазме по Пулэн и Пиет

Нужные реактивы: раствор сернокислого цинка (10,0 г $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ в 100 мл-ах дист. воды), щелочь натрия (NaOH n/2) и раствор йод-йодистый калий (0,5 г J, 1,0 г KJ в 100 мл-ах дист. воды).

К 2,0 мл-ам плазмы добавляются 16,0 мл дист. воды, 1,0 мл щелочи натрия и 1,0 мл сернокислого цинка и энергическим встряхиванием тщательно перемешивается (выпадение белка). После этого образец 10 минут отстаивается потом профильтровывается через твердую фильтровальную бумагу. После добавления 1,0 мл-а раствора йод-йодистый калий к 10 мл-ам фильтрата смесь перемешивается и проводится оценка образцов в слое не

толще 1 см на фильтре S—57 в фотометре. В компенсирующем растворе плазму замещают 2 мл-ами дист. воды.

Калибрационная кривая поливинилпирролидона. Для получения калибрационной кривой употреблялся раствор поливинилпирролидона, каждый мл которого содержал 0,4 мг действующего начала. Из этого основного раствора приготовлен ряд разбавления из десяти пробирок таким способом, чтобы первая пробирка содержала 1 мл основного раствора (0,4 мг), следующие же — каждая на 1 мл больше; значит десятая 10 мл (4,0 мг). После этого в каждую пробирку добавлено столько дист. воды, чтобы объем жидкости в пробирке равнялся 18 мл-ам и по 1 мл щелочи натрия и по 1 мл 10%-ного раствора сернокислого цинка. Встряхиванием содержимое пробирок перемешивалось, профильтровывалось и к 10 мл-ам фильтрата добавлялся 1,0 мл раствора йод-йодистый калий и после 5-иминутного отстаивания приступал к фотометрированию. На основании известной формулы исчисления фактора определен фактор поливинилпирролидона равняющийся значению 156. Если этим фактором умножить экстинкцию, то получается значение поливинилпирролидона в мг%-ах.

Формирование уровня поливинилпирролидона в плазме после введения собакам препарата Перистон-N

Формирование уровня поливинилпирролидона в плазме собак после внутривенного введения Перистон-N изучалось на 9 здоровых собаках хорошей упитанности, разного пола, возраста 1—7 лет, живого веса 11,5—17 кг. Среди них трем животным введено по 0,5 г/кг и шести животным — по 1,0 г/кг поливинилпирролидона.

Результаты

Уже при введении, независимо от вводимой дозы, животные очень бесспокойны. Очень трудно было их держать в таком положении, чтобы ввести все количество препарата, соответствующее их живому весу. У некоторых собак наблюдалось сильное слюноотделение, некоторые из них пищали. После введения препарата у некоторых собак наблюдалась дрожь целого тела, они неуверенного двигались, шатались, не могли идти прямо, их дыхание было быстрым и поверхностным. Некоторые среди животных непосредственно после введения препарата на земле тотчас же падали и лежа вращались вдоль продольной оси тела, потом лежали на спине вогнув суставы конечностей и после нескольких минут скакивали на ноги и пошатываясь наталкивались на попадающие им в дорогу предметы. После вве-

дения препарата часто наблюдались лабиальный способ дыхания и рвота, у некоторых же животных, кроме этого, самопроизвольное мочеиспускание и дефекация. После 3—4 минут от введения препарата, как правило, все собаки мочились и испражняли жидкие, позже — покрытые слизью массы кала. К этому времени дыхание стало очень тяжелым, но немного глубшим подбрюшного типа. Многие среди животных ложились, некоторые даже хрипели; многие чесались, трели нос в пол или предметы. Часто наблюдалось что животные вдруг вскакивали на ноги, пошатывались, часто останавливались и передней ногой чесали окрестность глаз и хребет морды. Имелась собака, которая при походке падала на морду. После 15—20 минут от момента введения препарата все собаки были очень угнетенными, лежали, но приходили постепенно в норму. После 5 часов некоторые из них уже приняли корм, большинство животных однако лежало, на зов насторожились, но не трогались и не принимали корма. К послеобеду дня обработки все собаки приходили в норму, были бодрыми и на следующий день уже нормально ели.

При введении Перистон-N соответствующего двум дозам имелась существенная разница в концентрации препарата в плазме к 1. часу после обработки. Не было однако разницы в динамике выделения препарата из крови, ибо после применения той или другой дозы к 5. дню поливинилпирролидон обнаруживался в плазме уже только в концентрации 1 мг%-ов (см. табл.).

После обработки меньшей дозой к 1. часу препарат обнаруживался в средней концентрации 101 мг%-ов, после обработки бóльшей дозой — 312 мг%-ов. К 12. часу в обеих случаях уровень препарата в плазме понизился до почти одинакового значения (31 и 45 мг% соответственно).

Формирование уровня поливинилпирролидона в плазме после введения собакам препарата Перистон

На таких же собаках как и в первом эксперименте, веса 8—16 кг, при подобных условиях испробован препарат Перистон.

Результаты

При медленном введении препарата собаки спокойны. После обработки у некоторых животных наблюдалось интенсивное слюноотделение, повторно мочились и испражняли, ходили медленной, шаткой походкой, потом ложились. Некоторые из них медленно несколько раз катались вдоль продольной оси, потом вставали на ноги и, свесив голову, пихтели. Большинство животных после 15—20 минут уже были бодрыми, они интересовались окружающей средой, но некоторые среди них еще после 20—25 минут испражняли

Табл. 1

Количество (в мг%-ах) поливинилпирролидона в плазме собак после внутривенного введения разных доз препаратов Перистон-N и Перистон

№ п. п.	Доза поливинил-пирролидона		Время после введения препарата															
			1 час	12 часов	1 день	2 дня	3	4	5 дней	6	7	8	9	10	11	13	15	17
1.	0,5 г/кг	Перистон-N	101	31	16	8	5	5	1									
2.			104	28	19	12	5	1	0									
3.			98	34	14	11	6	3	1									
в среднем:			101	31	16	10	5	3	1									
4.	1,0 г/кг		320	39	23	17	9	8	2									
5.			326	47	28	20	12	9	2									
6.			313	48	22	19	14	6	0									
7.			304	39	31	19	8	6	1									
8.			313	44	33	22	11	5	0									
9.			295	51	30	23	8	3	0									
в среднем:			312	45	28	20	10	6	1									
10.	0,5 г/кг	Перистон	484	148	109	90	86	62	56	48	47	44	16	8	8	3	3	0
11.			454	157	117	95	78	56	47	42	33	28	19	9	6	1	0	
12.			482	139	103	79	73	59	48	47	36	31	20	14	9	5	0	
в среднем:			473	148	110	88	79	59	50	46	39	34	18	10	8	3	1	0
13.	1,0 г/кг		640	281	195	187	178	156	142	125	117	106	64	37	36	26	12	8
14.			624	274	204	189	175	156	140	118	109	98	75	44	31	20	8	3
15.			650	285	187	184	173	154	136	109	106	95	78	47	33	23	16	8
16.			679	289	211	178	165	125	118	101	97	84	58	39	31	25	11	9
17.			686	298	214	173	168	128	111	95	89	79	62	48	39	28	9	5
18.			669	281	200	172	161	123	114	94	86	78	64	51	39	23	14	3
в среднем:			658	285	202	180	170	140	127	107	101	90	67	44	35	24	12	6

жидкий кал и рвали. За исключением последних животные уже к полудню приняли корм и после обеда вели себя нормально.

Уровень поливинилпирролидона в плазме при дозе 0,5 г/кг к 1. часу равнялся 473 мг%-ам, при бóльшей же дозе — 658 мг%-ам. Исчезновение поливинилпирролидона из плазмы при меньшей дозе наступило к 15. дню, а при дозе же 1,0 мг/кг — к 17. дню.

Выводы

Имелась заметная разница в динамике формирования уровня поливинилпирролидона в плазме при введении препаратов Перистон и Перистон-N, обусловленная разницей молекулярного веса этих препаратов. Перистон-N, препарат меньшего среднего молекулярного веса, но с бóльшей концентрацией поливинилпирролидона, достигал низшего уровня в плазме и поливинилпирролидон исчезал из кровяного русла раньше, чем при применении Перистона, препарата бóльшего молекулярного веса, содержащего поливинилпирролидон в меньшей концентрации.

На основании данных можно притти к заключению, согласно которому высота уровня поливинилпирролидона и быстрота его исчезновения из плазмы зависит в первую очередь от молекулярного веса, а не от концентрации действующего вещества в препарате.

Что касается реакции после введения препаратов с поливинилпирролидоном наблюдалась существенная разница между тяжелостью и скоростью прохождения симптомов. Разница наблюдалась в том, что при и после введения Перистона-N, препарата с бóльшей концентрацией поливинилпирролидона, наступившие симптомы были намного тяжелее и длились дольше, чем при использовании Перистона, препарата с меньшей концентрацией поливинилпирролидона. Реакция показывает, что в их возникновении главенствующую роль играет концентрация поливинилпирролидона, а не молекулярный вес.

Согласно литературным данным на введение поливинилпирролидона организм собаки реагирует характерным образом. Троуер и Кемпбел (**Thrower et Campbell**, 1951) упоминают, что у лабораторных экспериментальных животных даже после введения больших доз препарата нет неприятных побочных явлений; после введения однако дозы 8,0 г/кг и больше из-за кардиоваскулярных перебоев может наступить гибель. По Хан (**Hahn**, 1954) собака ведет себя после введения поливинилпирролидона подобно крысе, обработанной декстраном. Дженкинс, Кредел и Маккорд (1956) у кошек, кроликов, мышей и обезьян никогда не наблюдали неприятной реакции после введения поливинилпирролидона, тогда как у собак они имелись. Хехт и Везе (**Hecht et Weese**, 1943) тоже не наблюдали реакции у кошек, кроликов и мышей, но они имелись у собак. Согласно данным этих авторов

чем быстрее темп введения препарата и чем больше доза, тем тяжелее реакция. При большой нагрузке может наступить состояние шока. Хехт и Везе эту реакцию считают неспецифической коллоидной реакцией, к которой организм можно десенсибилизировать. В моих экспериментах эта реакция проявлялась в жевании, бесспокойствии, зуде, рвоте и произвольном мочении и дефекации. Согласно наблюдениям Фёлкер и Барке (**Völker et Barke**, 1943) на клиническом материале собаки уже при введении Перистона облизывают губы, позже нервничают, дыхание у них учащенное. Они тоже часто наблюдали, что животные чешут себя, рвут, произвольно мочатся и испражняют. Их животные приходили в норму после 40 минут от момента обработки. Когда потерю крови после операции хотели возместить Перистоном, почти все собаки погибли. Поэтому позже у животных применяли предварительную десенсибилизацию. Сначала вводили 2 мл/кг Перистона, потом, сутки спустя, 3,0 мл/кг и через другие сутки — 4,0 мл/кг. Таким образом предварительно обработанные животные десенсибилизируются к поливинилпирролидону, ибо после такой обработки животные переносят бессимптомно даже 20 мл/кг. Подобны наблюдения Халперн, Биоцци, Бриот и Бенасераф (**Halpern, Biozzi, Briot et Benacerraf**, 1953) на собаках. Халперн, Мусо и Неве (**Halpern, Musso et Neveu**, 1955) тоже наблюдали подобные симптомы у собак и явление объясняют освобождением эндогенного гистамина. В доказательство этому они находили повышение количества гистамина в плазме. Согласно моим наблюдениям после частичного обезкровления собак препараты поливинилпирролидона не вызывают такой резкой реакции, как у нормальных животных (Лами и Тамаш — **Lami et Tamás**, 1963). В экспериментах на лошадях Фёлкер (1943) и Лами (1962) не наблюдали реакции от введения в вену препаратов, содержащих поливинилпирролидона.

После обработки собак препаратами Перистон и Перистон-N при применении одинаковых доз (1,0 г действующего начала на кг живого веса) в их плазме не образовался так высокий уровень поливинилпирролидона как уровень декстрана, после введения препарата Интрадекс (см. сн.). Объяснение этому дают данные исследований Везе (1951). Согласно этому автору поливинилпирролидон обладает свойственным аффинитетом к гамма-глобулинам, с которыми он может связываться. Уже при первой обработке экспериментальных животных значительная часть введенного вещества может связаться с гамма-глобулинами. Экспериментами на животных Везе доказано, что при введении 3,36 г препарата с поливинилпирролидоном среднего молекулярного веса 50 000, концентрация его в плазме вместо ожидаемых 2350 мг%-ов равнялась только 916 мг%-ам; после повторного введения образовался уже ожидаемый уровень препарата в плазме.

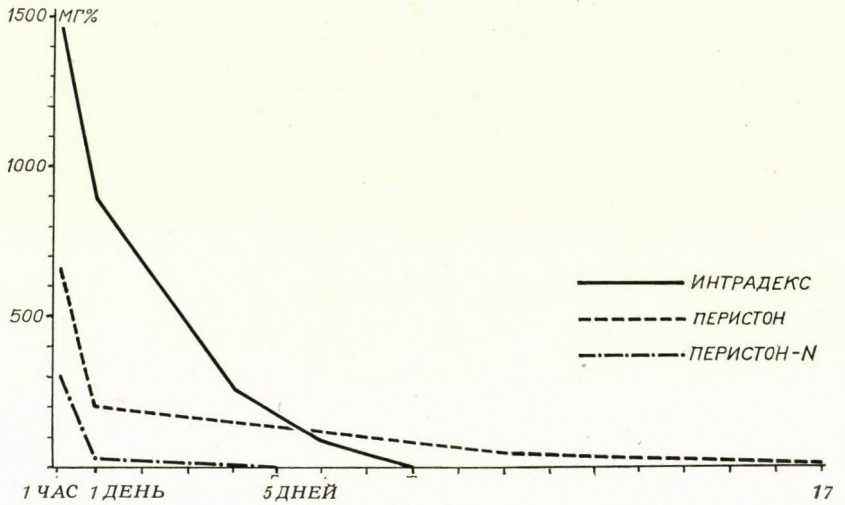
Мы думаем, что причиной быстрого падения концентрации поливинилпирролидона кроме быстрого выделения мочей и связывания к гамма-глобулинам, может являться и эффект Янчо (**Jancsó**, 1947).

РЕЗЮМЕ

Автор собакам вводил препараты, содержащие поливинилпирролидон, в дозе 0,5—1,0 г/кг действующего начала. Обработанные поливинилпирролидоном животные ответили тяжелой реакцией. Вызванные поливинилпирролидоном реакции были более тяжелые, наступали раньше (уже в течение введения) и длились дольше при применении препарата Перистон-N, чем при применении препарата Перистон.

Поливинилпирролидон, введенный в форме Перистон-N, выделялся из плазмы собак раньше, чем введенный в форме Перистон.

Поливинилпирролидон определялся в плазме методом Пулэн и Пиет.



Сн. 1

ЛИТЕРАТУРА

Armstrong, J. B., Downey, J. A., Ferguson, M. N. и Williams, H. R.: Canad. J. Biochem. Physiol. **32** (1954), 636. Bácskay, R. и Halmos, L.: Magy. Kémiai Folyóirat **60** (1954), 8.; **60** (1954), 43.; **60** (1954), 145. Bieckel, E. и Dieckhoff, J.: Deutsch. Med. J. **5** (1954), 463. Bieckel, E. и Dieckhoff, J.: Ztschr. ges. innere Med. u. ihre Grenzgebiete **9** (1954), 510. Frijtag Drabbe, von, C. A. J. и Reinhold, J. G.: J. Labor. Clin. Med. **40** (1952), 616. Gropper, A. L., Raisz, L. G. и Amspacher, W. H.: Surg. Gynec. and Obst. **95** (1952), 521. Hahn, F.: J. Pharm. exp. Ther. **110** (1954). Halpern, B. N., Biozzi, G., Briot, M. и Benacerraf, B.: C. r. Soc. Biol. **147** (1953), 1180. Halpern, B. N., Musso, E. и Neveu, Th.: Brit. J. Pharm. Chemother. **10** (1955), 223. Hecht, G. и Weese, H.: Münch. Med. Wschr., 1943. 11. Hüttl, T. и Somogyi, B.: Orvosi Hetilap, 1959, 1658. Jancsó, M.: Orvosok Lapja **3** (1947), 1025. Jenkins, L. B., Kredel, F. E. и McCord, W. M.: Arch. Surg. **72** (1956), 612. Lami, Gy.: Канд. Диссертация, Будапешт, 1962. Lami, Gy.: Magyar Állatorvosok Lapja (MÁL), 1962, 454. Лами, Дь.: Acta Vet. Hung. **13** (1963), 43. Lami, Gy. и Tamás, L.: MÁL, 1963, 202. Лами, Дь. и Тамаш, Л.: Acta Vet. Hung. **13** (1963), 65. Möller, H.: Physiologie und Klinik der Bluttransfusion. Jena, 1956. Narat, J. K., Casella, Ph. A. и Cangelosi, J. P.: Arch. Surg. **64** (1952), 80. Poullain, P. и Piette, M.: Bull. Soc. de Chimie Biol. **30** (1948), 496. Schubert, R.: Zeitschr. Verdauungs- u. Stoffw. **10** (1950), 79; **11** (1951), 63. Schubert, R.: D. Med. Wschr., 1948, 551. Smirk, F. H.: Lancet **263** (1952), 695. Thrower, W. R. и Campbell, H.: Lancet **262** (1951), 1096. Völker, R.: D. Tierärztl. Wschr., 1943, 89. Völker, R. и Barke, A.: Tierärztl. Wschr., 1943, 261. Weese, H.: D. Med. Wschr., 1951, 757.

ÜBER DEN PLASMASPIEGEL DER MODERNEN PLASMA-ERSATZMITTEL

II. Die Entwicklung des Polyvinylpyrrolidon-Plasmaspiegels

GY. LAMI

Hunden wurden PVP-haltige Präparate mit einem reinen Wirkstoffgehalt von 0,5—1,0 g/kg eingespritzt. PVP verursachte sehr schwere Reaktionen, unter denen graduelle Unterschiede zu beobachten waren. Die von PVP hervorgerufenen Symptome waren immer schwerer, traten konsequenterweise rascher (schon während der Einspritzung) auf und hielten auch nach Injektion von Periston-N länger an als nach Einspritzung von Periston.

Das in Form von Periston-N zugeführte PVP wurde aus dem Plasma der Hunde rascher ausgeschieden als das mit Periston verabreichte PVP.

Die PVP-Bestimmung im Plasma erfolgte nach der Methode von POULLAIN und PIETTE.

DIE RÖNTGENANATOMIE DER HIRNSCHÄDELKNOCHEN DES PFERDES. I.

Von

GY. KOVÁCS, L. GLÓSZ und M. GERTNER

Lehrstuhl für Anatomie und Histologie (Leiter: Prof. GY. KOVÁCS) der Veterinärmedizinischen Universität, und Lehrstuhl für Tieranatomie und -physiologie (Leiter: Dozent I. SZÉP) der Agrarwissenschaftlichen Universität

(Eingegangen am 19. Februar 1964)

Gegenstand der hier niedergelegten Untersuchungen war die Röntgenanatomie der Schädelknochen unserer Haussäugetiere. Im Hinblick auf die vier Haustierarten bzw. den sich daraus ergebenden Umfang gliedern wir die Arbeit in mehrere Abschnitte, indem wir uns gesondert mit den Schädelknochen der einzelnen Haustiere, ja innerhalb der einzelnen Tierarten auch gesondert mit der Röntgenanatomie der Knochen des Hirnschädels und Gesichtsschädels befassen. In erster Linie untersuchen wir die Knochen des Hirnschädels, und zwar die des Pferdes, was zwar eine komplizierte, für die Praxis aber die wichtigere Aufgabe darstellt.

Literaturübersicht

Nachfolgend verweisen wir auf einige Arbeiten, die sich hauptsächlich mit der Röntgenanatomie der Schädelknochen befassen, fernerhin auf einige sich mit der Röntgenanatomie anderer Knochen beschäftigende Arbeiten.

In seiner Dissertation teilt WERNICKE (1925) einige röntgenanatomische Angaben über den Kopf des Hundes mit; unter den deutlich hervortretenden Schatten hebt er die der Mandibula, des Jochbeinbogens und der Schädelhöhle hervor.

HARE (1959) untersuchte die Röntgenanatomie des Schädels von Fleischfressern und verglich die am Schädel des Hundes und der Katze wahrnehmbaren Unterschiede. Vor der röntgenanatomischen Beschreibung gibt er eine kurze Darstellung der Schädelknochen (mit Photos). HARE bevorzugt die ventrodorsale vor der dorsoventralen Strahlenrichtung, ungeachtet dessen, daß letztere vom Gesichtspunkt einer feineren Darstellung der Schädelbasisabschnitte vorteilhafter ist.

HOJOVEC und KRÁL (1962) behandeln in ihrer Arbeit über die Diagnostik der Nasenleiden die Röntgenanatomie der Schweinenase und teilen röntgenanatomische Angaben über die Gesichtsknochen mit.

Mit der Röntgenanatomie der Schädelknochen des Schweins, unter besonderer Berücksichtigung der röntgenanatomischen Verhältnisse der Türkensattelgegend, befaßte sich GERTNER (1962). In einer anderen Arbeit (1962) behandelte derselbe Autor die Röntgenanatomie der Stirn- und Nasenteile des Schweineschädels. Zur Verringerung der sich aus der zentralen Projektion ergebenden Verzerrungen benutzte er eine Fokus-Filmentfernung von 80 cm bzw. bei dem Weichteile aufweisenden Schädel von 100 cm. Die Expositionszeit wählte er stets unter Anpassung an die mittelmäßig strahlenabsorbierenden Teile.

SCHEBITZ und WEBER (1963) untersuchten die röntgenanatomischen Verhältnisse des Gesichtsschädels am Pferd und teilten den Gesichtsschädel in drei Zonen ein. Sie nahmen eine Fokus-Filmentfernung von 120 cm in Anspruch und vermochten auf diese Weise die normalen röntgenanatomischen Verhältnisse sehr genau festzustellen.

Mit der Röntgenanatomie des knöchernen Skeletts einzelner Körperteile beschäftigte sich ALKNIS, der seine 1928 erschienene röntgenanatomische Studie auf die Untersuchung der Extremitätengelenke des Pferdes und der Fleischfresser gründete.

G. MÜLLER (1940) veröffentlichte zu praktischen Zwecken Röntgenaufnahmen teils von normalen, teils von kranken Organen und Knochen, so auch vom Kopf.

A. SCHÜLLER (1954) nahm röntgenanatomische Untersuchungen an den Extremitätenknochen mittelgroßer Schweine vor. Er machte Aufnahmen von den Knochen und verglich diese mit den Röntgenaufnahmen.

In seiner gründlichen, umfangreichen, sehr schönen Arbeit befaßt sich SCHALLER nicht nur mit der Untersuchung von Knochen, sondern auch mit der Kontrastuntersuchung von Weichteilen, wobei er gleichfalls die Wichtigkeit der röntgenanatomischen Untersuchungen hervorhebt. So ermittelte er die röntgenanatomischen Verhältnisse des Hundeherzens.

GÜHRING (1956) beschäftige sich mit der Röntgenanatomie der vorderen und hinteren Extremitätenknochen des Hundes. In schönen Knochenphotos und Röntgenaufnahmen demonstriert er mit kurzen Beschreibungen die anatomischen bzw. röntgenanatomischen Verhältnisse, wobei er die einzelnen Knochenabschnitte mit dem in den Röntgenbildern anzutreffenden Schatten vergleicht.

SCHEBITZ und ENGELHARDT (1963) haben die Röntgenaufnahmetechnik der vorderen Fußwurzel ausgearbeitet und anschließend die Röntgenanatomie der Knochen des Fußwurzelgelenks mit Hilfe schöner Aufnahmen und Röntgenkonturzeichnungen beschrieben.

Bei der röntgenanatomischen Untersuchung der Schädelknochen kommt der Röntgenstereographie große Bedeutung zu. Auf veterinärmedizinischem Gebiet befaßte sich DÜNEMANN (1937) eingehend mit der Röntgenstereographie; seine Versuche führte er hauptsächlich an Pferden und Hunden durch. Die Technik des bei Tieren durchzuführenden stereographischen Verfahrens hat WALTER (1956—58) in Fortsetzung der Arbeiten von HASSELWANDER ausgearbeitet.

Röntgenuntersuchungsmethode

Im Röntgenbild finden wir folgende Schattenformen: Luftschatten, Fettschatten, Weichteilschatten, Kalkschatten (innerhalb dieser Kategorie den »Knochenschatten«) und endlich den Metallschatten. Beim mazerierten Schädel brauchen wir im Grunde nur mit zwei Schatten zu rechnen, dem Kalkschatten (Knochenschatten) und dem Luftschatten, den wir im Gebiet der im Schädel enthaltenen Sinus sehen.

Für die Aufnahme der Schädelknochen stehen drei typische Strahlenrichtungen zur Verfügung. Erstens die dorsoventrale, ventrodorsale, die wir von der Norma frontalis bzw. Norma basialis her benutzen. Zweitens die transversale Strahlenrichtung, die für Aufnahmen von der Norma temporalis bzw. von der linken oder rechten Seite dient. Drittens die oral-aborale Strahlenrichtung in der Norma axialis, die wegen der longitudinalen Schädelausdehnung kein gut verwertbares Bild von den Schädelknochen gibt.

Von den drei Strahlenrichtungen ist es die dorsoventrale, die den besten Überblick über die Knochen gewährt, wobei auch der bilateralen Symmetrie eine große Rolle zufällt; sie ermöglicht den spiegelbildartigen Vergleich der beiden Schädelhälften, so daß die in dieser Strahlenrichtung gemachten aufnahmen sehr anschaulich wirken. Anders verhält es sich bei der transversalen Strahlenrichtung, in der die symmetrischen Hälften einander überdecken und dadurch die Auswertung erschweren. Die Größenabweichung der beiden symmetrischen Hälften ändert sich je nach der Fokusentfernung; diese Tatsache vermag man bei der Untersuchung der beiden Schädelhälften vorteilhaft auszunutzen.

Infolge der in die Hauptstrahlenrichtung fallenden großen Tiefenausdehnung des Schädels tritt die sich aus der zentralen Projektion ergebende

Verzerrung in den Schädelaufnahmen stark in Erscheinung; diese aber können wir nur verringern, wenn wir die Fokus-Objektentfernung so weit wie möglich (80—100 cm) und die Objekt-Filmentfernung selbstverständlich kurz nehmen.

In der Norma frontalis können wir den Schädel — ohne Unterkieferbein — gut mit der Basalfläche auf die Filmkassette legen; die Schädellängsachse befindet sich dann fast parallel zum Film. Da der Schädel auf der oberen Zahnreihe sowie auf dem Processus jugularis ruht, braucht man ihn nicht zu stützen. Die Hauptstrahlen stellen wir genau auf die Medianebene ein, sonst verändern sich die Symmetrieverhältnisse und wird die Beurteilung erschwert.

In der Norma temporalis muß der Schädel an mehreren Punkten gestützt werden, weil er wegen des weit vorspringenden Jochbogens sonst nicht fest so auf die Kassette gestellt werden kann, daß seine Medianebene parallel zu ihr liege.

Den Schädel können wir im ganzen und auch in einzelnen Teilen aufnehmen, gesondert den Hirnschädel und den Gesichtsschädel; dementsprechend muß die Aufnahmetechnik gewechselt werden.

Für die allgemeinen röntgenanatomischen Schädeluntersuchungen bestimmen wir in der Regel zwei Hauptstrahlenrichtungen, eine zur Aufnahme des Hirnschädels, die andere zur Aufnahme des Gesichtsschädels. In der Norma frontalis richten wir die eine Hauptstrahlenrichtung auf die Mitte der die Foramina supraorbitalia verbindenden Querlinie, die andere auf die Mitte der die Foramina infraorbitalia verbindenden Querlinie.

Bei Schädelaufnahmen in transversaler Richtung richtet sich die eine Hauptstrahlenrichtung auf den vom hinteren und unteren Rand des Anulus orbitalis gebildeten Winkel, die andere unmittelbar auf die Gegend unter dem Foramen infraorbitale.

Erleichtert wird die Analyse der Schädelknochenschatten in hohem Maße, wenn wir den Schädel in der Medianlinie in zwei gleiche Teile sägen; in diesem Fall entfällt der störende Schatten der einen Schädelhälfte: in derartigen Aufnahmen erkennt man die Röntgenschatten wesentlich leichter.

Deskriptive anatomische Angaben
(Zusammenfassung)

Den freien Rand der eiförmigen, etwas flachen Gelenkknorren des Hinterhauptbeins, *Os occipitale (Occ)*, umsäumt halbkreisförmig ein stumpfer Kamm, *Jugum condyli occipitalis*. Die beiden Gelenkknorren bilden einen einheitlichen Rundbogen, den das Hinterhauptloch unterbricht. Der Kamm des Gelenkknorrens gliedert die Gelenkfläche in eine kaudodorsal blickende flach gewölbte kleinere und eine kranioventral blickende gleichfalls flach gewölbte größere Fläche; von letzterer verlaufen zum prismaförmigen Körper des

Hinterhauptbeins zwei sich nach vorn verjüngende stumpfe Kämme, *Juga basioccipitalia*, die nicht an jedem Schädel markant in Erscheinung treten und im Röntgenbild einen charakteristischen Schatten geben.

Das vorn prismaförmige Jugum basioccipitale verbreitert sich nach hinten flügelartig; diese dünnen Flügel, *Alae basioccipitales*, engen das Foramen lacerum ein (Foramen lacerum aborale, 4).

An der Außenfläche des Corpus sind je nach dem Alter, Gebrauch, der Art und dem Geschlecht verschieden entwickelte Muskelknollen, Tuberculum musculare, anzutreffen, die zum Anhaften der Kopfbeuger dienen.

Die Synchondrosis (Synostosis) sphenooccipitalis zeigt an der Außenfläche eine querlaufende, gerade, rauhe Linie, an der Innenfläche, der Facies cerebralis, die Crista sphenooccipitalis an. Die dahinter gelegene Fossa pontis und Fossa medullae oblongatae sind unbedeutend und trennen sich nicht ausgeprägt voneinander.

Das ungefähr quadratische Foramen occipitale magnum wird dorsal von der Schuppe, beidseitig und ventral von den beiden Höckern bzw. von dem scharfen, unebenen, gezackten Rand ihrer kaudodorsalen Gelenkfläche bzw. vom glatten Rand der kranioventralen Gelenkfläche begrenzt.

Die Fossa condylica ventralis ist tief und wird nach hinten breiter; in ihr befindet sich das umfangreiche und auch am selben Schädel bilateral nicht immer gleich weite Foramen hypoglossi; um das Loch ist die Wand der Fossa condylica ventralis dünn. Die Weite des Foramen hypoglossi ist von den altersbedingten Veränderungen des Knochens abhängig (Knochenresorption).

Die Längsachse des Processus jugularis ist zur Medianebene hin krumm, die Außenfläche gewölbt, die der Fossa condylica ventralis zugewendete Innenfläche konkav, ausgehöhlt und setzt sich in der Fossa fort. Von den beiden Rändern des Drosselfortsatzes ist der aborale massiv und hat einen nach innen gebogenen Saum, der orale scharf und dünn. An der Außenfläche sitzt parallel zur Längsachse ein scharfer Kamm, die *Crista processus jugularis ;* von der davor gelegenen longitudinalen Muskelgrube geht der M. jugulohyoideus und der M. jugulomandibularis aus. Der Drosselfortsatz endet in einem kleinen, stumpfen Knollen.

An der Pars nuchalis der Squama occipitalis tritt deutlich die Fossa nuchalis hervor und darüber die je nach dem Alter und Gebrauch verschieden große Protuberantia occipitalis externa. Die Linea nuchalis superior ist in der Medianebene etwas eingedellt.

Im Gegensatz zum weiten, fast dreieckigen Foramen lacerum orale ist das Foramen lacerum aborale schmal, spaltenartig. Das Foramen lacerum aborale wird vom ventralen Abschnitt der Pars petrosa des Felsenbeins spaltenförmig eingeengt. Die Inzisuren am Vorderrand des Foramen lacerum bildet der hintere freie Rand des Temporalflügels vom Keilbein; der Incisura carotica entsprechend wird der Temporalflügel schuppenartig dünn, *Pars tenuis*

alae temporalis ossis sphenoidis, und gibt einen charakteristischen Schatten im Röntgenbild.

Am Körper des *Keilbeins (Sph)* sitzt die Facies cerebralis des Corpus praesphenoidis höher als die Facies cerebralis des Basisphenoides; zwischen den beiden tritt die Spur der zur Zeit der Geburt vorhandenen Synchondrosis intersphenoidea an der Außenfläche später nicht zutage und kann an der Innenfläche lediglich vermutet werden. In die Basisphenoidesgegend fällt die mittlere Schädelgrube. Der Türkensattel ist eine kleine longitudinale Erhebung mit der Fossa hypophyseos am Vorderende. An der Innenfläche des Praesphenoides ist die Crista orbitosphenoidea ein charakteristischer quergerichteter Kamm, unter dem wir durch den Sulcus chiasmatis in den Canalis opticus gelangen; der Sinus sphenoidis dringt in den Kamm ein. Die Facies cerebralis des Praesphenoides bildet den Boden der vorderen Schädelgrube.

Die Keilbeinhöhle befindet sich im Praesphenoides; bei älteren Tieren kann sie auch in den Basisphenoides hineinreichen. Das Septum sinuum sphenoideorum ist verhältnismäßig dünn, uneben und liegt verschieden, so daß die bilaterale Keilbeinhöhle asymmetrisch sein kann; nach vorn kommuniziert sie mit der Gaumenhöhle: Sinus sphenopalatinus.

Von den beiden Nervenfurchen der ziegelförmigen Temporalflügel, Alae temporales, ist die mediale schmaler und bildet die Augenhöhlenspalte, die laterale breiter und führt in das runden Loch; die beiden sind durch einen stumpfen Kamm, *Linea inter sulcos*, voneinander getrennt. Ein scharfer Kamm, *Crista alisphenoidea*, trennt die laterale Grube auch von der lateral von ihr gelegenen Fossa piriformis. Kaudodorsal verlaufend, geht die Crista in den etwas stumpferen, sich aber deutlich erhebenden und als Stütze der Crista petrosa dienenden Kamm der Schuppe des Schläfenbeins, *Crista petroparietalis* (SCHMALTZ), über.

Die Außenfläche der Orbitalflügel, Alae orbitales, bildet die mediale Orbitalwand, die Innenfläche die Seitenwand der vorderen Schädelgrube. An dieser Fläche sieht man zahlreiche Impressiones digitatae (gyrorum). Der kleine Einschnitt am Rand der Flügel bildet zusammen mit dem Einschnitt der Pars orbitalis des Stirnbeins das Siebbeinloch, Foramen ethmoideum.

Der Processus pterygoideus, der kräftige, oroventrale Fortsatz des Keilbeins, tritt unter der Schädelbasis deutlich hervor. Gemeinsam mit dem Flügelbein und der Lamina maxillaris des Gaumenbeins begrenzt er die Choanen. Seine beiden Wurzeln, die vom Temporalflügel ausgehende *Radix temporalis* und die am Orbitalflügel entspringende *Radix orbitalis*, umfassen den mittelweiten Canalis alaris, der sich mit dem vorderen und hinteren Flügelloch öffnet. Der Vorderrand des Flügelfortsatzes ergibt die Crista pterygoidea, an deren Wurzel sich das Foramen opticum, die Fissura orbitalis und das Foramen

rotundum befinden; letzteres mündet gemeinsam mit dem vorderen Flügelloch.

Das *Siebbein, Os ethmoides (Ethm)*, ist ein paariger, aber einheitlich gewordener Knochen; seine Außenplatte verschmilzt mit den benachbarten Knochen, so daß sie schwer von diesen differenziert und auch in der Röntgenaufnahme nicht isoliert werden kann. Seine Dachplatte hängt mit der Lamina interna, die Seitenplatte mit der Pars orbitalis des Stirnbeins, die Bodenplatte mit der Lamina interna des Oberkieferbeins zusammen. An der Dachplatte des mazerierten Schädels sind häufig Öffnungen vorhanden, durch die das Höhlensystem des Siebbeins mit der Stirnhöhle kommuniziert.

Die Lamina mediana s. perpendicularis endet zur Schädelhöhle hin in der Crista galli, nach vorn geht sie in die knorplige Nasenscheidewand über.

Die die Schädelhöhle von der Nasenhöhle trennende Lamina cribriformis ist eine von zahllosen Löchern durchbohrte dünne Lamelle. Die kammartig in die Schädelhöhle hineinreichende Crista galli trennt die beiden höhlenförmigen Fossae ethmoideae; ihren Rand begrenzt ein massiver Knochensaum.

Die dünnen aufgewickelten Ethmoturbinalien des Siebbeinlabyrinths befinden sich an der Grenze der Schädel- und Nasenhöhle, in Richtung der Augenhöhlen, zwischen diesen; für die Röntgenuntersuchung sind sie in transversaler Strahlenrichtung zugänglich. Die Siebbeinlabyrinthe hängen mit der äußeren Lamelle und der Siebbeinlamelle zusammen. Das erste Endoturbinale ist am besten entwickelt; von der Crista nasoturbinalis des Nasenbeins ausgehend, reicht es in die Nasenhöhle hinein und bildet die knöcherne Basis der oberen Nasenmuschel. Das zweite Endoturbinale, das die sog. mittlere Nasenmuschel bildet, ist beim Pferd klein. Von den Ethmoturbinalien sind die dorsal gelegenen größer; ventralwärts werden sie immer kleiner und kürzer. Die Siebbeingänge, Meatus ethmoidei, sind an der Basis weiter, nach vorn hin enger.

Das *Os interparietale (Ip)* sitzt zwischen dem Scheitelbein und dem Schuppen des Hinterhauptknochens. An seiner Außenfläche zieht die Crista sagittalis externa in Form eines scharfen Kammes mit breiter Basis entlang. Von seiner Innenfläche reicht der Sichelfortsatz, Processus tentoricus, nach vorn und in die Schädelhöhle hinein, dorsalwärts die mittlere und hintere Schädelgrube trennend. Der lange Processus tentoricus ergibt zusammen mit dem Hinterhauptbein und dem ähnlichen Fortsatz des Scheitelbeins den größten Teil des Kleinhirnzeltes und enthält den Canalis transversus. In der Röntgenaufnahme treten beide, vor allem in Transversalrichtung, deutlich hervor.

Das *Scheitelbein, Os parietale (P)*, ein paariger Knochen, trägt zur Bildung des Daches und zum Teil auch der Seite der Schädelhöhle bei. Das Scheitelbein sitzt zwischen dem Hinterhauptbein, dem Stirnbein und dem Schläfenbein. An seiner Außenfläche kann man das Planum parietale und Planum temporale unterscheiden. Am Planum parietale zieht die vom Hinterhauptbein

kommende Crista sagittalis externa entlang, die sich noch am Scheitelbein in die beiden Crista frontalis externa (Linea temporalis) teilt. Der Crista sagittalis externa entsprechend ist das Scheitelbein am dicksten; von da an verjüngt es sich in seitlicher Richtung mehr und mehr. In transversaler Strahlenrichtung entsteht von ihm ein additionaler Schatten, der ein dickes Schädeldach nachahmt. An der Zerebralfläche der Scheitelbeine finden wir Gefäßfurchen, Sulci vasculosi, Impressiones digitatae seu gyrorum, und unebene Erhebungen, Juga cerebralia, die dem Gehirnrelief folgen. Infolgedessen ist das Scheitelbein ungleichmäßig dick, was auch im Frontalröntgenbild des Knochens einwandfrei festgestellt werden kann.

Das *Stirnbein, Os frontale (Fr)*, ein paariger Knochen, liegt an der Grenze des Gehirn- und Gesichtsschädels und bildet zu 1/5 den Vorderteil des Schädeldaches, darüber hinaus einen kleinen Teil der medialen Orbitalwand, ja auch der Schläfengrube.

Die Lamina externa und interna des Stirnbeins umfassen divergierend die Stirnhöhle, Sinus frontalis. Die innere Lamelle nimmt an der Bildung sowohl der Schädelhöhlen- wie der Nasenhöhlenwand teil. Die äußere Lamelle der Pars nasofrontalis ist an der Schädelhöhlengegend dick, in der Stirnhöhlengegend jedoch dünn. Schmaler werdend reicht der Sinus frontalis auch in den Processus nasalis hinein, wo sich seine winzigen Recessus befinden. Das Septum sinuum frontalium ist eine dünne Platte. Der mit breiter Basis ausgehende Processus zygomaticus geht zum Jochfortsatz des Schläfenbeins; an seiner Wurzel kommen ein-zwei Foramina supraorbitalia vor; die Stirnhöhle reicht in seine Basis hinein. An seiner Orbitalfläche finden wir nahe am Jochfortsatz des Schläfenbeins die Tränendrüsengrube, Fossa glandulae lacrimalis, die in der Röntgenaufnahme (Dorsoventralrichtung) deutlich begrenzt ist.

Die Pars orbitalis liegt zu beiden Seiten des Siebbeins und bildet die mediale Orbitalwand. Der Incisura sphenoidea entsprechend sitzt zwischen ihr und dem Keilbeinflügel das Siebbeinloch (s. oben). Die die Pars orbitalis von der Pars temporalis trennende, verschieden hohe und scharfe Crista orbitotemporalis tritt deutlich zutage. Die Lamina interna hängt mit der Lamina externa des tief gelegenen Siebbeins zusammen.

Das *Schläfenbein, Os temporale (T)*, bildet die seitliche-untere Wand der Schädelhöhle. Die schalenartige Schläfenbeinschuppe erscheint von der Schädelhöhle her kleiner als von außen, weil er von den benachbarten Knochen, mit denen er in einer Schuppennaht zusammentrifft, zum Teil verdeckt wird. An seiner Innenfläche sind Juga cerebralia, Impressiones gyrorum und Sulci vasculosi vorzufinden, weshalb die Schuppe ungleichmäßig dick ist. Der von seiner Außenfläche entspringende Jochfortsatz geht lateral, dann nasal; seine Wurzel ist dorsoventral, anderswo seitlich abgeflacht. Um die Längsachse des winklig gebogenen Processus zygomaticus erscheint er gewunden (s. auch im Röntgenbild). An der Wurzel differenzieren sich sämtliche drei an der Bil-

dung des Kiefergelenks teilnehmenden Abschnitte deutlich, nämlich das quergerichtete, ungleichmäßig breite, zylindrische Tuberculum articulare, dahinter die gleichfalls quergerichtete breite Grube, Fossa mandibularis, und endlich dahinter der einen gut ausgeprägten Fortsatz gebende Processus retroarticularis (retroglenoideus). Der obere Rand des Jochfortsatzes, die Crista temporalis, wölbt sich in einem scharfen Bogen. Der Fossa mandibularis entsprechend ist der Fortsatz am dünnsten. In der Incisura otica des Processus retroarticularis befindet sich der knöcherne äußere Gehörgang; dahinter bildet die Schuppe den Processus retrotympanicus, der an der Bildung des Schläfenganges, Meatus temporalis, teilnimmt.

Der andere Teil des Schläfenbeins, das strukturell kompakte, harte Felsenbein, »Os petrosum« (Felsenbeinpyramide), wächst nicht mit dem Schuppenabschnitt des Schläfenbeins zusammen. An der Zerebralfläche der Pars petrosa sehen wir die Öffnung des inneren Gehörgangs, am Vorderrand dagegen ragt die scharfe Crista petrosa in die Schädelhöhle hinein, wobei sie die hintere von der mittleren Schädelgrube trennt. Längs der Crista verläuft die vom Sulci nervorum des Keilbeins ausgehende und kaudodorsal zum Tentorium cerebelli osseum gehende Crista petroparietalis.

Der Processus mastoideus des Felsenbeins weist spongiöse Struktur auf.

Die Pars tympanica enthält die Paukenhöhle. An ihrer Außenfläche erhebt sich der trichterartige knöcherne äußere Gehörgang, dessen Rand scharf, aber uneben ist. Nach innen wird die Wand des Gehörganges immer dicker. Der Boden der Paukenhöhle, Cavum hypotympanicum, ist in Fächer, Cellulae tympanicae, eingeteilt. Von ihrer nasomedialen Wand geht der zur Ursprungsstelle der Muskeln dienende lange, spitze Processus muscularis aus, in dessen Wurzel die Tuba auditiva ossea (Eustachii) am Ostium tympanicum mündet. An der Wurzel des äußeren Gehörganges liegt der zur Pars mastoidea gehörige Processus styloides.

Spezielle Röntgenanatomie der Hirnschädelknochen

Dorsoventrale Strahlenrichtung

(Abb. 1, 2, 3)

(Norma frontalis)

Der Körper des *Hinterhauptbeins* (1) befindet sich im Schatten der Schädelhöhle. Seine Ränder umgeben mit ungleichmäßiger Grenzlinie das Foramen lacerum (2). Die Synostosis sphenooccipitalis (*Abb. 1, 3 ;* 3) bildet eine schmale, dunkle Schattenlinie mit quergerichteter, ungleichmäßiger, verschwommener Grenze in Richtung zum vorderen Rand des Foramen lacerum. In ihrer Nachbarschaft tritt der verschwommene Schatten des Tuberculum musculare (3a) hervor. Im Schatten des Basioccipitale sind die vom vorderen, sich ver-

jüngenden Ende der Gelenkknorren des Hinterhauptbeins zum Körper gehenden beiden »*Juga basioccipitalia*« (4) in Form einer regelmäßigen, bogenförmigen, am Ursprung breiteren, sich nach vorn hin mehr und mehr verjüngenden und schließlich aufhörenden Schattenlinie wahrnehmbar. Zwischen ihnen befindet sich kaudal der die Incisura intercondylica anzeigende Schatten (*Abb. 1, 2 ;* 4a).

Das Foramen lacerum (2) gibt einen hellen, longitudinalen, oral breiteren, aboral schmaleren Schatten mit ungleichmäßigem Rand; von der Außenseite wird dieser zum Teil in den dunklen Schatten der Pars petrosa hineinprojiziert (5), der jenen auf diese Weise in zwei miteinander zusammenhängende Teile gliedert; diese entsprechen dem Schatten des Foramen lacerum orale (6) und aborale (7). In den Schatten des Foramen lacerum wird auch der spongiöse Schatten des Scheitelbeins projiziert.

Die beiden Gelenkknorren des Hinterhauptbeins (8) umgeben ähnlich den Schenkeln des Buchstabens V mit regelmäßigem, scharfem Rand das Foramen occipitale magnum (9). Die hintere Grenzlinie der Knorren (10) bildet deren stumpfe Kante, Jugum condyli occipitalis. Die Schatten der beiden Gelenkknorren konvergieren, sich oral allmählich verjüngend, winkelförmig und gehen ineinander über; der scharfe laterale Rand (11) säumt den Schatten des Jugum basioccipitale und läuft auf den Körper (s. oben).

Der Schatten des Foramen occipitale magnum (9) ist eiförmig und aboral unterbrochen.

Der Processus jugularis gibt einen dunklen, kompakten, dreieckigen Schatten (12), da die Hauptstrahlen fast in Richtung der Längsachse durch ihn hindurchgehen; seine krumme, lange, fortsatzartige Form tritt somit nicht hervor. Sein verdicktes, knollenförmiges Ende gibt einen markanten Schatten.

Auf die Fossa condylica ventralis deutet der helle Schatten mit verschwommener Grenze zwischen dem Gelenkknorren und Drosselfortsatz (13); der Grube entsprechend ist nämlich der Schuppenabschnitt des Hinterhauptbeins dünn. Das tief in der Grube gelegene Foramen hypoglossi tritt je nach der Stelle der Hauptstrahlen in Form eines rundlichen oder spaltenartigen Schattens in Erscheinung (*Abb. 1 ;* 13a).

In den Schatten der Schuppe des Hinterhauptbeins wird größtenteils auch der Schatten des Basioccipitale und Exoccipitale hineinprojiziert. Der auch in den Gelenkknorren projizierte breite Pars nuchalis gibt einen Schatten von fein spongiöser Struktur, in dem sich die Protuberantia occipitalis externa mit einem kegelförmigen dunklen Schatten (14) wahrnehmbar differenziert. Der freie Rand der Schuppe ist von der scharfen Linie der Linea nuchalis superior (15) begrenzt.

Der zusammenfallende Schatten der Crista sagittalis externa und interna (16) erscheint verschwommen im Schatten der Schuppe, des Foramen occipitale

magnum und des Hinterhauptbeinkörpers. Der Schatten der Linea temporalis (17) läuft, sich vom oberen Genickkamm beidseitig in einem sanften S-Bogen oral hinziehend, über den Schatten des Drosselfortsatzes. Der Schatten der Linea nuchalis superior (15) durchschneidet quer den äußeren Winkel der Gelenkknorren des Hinterhauptbeins.

Von den Inzisuren am Vorderrand des Foramen lacerum (s. das Keilbein) differenziert sich scharf der Schatten der Incisura carotica (18); die Grenzlinien der anderen Inzisuren sind verschwommen; der Temporalflügel des Keilbeins gibt hier, wo sich die Incisura befindet, schuppenartig dünner werdend, einen hellen Schatten (18a).

Das *Keilbein* bildet teils die vordere Hälfte der Schädelhöhlenbasis, teils die Seitenwand der Schädelhöhle. Sein Körper (19) gibt einen langen, ziegelförmigen Knochenschatten mit fein spongiöser Struktur. In der Linie des Vorderrandes vom Foramen lacerum befindet sich die Synostosis sphenooccipitalis (*Abb. 1, 3 ;* 3). Dementsprechend sieht man eine ungleichmäßige, verschwommene, dunkle, quergerichtete Schattenlinie (s. oben).

Den Schatten der Temporalflügel (20) trennt von dem der Schläfenbeinschuppe eine zur Medianebene bogenförmige, scharf konturierte, dunkle, schmale Grenzlinie (21). Diese Linie ist der Schatten der *Crista alisphenoidea*, sie umsäumt die seitliche Grenze der Sulci nervorum des Keilbeins. Der Kamm setzt sich kaudalwärts in der Crista petroparietalis fort. Der längs dieser Grenzlinie in Sagittalrichtung verlaufende, longitudinal-eiförmige Schatten (22) zeigt die hintere Öffnung des Canalis alaris, das Foramen alare aborale, an. Die medial von der Crista alisphenoidea gelegenen Nervenfurchen (23, 24) konfluieren ineinander.

Im Praesphenoides befindet sich der Sinus sphenoideus (25), dessen hinteres Ende die Grenze zwischen dem Basi- und Praesphenoides markiert. Die Keilbeinhöhle gibt ein scharf begrenztes, helles Schattenfeld. Die bilateralen Sinus sind nicht symmetrisch, der eine oder der andere Sinus ist größer und reicht weiter nach hinten; ihr hinteres Ende bildet eine abgerundete Grenzlinie, die einem stumpfen Kegel gleicht; die Grenzlinie fällt in die Richtung des Schattens des Foramen alare aborale. Der Schatten der beiden Sinus bildet nach vorn zu mit den Schatten der gleichfalls hier gelegenen Gänge der Ethmoturbinalien (26) sowie mit dem des Sinus palatinus (*Abb. 1, 2 ;* 32) einen komplizierten Schattenkomplex. Die bilateralen Keilbeinhöhlen sind durch das in der Kontur ungleichmäßige Septum sinuum sphenoideorum (30) voneinander getrennt. Im aboralen Abschnitt der Höhlen erscheint der kaum wahrnehmbare Schatten des konkavrandigen Sulcus chiasmatis s. fasciculi optici (*Abb. 1;* 31). In der Mittellinie des Sinus gibt die Lamina perpendicularis des Siebbeins einen sagittal gerichteten dunklen, streifenförmigen Schatten (33).

Vom Foramen alare aborale in Richtung nach vorn sieht man deutlich den Schatten des Canalis alaris (*Abb. 1, 2 ;* 27). Am Vorderende befinden sich

die miteinander verschmelzenden, schwer voneinander differenzierbaren Schatten des Foramen opticum, der Fissura orbitalis, des Foramen rotundum und Foramen alare orale (28).

Auf die Orbitalflügel treffen die Hauptstrahlen in Richtung der Tangente; sie bilden die vordere-seitliche Schädelhöhlenwand (29), die dann in die vom Siebbein gebildete Vorderwand übergeht; die Grenze der beiden ist verschwommen.

Der Processus pterygoideus des Keilbeins liegt in unmittelbarer Nachbarschaft der Keilbeinhöhle, lateral von dieser, und gibt zusammen mit dem Flügelbein einen schwach S-förmigen massiven, dunklen Schattenstreifen (34).

Das *Siebbein* ergibt einen komplizierten Schattenkomplex, in den auch der Keilbein-, Gaumenbein-, Pflugscharbein- und Stirnbeinschatten hineinprojiziert wird. Die Lamina externa tritt in dorsoventraler Strahlenrichtung kaum hervor, dagegen ist die Lamina cribriformis in Form von mehreren quergerichteten, miteinander verwobenen ungleichmäßigen Konturlinien zu sehen (*Abb. 1, 3 ;* 35); sie begrenzt oral die Schädelhöhle; diese Grenze ergibt sich in Wirklichkeit aus dem additionalen Schatten des verhältnismäßig kompakten Saumes der beiden länglich-eiförmigen Fossa ethmoidea. Die Crista galli findet der Hauptstrahl mit der Lamina perpendicularis in Richtung ihrer Kante; beide geben einen dunklen, streifenförmigen Schatten mit verschwommener Kontur (s. oben).

Die Ethmoturbinalien und ihre Gänge separieren sich nicht deutlich; mit dem Sinus sphenoideus und Sinus palatinus ergeben sie einen Schatten, der auf eine Höhle mit vielen Fächern deutet.

Der Schatten des *Os interparietale* verschmilzt mit dem der benachbarten Knochen. Der dunkle Schatten mit verschwommener Grenze des Processus tentoricus (*Abb. 1 ;* 36) sitzt im Schatten des Hinterhauptbeinkörpers zwischen den beiden Juga basioccipitalia.

Das paarige *Scheitelbein*, welches das Dach der Schädelhöhle bildet, wird bei dorsoventraler Strahlenrichtung von den Strahlen senkrecht zu seiner Platte getroffen, so daß seine Flächen und Ränder nicht hervortreten, sondern lediglich seine an spongiöse Knochensubstanz erinnernde Struktur in den Schatten der Schädelbasisknochen projiziert wird. Der Schatten der Crista sagittalis externa und interna erscheint verschwommen (s. oben).

Die Pars nasofrontalis des umfangreichen *Stirnbeins* wird von den Hauptstrahlen senkrecht, d. h. auf die Knochenplatte getroffen, so daß kein entschiedener Schatten entsteht; deutlich tritt jedoch der Sinus frontalis zwischen den beiden Knochenlamellen hervor (s. unten).

Von den Fortsätzen des Stirnbeins ist der vordere Rand des den Margo supraorbitalis bildenden, vom Rand der Pars nasofrontalis ausgehenden Processus zygomaticus im Röntgenbild nicht zu sehen, dagegen begrenzt der hintere Fortsatzrand, der Margo temporalis (37), mit einer konkav gebogenen

Linie vorn den durch einen viereckig abgerundeten Schattenausfall (38) gekennzeichneten Teil der Schläfengrube. Auf diesem Rand läuft die Linea temporalis, so daß dieser zugleich den Platz der Linea temporalis s. semicircularis anzeigt (s. oben).

Im Schatten des Processus zygomaticus liegt der rundliche, helle Schatten des Foramen supraorbitale (39). Die mediale konkave Oberfläche des Processus zygomaticus zeigt die vom breitesten Punkt des Jochbogens kaudomedial verlaufende dunkle Schattenlinie an (40). Diese konkave Linie deutet zugleich auf die Stelle der Fossa glandulae lacrimalis. Der Eingang der Augenhöhle tritt in dieser Strahlenrichtung im Röntgenbild nicht in Erscheinung.

Der hintere Abschnitt der Stirnhöhle wird zum kleineren Teil auch in den Schatten der Schädelhöhle projiziert, wo er auch mit dem Schatten der Keilbeinhöhle verschmilzt, ohne sich von diesem zu trennen; der außerhalb des Schattens der Schädelhöhle fallende Teil gibt demgegenüber an der Basis des Processus zygomaticus einen sehr deutlichen Schatten. Der Schatten des vorderen größeren Abschnitts der Stirnhöhle wird nahe der Medianebene in den Schatten der Keilbeinhöhle, Kieferhöhle und Siebbeingänge projiziert und läßt sich daher schwer differenzieren; infolge der zentralen Projektion ist der Schatten des letzten Molaren (41) dem der Stirnhöhle benachbart.

Die die Stirnhöhle gliedernden Knochensepten treten deutlich zutage. Der an der Basis des Processus zygomaticus gelegene kraniolaterale Höhlenabschnitt (42) kommuniziert durch eine vorn und seitlich befindliche, ziemlich weite Öffnung, Aditus frontomaxillaris (*Abb. 1 ;* 43), mit der großen Kieferhöhle (44); im Röntgenbild ist die Kommunikationsöffnung von einem ausgeprägten Knochensaum ringförmig begrenzt.

Zur Bildung der medialen Stirnhöhlenwand trägt auch die Lamina externa des Siebbeins bei; in einem konkaven Bogen wölbt sie sich in die Stirnhöhle hinein (*Abb. 1, 3;* 45). Lateral liegt der Schatten des Processus temporalis des Jochbeins mit dem hineinprojizierten Foramen supraorbitale (39).

Der größere Teil des *Schläfenbeins* bildet die Seitenwand des Hirnschädels, obschon er sich auch auf dessen Basis erstreckt. Die Schatten von zwei seiner Teile, der Schläfenbeinschuppe und der Felsenbeinpyramide, vermag man im Bild gut zu unterscheiden. Die strukturell kompakte Felsenbeipyramide gibt einen starken, dunklen Schatten (47), so daß eher nur die Umrisse als die Struktur in Erscheinung treten (wobei auch der Umstand eine Rolle spielt, daß wir bei der Belichtung vor allem den mitteldichten Knochenschatten berücksichtigen).

Die Schläfenbeinschuppe begrenzt seitlich die Schädelhöhle, da sie vom Hauptstrahl tangential getroffen wird, in Form eines etwa 5—7 mm breiten, halbkreisförmigen additionalen Schattenstreifens (48). In den Schatten wird der der Scheitelbeine, ja auch der des Stirnbeins hineinprojiziert. Die Unebenheiten der Innenfläche treten im Röntgenbild weniger zutage. Im hinteren-

unteren Teil der Schläfenbeinschuppe ist gegenüber dem Ursprung des Processus zygomaticus ein rundlicher, etwa hellergroßer heller Schatten (49) zu beobachten, der dem medial vom Processus retroarticularis, neben dem inneren Ende des Tuberculum articulare gelegenen, hier sehr dünnen ventralen Schädelwandabschnitt entspricht.

Der Jochfortsatz (50) des Schläfenbeins geht im Röntgenbild mit breiter Basis von der gewölbten Schuppenfläche aus. Den hinteren Rand säumt die Crista temporalis (17), während der vordere Rand die Grenze des Tuberculum articulare bildet (s. unten).

In die Basis des Jochfortsatzes wird in manchen Fällen ein dornartiger, dunkler Querschatten (50a) projiziert, der den Schatten des in seiner Längsachse getroffenen Processus retroarticularis bildet. Vor diesem befindet sich der rhombusartige, helle Schatten der Fossa mandibularis (51), und unmittelbar davor sieht man mit scharfer Grenze den dunklen Schatten des Tuberculum articulare (52). Im ganzen Bereich des Jochfortsatzes sieht man deutlich die Struktur der spongiösen Knochensubstanz, ebenso läßt sich die Verlaufsrichtung der Knochenbalken verfolgen.

Hinter dem Processus retroarticularis sehen wir den fast homogen dunklen Schatten der Felsenbeinpyramide (47). In diesem erscheint der dunkle, additionale, etwa 6—8 mm breite, bogenförmig streifenartige Schatten (48) der seitlichen Schädelhöhlenwand, der den Felsenbeinschatten fast halbiert. Unmittelbar hinter dem Processus retroarticularis (*Abb. 1;* 50a) befindet sich der Schatten des knöchernen äußeren Gehörganges (53). Der weitere Porus acusticus externus setzt sich zum Inneren der Felsenbeinpyramide in dem immer engeren Meatus acusticus externus fort; gut vermag man auch die Wanddicke des knöchernen äußeren Gehörganges festzustellen. Die Vorderwand des Gehörgangs ist dicker als die Hinterwand. Es fällt auf, daß die bilateralen Gehörgänge nicht immer gleich weit sind; der eine ist mitunter anderthalbmal bis doppelt so weit wie der andere. Hinter dem Schatten des Gehörgangs liegt der des Processus aboralis (occipitalis) des Schläfenbeins (54), in den, da er zum Teil auf dem Processus mastoideus des Felsenbeins liegt, auch dessen Schatten projiziert wird; die Grenzen der beiden (55) lassen sich deutlich unterscheiden. Hinter dem Processus aboralis befindet sich der bereits erwähnte verkürzte Schatten des Processus jugularis (12).

Die Facies cerebralis der Pars petrosa der Felsenbeinpyramide (56) wird mit einer konkaven Grenzlinie in den Schatten des Foramen lacerum projiziert. Der in das Foramen lacerum fortsatzartig hineinprojizierte Abschnitt entspricht der Crista petrosa, die der Hauptstrahl in Längsrichtung trifft. Diese zeigt auch die Grenze der hinteren und mittleren Schädelgrube an.

Die Schatten des Porus acusticus internus und des Meatus acusticus internus (*Abb. 1, 2;* 57) erscheinen im Röntgenbild verschwommen. Der Schatten des hinteren Facies cerebralis-Randes ist auf das Jugum basioccipi-

tale gerichtet. An der Wurzel des äußeren Gehörganges erscheint zuweilen auch der Schatten des Foramen stylomastoideum (*Abb. 1, 2;* 58). Die Schatten der Eustachischen Röhre (*Abb. 1, 3;* 59) und des Processus muscularis (60) sind deutlich sichtbar. Fernerhin erscheinen die Schatten der Cellulae tympanicae der Paukenhöhle (*Abb. 2;* 61).

Transversale (sinistrodextrale) Strahlenrichtung

(Abb. 4, 5, 6)

(Norma temporalis)

Die Körper des *Hinterhauptbeins* und *Keilbeins* hängen mit einer erst knorpligen, dann knöchernen Verbindung, der Synchondrosis (Synostosis) sphenooccipitalis (*Abb. 4, 6;* 1) zusammen. Die knöcherne Verbindung zwischen den beiden Körpern tritt in der Röntgenaufnahme, besonders nahe der Außenfläche, deutlich zutage; sie bildet einen etwa 2 mm breiten senkrechten dunklen Streifen. Hier zeigt ein kleiner kegelförmiger Schatten (*Abb. 4;* 1a) die Stelle der Synostosis an. Längs der Verbindung erkennt man die spongiöse Struktur der Körper beider Knochen an den fein gestalteten, horizontal verlaufenden Knochenbalken, die über die Synostosis ineinander übergehen. Nahe der Basalfläche sind die Knochenbalken gerade, nahe der Zerebralfläche bilden sie einen dorsalwärts etwas konkaven Bogen; im Körper des Hinterhauptbeins werden sie in kaudaler Richtung immer feiner; nahe der Fossa medullae oblongatae sind die Knochenbalken gröber, massiver, und man sieht kleinere Höhlen zwischen ihnen (Abb. *4, 6;* 2).

Die äußere Grenzlinie des Hinterhauptbein-Körpers (3) ist in Form einer schwach gebogenen konkaven Linie gut begrenzt; die Compacta ist vorn dünn und sondert sich kaum ab, nach hinten wird sie immer dicker und läßt sich besser von der spongiösen Substanz differenzieren. In die hintere Körperhälfte wird zum Teil der Schatten des Processus jugularis (4) projiziert.

An der Facies cerebralis sieht man deutlich den kegelförmigen Schatten (5) der Crista sphenooccipitalis und dahinter eine der Fossa pontis entsprechende flache Vertiefung (6). Die Compacta der Facies cerebralis wird nach hinten zu immer dicker, wobei sie sich immer besser von der spongiösen Substanz abgrenzt. In kaudaler Richtung ist die Fläche abschüssig (7), weshalb der Basioccipitale ständig dünner wird, bis er schließlich am unteren Rand des Foramen occipitale magnum in einem spitzen Schatten (8) endet.

Die seitlichen, sich erhebenden Ränder des Basioccipitale begrenzen das Foramen lacerum (9) hier und da ungleichmäßig, verschwommen, an anderen Stellen mit einer scharfen Linie.

Das Foramen lacerum orale ist größer, das Foramen lacerum aborale kleiner; in letzteres wird der Felsenbeinschatten projiziert. Die Incisura caro-

tica (10) am Vorderrand des Foramen lacerum orale tritt deutlich zutage und enthält den dornartigen, dunkleren Schatten des Processus muscularis der Felsenbeinpyramide (11); das Ende reicht auch noch in den Schatten des Basioccipitale bzw. Sphenooccipitale hinein.

Die Gelenkknorren des Hinterhauptbeins ergeben, fast ineinander projiziert, einen ausgeprägten Schatten (12). Die Oberfläche des in Querrichtung durch einen stumpfen Kamm geteilten Knorrens hat einen kleineren Radius, ist somit stärker gebogen; die Unterfläche hat einen größeren Radius und bildet daher eine weniger gebogene Grenzlinie. Die Struktur des Knorrenschattens erinnert an fein spongiöse Knochensubstanz.

Die scharfen, die Fossa condylica ventralis begrenzenden Knorrenränder ergeben eine ausgesprochen konkave Konturlinie (13). Der Schatten der unter den Knorren gelegenen Grube (14) umschließt ein großes, rundliches, helles Gebiet, dessen Basis die Fossa medullae oblongatae bildet. Das in der Knorrengrube befindliche Foramen hypoglossi (15) ist in dieser Strahlenrichtung deutlich wahrnehmbar und gibt einen rundlichen Schatten, in den auch der Processus jugularis hineinprojiziert wird. Nachdem die Knochenbrücke, die das Foramen lacerum aborale mit dem Foramen hypoglossi verbindet und die aus dem seitlichen Basioccipitale-Rand und dem Exoccipitale besteht, nicht nur innerhalb einer Tierart, sondern auch bei ein und demselben Individuum auf der rechten und linken Seite verschieden breit sein kann, ändert sich dementsprechend auch die Weite des Foramen hypoglossi.

Die beiden Processus jugulares geben parallel verlaufende, in schwacher S-Form gekrümmte, an einen Fortsatz erinnernde Schatten (4), deren hinterer Rand (16) auf eine dicke Compacta hinweist. Der von der Grenze der Linea nuchalis superior (17) und der Crista temporalis (18) ausgehende hintere Rand bildet eine stumpfe Kante, das Jugum jugulare (19). Der Schatten des hinteren Randes wird in den der Fossa condylica ventralis (14) hineinprojiziert (s. oben). Der Processus jugularis verjüngt sich allmählich zu seinem Vorderrand hin (20) und endet dann in einer Kante; dementsprechend ist sein Schatten heller. Das an einen Haken erinnernde Ende der Fortsätze (21) reicht über den Schatten des Basioccipitale hinaus. An der Außenfläche der Drosselfortsätze trennt ein bogenförmiger Kamm den Vorderteil der Lateralfläche vom hinteren; dieser Kamm, Crista processi jugularis (*Abb. 4, 5;* 22), ergibt eine prägnante Schattenlinie. Die Naht zwischen der Wurzel der Fortsätze und dem Felsenbein bildet vor der Verknöcherung (hauptsächlich bei jungen Tieren) eine markante Grenzlinie (22a).

Die Fossa condylica dorsalis gibt unmittelbar über dem Knorrenschatten einen kaudoventral verlaufenden hellen Schattenstreifen (23).

Die Incisura intercondylica zeigt ein heller, spitzwinkliger Schatten an (24).

Der Schatten der Hinterhauptbeinschuppe (25) ist deutlich als einfacher Schatten zu sehen. An der Schuppe sieht man gut die Konturlinie der Pars

parietalis (26) und der Pars nuchalis (27). Die Fossa nuchalis (*Abb. 4;* 28) wird fallweise durch eine tief konkave Grenzlinie angezeigt; am oberen und unteren Ende dieser Linie ist häufig ein hervortretender Knochenfortsatz wahrnehmbar; besonders charakteristisch tritt dieser am oberen Ende in Erscheinung, wo er als Schatten der Protuberantia occipitalis externa einem zurückspringenden Höcker gleicht.

Am Übergang der Pars nuchalis und Pars parietalis erscheint die Projektion der Linea nuchalis superior (29) als ein kegelförmiger Schatten. Da sich der Schatten in transversaler Strahlenrichtung summiert, bildet er eine dunkle Schattenlinie, die zur Crista temporalis in eine feine, dunkle, dünne Schattenlinie übergeht. Die Compacta der Squama occipitalis ist dünn, am dicksten in der Gegend der Linea nuchalis superior. Am Planum parietale entfaltet sich scharf die Crista sagittalis externa (26). Die Struktur der spongiösen Substanz tritt deutlich hervor; im Bereich der Pars nuchalis ist sie strukturell feiner als im Gebiet der Pars parietalis; der Schatten der ersteren ist auch dunkler, weil die Struktur dicker ist. Die Knochenbalken verlaufen in der Pars parietalis horizontal (*Abb. 6;* 30), in der Pars nuchalis vertikal (*Abb. 6;* 31), an der Grenze der beiden gemischt (*Abb. 6;* 32).

An der Grenze der Pars parietalis des Hinterhauptbeins, des Os interparietale sowie der Pars petrosa, wo der Meatus temporalis verläuft, ist die Schädelwand sehr dünn; dementsprechend sehen wir ein helles, kleines, auf Schattenausfall deutendes dreieckiges Gebiet (33). Die Facies cerebralis der Hinterhauptbeinschuppe gibt eine verschwommene Konturlinie.

Der Körper des *Keilbeins*, der mit dem Basioccipitale die knöcherne Basis der Schädelhöhle bildet, tritt in Fortsetzung des Hinterhauptbeinkörpers mit einem ähnlichen Schatten hervor. Den umfangreichsten Schatten gibt er bei der sphenookzipitalen Verbindung, von hier nach vorn bis zum Schatten des Sinus sphenoideus wird er immer schmaler.

Die Grenzlinie seiner Außenfläche (34) ist fast gerade, gut begrenzt, die sie umsäumende Rindensubstanz verschwommen. Den Platz der Tuberculum musculare zeigt ein dunklerer Longitudinalschatten an (35). Die Facies cerebralis des Basisphenoides bildet eine scharf begrenzte, gleichmäßig gebogene Konturlinie; vor der das Dorsum sellae anzeigenden Erhebung (*Abb. 4;* 36) erscheint der Schatten der Fossa hypophyseos; dahinter liegt die Crista sphenooccipitalis, auf welche ein sich zur Schädelhöhle erhebender kleiner kegelförmiger Schatten (5) deutet.

Die Innenfläche des Praesphenoides wird durch eine feine, etwas verschwommene Konturlinie angezeigt. Die hintere Grenze markiert die Schädelhöhlenöffnung des kurzen Kanals des Foramen opticum und der Fissura orbitalis, die eine scharfe, nach hinten zu konkave Linie bildet (37). Die dahinter kaudodorsal verlaufende, einen scharf begrenzten dunklen Schatten ergebende gebogene Linie (38) entspricht der Crista alisphenoidea, welche die seit-

liche Grenze der am temporalen Keilbeinflügel befindlichen zwei breiten Nervenfurchen, Sulci nervorum (39), anzeigt. Am hinteren Rand des Temporalflügels tritt unter den Einschnitten, die den Gefäß- und Nervenfurchen entsprechen, die Incisura carotica (10) deutlich zutage (s. oben).

Mit dem hellen Luftschatten des Praesphenoides treten klar der Keilbeinsinus, Sinus sphenoideus (40) und die sich von seiner Wand erhebenden Septen hervor (*Abb. 4, 6;* 41). Nach vorn zu verbreitert sich der Sinus etwas, hinten zum Basisphenoides endet er abgerundet mit scharfer Grenze. Der Schatten des Sinus verschmilzt mit dem des Sinus palatinus (40a). Die Basis des einheitlichen Sinus ergibt der additionale Gaumenbein-, Flügelbein- und Keilbeinschatten (*Abb. 5, 6;* 40b).

Über dem Sinus sphenoideus verläuft in nasodorsaler Richtung in Form eines 6 mm breiten spongiösen Schattenstreifens der Canalis opticus (*Abb. 4;* 42); darüber befindet sich der bis zur Crista orbitosphenoidea reichende Teil der Keilbeinhöhle (*Abb. 4, 6;* 43). Das Rostrum sphenoideum begrenzt, mit der Crista galli des Siebbeins verschmelzend, mit einer konkav verlaufenden Linie (44) vorn die Schädelhöhle.

Die untere Wand des Sinus sphenoideus besteht aus der Compacta des Praesphenoides.

Der Orbitalflügel gibt, da der Hauptstrahl senkrecht auf seine Platte fällt, keinen wahrnehmbaren Schatten; die Schatten der an der Wurzel des Flügels gelegenen Löcher, und zwar der Fissura orbitalis und des Foramen rotundum, sind ebenfalls verschwommen, weil sie im Schatten des Sinus sphenoideus liegen; sie lassen sich schwer homologisieren.

Der paarige Flügelfortsatz des Keilbeins, Processus pterygoideus, ist im Röntgenbild gut zu sehen; die Schatten (45, 46) überdecken einander größtenteils. (Im Schatten des Flügelfortsatzes erscheint auch die Grenzlinie des Processus pterygoideus des Gaumenbeins (*Abb. 5;* 45a). Ihr unebener hinterer und unterer Rand ergibt eine zackige Grenzlinie; den dort entspringenden Muskeln entsprechend ist der Schatten der Tuberositas muscularis an ihr sichtbar. Die vom Flügelfortsatz hervorragende Crista pterygoidea ist nur in Spuren wahrnehmbar.

Von den drei Platten des *Siebbeins* begrenzt allein die Lamina cribriformis mit einem zwar verschwommenen, jedoch breiten (10—14 mm) Schattenstreifen (47) in einer konkaven Linie von vorn die Schädelhöhle.

Kaudodorsal vermag man sie bis zur dorsalen (48), kaudoventral bis zur ventralen Wand der Schädelhöhle (*Abb. 4;* 49) zu verfolgen. In ihren Schatten wird der Processus zygomaticus (50) des Stirnbeins sowie der Processus zygomaticus (51) des Schläfenbeins projiziert. Die Schatten der Foramina cribrosa sind nicht zu sehen.

Der fein gezeichnete Schatten der Ethmoturbinalien, der zahlreichen, aufgerollten Knochenlamellen des Siebbeinlabyrinths (52), wird in den Schatten

der Orbita projiziert. Sie gehen kranioventral, und die Enden sind kegelförmig zugespitzt. Die zwischen ihnen liegenden Siebbeingänge sind zur Lamina cribriformis hin in der Aufnahme in Form von kleinen, sinusartigen, an der Basis weiteren Schatten (53) deutlich zu sehen. Man erkennt den vom ersten Ethmoturbinale, vom Sinus (54) und oberen Rand (54a) der oberen Nasenmuschel begrenzten, flach hingestreckten oberen Nasengang (54b). Die Lamina mediana s. perpendicularis tritt bei dieser Strahlenrichtung in der Röntgenaufnahme nicht zutage, weil die dünne Lamelle senkrecht vom Hauptstrahl getroffen wird.

Der Schatten des Sichelfortsatzes des mit dem Hinterhauptbein und Scheitelbein verwachsenen Os interparietale (55) ragt in Form eines vorgebeugten, hakenförmigen Fortsatzes in die Schädelhöhle. Er besitzt eine ausgeprägt spongiöse Struktur, die Knochenbalken folgen in ihrem Verlauf der Krümmung des Fortsatzes. Auf den unmittelbar hinter dem Fortsatz verlaufenden Sulcus transversus fallen die Hauptstrahlen im spitzen Winkel, so daß er in den Aufnahmen in Form eines streifenartigen Schattens, der auf einen kürzeren Kanal hinweist, angetroffen werden kann (*Abb. 4;* 56). Der scharfe Rand und das zugespitzte Ende des Sichelfortsatzes geben einen charakteristischen Schatten, dessen Ende sich im Schatten der vom Schläfenbein gebildeten Crista petroparietalis (57) fortsetzt.

Der Schatten der vom Processus tentoricus zur dorsalen Schädelhöhlenwand gehenden Crista sagittalis interna differenziert sich als obere Grenze (58) des Schädelhöhlenschattens.

Im Basalabschnitt des Processus tentoricus ist zuweilen ein foramennachahmender Schatten (*Abb. 4, 6;* 59), bei dem es sich wahrscheinlich um den der Processushöhle handelt.

Auf das schalenförmig eingedellte *Scheitelbein* fällt der transversale Hauptstrahl schräg, an die Plattenfläche, so daß kein für die Form des dünnen, lamellären Knochens charakteristischer Schatten entsteht. Sein additionaler Schatten begrenzt oben mit einem etwa 10 mm breiten Streifen (60) und einer außen und innen scharfen Kontur die Schädelhöhle.

Der vom Processus tentoricus kranioventral verlaufende und als Stütze der Crista petrosa dienende untere, scharfe, kammartige Scheitelbeinrand trägt zur Bildung der Grenze der hinteren und mittleren Schädelgrube bei. Der hintere Rand kann längs des Margo occipitalis, der Verwachsungsstelle des Scheitelbeins (Os interparietale) und des Hinterhauptbeins entsprechend, als eine mehr oder minder ausgeprägte, zickzackförmige, dunkle Schattenlinie (61) wahrgenommen werden. Das plattenähnliche Scheitelbein ist den Impressionen entsprechend einmal dünner, ein andermal dicker; es erscheint im Schatten der Schädelhöhle mit verschwommener Grenze in Form hellerer und dunklerer Schattenflecke. Deutlich läßt sich dies auch an der in der Medianebene zersägten Schädelwand feststellen, wenn wir sie gegen das Licht halten. Spuren der Foveolae granulares (Pacchioni) sind nicht zu sehen.

Der Schatten der Pars nasofrontalis des *Stirnbeins* erstreckt sich auf das Gebiet sowohl des Gesichts- wie Hirnschädels. Die Pars orbitalis und Pars temporalis geben, nachdem sie senkrecht zur Hauptstrahlenrichtung stehen, in Transversalrichtung keinen bezeichnenden Schatten. In den Schatten der dorsalen Schädeldachwand wird der der Crista frontalis externa (Linea temporalis) projiziert (*Abb. 4;* 62).

Die Außenfläche der Pars nasofrontalis bildet eine schwach gewölbte Konturlinie (63). Der additionale Schatten der Lamina externa (64) deutet auf eine dickere Lamelle. Diese und die Lamina interna (65, 66) schließen die Grenze der Stirnhöhle im spitzen Winkel.

Die Stirnhöhle erstreckt sich auf etwa 1/5 des Schädeldaches; ihr länglicher, unregelmäßig dreieckiger Schatten (67) wird von mehreren Septum transversum und obliquum (68) aufgeteilt. In den Schatten wird ventral der bogenförmige obere Rand des Anulus orbitalis hineinprojiziert, und hier entsteht eine scharfe Konturlinie (*Abb. 5, 6;* 69). Die Lamina interna (66) bildet an der Nasenhöhlenbasis auch das Dach des oberen Nasenganges oder der Riechregion (54b). Der Schatten des hinteren Höhlenabschnitts ist heller und enthält weniger Septen als der vordere Höhlenabschnitt.

Der Stirnhöhlenschatten setzt sich nasoventral im Schatten der Kieferbeinhöhle sowie der oberen Nasenmuschelhöhle fort. Der Aditus frontoconchalis und Aditus frontomaxillaris treten in transversaler Strahlenrichtung nicht deutlich hervor.

Den Processus zygomaticus trifft der Hauptstrahl schräg auf die Fläche, sein Schatten (50) bildet daher einen schmaleren Streifen. Das Foramen supraorbitale ist in der Aufnahme nicht immer zu sehen. Die Wurzel des Processus zygomaticus gibt einen dunklen Schatten. Der Margo supraorbitalis (69, 70) bildet einen regelmäßigen Bogen, an dessen Vorderende der Schatten der vom Tränenbein gebildeten Fossa sacci lacrimalis (71; s. dort) erscheint, von dem aus auch der Canalis lacrimalis osseus (72) verfolgt werden kann.

Der hintere Rand des Processus zygomaticus, Margo temporalis (70a), bildet die vordere, scharfe Grenze des Schattens der Fossa temporalis.

Die Verknöcherungsstelle des Processus zygomaticus vom Stirnbein und Schläfenbein erscheint mit dem Schläfenbein (73) sowie mit dem Jochbein (*Abb. 5;* 73a) deutlich.

Die lamelläre Pars orbitalis wird vom Hauptstrahl senkrecht getroffen, weshalb sich ihr Schatten nicht klar differenziert; mitunter tritt auch der Schatten des Foramen ethmoideum (*Abb. 4, 5;* 74) nahe dem Jochbein hervor.

Das *Schläfenbein* bildet die Seitenwand der Schädelhöhle und wird daher vom Hauptstrahl senkrecht getroffen. Von der Schläfenbeinschuppe ist hauptsächlich der Schatten des S-förmigen Processus zygomaticus (51) deutlich im Röntgenbild zu beobachten; die anderen Abschnitte geben lediglich einen nicht begrenzbaren, spongiösen Schatten. Die Grenzlinie des die Schläfengrube

von außen begrenzenden oberen, scharfen Randes, Crista temporalis, tritt ausgeprägt zutage (75). Nach vorn zu geht der Processus zygomaticus des Stirnbeins in den Margo temporalis (70a), nach hinten in die Linea nuchalis superior (17) über. Da der Jochfortsatz nahe dem oberen Rand dünner ist als längs des unteren Randes, erscheint sein Schatten am unteren Teil dunkler.

Sein gut begrenzter unterer Rand (76) setzt sich nach vorn im unteren Rand des Processus temporalis des Jochbeins fort (77). Am unteren Rand sind aboral die Schatten des an der Bildung des Kiefergelenks teilnehmenden Tuberculum articulare (78), der Fossa mandibularis (79) und des Processus retroarticularis (80) sehr deutlich zu sehen. In *Abb. 5* erscheinen auch die Schatten des Tuberculum articulare sowie des medialen Randes der Fossa mandibularis (78a, 79a). Die Oberfläche des Tuberculum articulare ist gewölbt, die dahinter gelegene Fossa mandibularis gibt eine konkave Grenzlinie; hinter dieser, unmittelbar vor dem Felsenbeinschatten, sieht man den spitz endenden Schatten des Processus retroarticularis.

Die spongiöse Struktur des Jochfortsatzes ist klar zu erkennen, die Balken der Spongiosa breiten sich über dem Tuberculum articulare nach oben fächerartig auseinander; es handelt sich um feine radiäre Knochenbalken, die durch weniger hervortretende zirkuläre Balken verbunden sind. Von der Fossa mandibularis gehen ebenfalls feine Knochenbalken aus, die gleichfalls nach oben auseinandergehend verlaufen.

Der Schatten des Processus aboralis s. occipitalis sowie der Incisura otica geht in dem erheblich kompakteren, dunkleren Felsenbeinschatten verloren; in *Abb. 5* tritt er teilweise hervor (80a).

Im Processus zygomaticus verläuft ein verschwommen begrenzter, dunkler, bogenförmig-konkaver Schattenstreifen (81) kaudodorsal vom Schatten des Tuberculum articulare zum Processus aboralis s. occipitalis. Diesen bildet längs dieses Streifens der additionale Schatten des dickeren Processus zygomaticus.

Nahe dem Treffpunkt des Schläfen-, Scheitel- und Hinterhauptbeins ist die Schädelhöhlenwand sehr dünn; dementsprechend sehen wir einen hellen, aufgelockerten Schatten (s. oben); hier befindet sich der Meatus temporalis (33), der Processus tentoricus sowie der spongiöse Teil der Pars petrosa der Felsenbeinpyramide (82).

Der Processus zygomaticus des Schläfenbeins ist, vorn zugespitzt, zwischen den Processus temporalis des Jochbeins und den Processus zygomaticus des Stirnbeins eingekeilt und mit diesen verwachsen; seine spongiöse Struktur sowie die Berührungslinie (73, 73a) treten im Röntgenbild deutlich in Erscheinung (s. oben).

Die massive Felsenbeinpyramide gibt einen dunklen Schatten, so daß seine Struktur größtenteils nicht hervortritt; lediglich die Apex posterosuperior partis petrosae der Pars petrosa (82) besitzt ausgesprochen spongiöse Struktur.

Zur Mitte hin sieht man den Schatten des Meatus acusticus internus (83). In der Aufnahme ist das Bild des Felsenbeins unterexponiert, da es angesichts seiner Kompaktheit eine längere Expositionszeit erfordert hätte als die anderen Schädelknochen; darüber hinaus werden die Schatten der beiden Felsenbeinpyramide in transversaler Strahlenrichtung fast ganz ineinander projiziert, weshalb ihre Struktur nicht deutlich in Erscheinung tritt. Die Höhle der Pars tympanica, die dünne knöcherne Lamelle ihrer Wand sind im kranioventralen Teil des Felsenbeinschattens gut zu sehen (84); im Schatten erscheint die gefächerte Struktur, Cellulae tympanicae; besonders deutlich tritt somit das Cavum hypotympanicum hervor. Den langen, zugespitzten Schatten des Processus muscularis (11) sieht man gleichfalls.

LITERATUR

ALKNIS, A.: Acta Univ. Latviensis **II** (1938), 1. BOUWERS, A.: Röntgenblätter, 1962, 81—87. GERTNER, M.: Az Agrártudományi Egyetem Mezőgazdaságtudományi Karának Közleményei, 1962. IDEM: Inaug. Diss. Gödöllő, 1962. GÜHRING, R.: Inaug. Diss. Leipzig, 1956. HARE, W. E.: JAVMA **134** (1959), 349—356. IDEM: Ibidem **134** (1959), 305—310. HASSELWANDER, A.: Ergenz. zum. **83** (1936/37) des Anat. Anz. 128—129. IDEM: Bildmessung und Luftbildwesen, 1934. HOERLEIN, B. F.: Clinical spinal radiography in the dog. JAVMA **134** (1959), 343—348. HOJOVEC, J. und KRAL, V.: Zbornik VŠZL Řada B. Spisy veterinárni **X** (1962). KOVÁCS, GY.: Acta Vet. Hung. **IV** (1954), 147—182. IDEM: Ibidem **IX** (1959), 297—315. KÖHLER, A.: Grenzen des Normalen und Anfänge des Pathologischen im Röntgenbilde. Leipzig, 1928. MENSCHAN, I.: An Atlas of Normal Radiographic Anatomy. Philadelphia and London, 1959. MÜLLER, G.: Normale und chirurgisch-pathologische Röntgenbilder vom Pferde. Leipzig, 1940. NAGY, D.: Röntgenanatomia, Budapest, 1951. POBISCH, R.: Berl. u. Münch. Tierärztl. Wochenschr., 1959, 298—300. SCHALLER, O.: Acta Anatomica **XVII** (1953), 273—347. IDEM: Wiener Tierärztl. Monatschr., 1963, 145—156. SCHEBITZ, H.: Tierärztl. Umschau, 1960, 147—150. SCHEBITZ, H. und ENGELHARDT, F.: Tierärztliche Umschau, 1963, 416—418. SCHEBITZ, H. und WEBER, H.: Deutsch. Tierärztl. Wochenschr., 1963, 450—452. SCHLAAF, S.: Monatshefte f. Vet. Med., 1963, 510. SCHMIDT, G.: Inaug. Diss. Hannover, 1960. SCHNITZLEIN, W.: Deutsche Tierärztl. Wochenschr. 1960, 155—158. SCHÜLLER, A.: Inaug. Diss. Leipzig, 1954. WALTER, P.: Tierärztliche Umschau, 1958, 201—206. IDEM: Anat. Anz. **103** (1956), 38—56. WERNICHE, J.: Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde **53** (1925), 404—427. YAGI, S.: J. Oral Anat. **19** (1961), 233—248.

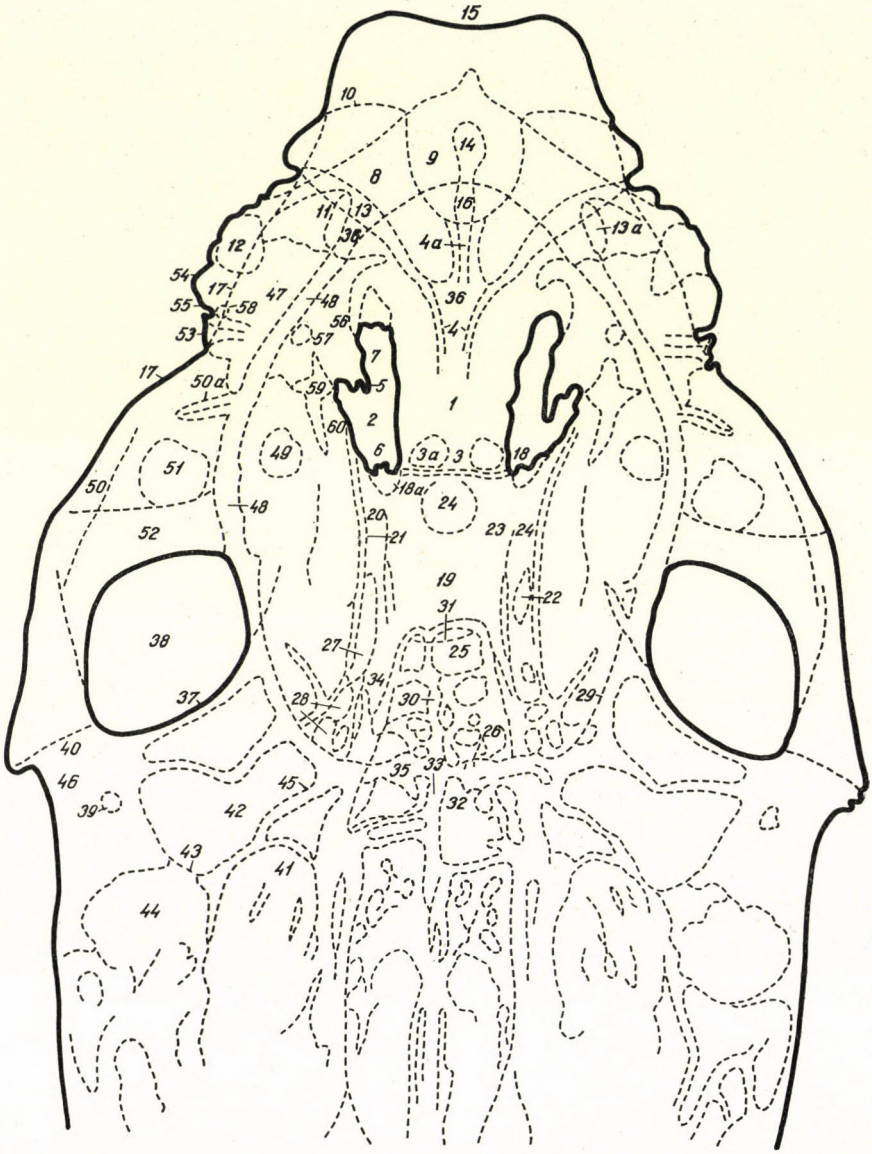

15
10
14
9
8
16
11
13
36
4a
13a
12
54
17
47
48
36
55
58
56
4
53
57
7
17
50a
59
5
1
60
2
6
3a
3
18
49
51
18a
24
50
48
20
21
23
24
52
19
22
31
38
27
25
34
37
28
30
29
26
40
35
33
46
45
32
39
42
43
41
44

Abb. 1

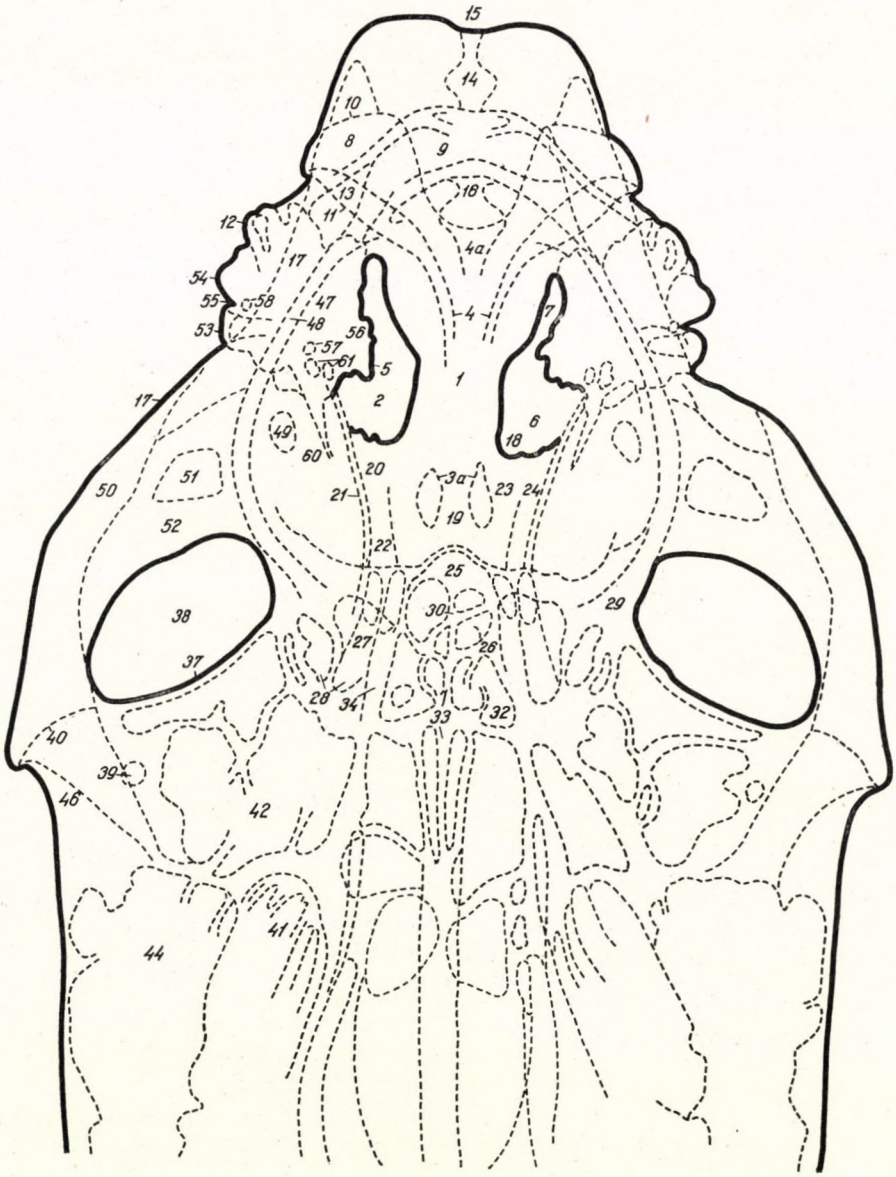

15
14
10
8
9
13
18
11
12
4a
17
54
55
58
47
4
7
53
48
56
57
61
5
1
17
2
6
49
60
18
20
3a
50
51
21
23
24
52
19
22
25
38
30
29
27
26
37
28
34
33
32
40
39
46
42
41
44

Abb. 2

15
14
10
8
9
16
11
13
12
54
47
4
7
55
56
61
53
59
5
1
2
6
18
48
49
18a
3
51
3a
23
24
50
20
19
21
52
22
25
38
30
26
29
28
34
37
35
33
40
39
45
42
46
41
44

Abb. 3

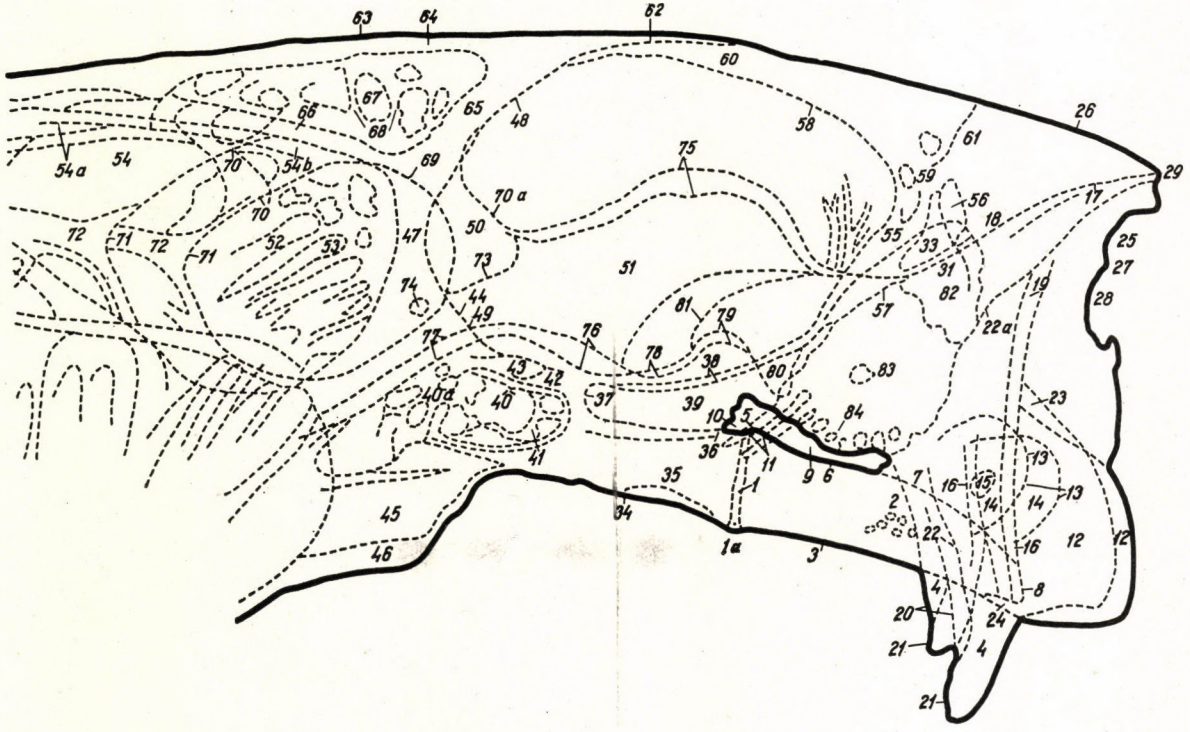

63
64
62
60
26
29
54a
54
70
54b
69
67
68
65
48
58
61
75
59
56
17
18
25
27
28
72
71
72
71
52
53
47
50
70a
73
51
55
33
31
82
19
22a
74
44
49
81
79
57
77
76
78
38
80
83
43
42
40a
40
37
39
10
5
84
23
36
11
9
6
13
41
35
1
7
16
15
14
13
14
45
34
2
22
16
12
12
46
1a
3
4
8
20
24
21
4
21

Abb. 4

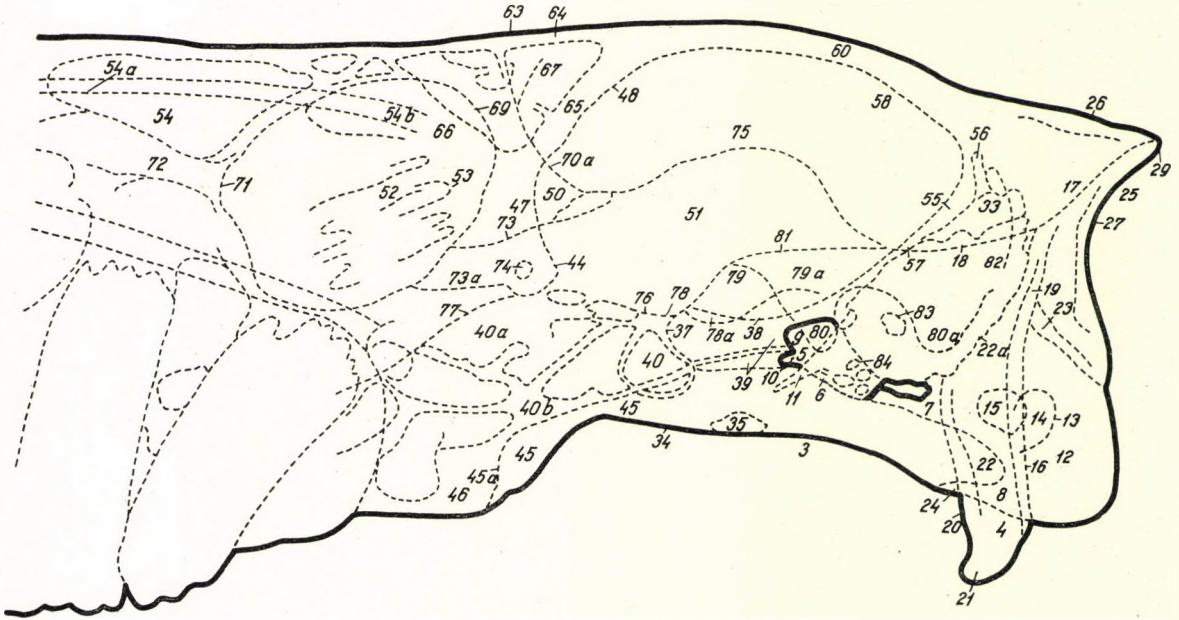

63
64
60
54a
67
48
58
26
54
54b
69
65
66
75
56
29
72
71
70a
53
52
47
50
51
55
33
17
25
73
27
81
74
44
57
18
82
73a
79
79a
19
76
78
83
23
77
40a
37
78a
38
9
80
80a
22a
5
84
40
39
10
11
6
7
15
14
13
40b
45
35
34
3
45
22
16
12
45a
8
46
24
20
4
21

Abb. 5

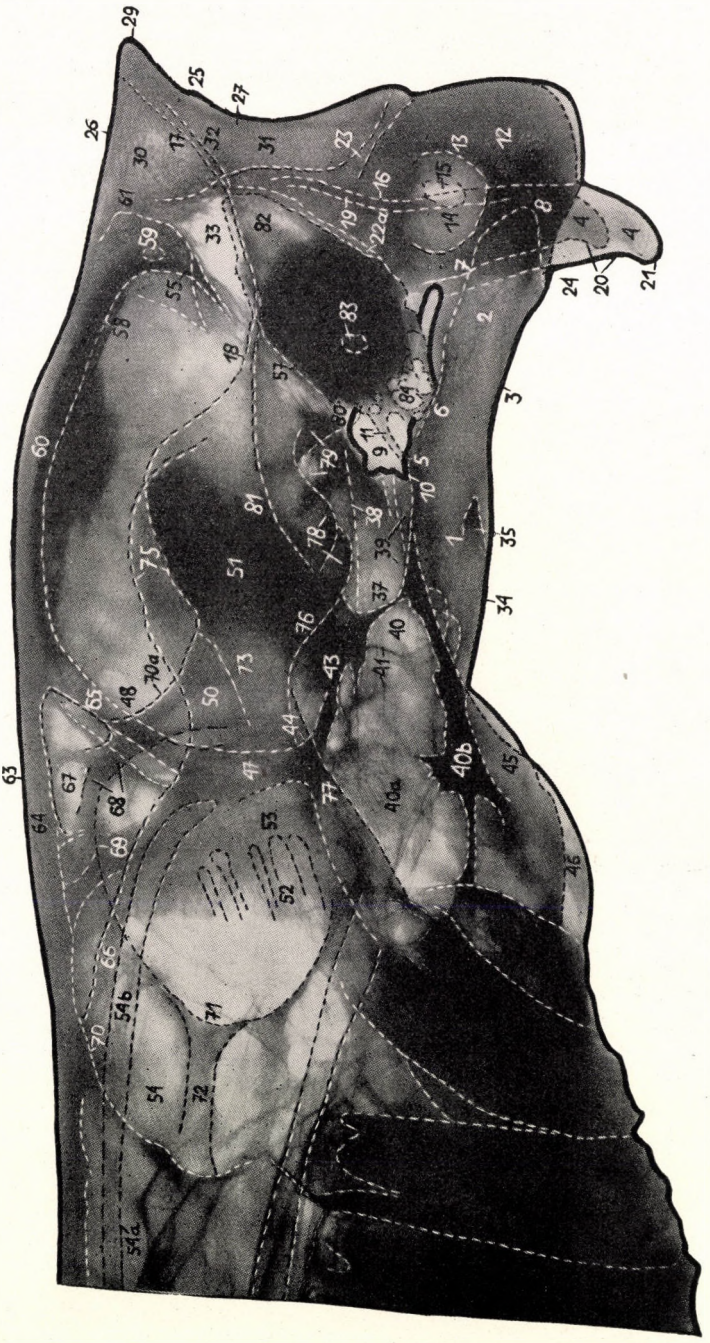


Abb. 6

ABBILDUNGEN

Abb. 1. Röntgenkonturzeichnung von den Hirnschädelknochen des Pferdes (dorsoventrale Strahlenrichtung). 1, basioccipitale s. pars basialis ossis occipitalis; 2, foramen lacerum; 3, synostosis sphenoccipitalis; 3a, tuberculum musculare; 4, jugum basioccipitale; 4a, incisura intercondylica; 5, pars petrosa ossis temporalis; 6, foramen lacerum orale; 7, foramen lacerum aborale; 8, condyli occipitales; 9, foramen occipitale; 10, jugum condyli occipitalis; 11, margo lateralis condyli occipitalis; 12, processus jugularis; 13, fossa condylica ventralis; 13a, foramen hypoglossi; 14, protuberantia occipitalis externa; 15, linea nuchalis superior; 16, crista sagittalis externa et interna; 17, linea temporalis; 18, incisura carotica; 18a, pars tenuis alae temporalis ossis sphenoidis; 19, corpus ossis sphenoidis; 20, ala temporalis ossis sphenoidis; 21, crista alisphenoidea; 22, foramen alare aborale; 23—24, sulci nervorum; 25, sinus sphenoideus; 26, meatus ethmoidei; 27, canalis alaris; 28, foramen opticum, fissura orbitalis, foramen rotundum et foramen alare orale; 29, paries orolateralis cavi cranii; 30, septum sinuum sphenoideorum; 31, sulcus chiasmatis; 32, sinus palatinus; 33, lamina perpendicularis ossis ethmoidei; 34, processus pterygoideus ossis sphenoidei; 35, lamina cribriformis ossis ethmoidei; 36, processus tentoricus ossis interparietalis; 37, margo temporalis processus zygomatici ossis frontalis; 38, fossa temporalis; 39, foramen supraorbitale; 40, facies medialis processus zygomatici; 41, dens molaris III; 42, pars craniolateralis sinus frontalis; 43, aditus frontomaxillaris; 44, sinus maxillaris major; 45, lamina externa ossis ethmoidei; 46, processus temporalis ossis zygomatici; 47, »os petrosum« (Felsenbeinpyramide); 48, squama occipitalis; 49, pars parietis cranii; 50, processus zygomaticus ossis temporalis; 50a, processus retroarticularis; 51, fossa mandibularis; 52, tuberculum articulare; 53, meatus acusticus externus osseus; 54, processus aboralis ossis temporalis; 55, limen inter processum abor. ossis temporalis et meatum acust. ext.; 56, facies cerebralis partis petrosae ossis temporalis; 57, porus acusticus internus et meatus acusticus internus; 58, foramen stylomastoideum; 59, tuba pharyngotympanica ossea *(Eustachii)* ; 60, processus muscularis

Abb. 2. Röntgenkonturzeichnung von den Hirnschädelknochen des Pferdes (dorsoventrale Strahlenrichtung). 1, basioccipitale s. pars basialis ossis occipitalis; 2, foramen lacerum; 3, 3a, tuberculum musculare; 4, jugum basioccipitale; 4a, incisura intercondylica; 5, pars petrosa ossis temporalis; 6, foramen lacerum orale; 7, foramen lacerum aborale; 8, condyli occipitales; 9, foramen occipitale; 10, jugum condyli occipitalis; 11, margo lateralis condyli occipitalis; 12, processus jugularis; 13, fossa condylica ventralis; 14, protuberantia occipitalis externa; 15, linea nuchalis superior; 16, crista sagittalis externa et interna; 17, linea temporalis; 18, incisura carotica; 19, corpus ossis sphenoidis; 20, ala temporalis ossis sphenoidis; 21, crista alisphenoidea; 22, foramen alare aborale; 23—24, sulci nervorum; 25, sinus sphenoideus; 26, meatus ethmoidei; 27, canalis alaris; 28, foramen opticum, fissura orbitalis, foramen rotundum et foramen alare orale; 29, paries orolateralis cavi cranii; 30, septum sinuum sphenoideorum; 31; 32, sinus palatinus; 33, lamina perpendicularis ossis ethmoidei; 34, processus pterygoideus ossis sphenoidei; 35; 36; 37, margo temporalis processus zygomatici ossis frontalis; 38, fossa temporalis; 39, foramen supraorbitale; 40, facies medialis processus zygomatici; 41, dens molaris III; 42, pars craniolateralis sinus frontalis; 43—; 44, sinus maxillaris major; 45—; 46, processus temporalis ossis zygomatici; 47, »os petrosum« (Felsenbeinpyramide); 48, squama temporalis; 49, pars parietis cranii; 50, processus zygomaticus ossis temporalis; 51, fossa mandibularis; 52, tuberculum articulare; 53, meatus acusticum externus osseus; 54, processus aboralis ossis temporalis; 55, limen inter processum abor. ossis temporalis et meatum acust. ext.; 56, facies cerebralis partis petrosae ossis temporalis; 57, porus acusticus internus et meatus acusticus internus; 58, foramen stylomastoideum; 59; 60, processus muscularis; 61, cellulae tympanicae

Abb. 3. Röntgenbild (mit Konturzeichnung) der Hirnschädelknochen des Pferdes (dorsoventrale Strahlenrichtung). 1, basioccipitale s. pars basialis ossis occipitalis; 2, foramen lacerum; 3, synostosis sphenoccipitalis; 3a, tuberculum musculare; 4, jugum basioccipitale; 4a—; 5, pars petrosa ossis temporalis; 6, foramen lacerum orale; 7, foramen lacerum aborale; 8, condyli occipitales; 9, foramen occipitale; 10, jugum condyli occipitalis; 11, margo lateralis condyli occipitalis; 12, processus jugularis; 13, fossa condylica ventralis; 14, protuberantia occipitalis externa; 15, linea nuchalis superior; 16, crista sagittalis externa et interna; 17, linea temporalis; 18, incisura carotica; 18a, pars tenuis alae temporalis ossis sphenoidis; 19, corpus ossis sphenoidis; 20, ala temporalis ossis sphenoidis; 21, crista alisphenoidea; 22, foramen alare aborale; 23—24, sulci nervorum; 25, sinus sphenoideus; 26, meatus ethmoidei; 27; 28, foramen opticum, fissura orbitalis, foramen rotundum et foramen alare orale; 29; 30, septum sinuum sphenoideorum; 31—; 32—; 33, lamina perpendicularis ossis ethmoidei; 34, processus pterygoideus ossis sphenoidei; 35, lamina cribriformis ossis ethmoidei; 36—; 37, margo temporalis processus zygomatici ossis frontalis; 38, fossa temporalis; 39, foramen supraorbitale; 40, facies medialis

processus zygomatici; 41, dens molaris III; 42, pars craniolateralis sinus frontalis; 43—; 44, sinus maxillaris major; 45, lamina externa ossis ethmoidei; 46, processus temporalis ossis zygomatici; 47, »os petrosum« (Felsenbeinpyramide); 48, squama temporalis; 49, pars parietis cranii; 50, processus zygomaticus ossis temporalis; 50a—; 51, fossa mandibularis; 52, tuberculum articulare; 53, meatus acusticus externus osseus; 54, processus aboralis ossis temporalis; 55, limen inter processum abor. ossis temporalis et meatum acust. ext.; 56, facies cerebralis partis petrosae ossis temporalis; 57—; 58—; 59, tuba pharyngotympanica ossea *(Eustachii)*; 60, processus muscularis; 61, cellulae tympanicae

Abb. 4. Röntgenkonturzeichnung von den Hirnschädelknochen des Pferdes (transversale Strahlenrichtung). 1, synostosis sphenoccipitalis; 1a, synostosis sphenoccipitalis; 2, cellulae medullares; 3, limen externus corporis ossis occipitalis; 4, processus jugularis; 5, crista sphenoccipitalis; 6, fossa pontis; 7, facies cerebralis basioccipitalis; 8, conus basioccipitalis; 9, foramen lacerum; 10, incisura carotica; 11, processus muscularis ossis temporalis; 12, condyli occipitales; 13, linea terminalis condyli occipitalis; 14, fossa condylica ventralis; 15, foramen hypoglossi; 16, limen posterius processus jugularis; 17, linea nuchalis superior; 18, crista temporalis; 19, jugum jugulare; 20, limen anterius processus jugularis; 21, angulus terminalis processus jugularis; 22, crista processus jugularis; 22a, sutura petrooccipitalis; 23, fossa condylica dorsalis; 24, incisura intercondylica; 25, squama occipitalis; 26, pars parietalis squamae occipitalis; 27, pars nuchalis squamae occipitalis; 28, fossa nuchalis; 29, umbra additionalis lineae nuchalis superioris; 30—; 31—; 32—; 33, umbra regionis meatus temporalis; 34, limen externus basisphenoidis; 35, tubercula muscularia; 36, dorsum sellae; 37, foramen opticum et fissura orbitalis; 38, linea inter sulcos; 39, sulci nervorum; 40, sinus sphenoideus; 40a, sinus palatinus; 41, septa sinus sphenoidis; 42, canalis opticus; 43, pars sinus sphenoidis; 44, rostrum sphenoideum et crista galli; 45—46, processus pterygoideus ossis sphenoidis; 47, lamina cribriformis ossis ethmoidei; 48, paries dorsalis cavi cranii; 49, paries ventralis cavi cranii; 50, processus zygomaticus ossis frontalis; 51, processus zygomaticus ossis temporalis; 52, ethmoturbinalia; 53, meatus ethmoidei; 54, sinus conchae nasi dorsalis; 54a, margo superior conchae nasi dorsalis; 54b, meatus nasi dorsalis; 55, processus tentoricus; 56, sulcus transversus; 57, crista petroparietalis; 58, crista sagittalis interna; 59, umbra foraminis; 60, paries dorsalis cavi cranii; 61, sutura occipitointerparietalis; 62, crista frontalis externa s. semicircularis; 63, pars nasofrontalis ossis frontalis; 64, lamina externa ossis frontalis; 65—66, lamina interna ossis frontalis; 67, sinus frontalis; 68, septa transversa et obliqua sinus frontalis; 69, anulus orbitalis; 70, margo supraorbitalis; 70a, margo temporalis processus zygomatici ossis frontalis; 71, fossa sacci lacrimalis; 72, canalis lacrimalis osseus; 73, sutura temporofrontalis; 74, foramen ethmoideum; 75, crista temporalis; 76, margo inferior processus zygomatici ossis temporalis; 77, margo inferior processus temporalis ossis zygomatici; 78, tuberculum articulare; 79, fossa mandibularis; 80, processus retroarticularis; 81, umbra additionalis processus zygomatici; 82, pars petrosa ossis temporalis; 83, meatus acusticus internus; 84, pars tympanica ossis temporalis

Abb. 5. Röntgenkonturzeichnung von den Hirnschädelknochen des Pferdes (transversale Strahlenrichtung). 1—; 2—; 3, limen externus corporis ossis occipitalis; 4, processus jugularis; 5, crista sphenoccipitalis; 6, fossa pontis; 7, facies cerebralis basioccipitalis; 8, conus basioccipitalis; 9, foramen lacerum; 10, incisura carotica; 11, processus muscularis ossis temporalis; 12, condyli occipitales; 13, linea terminalis condyli occipitalis; 14, fossa condylica ventralis; 15, foramen hypoglossi; 16, limen posterius processus jugularis; 17, linea nuchalis superior; 18, crista temporalis; 19, jugum jugulare; 20, limen anterius processus jugularis; 21, angulus terminalis processus jugularis; 22, crista processus jugularis; 22a, sutura petrooccipitalis; 23, fossa condylica dorsalis; 24, incisura intercondylica; 25, squama occipitalis; 26, pars parietalis squamae occipitalis; 27, pars nuchalis squamae occipitalis; 28—; 29, umbra additionalis lineae nuchalis superioris; 30—; 31—; 32—; 33, umbra regionis meatus temporalis; 34, limen externus basisphenoidis; 35, tubercula muscularia; 36—; 37, foramen opticum et fissura orbitalis; 38, linea inter sulcos; 39, sulci nervorum; 40, sinus sphenoideus; 40a, sinus palatinus; 41—; 42—; 43—; 44, rostrum sphenoideum et crista galli; 45—46, processus pterygoideus ossis sphenoidis; 45a, processus pterygoideus ossis palatini; 47, lamina cribriformis ossis ethmoidei; 48, paries dorsalis cavi cranii; 49—; 50, processus zygomaticus ossis frontalis; 51, processus zygomaticus ossis temporalis; 52, ethmoturbinalia; 53, meatus ethmoidei; 54, sinus conchae nasi dorsalis; 54a, margo superior conchae nasi dorsalis; 54b, meatus nasi dorsalis; 55, processus tentoricus; 56, sulcus transversus; 57, crista petroparietalis; 58, crista sagittalis interna; 59—; 60, paries dorsalis cavi cranii; 61—; 62—; 63, pars nasofrontalis ossis frontalis; 64, lamina externa ossis frontalis; 65—66, lamina interna ossis frontalis; 67, sinus frontalis; 68—; 69, anulus orbitalis; 70—; 70a, margo temporalis processus zygomatici ossis frontalis; 71, fossa sacci lacrimalis; 72, canalis lacrimalis osseus; 73, sutura temporofrontalis; 73a, sutura zygomaticofrontalis; 74, foramen ethmoideum; 75, crista temporalis; 76, margo inferior processus zygomatici ossis temporalis; 77, margo inferior processus temporalis ossis

zygomatici; 78, tuberculum articulare; 78a, margo med. et lat. tuberculi articularis; 79, fossa mandibularis; 79a, margo med. et lat. fossae mandibularis; 80, processus retroarticularis; 80a, processus aboralis s. occipitalis et incisura otica; 81, umbra additionalis processus zygomatici; 82, pars petrosa ossis temporalis; 83, meatus acusticus internus; 84, pars tympanica ossis temporalis

Abb. 6. Röntgenbild (mit Konturzeichnung) der Hirnschädelknochen des Pferdes (transversale Strahlenrichtung). 1, synostosis sphenoccipitalis; 1a—; 2, cellulae medullares; 3, limen externus corporis ossis occipitalis; 4, processus jugularis; 5, crista sphenoccipitalis; 6, fossa pontis; 7, facies cerebralis basioccipitalis; 8, conus basioccipitalis; 9, foramen lacerum; 10, incisura carotica; 11, processus muscularis ossis temporalis; 12, condyli occipitales; 13, linea terminalis condyli occipitalis; 14, fossa condylica ventralis; 15, foramen hypoglossi; 16, limen posterius processus jugularis; 17, linea nuchalis superior; 18, crista temporalis; 19, jugum jugulare; 20, limen anterius processus jugularis; 21, angulus terminalis processus jugularis; 22, crista processus jugularis; 22a, sutura petrooccipitalis; 23, fossa condylica dorsalis; 24, incisura intercondylica; 25, squama occipitalis; 26, pars parietalis squamae occipitalis; 27, pars nuchalis squamae occipitalis; 28—; lin. nuch. sup; 30—31—32, trabeculae osseae squamae occipitalis; 33, umbra regionis meatus temporalis; 34, limen externus basisphenoidis; 35, tuberculi musculares; 36—; 37, foramen opticum et fissura orbitalis; 38, linea inter sulcos; 39, sulci nervorum; 40, sinus sphenoideus; 40a, sinus palatinus; 40b, umbra additionalis ossium; 41, septa sinus sphenoidis; 42—; 43, pars sinus sphenoidis; 44, rostrum sphenoideum et crista galli; 45—46, processus pterygoideus ossis sphenoidis; 45a, processus pterygoideus ossis palatini; 47, lamina cribriformis ossis ethmoidei; 48, paries dorsalis cavi cranii; 49—; 50, processus zygomaticus ossis frontalis; 51, processus zygomaticus ossis temporalis; 52, ethmoturbinalia; 53, meatus ethmoidei; 54, sinus conchae nasi dorsalis; 54a, margo superior conchae nasi dorsalis; 54b, meatus nasi dorsalis; 55, processus tentoricus; 56—; 57, crista petroparietalis; 58, crista sagittalis interna; 59, umbra foraminis; 60, paries dorsalis cavi cranii; 61, sutura occipitointerparietalis; 62—; 63, pars nasofrontalis ossis frontalis; 64, lamina externa ossis frontalis; 65—66, lamina interna ossis frontalis; 67, sinus frontalis; 68, septa transversa et obliqua sinus frontalis; 69, anulus orbitalis; 70—; 70a, margo temporalis processus zygomatici ossis frontalis; 71, fossa sacci lacrimalis; 72, canalis lacrimalis osseus; 73, sutura temporofrontalis; 73a—; 74—; 75, crista temporalis; 76, margo inferior processus zygomatici ossis temporalis; 77, margo inferior processus temporalis ossis zygomatici; 78, tuberculum articulare; 78a, margo med. et lat. tuberculi articularis; 79, fossa mandibularis; 79a, margo med. et lat. fossae mandibularis; 80, processus retroarticularis; 80a—; 81, umbra additionalis processus zygomatici; 82, pars petrosa ossis temporalis; 83, meatus acusticus internus; 84, pars tympanica ossis temporalis

Printed in Hungary

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója Műszaki szerkesztő: Farkas Sándor

A kézirat nyomdába érkezett: 1964. IV. 27. — Terjedelem: 8,75 (A/5) ív, 14 ábra

64.58817 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

ACTA VETERINARIA
ТОМ XIV — ВЫП. 3

РЕЗЮМЕ

ШТАММЫ АДЕНОВИРУСОВ ИЗ ТЕЛЯТ, БОЛЬНЫХ ПОНОСОМ

А. БАРТА и П. АЛДАШИ

Из телят, страдающих от вирусного поноса, в тканевой культуре телятиных семенников удалось изолировать три вирусных штамма, которые по авторам принадлежат в группу аденовирусов. Изолированные вирусные штаммы кроме телятиных семенников в других клетках и тканевых культурах не размножались. В эпителиальных клетках телятиных семенников вирус образовал характерное ацидофильное ядерное включение. В этих культурах вирус размножался слабо, его титер колебался в пределах 10^3—10^4. Вирусные штаммы оказались устойчивыми к хлороформу, лучше среднего переносили воздействие высшими температурами. У вируса нет общего антигена с аденовирусами человека. Изолированные вирусные штаммы при искусственном заражении ими телят и других экспериментальных животных не вызывали заболевания. Это однако не исключает той возможности, что они при определенных условиях могут вызвать патологические изменения.

ДВА НОВЫХ ВИДА МОНОГЕНЕТИЧЕСКИХ СОСАЛЬЩИКОВ

К. МОЛНАР

Дается описание двух новых видов моногенетических сосальщиков. Один из них **Dactylogyrus ergensi sp. n.** — обнаружен на жабрах **Chondrosoma nasus**, другой — **Gyrodactylus hungaricus sp. n.** —на жабрах **Umbra krameri**. На основании формы кручьев **Dactylogyrus ergensi sp. n.** легко отличим от других, близких ему видов, от **Dactylogyrus nybelini** же он отличается формой копулятивного органа. Существенно отличаются своим строением и кручья **Gyrodactylus hungaricus sp. n.** от кручьев других видов рода **Gyrodactylus.**

ОРГАНИЗАЦИЯ БОРЬБЫ С ЛЕЙКОЗОМ КУР В ВЕНГРИИ

К. БАМБЕРГЕР

Описываются литературные данные и применявшиеся в Венгрии методы борьбы с лейкозом.

Данные наблюдений автора подтверждают воззрение, согласно которому потери от лейкоза в данном поголовье зависят в основном от четырех факторов: 1, от наследственной сопротивляемости животных, 2, от возраста животных в момент заражения, 3, от интенсивности заражения и 4, от условий кормления.

Автор подчеркивает, что в данном стаде, где племенная работа базируется на комплектовании стада цыплятами от молодых несушек, как правило, с года в год повышаются потери от лейкоза. Рост потерь выражает формула $Y = Y_0 \cdot a^x$. Значение «а» формулы изменчиво и зависит от условий содержания, именно, от способа изоляции цыплят и от того, в каком возрасте попадают несушки в племенное стадо (х—годы, у—количество падежей в %-ах на стадо, Y_0—количество падежей в год перед годичным комплектованием племенного стада).

Повышение количества падежей от лейкоза можно профилактировать путем тщательной изоляции молодых животных и комплектованием стада цыплятами только от

несушек старше года. В таких случаях значение «а» формулы равняется 1, повышения потерь нет.

Этот способ борьбы не влечет за собой экономического ущерба, ибо яица несушек моложе года можно использовать для комплектования стад хозяйств, выращивающих птицу на мясо.

ДАННЫЕ К СНАБЖЕНИЮ КАРОТИНОМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Л. УРБАНИ

Изучено содержание каротина сыворотки 1139 коров 88 хозяйств, чтобы получить данные о колебании его по отдельным месяцам при обычных в стране условиях кормления.

Обнаружено, что содержание каротина в сыворотке коров равняется в среднем 507 γ%-ам, тогда как средние помесячные данные колебались в пределах 137 и 1082 γ%. Значения зимних месяцев были наинизшими. В это время индивидуальные значения показывают очень широкий диапазон колебания — 0 и 625 γ%, но максимумы никогда не были меньше 200 γ%. Наблюдающееся колебание содержания каротина обусловливается содержанием каротина в скармливаемых кормах.

Содержание каротина в сыворотке коров кульминирует (236—1257 γ% в среднем) во время скармливания зеленых кормов. Стебель заблаговременно убранной кукурузы, зимой же кукурузный силос и силосованный стебель кукурузы обеспечивают потребность в каротине, если эти корма скармливаются ежедневно в количестве 20—25 кг-ов. Если животным обеспечивают меньше силосованного стебля, дальше, при обеспечении им 3—4 кг-а сена или соломы или стебля кукурузы (поздно убранного), животные будут нуждаться в каротине. Поэтому нельзя пренебрегать ресурсами каротина, имеющимися в свежеубранном стебле кукурузы и в приготовленном из него силосе.

НОВЫЕ ДАННЫЕ К РАХИТУ МОЛОДЫХ ОТКОРМОЧНЫХ БЫКОВ

Л. УРБАНИ

Как продолжение раньших исследований в 38 хозяйствах, где проводился откорм быков и где среди молодых откормочных быков очень часто наблюдались расстройства в развитии костей, автором поставлены тщательные исследования по изучению степени и причины этих расстройств. Кроме изучения условий откорма изучено 118 проб крови и 33 бедренных костей.

Выявлено, что у 40—60% молодых быков, откармливавшихся традиционным способом в условиях скотного двора, имеются расстройства в окостенении, они страдают рахитом. У бычков моложе 6 месяцев в бедренной кости наблюдалось в среднем только 77%-ное (39—97%-ное) обызвествление, у бычков старшего возраста — в среднем 62%-ное (32—97%-ное) обызвествление.

Массовое расстройство можно ликвидировать повышением количества неорганических веществ в рационе животных с одновременной дачей нужного количества витамина D через рот, дальше, содержанием животных на свежем, озаряемом солнцем месте. По сути дела так можно и профилактировать появление расстройства.

ОПЫТ АКТИВНОЙ ИММУНИЗАЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, СОБАК И НОРОК ПРОТИВ БОЛЕЗНИ АУЙЕСКИ

Я. КОЙНОК

При испытании вакцины, содержащей ослабленный вирус Ауйески (вариант К) выявлено, что она удобна для активной иммунизации крупного рогатого скота и, за малым исключением, собак. У крупного рогатого скота нужный иммунитет вырабатывается только после двух прививок, тогда как собаки становятся иммунными уже после одной прививки. Добавочная прививка усиливает напряженность иммунитета и у собак. У молодых собак иногда можно расчитывать с прививочной реакцией в виде гибели животных. Вакцина в настоящей форме не удобна для иммунизации норок.

ДИСПРОТЕИНИМИЧНЫ ЛИ АНЕМИЧНЫЕ ПОРОСЯТА

З. ХОРВАТ и Л. ПАПП

Авторами изучались белок и белковые фракции сыворотки 143 в разной степени анемичных и 61 здорового поросят для определения того, сопровождается ли анемия поросят диспротеинемией. Степень анемии поросят определялась на основании насыщенности плазмы железом (% сатурации), количества гемоглобина (г%), гематокрита и измерения промеров эритроцитов. Согласно данным (см. таблицу) между значениями всего белка и соотношениями альбумина, альфа- и гаммаглобулиновых фракций у анемичных и здоровых поросят никакой взаимосвязи не обнаружено. У анемичных поросят однако значения бета-глобулиновой фракции сыворотки были, как правило, согласно степени анемии, выше. Данные показывают, что дефицитное по железу состояние организма ведет к повышению количества бета-глобулиновой фракции, способной транспортировать железо. К 21. дню у разной степени анемичных поросят бета-глобулиновая фракция превышала эту фракцию здоровых поросят такого же возраста. Сидеропения у 10-идневных поросят обычно еще не появляется, у 50—60-идневных животных же уже не появляется в такой тяжелой форме, чтобы это вело к сигнификантному повышению количества бета-глобулина. Согласно наблюдениям авторов низкая насыщенность (% сатурации ниже 12) и высокое значение бета-глобулина указывают на дефицитное по железу состояние организма даже при нормальных значениях количества гемоглобина, гематокрита и близких нормальным промерам эритроцитов. Авторы считают, что определение бета-глобулиновых фракций помогает в диагосцировании случаев латентной сидеропении. В наблюдаемых авторами случаях анемии поросят заболевание появилось на фоне недостатка железа и в отношении альбумина, альфа и бета-глобулина не сопровождалось диспротеинемией.

ШТАММЫ РОЖИ СВИНЕЙ НОВОГО СЕРОТИПА И ИХ ЗНАЧЕНИЕ В СЕРОДИАГНОСТИКЕ БАЦИЛЛОВ РОЖИ СВИНЕЙ

ДЬ. КУЧЕРА

Из миндалин живых, иммунизированных против рожи свиней, гаптеновые экстракты изолированных трех штаммов рожи с типово-специфичными штаммами A_1, A_2, B_1, B_2, C, D и E не дали положительной реакции преципитации. При помощи одного из штаммов полученная типовая сыворотка от кролика давала реакцию преципитации только с гаптеновым экстрактом этих трех штаммов. С гаптеновым экстрактом штаммов других серотипов не получено положительной реакции преципитации. На основании данных исследований эти штаммы представляют собой новый серотип, который наиболее целесообразно обозначать буквой C.

Сказанное говорит за то, что имеется больше вариаций кислоторастворяемых антигенов бацилл рожи, как мы досели думали. На основании этого только тот штамм бацилл рожи, образующий колонии формы S, можно считать принадлежащим к типу N, о котором мы убедились, что полученная им сыворотка не преципитирует даже гомологические гаптеновые экстракты.

Автор выражает свое мнение, согласно которому бациллы рожи свиней как патогенное начало появляются как представители серотипа A и B. Кроме этого как эпифит или сапрофит обладает свойственным, растворяющимся в кислоте гаптеном.

РЕНТГЕНОАНАТОМИЯ КОСТЕЙ ЧЕРЕПА ЛОШАДИ. I

ДЬ. КОВАЧ, Л. ГЛОС и М. ГЕРТНЕР

Авторами разработана рентгеноанатомия костей черепа лошади. После постановки вопроса и литературного обзора дается техника метода. Означается направление главных лучей при приготовлении фронтальных и темпоральных снимков. Описывается рентгеноанатомия костей черепа с учетом анатомических деталей, у которых нет названия, которые однако на рентгеноснимке образуют повторяющуюся, характерную тень. Рентгеноанатомическое описание сопровождается рентгеноснимками и контурными рисунками. Зная рентгеноанатомические данные легче точно распознать изменения костей черепа.

The *Acta Veterinaria* publish papers on veterinary science in English, German, French and Russian.

The *Acta Veterinaria* appear in parts of varying size, making up volumes.

Manuscripts should be addressed to:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Correspondence with the editors and publishers should be sent to the same address.

The rate of subscription to the *Acta Veterinaria* is 110 forints a volume. Orders may be placed with "*Kultúra*" Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest I., Fő utca 32. — Account No. 43-790-057-181) or with representatives abroad.

Les *Acta Veterinaria* paraissent en français, allemand, anglais et russe et publient des travaux du domaine des sciences vétérinaires.

Les *Acta Veterinaria* sont publiés sous forme de fascicules qui seront réunis en volumes.

On est prié d'envoyer les manuscrits destinés à la rédaction à l'adresse suivante:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix d'abonnement est de 110 forints par volume.

On peut s'abonner à l'Entreprise pour le Commerce Extérieur de Livres et Journaux «*Kultúra*» (Budapest I., Fő utca 32. — Compte-courent No. 43-790-057-181) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

«*Acta Veterinaria*» публикуют трактаты из области ветеринарных наук на русском, французском, английском и немецком языках.

«*Acta Veterinaria*» выходят отдельными выпусками разного объема. Несколько выпусков составляют один том.

Предназначенные для публикации рукописи следует направлять по адресу:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

По этому же адресу следует направлять всякую корреспонденцию для редакции и администрации.

Подписная цена «*Acta Veterinaria*» — 110 форинтов за том. Заказы принимает предприятие по внешней торговле книг и газет «*Kultúra*» (Budapest I., Fő utca 32. Текущий счет № 43-790-057-181), или его заграничные представительства и уполномоченные.

26,— Ft

INDEX

BARTHA, A. and ÁLDÁSY, P.: Isolation of Adenovirus Strains from Calves with Virus Diarrhoea 239

MOLNÁR, K.: Zwei neue monogenetische Egelarten 247

BAMBERGER, K.: Survey on the Experimental and Literary Basis of the Control of Avian Leucotic Complex in Hungary 253

URBÁNYI, L.: Zur Frage der Karotinversorgung von Rindern 267

URBÁNYI, L.: Weitere Untersuchungen über die Rachitis der jungen Mastbullen 273

KOJNOK, J.: Versuche zur aktiven Immunisierung von Rindern, Hunden und Nerzen gegen die Aujeszkysche Krankheit 281

HORVÁTH, Z. und PAPP, L.: Liegt bei anämischen Ferkeln Dysproteinämie vor? 287

KUCSERA, GY.: *Erysipelothrix rhusiopathiae*-Stämme eines neuen Serotyps und ihre Bedeutung in der Serodiagnostik der Rotlaufbakterien 293

ЛАМИ, ДЬ.: Об уровне современных плазмозаменителей в крови. II. Формирование уровня поливинилпирролидома в крови 299

KOVÁCS, GY./ GLÓSZ, L. und GERTNER, M.: Die Röntgenanatomie der Hirnschädelknochen des Pferdes. I. 309

Index: 26,026

ACTA VETERINARIA

ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

T. KÁDÁR, J. KOVÁCS, R. MANNINGER,
J. MÉSZÁROS, S. MÉSZÁROS, J. MÓCSY, J. SÁLYI

REDIGIT

A. KOTLÁN

TOMUS XIV FASCICULUS 4

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST
1964

ACTA VETERINARIA

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTŐSÉG: BUDAPEST VII., LANDLER J. U. 2. KIADÓHIVATAL: BUDAPEST V., ALKOTMÁNY U. 21.

Techn. szerk.: KOBULEJ TIBOR

Az *Acta Veterinaria* német, angol, francia és orosz nyelven közöl állatorvostudományi értekezéseket.

Az *Acta Veterinaria* változó terjedelmű füzetekben jelenik meg, több füzet alkot egy kötetet.

A közlésre szánt kéziratok a következő címre küldendők:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztőségi és kiadóhivatali levelezés.

Az *Acta Veterinaria* előfizetési ára kötetenként belföldre 80 Ft, külföldre 110 Ft. Megrendelhető a belföld számára az „*Akadémiai Kiadó*"-nál (Budapest V., Alkotmány utca 21. Bankszámla 05-915-111-46), a külföld számára pedig a „*Kultúra*" Könyv- és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest I., Fő utca 32. Bankszámla 43-790-057-181 sz.) vagy annak külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

Die *Acta Veterinaria* veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereiche der Veterinärwissenschaften in deutscher, englischer, französischer und russischer Sprache.

Die Acta Veterinaria erscheinen in Heften wechselnden Umfanges. Mehrere Hefte bilden einen Band.

Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind an folgende Adresse zu senden:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

An die gleiche Anschrift ist auch jede für die Redaktion und den Verlag bestimmte Korrespondenz zu senden.

Abonnementspreis pro Band: 110 forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Außenhandels-Unternehmen »*Kultúra*« (Budapest I., Fő utca 32. Bankkonto Nr. 43-790-057-181) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.

STUDIES ON THE IMMUNOGENICITY OF NEWCASTLE DISEASE VACCINE STRAINS IN GROWING CHICKENS

By

B. TÓTH and P. MARKOVITS

Phylaxia State Serum Institute (Director: J. MOLNÁR), Budapest

(Received August 23, 1963)

Recently several vaccine strains of low virulence have been available for immunization against Newcastle disease. Suggestions have been frequently made to replace the routinely used vaccine strains by a "better", newly-established strain. However, decision for a change must be based on a thorough knowledge of the most important properties (multiplication, virulence, immunogenicity, etc.) of the new strain.

In the present work we report comparative studies on the immunogenicity of 4 Newcastle disease virus vaccine strains already in use or suggested for introduction in this country. Simultaneously also the immunogenicity of a pig-kidney tissue-culture-adapted vaccine strain was tested.

Literature

The immunogenicity of Newcastle disease virus strains of low virulence has been studied by numerous authors. However, their results have not been easily comparable because of the different methods used for evaluation. The majority of authors examined the immunogenic properties of only a single strain. Immunity has been tested serologically or by challenge infection (SCHMIDT, 1959; MITEV and GAGOV, 1960; MAREK, RASZEWSKA and BORZEMSKA, 1961; HILBRICH, REUSS, 1963). Several authors, as SCHNEIDER (1960), have reported also on the infective titre of the examined virus strain, while others compared the immunogenicity of various vaccine strains (WINTERFIELD, GOLDMAN and SEADALE, 1957; DARDIRI, YATES, CHANG and FREY, 1961; BRAN, SUHACI, and POPA, 1961). Recently several data have been published on the immunogenicity of vaccine strains obtained by passages in tissue culture (BANKOWSKY, 1960; HALLAUER and KRONAUER, 1960; GELENCZEY and BORDT, 1960; NAFAI, 1960; MEIN and PETTE, 1961; MARKOVITS and TÓTH, 1962; HUYGELEN and PEETERMANS, 1963).

Materials and methods

Vaccine strains. We used the egg-propagated mesogenic Hertfordshire (H) and Lederle (L), the lentogenic Hitchner B_1 and LaSota strains, and a tissue-culture-adapted mesogenic Lederle strain.

Virus suspensions. The suspensions used for immunization were prepared as follows. The virus strains were titrated in embryonated hen eggs and the ELD_{50} and EID_{50} values of mesogenic and lentogenic strains, respectively,

were determined by the method of Reed and Muench. Then the suspensions were adjusted to contain 10^6 ELD_{50}, resp. EID_{50} per 0.1 ml and diluted in tenfold steps so that from every virus material suspensions containing 10^6, 10^5, 10^4, 10^3 etc. ELD_{50}, resp. EID_{50} per 0.1 ml were available.

Dosage and administration was made in accordance with the routine use of vaccine strains, *i.e.* the vaccines H and L were given in doses of 0.2 ml per animal, by the subcutaneous route. The vaccine L was administered also orally, in 5 ml doses from a Record syringe. The vaccine strains B_1 and LaSota were dripped on to the conjunctiva (1 drop), or given orally (5 ml) or subcutaneously (0.2 ml).

When using different routes of administration the same dosis of vaccine was given in different volumes. In the Tables, however, we present the actual ELD_{50} resp. EID_{50} values per 0.1 ml irrespective of the given volume.

Experimental animals. In the present experiments about 12-week-old susceptible chickens of the same weight and origin were used. In order to obtain information on the susceptibility of the experimental flock, prior to the experiment 6—10 animals were infected with virulent Newcastle disease virus and their sera were tested by the hemagglutination inhibition (HAI) test.

Determination of the protective dose. The animals immunized with various doses of the different vaccine strains were infected 10 or 12 days after vaccination with 1 million lethal doses of virulent Newcastle disease virus. The vaccine doses yielding 50, resp. 90 per cent protection were determined by the method of Reed and Muench. It seemed reasonable to determine, in addition to the usual 50 per cent protective dose (PD_{50}), also PD_{90} to obtain evidence on the amount of virus capable of protecting the majority of vaccinated animals.

Experimental

The results of experiments with mesogenic strains are summarized in Table I.

Subcutaneous administration of mesogenic strains. Whilst amounts of vaccine H containing 0.1 and 1 ELD_{50} elicited immunity in no one and only one out of 4 chickens, respectively, doses containing 10 Eld_{50} and 100 ELD_{50} were capable of protecting 75 and 100 per cent, respectively, of vaccinated animals. From the subcutaneously-administered L vaccine still smaller amounts were sufficient to yield protection, *i.e.* 1 ELD_{50} proved immunogenic for 75 per cent of the vaccinated chickens and doses containing 10 or more ELD_{50} protected all vaccinated animals. A statistical evaluation of our experimental data revealed that upon subcutaneous administration the immunogenicity of vaccine L was significantly higher than that of vaccine H.

Oral administration of vaccine L. Doses larger than the above were required for immunization when vaccine L was given by the oral route. (The

Table I

The immunogenicity of strains H and L in growing chickens

Strain and dosage	Ratio of chickens died per challenged with virulent virus following immunization by 0.1 ELD_{50} 1 ELD_{50}							PD_{50}	PD_{90}
	0.1	1	10	100	1000	10 000	100 000		
H (egg-propagated) 0.2 ml subcutaneously	4/4	3/4	2/8	0/8	0/8	0/4	0/4	$10^{0.54}$	$10^{1.55}$
L (egg-propagated) 0.2 ml subcutaneously	4/4	1/4	0/8	0/8	0/8	0/3	0/4	$10^{-0.30}$	$10^{0.60}$
L (egg-propagated) 5 ml orally	2/4	4/4	4/4	1/4	0/4	0/3	0/4	$10^{1.39}$	$10^{2.42}$
L (pig-kidney-tissue adapted) 5 ml orally	4/4	3/4	2/4	1/4	0/4	0/4	0/4	$10^{1.00}$	$10^{2.28}$

PD_{50} = 50 per cent protective dose
PD_{90} = 90 per cent protective dose

survival of 2 chickens, out of 4 immunized orally with 0.1 ELD_{50}, after challenge with virulent virus has been considered an experimental error.) Oral doses containing 100 ELD_{50} of virus elicited immune response in 75 per cent of chickens, whereas doses of 1000 or more ELD_{50} protected all the vaccinated birds. These observations are indicative that, in the case of oral administration the same degree of immunity requires 100-fold the dose sufficient when given subcutaneously. As shown in Table I, the immunogenicity of the tissue-culture-adapted L virus was equivalent with that of the egg-propagated strain.

The results of our examinations with lentogenic strains are summarized in Table II.

Administration of lentogenic strains on to the conjunctiva. When administered by this route, the amount of virus required for the protection of 75 and 100 per cent of the animals was 10^5 EID_{50} and 10^6 EID_{50}, respectively, from either the B_1 or the LaSota strain.

The above doses of vaccine B_1 were effective also upon oral administration. The strain LaSota, however, immunized all the animals when given orally in doses containing 10^5 EID_{50}. It may be of interest that when administered orally or on to the conjunctiva, 10^3 and 10^4 EID_{50} of both vaccines protected approximately 50 per cent of the animals but left the remaining 50 per cent unprotected. The rates of protection provided by the corresponding amounts

Table II

The immunogenicity of strains B_1 and LaSota in growing chickens

Strain and dosage	Ratio of chickens died per challenged with virulent virus following immunization by 0.1 EID_{50} 1 EID_{50}....						PD_{50}	PD_{90}
	10	100	1000	10 000	100 000	1 000 000		
B_1 1 drop on to the conjunctiva	3/4	6/8	5/8	5/8	2/8	0/4	$10^{3.73}$	$10^{5.17}$
LaSota 1 drop on to the conjunctiva	4/4	4/4	4/8	2/8	2/8	0/4	$10^{3.43}$	$10^{5.10}$
B_1 5 ml orally	4/4	12/18	10/18	9/18	4/16	1/18	$10^{3.52}$	$10^{5.27}$
LaSota 5 ml orally	4/4	13/14	8/18	10/18	0/18	0/17	$10^{3.43}$	$10^{4.71}$

PD_{50} = 50 per cent protective dose
PD_{90} = 90 per cent protective dose
Note: The vaccine strains were maintained in embryonated hen eggs

of the two lentogenic strains were highly similar, as shown by the respective PD_{50} values (Table II). The PD_{90} values for the lentogenic vaccines exceeded the PD_{50} values to a higher degree than those for the mesogenic strains. The PD_{90} value obtained for orally administered LaSota vaccine was somewhat lower than that found for vaccine B_1 but this difference was not significant statistically.

Usually, lentogenic strains are not administered subcutaneously. However, in order to compare the immunogenicity of the lentogenic strains used in the present experiment, we deemed necessary to repeat the above vaccine tests by vaccinating a large group of experimental animals (a total of 120 growing chickens) subcutaneously. Although in this experiment doses still larger than the oral ones were administered, no significant differences in antigenicity could be demonstrated between the two lentogenic vaccines.

Haemagglutination-inhibition (HAI) tests. In the experiments performed with the mesogenic strains, the HAI titres of the sera of chickens were also studied. For this purpose serum samples were taken immediately before, and 12 days after vaccination. Prior to immunization no HAI-antibodies were present in the sera. The mean HAI-titre values found on the 12th day after the subcutaneous administration of vaccines H and L are shown in Table III.

A comparison of the data in Table III and Table I reveals that whilst animals developed complete immunity upon the subcutaneous administration of 10^1 or 10^2 ELD_{50} of the mesogenic virus, the antibody level of their sera

reached maximum only after the administration of about 10^5 ELD_{50}. It may thus be concluded that the use of immunizing doses which are somewhat higher than the minimum required for giving rise to 100% protection may be of practical importance.

Table III

Average haemagglutination-inhibition titres of sera from chickens vaccinated subcutaneously with vaccine strains H or L

Strain	Haemagglutination inhibition titres on the						
	0,1	1	10	100	1000	10 000	100 000
	12th day after vaccination with 0.1 ELD_{50} 1 ELD_{50}....						
H	0	2.5	46	121	265.5	362.5	500
L	0	0	127.5	102.5	390	500	500

The HAI titres obtained after immunization with lentogenic strains were less characteristic, most probably because blood sampling was made between the 10th and 12th day after vaccination (simultaneously with challenge). At this time the antibody production elicited by the lentogenic strains had not yet reached the highest levels.

Discussion

Out of mesogenic strains the vaccine strain H has been used for the subcutaneous vaccination of adult birds. It may be noted that of both H and L vaccines remarkably small amounts are required for immunization if they are administered by the subcutaneous route. The PD_{90} value for the subcutaneously injected H and L vaccines was $10^{1.75}$ and $10^{0.6}$, respectively, *i.e.* PD_{90} was significantly smaller for the latter vaccine. Usually the mesogenic vaccine L has been given in the drinking water rather than injected subcutaneously. For this vaccine the value of PD_{90} is significantly, *i.e.* by 2 exponents, higher in the case of oral administration. Thus, the amount of L virus given in the drinking water must be about 100 times larger than its subcutaneous dose. The L vaccine prepared in pig-kidney tissue culture and that prepared in embryonated hen eggs exhibited essentially similar immunogenic values in parallel tests.

From lentogenic strains remarkably large amounts were required for the immunization of growing chickens. The comparison of the PD_{90} of the mesogenic vaccine L with that of the vaccines B_1 and LaSota, being $10^{2.42}$ and $10^{4.71}$, $10^{5.27}$, respectively, reveals a difference of 2.3—2.8 log units for the lentogenic strains.

It is of interest that there was relatively low difference, *i.e.* about one exponent, between the PD_{50} and PD_{90} values of the mesogenic strains, inde-

pendently whether they were administered subcutaneously or orally. Accordingly, sufficient protection can be achieved by vaccinating with a tenfold amount of the actual PD_{50}.

Since, however, the PD_{50} and PD_{90} values of lentogenic strains differ by about 2 exponents, a suitable protective dose must contain about a hundred times the amount of PD_{50}.

Using lentogenic strains, the individual dose of virus required for the immunization of 90 per cent of a flock is about 10^5 EID_{50}, but, remarkably, 50 per cent of the animals can be protected with 10^4 or even 10^3 EID_{50}.

The fact that, suspensions containing only small or very small amounts of lentogenic virus were capable of protecting a part of vaccinated animals, is indicative that susceptibility to lentogenic strains may largely vary even in growing chickens originating from the same stock. Thus, in several highly susceptible animals the lentogenic virus had multiplied and elicited antibody production, while in the insusceptible chickens these almost avirulent strains had been incapable of multiplication.

Our results are indicative that a close correlation exists between the amount of the administered virus and the degree of protection. This finding is of great practical importance. As established by one of us (TÓTH, 1960), upon the administration of high virus concentrations immunity is developed not only to a higher degree but also more rapidly. Therefore, in the course of routine vaccinations, in particular in infected or exposed flocks, the use of appropriate virus concentrations should be carefully observed.

SUMMARY

Comparative studies were performed on the immunogenicity of the mesogenic Hertfordshire (H) and Lederle (L), and the lentogenic Hitchner B_1 and LaSota Newcastle disease vaccine strains. The minimal virus concentrations of the different strains which were capable of immunizing 50 resp. 90 per cent of growing susceptible chickens against a million lethal doses of virulent ND virus (PD_{50} and PD_{90}) were determined. The immunogenicity of vaccines was characterized by their PD_{50} and PD_{90}. Generally, the method of application of the vaccines was in accordance with that of the field practice.

When administered subcutaneously, out of the two mesogenic vaccines L proved to be superior to H, their PD_{50} and PD_{90} values being $10^{-0.3}$, $10^{0.6}$ and $10^{0.54}$, $10^{1.55}$, respectively. This difference in immunogenicity was found to be significant.

It is of interest that upon oral administration remarkably higher concentrations of vaccine L were required to elicit the same immune response. The PD_{50} and PD_{90} values of the orally administered L vaccine were $10^{1.39}$ and $10^{2.4}$, respectively. The immunogenic value of L strain, propagated either in embryonated hen eggs or in pig-kidney tissue culture proved to be essentially similar upon oral administration.

In growing chickens the immunogenicity of the two lentogenic strains was markedly inferior to that of mesogenic strains. When dripped on to the conjunctiva, the PD_{50} and PD_{90} values of the vaccine B_1 were $10^{3.73}$ and $10^{5.17}$, respectively, whereas those of the LaSota strain $10^{3.43}$ and $10^{5.1}$, *i.e.* the immunogenic value of the two lentogenic vaccines was approximately identical. On oral administration, however, the immunogenicity of these vaccines was found to be different, *viz.* the LaSota strain proved to be superior to the strain B_1, the respective PD_{50} and PD_{90} values being $10^{3.43}$, $10^{4.71}$ and $10^{3.72}$, $10^{5.27}$. Nevertheless, this difference is not signif-

icant statistically. The antigenicity of the lentogenic strains was the lowest when given subcutaneously.

It was found that the degree of immune response is in close correlation with the concentration of the virus in vaccine.

REFERENCES

BANKOWSKY, R. A. and CORSTVET, R.: Am. J. Vet. Res. **21** (1960), 610—617. BRAN, L., SUHACI, I. and POPA, C.: Lucr. Inst. Pasteur, Bucuresti **5** (1961), 5—20. GELENCZEY, E., and BORDT, D.: Amer. J. Vet. Res. **21** (1960), 987. HALLAUER, C. and KRONAUER, G.: Arch. Virusforschung **10** (1960), 46. HILBRICH, P. and REUSS, U.: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 1963, 50. HUYGELEN, C. and PEETERMANNS, I.: Res. Vet. Sci. **4** (1963), 294. MAREK, K., RASZEWSKA, H. and BORZEMSKA, W.: Med. Vet., Warsaw, 1961, 577. MARKOVITS, P. and TÓTH, B.: Acta Vet. Hung. **12** (1962), 287. MEYN, A. and PETTE, J.: Mh. Tierheilk., 1961, 348. MITEV, G. and GAGOV, I.: Zbl. Bakt. I. Orig. **180** (1960), 160. NAFAI, E. K.: Magyar Állatorvosok Lapja, 1961, 45. ROSSI, C.: Veter. Ital. **12** (1961), 736. SCHMIDT, U.: Arch. Exper. Veterinärmed. **13** (1959), 982. SCHNEIDER, B.: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 1960, 41. TÓTH, B.: Inaug. Diss., 1960. WINTERFIELD, R. W., GOLDMANN, C. L. and SEADAL, E. H.: PoultrySci. **36** (1957), 1076.

BEITRÄGE ZUR MORPHOLOGIE UND ZU DEN ALTERSBEDINGTEN VERÄNDERUNGEN DER AKZESSORISCHEN GESCHLECHTSDRÜSEN VON STIEREN

Von

GY. FEHÉR und Frau A. HARASZTI

Lehrstuhl für Anatomie und Histologie (Leiter: Prof. GY. KOVÁCS)
der Veterinärmedizinischen Universität Budapest

(Eingegangen am 10. Oktober 1963)

Die heute bekannte und angewendete Anatomie der akzessorischen Geschlechtsdrüsen wurde auf Grund der in den Jahren 1850—1910 durchgeführten vergleichenden anatomischen Untersuchungen ausgearbeitet. Die praktischen Anforderungen der künstlichen Insemination und die neuen Gesichtspunkte der funktionellen Anatomie machten es notwendig, unsere nicht mehr ausreichenden Kenntnisse auf Grund neuer Gesichtspunkte und den Bedürfnissen der Praxis entsprechend zu erweitern. Zweck unserer Untersuchungen war, über die altersbedingten Veränderungen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen des Bullen hinausgehend, auch die eingehendere Untersuchung der Struktur dieser Drüsen. Das Untersuchungsmaterial bestand aus den akzessorischen Geschlechtsdrüsen von 40 Stieren bekannten Alters und bekannter Art, die vom Budapester Rinderschlachthof stammten. Genaue Maße konnten lediglich in 30 Fällen aufgenommen werden. Im Verlauf unserer anatomischen und topographisch-anatomischen Untersuchungen studierten wir die Höhlensysteme auch an Korrosionspräparaten; ferner wurden die Drüsen histologisch und histochemisch aufgearbeitet. Über letztere Untersuchungen werden wir später referieren.

Der glanduläre Abschnitt des Samenleiters, Pars glandularis ductus deferentis

Den spindelartig dicken Abschnitt des Samenleiters (Abb. 1; 2) beschrieb als erster WEPFER (1620—1695), ohne daß er die glanduläre Schicht, die ihn bildet, gekannt hätte. Der glanduläre Abschnitt wird in der Literatur auch heute Ampulla ductus deferentis genannt, kann aber bei den Haustieren nicht als Ampulle bezeichnet werden, weil das Lumen des Samenleiters an dieser Stelle lediglich beim Kaninchen weit ist (ZSÁMÁR, 1927) (Abb. 1; 2). Der Samenleiter ist kompakt und wirkt bei der Betastung drahtartig; nach den Literaturangaben wechselt seine Größe bei den Haustieren in positiver Korrelation zur Prostata, was aber nach unseren Untersuchungen bei den Wiederkäuern nicht bewiesen werden kann. Dem Alter und der Funktion entsprechend,

Tabelle I

Rand zu beiden Seiten der Medianebene in 2 mm Entfernung voneinander

	Ausmaße	Seite	7 Tage alte Kälber		1½ Jahre alte Stiere		3½ Jahre alte Stiere		5–8 Jahre alte Stiere		3 Jahre alte Ochsen	
			10 St.		10 St.		5 St.		5 St.		1 St.	
			$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S
Samenleiter, Pars glandularis	Länge	r.	44,9	± 2,297	93,5	± 14,185	126,0	± 0.395	152.0	± 0.748	83,0	
		l.	44,8	± 1,862	95,70	± 15,130	129,8	± 1,261	142,6	± 0,771	82,0	
	Breite	r.	3,5	± 0,524	10,2	± 1,72	13,2	± 1,268	15,0	± 0,885	4,10	
		l.	3,40	± 0,651	10,60	± 1,635	11,2	± 0,40	15,1	± 1,20	4,10	
Samenleiter	Länge	r.	44,6	± 2,55	103,2	± 16,7	138,0	± 1,778	151,2	± 14,16	69,1	
		l.	43,0	± 2,42	107,0	± 15,1	128,8	± 7,66	154,4	± 40,0	63,2	
	Breite	r.	13,3	± 1,86	29,8	± 7,59	38,4	± 2,62	42,6	± 2,33	13,3	
		l.	11,6	± 2,282	33,7	± 6,84	41,3	± 3,94	55,8	± 8,8	14,6	
	Dicke	r.	6,15	± 1,365	20,5	± 4,82	25,3	± 1,14	32,2	± 2,44	7,2	
		l.	6,1	± 1,582	20,9	± 3,83	19,6	± 1,46	34,8	± 1,86	8,1	
	Gewicht	r.	1,7	± 0,532	25,9	± 0,398	78,4	± 5,35	64,4	± 6,52	9,0	
		l.	1,8	± 0,418	35,2	± 0,532	74,1	± 9,97	85,2	± 20,9	7,5	
	Volumen	r.	1,52	± 0,365	37,5	± 0,400	72,6	± 10,5	60,0	± 5,39	6,5	
		l.	1,47	± 9,533	34,00	± 0,533	72,1	± 16,06	84,2	± 14,8	8,0	

Prostata	Länge	r.	4,85 ± 0,704	9,9 ± 1,87	12,5 ± 2,989	13,2 ± 3,836	16,0
		l.	4,35 ± 0,611	10,10 ± 1,827	14,5 ± 2,073	14,2 ± 2,704	11,0
	Breite	r.	9,2 ± 1,227	18,3 ± 2,524	10,0 ± 2,015	13,8 ± 1,496	18,0
		l.	9,8 ± 1,603	19,3 ± 2,137	11,5 ± 4,78	16,6 ± 0,80	15,0
	Dicke	r.	3,65 ± 0,451	8,1 ± 1,577	11,0 ± 4,077	15,8 ± 2,87	9,0
		l.	3,67 ± 0,496	8,7 ± 1,809	11,0 ± 2,966	15,2 ± 2,315	8,0
	Gewicht	r. l.	0,362 ± 0,574	1,80 ± 0,574	1,30 ± 0,583	1,96 ± 0,332	2,50
	Volumen	r. l.	0,140 ± 0,515	1,56 ± 0,884	1,2 ± 0,438	1,64 ± 0,937	2,70
Cowpersche Drüsen	Länge	r.	8,10 ± 1,328	24,8 ± 1,958	38,0 ± 3,346	38,2 ± 2,870	21,0
		l.	8,2 ± 1,247	26,2 ± 2,065	38,8 ± 3,187	39,0 ± 3,847	23,0
	Breite	r.	5,30 ± 0,938	10,2 ± 1,425	20,8 ± 2,313	24,0 ± 1,413	12,0
		l.	5,40 ± 0,809	11,2 ± 1,033	23,2 ± 0,979	24,0 ± 0,632	12,0
	Dicke	r.	4,10 ± 0,770	10,0 ± 0,430	21,6 ± 2,332	18,4 ± 2,800	9,0
		l.	3,8 ± 0,746	9,3 ± 1,330	19,6 ± 2,727	18,8 ± 3,059	11,0
	Gewicht	r.	1,10 ± 0,520	2,52 ± 0,418	6,84 ± 1,124	8,24 ± 1,928	2,5
		l.	1,03 ± 0,503	2,42 ± 0,405	7,12 ± 1,756	8,38 ± 5,234	2,5
	Volumen	r.	1,10 ± 0,380	2,90 ± 0,373	7,60 ± 1,356	9,60 ± 1,019	2,0
		l.	1,20 ± 0,375	3,00 ± 0,560	8,7 ± 0,842	9,60 ± 0,860	2,0

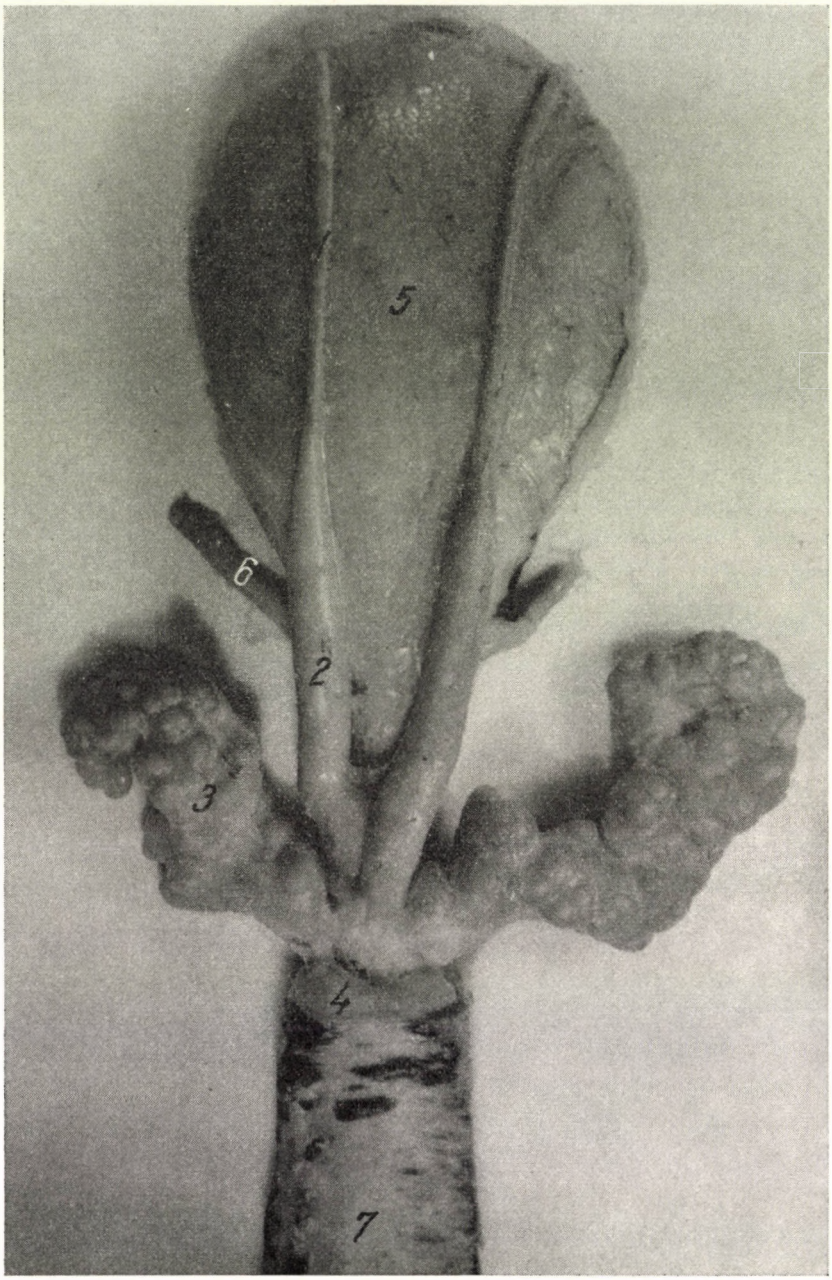


Abb. 1. Akzessorische Geschlechtsdrüsen eines 2 Jahre alten Stieres. 1, Samenleiter; 2, Pars glandularis des Samenleiters; 3, Samenblase; 4, Prostata (Pars superficialis); 5, Harnblase; 6, Ureter; 7, Urethra (dorsale Sehnenplatte des M. urethralis)

erfährt die Größe der beiden Drüsen keine signifikanten Veränderungen. Die altersbedingten Veränderungen der Maße veranschaulicht Tabelle I.

In der Länge und Dicke wächst der glanduläre Abschnitt des Samenleiters, mit dem Alter von 1½ Jahren beginnend, noch bis zum Alter von 8 Jahren. Verhindert wird das Wachstum durch die Kastration, von deren Zeitpunkt wahrscheinlich auch der Entwicklungsgrad der Drüsen abhängt (Abb. 2; B). Die durchschnittlichen Längen- und Breitenmaße unterscheiden sich je Altersgruppe signifikant (Tabelle II). Rektal ist der Samenleiter an der Dorsalfläche des Harnblasenhalses zwischen den Samenblasen gut tastbar. Als ausgeprägter, verdickter Abschnitt hat er sich nur beim Stier, Hengst

Tabelle II

Die signifikanten Differenzen zwischen den Ausmaßen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen in den einzelnen Altersgruppen

Name und Ausmaß der Drüse	1 Woche alt, 1½ Jahre alt		1½ Jahre alt, 3½ Jahre alt		1½ Jahre alt, 5–8 Jahre alt		3 ½ J hre alt, 5–8 J.hre alt	
	»t« Wert	P %	»t« Wert	P %	»t« Wert	P %	»t« Wert	P %
Samenleiter								
Länge	10,15	< 0,01	4,17189	< 0,01	1,5575	< 0,10	6,15489	> 0,01
Breite	8,82784	< 0,01	2,16294	< 0,05	5,98614	> 0,01	3,10209	> 0,02
Samenblase								
Länge	10,75	< 0,01	4,2657	< 0,01	15,8769	< 0,01	0,6201	> 0,50
Gewicht	2,643	< 0,02	3,8232	< 0,01	2,7912	< 0,02	3,9909	> 0,01
Prostata								
Länge	11,648	< 0,01	2,03	< 0,10	2,40625	< 0,05	0,38955	< 0,50
Gewicht	2,625	< 0,02	0,812	< 0,50	0,12555	< 0,50	0,210	< 0,50
Cowpersche Drüse								
Länge	23,2	< 0,01	10,5	< 0,01	1,2250	< 0,5	0,0795	< 0,50
Gewicht	4,97	< 0,01	10,32	< 0,01	20,125	< 0,01	2,19	< 0,10

und Widder voll entwickelt; beim Eber ist er schwach entwickelt und schwer tastbar.

Die Lage der Ausführungsgänge der Samenleiter und Samenblasen ist im Verhältnis zueinander individuell verschieden. BLUM und CHRISTENSEN unterscheiden in dieser Hinsicht drei Typen: 1. Der Ductus excretorius verläuft unter dem Samenleiter, 2. lateral daneben und 3. darüber. Die genannten Autoren stellten auf Grund der Untersuchung von 55 Tieren ein Verhältnis von 40% : 21,8% : 38,2% fest. Die von KANAGAVA (1960) erwähnte »gemischte«

Lokalisation betrachten wir als eine Entwicklungsanomalie, die nicht berücksichtigt werden kann. Im Falle stark entwickelter Samenblasen liegt der Samenleiter meistens dorsal vom Ductus excretorius; das den oben erwähnten Möglichkeiten entsprechende Verhältnis beträgt nach unseren Untersuchungen 53 : 13,7 : 33,3%.

Samenblasen, Vesiculae seminales

Die Samenblasen (Abb. 1; 3) nannte man früher Samenleiterblasen, Vesiculae ductus deferentis; unpaarige Samenblase, Vesicula prostatica (LEYDIG, 1850); Vagina masculina (LEYDIG, 1850; LEUCKART, 1847); Uterus mascu linus (LEHRBUOLETT, 1884; VAN DEEN, 1849; KRAUSE, 1884; EGLI, 1876), bis schließlich KÖLLICKER (1863), LANGENBÄCKER (1882) und MIHÁLKOVICS (1884) feststellten, daß sie vom Wolfschen Gang stammen und gleichsam als vorgestülpter Abschnitt des Samenleiters zu betrachten sind. Definitiv wurde die Bezeichnung Samenblase (Samenleiterblase) akzeptiert.

Es handelt sich um eine große, hellgelbe oder hellrosefarbene, gelappte (durchschnittlich aus 45—65 Läppchen bestehende) weintraubenförmige kompakte Drüse (Abb. 1; 3). Am Blindende der Drüse sind die Lappen kleiner. Sie liegen am Harnblasenhals, zu beiden Seiten des Samenleiters; häufig reichen sie auch in die Bauchhöhle hinein. Die Literaturangaben über ihre Größe variieren:

Ausmaße der Samenblase

Alter des Stiores	Länge cm	Breite cm	Dicke cm	Gewicht	Autor
Vollentwickelt	10—14	—	1,5—3,5	45—80 g	EGLI 1956
„	10—12	2—5	2—2,5	—	ELLENBERGER 1943
„	10—12	2—5	2—2,5	—	HENDRICH 1905
„	7—12	2—5	2—2,5	—	NICKEL-SCHUMMER-SEIFERLE 1960
1,5 Jahre	6—7	1—2	1—2	—	MANN, DAVIES 1949
Vollentwickelt	7,5—10	2—5	—	—	HUMPREY 1949

Laut KANAGAWA (1960) unterscheiden sich die Ausmaße der rechten und linken akzessorischen Geschlechtsdrüsen nicht signifikant voneinander und ändern sich auch mit zunehmendem Alter nicht wesentlich. Nach den eigenen Untersuchungen vergrößern sich die Ausmaße der Samenblasen bis zum 5.—8. Lebensjahr. Die Gewichtszunahme und Volumvergrößerung zwischen den Gruppen der Tiere im 3. und 5.—8. Jahr sind nicht signifikant; (Tabelle II). Sämtliche Maße der rechten und linken Samenblase sind verschieden;

Abb. 2. Akzessorische Geschlechtsdrüsen eines 1½ Jahre alten Stieres (A) und eines 3½ Jahre alten Ochsen (B). 1, Samenleiter; 2, Pars glandularis des Samenleiters; 3, Samenblase; 4, Prostata (Pars superficialis); 5, Cowpersche Drüse; 6, Harnblase; 7, Ureter; 8, Urethra; 9, Bulbus urethrae; 10, M. bulbocavernosus; 11, M. bulboglandularis

mitunter besteht eine Längendifferenz von 3 cm zwischen ihnen. Der »t«-Wert der Länge der rechten und linken Samenblase des $3^1/_2$ Jahre alten Stieres beträgt 4,364 P% 0,01; der »t«-Wert ihres Gewichtes 1,57 P% 0,20. Nach der Kastration verringern sich die Ausmaße (Abb. 2; B).

Kaudal gehen die Samenblasen in einen Ausführungsgang über; letztere münden in den Colliculus seminalis (Abb. 4; 4), an dem sie mit dem Ductus deferens eine longitudinale, spaltenförmige Öffnung bilden, das Ostium ejaculatorium.

Rektal sind die Samenblasen an der Außenseite der Ampullen vor der Prostata, tastbar. Größe, Gelapptheit, das Äußere, den Zusammenhang mit der Umgebung und die Empfindlichkeit der Samenblasen vermag man gut

zu untersuchen (im Falle bakterieller Infektionen sind sie größer). Mit ihrem glandulären hinteren Ende konvergierend, hängen sie sowohl miteinander als auch mit der Pars glandularis des Samenleiters und dem Harnblasenhals bindegewebig eng zusammen; hier lassen sie sich mittels Betastung nicht differenzieren. Ihre äußere Beschaffenheit ist auch unter physiologischen Bedingungen verschieden: nach längerer Geschlechtspause wirken sie straffer, nach 2—3 Ejakulationen lockerer.

Beim geschlechtsreifen Tier haben die Samenblasen einen 12—14 cm langen Ausführungsgang mit 8—10 mm Durchmesser (Abb. 3; 1), der in der Drüsenachse verläuft und den Drüsenbiegungen entsprechend (7—12) schwache Bogen oder Krümmungen bildet. Es kommt vor, daß auch ein, gegebenenfalls zwei ähnlich dicke, gabelartig verzweigte Nebenäste vorhanden sind. Der in die Harnröhre mündende kaudale Endabschnitt ist stark erweitert; die Drüse verlassend, verläuft er in Form einer 2—3 cm langen, weiten Röhre zum Samenhügel. Die zuführenden *Hauptsammelgänge* (Abb. 3; 2) neigen sich oft bogenförmig um den Hauptausführungsgang. Von den Hauptsammelgängen gehen fichtenzweigartig (auf jeder Seite in gleicher Höhe) die *Sammelgänge* (6—8; Abb. 3; 3) aus, von denen sich gleichfalls fichtenzweigartig di- bzw. trichotomisch die Ausführungsgänge des Lappens abzweigen (Abb. 3; 4). Aus letzteren entspringen die Drüsentubuli (Abb. 3; 5), die subkapsulär in blasenartigen Endkammern endigen. Das System der Drüsentubuli jedes Sammelganges bildet kleinere Läppchen mit einem Durchmesser von 1—3 mm. Die einzelnen Hauptsammelgänge verbinden je nach ihrer Größe 5—20 Läppchen zu einem auch makroskopisch deutlich sichtbaren und rektal tastbaren Drüsenlappen. Zum Blindende der Drüse wird die Größe dieser Lappen (5—20 mm) immer kleiner. Ihre Zahl wechselt zwischen 45 und 65.

Der *Samenhügel*, Colliculus seminalis, ist beim Stier eine längliche, massive, kammartige Erhebung am Kaudalende der Crista urethralis (Abb. 4; 3), die beidseitig von einer etwa 2—4 mm hohen Schleimhautfalte begrenzt ist, während vom Kaudalende gleichfalls zwei niedrige (2—3 mm hohe) Falten ausgehen, die in der Gegend der Cowperschen Drüsen verschwinden. Die bindegewebige Crista urethralis ist beim vollentwickelten Tier etwa 3 cm lang, 1,6 cm hoch und an der Basis 8—10 mm breit. Von der Crista urethralis her steigt der Samenhügel schwach an, kaudal wird er jäh niedriger. Längs der median gelegenen septumartigen Schleimhautfalte mündet der Samenleiter und seitlich von diesem der engere Ductus excretorius im gemeinsamen Ostium ejaculatorium (Abb. 4; 4). Oft fehlt ein Teil der Duplikatur der beiden in einer Länge von etwa 2 cm nur durch eine dünne Schleimhautduplikatur getrennten Gänge, so daß die beiden Ausführungsgänge mit einem gemeinsamen Vestibulum oder Ductus ejaculatorius in den Canalis urogenitalis münden. Die vier Ausführungsöffnungen sind erweiterungsfähig und locker; die ungefähr gleich weiten Öffnungen (2,5 mm Durchmesser) lassen sich auf 8—10 mm erweitern.

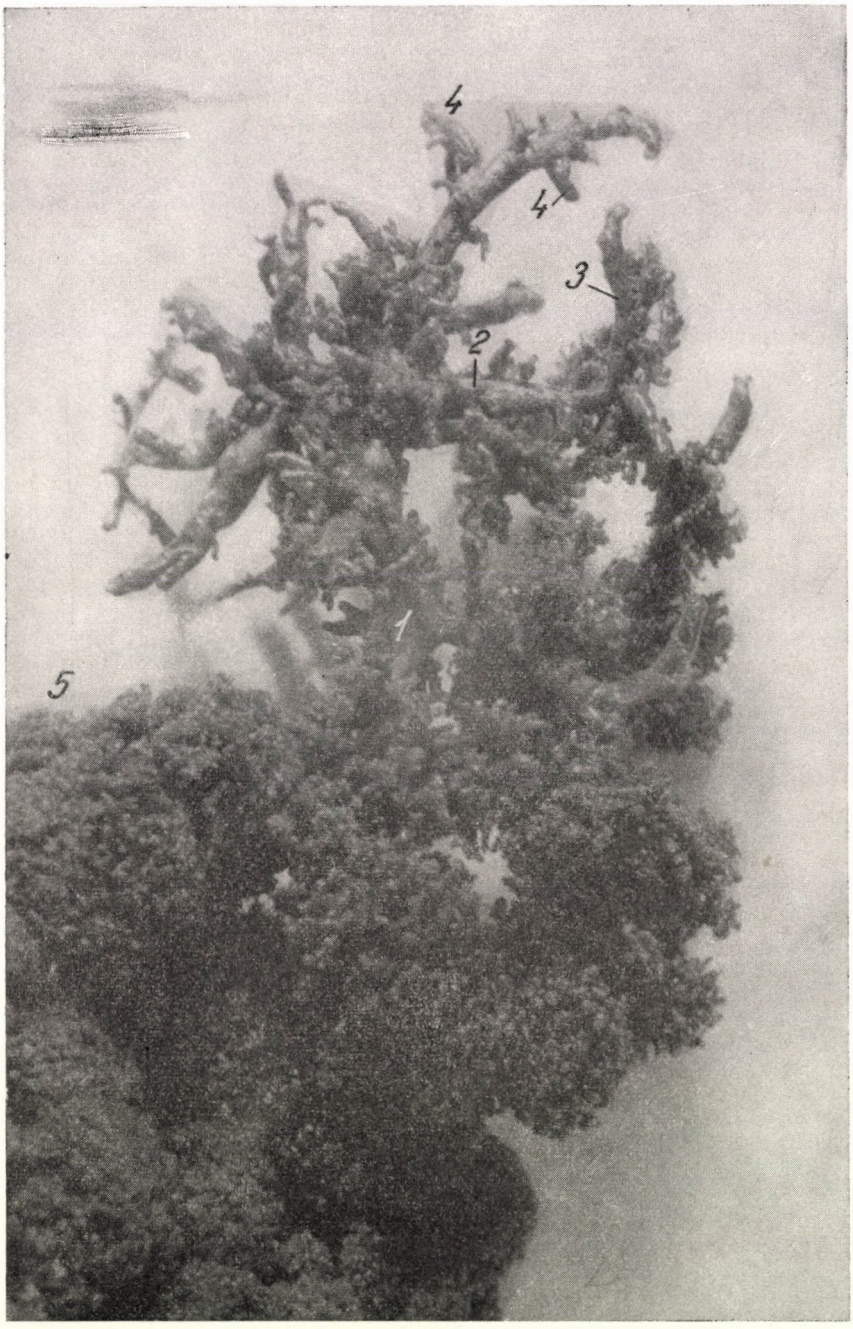


Abb. 3. Höhlensystem der Samenblase bei einem 1½ Jahre alten Stier (Korrosionspräparat). 1, Hauptausführungsgang; 2, Hauptsammelgang; 3, Sammelgang; 4, Läppchen-Ausführungsgang; 5, die Drüsentubuli mit Alveolen

Abb. 4. Samenhügel eines 1½ Jahre alten Stieres. 1, Ureteren-Öffnungen; 2, Crista urethralis; 3, Samenhügel; 4, Ostium ejaculatorium

Prostata, Glandula prostatica

Die Literatur über die Morphologie der Prostata des Stieres enthält keine einheitliche Stellungnahme. Im allgemeinen unterscheidet man zwei Prostataabschnitte: 1. den Lobus externus oder Corpus (Abb. 1; 4) und 2. die Pars disseminata. Angesichts der Tatsache, daß die beiden Drüsen eine einheitliche, zusammenhängende Schicht bilden (J. SCHENKER, 1949) und lediglich topographisch in zwei Abschnitte getrennt werden können, wäre es unserer Ansicht nach richtiger, von der *Pars superficialis* und *Pars profunda* zu sprechen. Ihrer Entwicklung nach ist die Prostata eine akzessorische Drüse der Harnröhre.

Die Pars superficialis ist eine kleine, gelbe, aus zwei in kraniokaudaler Richtung abgeflachten Lappen bestehende Drüse, die vorn vom kaudalen Ende des Ductus deferens begrenzt, hinten vom Musculus urethralis bedeckt ist und unter dem Muskel in die Pars profunda übergeht. Beim Ochsen ist dieser Muskel schwach entwickelt, so daß sich die Lappen stärker vorwölben und daher größer erscheinen. Bis zum Alter von $1^1/_2$ Jahren wachsen seine Ausmaße beim Stier an (Tabelle I); seine Veränderungen bis zum 8. Jahr sind nicht signifikant (Tabelle I). Dorsal und dorsolateral liegt der Muskel auf dem Harnblasenhals. Laut K. Müller (1904), Ellenberger (1943) und Disselhorst (1897) besteht die Pars superficialis aus zwei Drüsenlappen, nach J. Müller (1830) jedoch aus drei Teilen, und zwar den Seitenlappen, Lobi laterales, und dem sie verbindenden Mittelstück, Lobus medius. J. Schenker (1949) fand keine Lobus medius. Die Pars superficialis wölbt sich dorsal vor und ist hier am dicksten; zu beiden Seiten wird sie dünner, und fallweise konvergiert sie ventral, so daß sie die Form eines Siegelrings annimmt. Die Pars profunda konvergiert bis zum Bulbus urethrae in jedem Fall röhrenförmig. Sie ist eine in die Harnröhrenwand eingebettete, gelbliche Drüsenschicht, die im Querschnitt auch makroskopisch deutlich zu sehen ist, und besteht aus zwei seitlichen Abschnitten (Lappen; J. Schenker, 1949), die dorsal unter der Sehnenplatte des M. urethralis durch ein median gelegenes, etwa 7 mm hohes und 1 mm dickes Bindegewebsseptum miteinander verbunden sind. Die Drüsenschicht ist längs des Septums dorsal am dicksten und wird zu beiden Seiten dünner.

Laut Ellenberger (1943) ist sie beim vollentwickelten Tier 12—14 cm lang, dorsal 1—1,5 cm dick; Müller (1830) und Disselhorst (1897) gaben ähnliche Maße an. Nach Schenker (1949) ist sie beim 5 Wochen alten Kalb 7 cm lang, dorsal 4—5 cm breit und 6 mm dick, beim 5 Jahre alten Ochsen 10 cm lang, 7 mm breit und 6 mm dick, beim 6 Jahre alten Stier 12 cm lang, 14—16 mm dick, am kaudalen Ende 2—3 mm dick.

Die eigenen Untersuchungen ergaben folgende Ausmaße:

	Länge cm	Breite cm	Dicke cm
7 Tage altes Kalb	5	0,4	0,2
$1^1/_2$ Jahre alter Stier	9	4,0	0,5
5 Jahre alter Stier	11	5,0	0,9
$1^1/_2$ Jahre alter Ochse	8	1,5	0,3

Die kranial (Pars superficialis) dünne Drüsenschicht wird kaudal (Pars profunda) dicker. Am dicksten ist sie in der Gegend des Halbierungspunktes der Entfernung zwischen dem Samenhügel und den Cowperschen Drüsen. Kaudal von dieser Stelle wird sie wieder dünner. Im Querschnitt ist sie unter

dem dorsalen, sehnigen Harnröhrenabschnitt am dicksten; die von den Muskelfasern des M. urethralis bedeckten seitlichen und ventralen Teile sind dünner. An der Innenfläche der Schicht befindet sich das Stratum cavernosum der Harnröhre. Seine Ausführungsgänge sieht man an der Harnröhrenschleimhaut beidseitig dorsolateral in Form stecknadelkopfgroßer Öffnungen.

Cowpersche Drüsen, Glandulae bulbourethrales

Bei den Cowperschen Drüsen handelt es sich um longitudinale, dorsoventral etwas abgeflachte, birnenförmige (Abb. 5, 6), haselnuß- bis walnußgroße paarige Drüsen mit glatter Oberfläche, die beim gesunden Tier nicht

Abb. 5. Cowpersche Drüse eines 3 Jahre alten Stiers. 1, Cowpersche Drüse; 2, Rückziehermuskel der Drüse; 3, Beckenabschnitt der Urethra; 4, Schnittfläche des M. bulbocavernosus

palpabel sind. Ihre Morphologie wurde bei den Haustieren zuerst von LEYDIG (1850) beschrieben. Die dorsale, laterale, mitunter auch die kraniale Fläche ihres vorderen, dickeren Abschnitts ist von den abgetrennten Teilen des M. bulbocavernosus bedeckt (s. weiter unten). Auf dem hinteren, sich verjün-

genden Teil liegt der etwa 5 cm dicke M. bulbocavernosus. Ein Teil der Vorder- und Seitenfläche ist mit fettreichem Bindegewebe besetzt. Bei der Betastung wirkt die Drüse kompakt; ihre Schnittfläche ist graugelb (Abb. 6).

Nach ELLENBERGER (1943) ist sie 2,8 cm lang, 1,8 cm breit und 1,3 cm dick, beim Ochsen jedoch kleiner (1,5, 1,0, 0,8 cm). Im Sinne unserer Unter-

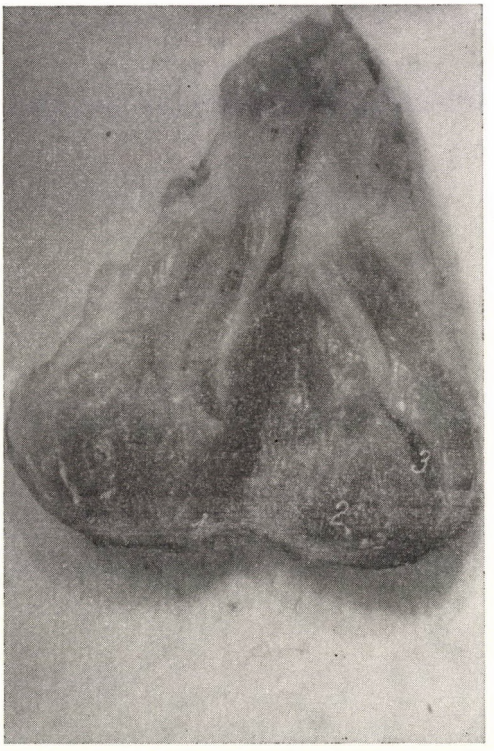


Abb. 6. Horizontale Schnittfläche der Cowperschen Drüse eines 3 Jahre alten Stiers. 1, Kapsel; 2, Drüsensubstanz; 3, Hauptausführungsgang

suchungen vergrößern sich die Ausmaße bis zum Alter von 1,5 Jahren, während das Gewicht noch bis zum 8. Jahr zunimmt (Tabelle I).

Die Drüsen haben je einen Ausführungsgang. Nach GY. ZSÁMÁR (1927) ändert sich bei Kaninchen die Zahl der Ausführungsgänge auch individuell. VAN DEEN (1849) spricht von vier oder mehr Gängen, REUTHER (1903) erwähnt drei. STILLING (1885), KRAUSE (1884), SCHNEIDEMÜHL (1883) fanden einen. Laut ELLENBERGER (1943) gibt es beim Pferd 6—8, bei mehreren Tierarten aber nur einen Ausführungsgang, der kaudoventral in den Blindsack mündet, welcher von der aus der Dorsalwand des Canalis urogenitalis hineinragenden halbmondförmigen Schleimhautduplikatur begrenzt wird (Abb. 7; 2). Nach eigenen Untersuchungen münden die beiden Ausfüh-

rungsgänge, die als Fortsetzung der Kapsel in einer bindegewebigen Scheide mit etwa 2 mm dicker Wand verlaufen, in der Schleimhautduplikatur zu beiden Seiten in einer Entfernung von 2—3 mm voneinander (Abb. 7; 1).

Auf Grund ihres *Höhlensystems* handelt es sich um eine tubuloalveoläre Drüse von überwiegend tubulärem Charakter. Die in den kleineren Alveolen

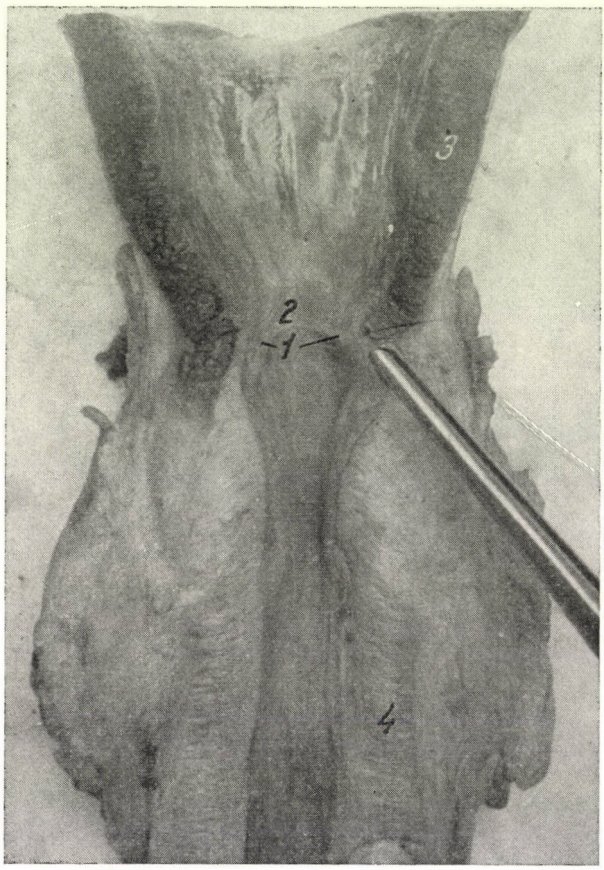


Abb. 7. Bulbus urethrae (ventral erschlossene Urethra). 1, Halbmondförmige Schleimhautfalte; 2, Öffnungen der Ausführungsgänge der Cowperschen Drüsen; 3, Querschnitt vom M. urethralis; 4, Querschnitt vom M. bulbocavernosus

(Abb. 14; 3) endenden Tubuli vereinigen sich in den Sammelgängen der kleineren Drüseneinheiten. Die kleinen Gänge setzen sich in 2—3 dickeren fort und gehen dann im Zentrum des Läppchens in einen größeren Sammelgang über. Die Sammelgänge der Läppchen (Abb. 14; 2) schließen sich dem Hauptsammelgang baumzweigartig an. Die zu diesen Hauptsammelgängen gehörigen Drüsenlappen bedecken zwiebelblattartig das imaginäre Zentrum der Drüse; es sind

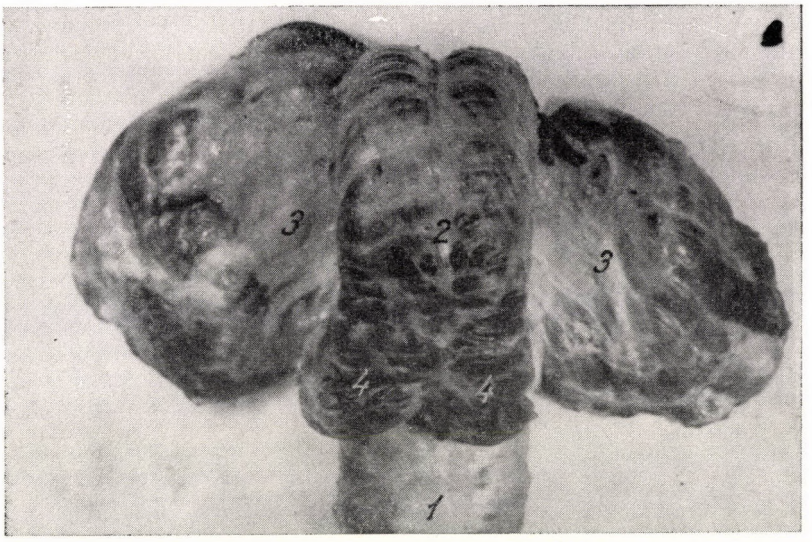


Abb. 8. Aufsicht auf die Muskeln des Bulbus urethrae. 1, Sehnenplatte des M. urethralis; 2, M. bulbocavernosus; 3, M. ischiocavernosus; 4. M. bulboglandularis

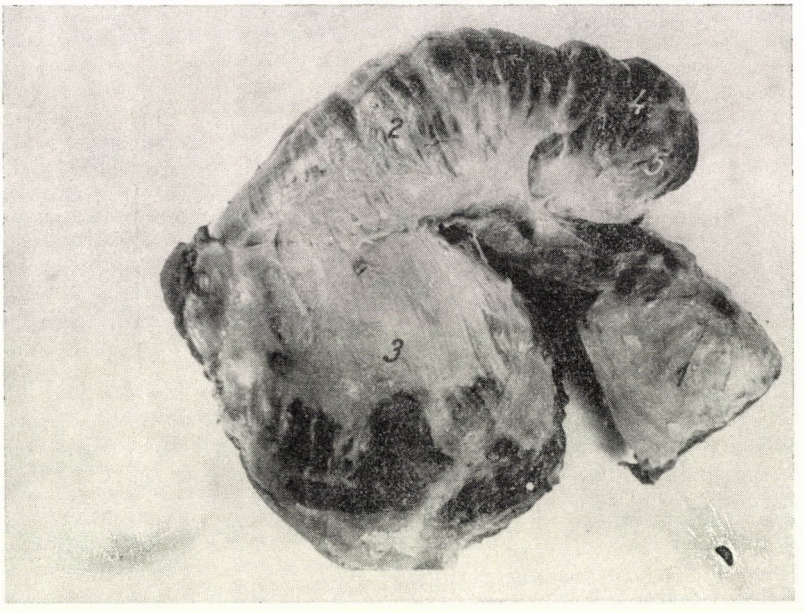


Abb. 9. Seitenansicht von den Muskeln des Bulbus urethrae. 1, M. urethralis; 2, M. bulbocavernosus; 3, M. ischiocavernosus; 4, M. bulboglandularis; 5, kranialer, abgetrennter Teil des M. bulboglandularis

längliche, zentral bogenförmige, kompakte (7—10,5 mm lange, 2—4,5 mm breite und 2—3 mm dicke) blattförmige Lappen. Die Hauptsammelgänge der Lappen (3—5) vereinigen sich im Zentrum der Drüse in einem etwa 2—3 cm langen und etwa 2—3 mm dicken Ausführungsgang (Abb. 13), der am kaudalen, spitzen Ende der Drüse aus dem Drüsenparenchym heraustritt.

Abb. 10. Die Muskeln der Cowperschen Drüse. 1, Die kranialen Enden der beiden Drüsen verbindendes quergerichtetes Muskelbündel (abgetrennter Teil des M. bulboglandularis); 2, longitudinaler Muskelstrang zwischen den Drüsenkörpern, der in diesem Fall von der Kapsel der rechtsseitigen Drüse ausgeht; 3, M. bulboglandularis (aufgeklappt); 4, M. bulbocavernosus; 5, Sehnenplatte des M. urethralis; 6, M. ischiocavernosus; 7, Cowpersche Drüse

Unter den Muskeln um die Cowperschen Drüsen erwähnt die Literatur den M. bulboglandularis (ischioglandularis; ELLENBERGER, 1943), den M. bulbocavernosus, M. ischiocavernosus und M. urethralis. Beim vollentwickelten Tier (vom 18. Monat an) sind drei völlig separate Muskeln in der Umgebung der Cowperschen Drüsen anzutreffen:

1. Der *Musculus urethralis* (Abb. 1; 7; Abb. 8; 1; Abb. 9;1) umgibt, am Harnblasenhals beginnend, die Harnröhre bis zum Bulbus. Seine Fasern laufen in der dorsal gelegenen und je nach der Größe des Tieres 1,5—3 cm

breiten Sehnenplatte zusammen. Dorsal, wo die Harnröhre abgeflacht ist, liegen die Cowperschen Drüsen.

2. Am Kranialende der Cowperschen Drüsen entspringt anfangs vom Rande der Sehnenplatte, sodann auch zu beiden Seiten der Peniswurzel, das System des *Musculus bulbocavernosus*. Seine Fasern treffen dorsal in einer

Abb. 11. Die Muskeln der Cowperschen Drüse. 1, Abgetrennter Teil des M. bulboglandularis (der in diesem Fall vom Lateralrand der Sehnenplatte des M. urethralis ausgeht); 2, mediane Sehnenplatte des bilateralen Muskels; 3, vom M. urethralis ausgehendes longitudinales Muskelbündel; 4, der kürzere Parallelmuskel des letzteren; 5, M. bulboglandularis; 6, M. urethralis

Mediannaht zusammen. Mehrere Autoren betrachten diesen Muskel als die Fortsetzung des Musculus urethralis, obwohl er weder auf Grund seines Ursprungs noch seiner Lage oder seiner Entwicklung als diese angesehen werden kann (Abb. 12; 2).

Der über der Cowperschen Drüse gelegene Abschnitt des M. bulbocavernosus nimmt im Verlauf seiner Entwicklung und des Wachstums auch individuell eine abweichende Form an. Im allgemeinen können wir nach der Zugehörigkeit zur Drüse drei Abschnitte unterscheiden:

a) Den von der Sehnenplatte des M. urethralis ausgehenden, 0,5 cm breiten bandartigen Muskel (Abb. 11; 3; Abb. 12; 2), der in Richtung der

Harnröhrenlänge kaudodorsal zwischen den Drüsen zur Mediannaht des M. bulbocavernosus läuft oder, eine der Drüsen (meistens die linke) umschlingend, an deren Außenseite oder an der kranialen Drüsenfläche (Abb. 5; 2) haftet. Meistens entspringt noch ein dickerer Abschnitt zwischen den Drüsenlappen an der Sehnenplatte des M. urethralis, zuweilen an der Drüsenkapsel (Abb. 6; 2)

Abb. 12. Die Muskeln der Cowperschen Drüse. 1, Abgetrennter Teil des M. bulbocavernosus (der in diesem Fall von der Kapsel der linksseitigen Drüse entspringt); 2, vom M. urethralis ausgehendes longitudinales Muskelbündel; 3, rechtsseitiger M. bulboglandularis; 4, linksseitiger M. bulboglandularis (entspringt von der Sehnenplatte des M. urethralis); 5, M. bulbocavernosus; 6, M. ischiocavernosus; 7, Cowpersche Drüse

und haftet, unter dem vorigen verlaufend, kaudodorsal gleichfalls an der Kapseloberfläche.

b) Der Musculus bulboglandularis (Abb. 10; 4; Abb. 12; 5) geht von der Lateralfläche der Drüsen oder von der Lateralfläche der Harnröhre aus und begegnet dorsal in der Mediannaht dem kontralateralen Parallelmuskel (Abb. 8). In dem Maße, in dem die Ausmaße des Muskels zunehmen, verringern sich die des gegenüber entspringenden M. urethralis; letzterer Muskel endet am Isthmus (Abb. 10; 1).

c) An der Lateralfläche der Drüsen entspringt von der Kapsel oder von der Sehnenplatte des M. urethralis, bzw. haftet dort ein halbkreisförmiger, quer gerichteter Muskel (Abb. 11; 1), der dem abgetrennten Teil des *Musculus*

bulboglandularis cranialis entspricht (s. weiter unten). Dieser Muskel bedeckt den größeren Teil der seitlichen und dorsalen Drüsenoberfläche. An der bisweilen zwischen den beiden Drüsen vorkommenden Zwischensehnenplatte (Abb.12;2) haftet auch der vorige Muskel. Es kommt vor, daß ein seitlicher Teil des Muskels zwischen den beiden Drüsen von der dorsalen Harnröhren-

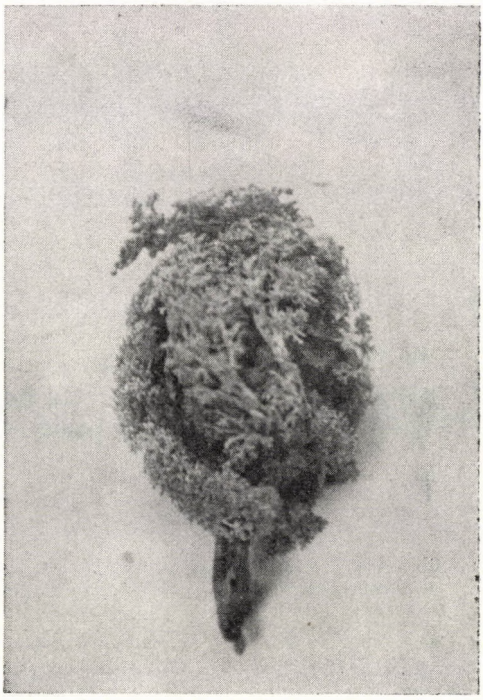


Abb. 13. Cowpersche Drüse, Korrosionspräparat

fläche ausgeht (Abb. 12; 4) und nach einem Verlauf, der mit dem des vorigen übereinstimmt, lateral, die mediale und dorsale Drüsenfläche bedeckend, an der Kapsel haftet (Abb. 12; 3—4).

3. Zu beiden Seiten des M. bulbocavernosus, zu seiner Sehnenplatte, läuft der fächerartig konvergierende *Musculus ischiocavernosus*, der zu beiden Seiten des Arcus ischiadicus entspringt.

ZUSAMMENFASSUNG

Die akzessorischen Geschlechtsdrüsen des Stieres wachsen, dem Alter entsprechend, auch nach voller Entwicklung des Tieres. Unter den Ausmaßen der Pars glandularis des Samenleiters, der Samenblase und Cowperschen Drüsen kommen je Altersgruppe signifikante Unterschiede vor. Die Längen- und Gewichtswerte der rechten und linken Samenblase unterscheiden

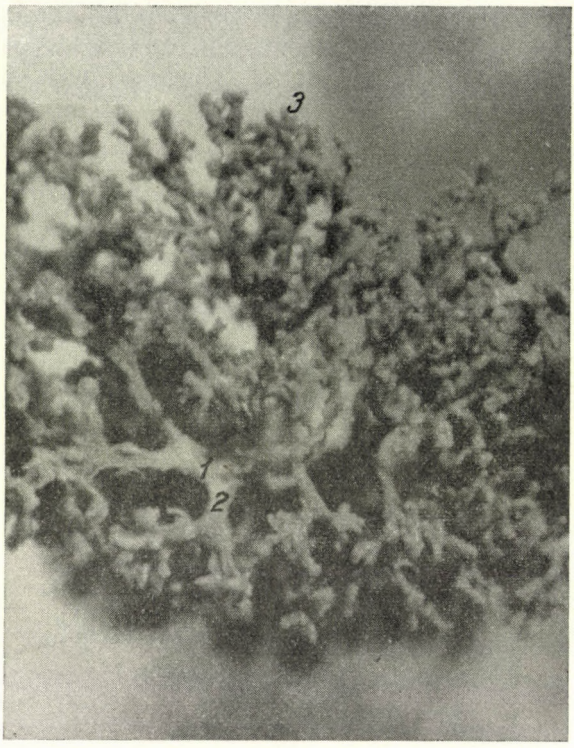


Abb. 14. Korrosion des Höhlensystems der Cowperschen Drüse. 1, Hauptsammelgang der Drüse; 2, Ausführungssammelgang eines Läppchens; 3, keulenförmig endende Tubuli

sich voneinander. Das Wachstum der akzessorischen Geschlechtsdrüsen wird von der Kastration gehindert, deren Zeitpunkt wahrscheinlich auch den Entwicklungsgrad der Drüsen determiniert.

Es wäre zweckmäßiger, den glandulären Abschnitt des Samenleiters auf Grund seiner Struktur bei den Haussäugetieren als Pars glandularis ductus deferentis zu bezeichnen, da eine ampullenartige Erweiterung lediglich beim Kaninchen angetroffen werden kann.

Unter den durchschnittlich 50—60 Läppchen der Samenblase wachsen hauptsächlich die nahe dem Ausführungsgang befindlichen Lappen in der Weise, daß sie 3—4mal größer werden als die am Ende der Drüse anwesenden. Zuweilen verzweigt sich der Hauptausführungsgang der Drüse gabelartig. Jeder Drüsenlappen hat einen selbständigen Ableitungsgang. Die Korrosionspräparate lassen den Schluß zu, daß es sich um eine tubuloalveoläre Drüse mit überwiegend alveolärem Charakter handelt. Der 2 cm lange und einen Durchmesser von 2,5 mm aufweisende Ductus excretorius ist ein Gang mit elastischer Wand, läßt sich auf 8—10 mm erweitern und läuft in einer Länge von etwa 2 cm eng neben dem homolateralen Samenleiter. Häufig münden die beiden Gänge mit einem gemeinsamen Vestibulum oder Ductus ejaculatorius in die Harnröhre.

Die beiden Abschnitte der Prostata differenzieren sich lediglich topographisch voneinander, weshalb es richtiger wäre, von Pars superficialis und Pars profunda anstatt von Lobus und Pars disseminata prostatae zu sprechen. In der Gegend der Cowperschen Drüsen kann man entsprechend den Ursprungs-, Haftverhältnissen, der Topographie und Funktion drei vom Musculus bulbocavernosus stammende Teilmuskeln differenzieren, denen über die Fixierung und den Schutz der Drüse hinaus auch bei der raschen Sekretentleerung eine bedeutende Rolle zufällt. Die Cowpersche Drüse ist eine longitudinal zu ihrer Achse bogenförmig verlaufende, längliche, aus blattförmigen Lappen bestehende tubuloalveoläre Drüse von überwiegend tubulärem Charakter. Je ein Ausführungsgang verläuft gesondert in einer Bindegewebsscheide in der halbmondförmigen Querfalte der Harnröhre und mündet an ihrem Rande auf beiden Seiten der Medianebene in einer Entfernung von 2 mm voneinander.

LITERATUR

BLUM, CH. (Zit.: KANAGAVA, H.). BRAUS, H.: Anat. Anz. **17** (1900), 381—395. DISSELHORST, R.: Die akzessorischen Geschlechtsdrüsen der Wirbeltiere. Wiesbaden, 1897. IDEM: Inaug. Diss. Tübingen, 1897. DEHMUTH, K.: Inaug. Diss. Berlin, 1921. EGLI, A.: Acta Anatom. (Basel) **28** (1956), 351—381. EGLI, L.: Inaug. Diss. Zürich, 1876. ELLENBERGER, W. und BAUM, H.: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. Berlin, 1943. HEINZ, G.: Schweiz. Archiv. f. Tierheilkunde **103** (1961), 537—561. HENLE, H.: Nachr. d. Kgl. Ges. d. Wissensch. zu Göttingen, 1863, 203—206. HUMPREY, G. F. (Zit. EGLI, A.). JANJITSCH, K.: Inaug. Diss. Bern, 1923. KANAGAVA, H.: Jap. J. vet. Res. **8** (1960), 251—260. KAYSER, H.: Inaug. Diss. Berlin, 1889. KNIELING, H.: Inaug. Diss. Leipzig, 1910. KÖLLICKER Zit.: KNIELING). KRAUSE (Zit. KNIELING). KUNZE, A.: Inaug. Diss. Berlin, 1920. LEHRBOULLET: (Zit. KNIELING). LEUCKART, R.: Inaug. Diss. Göttingen, 1847. LEYDIG, F.: Zeitschr. f. wiss. Zool. **2** (1850), 11—58. MELCHIOR, I.: Acta Anat. (Basel) **23** (1955), 330—336. MANN, T. und DAVIES, D. V.: (Zit. EGLI, A.). MÜLLER, J.: Inaug. Diss. 1830, MÜLLER, K.: Inaug. Diss. Zürich, 1904. NICKEL—SCHUMMER—SEIFERLE: II. Berlin—Hamburg, 1960. OUDEMANS, J.: Inaug. Diss. Harlem, 1892. REUTHER, M.: Inaug. Diss. Jena, 1903. RÜDINGER, F.: Inaug. Diss. München, 1884. VAN DEEN (Zit.: ZSÁMÁR). SCHENKER, J.: Inaug. Diss. Bern, 1949. SCHNEIDEMÜHL, K.: Inaug. Diss. Berlin, 1883. STILLING, H.: (Zit. KNIELING). WEPFER, J.: (Zit. ZSÁMÁR). ZSÁMÁR, GY.: Közl. az összehasonlító élet- és kórtan köréből **13** (1927), 1—272.

VORKOMMEN, PATHOLOGIE, KLINIK UND THERAPIE DER ZWISCHENKLAUENGEWEBSVERMEHRUNG BEI RINDERN

Von

A. B.-Kovács, D. Hámori und K. Somogyvári

Lehrstuhl und Klinik für Chirurgie und Ophthalmologie (Leiter: Prof. A. B.-Kovács) der Veterinärmedizinischen Universität Budapest

(Eingegangen am 4. November 1963)

Einleitung

Am Interdigitalabschnitt des Tragrandes der Rinderklauen sind, von der äußeren oder inneren Klaue ausgehend, häufig Schwellungen von verschiedener Form und Größe zu beobachten, die ziemlich oft schweres Hinken verursachen. In der ausländischen Literatur wurde dieses Leiden unter verschiedenen Namen beschrieben (Tylom, Limax, Narbenkeloid, Zwischenklauenwulst usw.). Nach unserer Auffassung bringen diese Bezeichnungen das Wesentliche der Veränderung nicht zum Ausdruck.

Wir nennen das Leiden Zwischenklauengewebsvermehrung (Pachydermia et elephantiasis regionis interdigitalis). Diese Benennung ist — nach unseren Untersuchungen — nicht nur in klinischer, sondern auch in ätiologischer und pathogenetischer Beziehung zutreffender.

Die klinischen Symptome des Leidens

Bei der Gewebsvermehrung handelt es sich anfangs um eine flache, sich von der Umgebung kaum hervorhebende, kompakt elastische, meistens asymmetrische Hautverdickung, die am Tragrand einer oder beider Klauen angetroffen werden kann. An der Oberfläche dieser einsetzenden Gewebsvermehrung ist das Epithel intakt, die Haut etwas gerötet, bei der Betastung kaum schmerzhaft, nur etwas wärmer als die Umgebung. Eine Bewegungsstörung ruft sie nicht hervor, weshalb sie in dieser Initialform selten diagnostiziert wird, weil weder der Tierarzt noch der Tierpfleger der wenig umfangreichen Gewebsvermehrung Bedeutung beimißt. Diese Form nennen wir beginnende, sich entwickelnde Gewebsvermehrung oder Gewebsvermehrung 1. Typs (Abb. 1).

Die gut wahrnehmbare haselnuß-, walnuß- oder kinderfaustgroße Schwellung rechnen wir zum 2. Typ. In diesem Fall sehen wir eine gut umschriebene, beträchtlich hervorragende oder flach ausgebreitete Schwellung (Abb. 2), die in einem Teil der Fälle auch in die Interdigitalfurche hineinreicht

und hier in Form einer fingerdicken, gegebenenfalls aber nur dünnen, lamellären Hautduplikatur beobachtet werden kann. Diese alten Schwellungen sind mit verdicktem, zumeist parakeratotischem Epithel bedeckt. An dem zwischen den Klauen hängenden Teil finden sich auf mechanischen Traumen beruhende Epitheldefekte, Geschwüre. Die Basis der ihres Epithels beraubten Region ist in der Regel mit hämorrhagischem, nekrotischem Granulationsgewebe bedeckt. Die Schwellung ist kompakt-elastisch, mitunter knorpelhart, nicht wärmer als ihre Umgebung und kaum druckempfindlich. Ihre Empfindlichkeit steigert sich, wenn eine traumatisch oder bakteriell bedingte Entzündung anwesend ist. In Abhängigkeit von diesen entzündlichen Veränderungen ist das Leiden von mehr oder minder starkem Hinken begleitet.

Eigene Untersuchungen

Das Vorkommen des Leidens

Wir untersuchten insgesamt 3649 Individien ungarisch. Buntviehs verschiedenen Geschlechts, Alters, Gewichtes und unterschiedlicher Verwendung. Sämtliche Tiere gehörten Großbetriebsbeständen an. Im Verlauf der Untersuchungen achteten wir auf die häufigsten Formen und Typen der Veränderungen, auf die Stellung der Zehenachse, auf die Gepflegtheit der Klauen sowie auf die Konstitution der Tiere.

Das Vorkommen der Gewebsvermehrung bei den 3649 Tieren veranschaulicht Tabelle I.

Wie aus den Tabellenangaben hervorgeht, kam eine Zwischenklauengewebsvermehrung bei 435 Tieren vor, was 11,9% entspricht. Dieser Prozentsatz ist besonders beachtenswert, wenn wir auch die Nutzung und das Alter

Tabelle I

Qualität der untersuchten Tiere	Anzahl der Tiere	Vorkommen der Gewebsvermehrung							An wieviel Rindern	Im Prozentsatz der Tiere
		an einer vorderen	an zwei vorderen	an einer hinteren	an zwei hinteren	an drei	an vier	Insgesamt		
		Extremität bzw. Extremitäten								
Getränkte Kälber.....	428	—	—	—	—	—	1	4	1	0,2
Kalben	705	12	1	8	1	—	—	24	22	3,2
Mastrinder	1186	9	5	29	38	5	10	179	96	8,1
Kühe	1206	15	4	94	98	20	24	489	255	22,6
Zuchtbullen	124	3	10	10	18	7	13	142	61	49,1
Insgesamt	3649	39	20	141	155	32	48	838	435	11,9

der Tiere berücksichtigen. Überraschenderweise fanden wir die Gewebsvermehrung zu 3,2% auch bei den Kalben, ja das Leiden kam auch an allen vier Beinen eines vor der Ablaktation stehenden Kalbes vor. Die Tabelle zeigt fernerhin, daß die Gewebsvermehrung mit zunehmendem Alter und Gewicht wesentlich häufiger beobachtet werden kann.

Die Gewebsvermehrung wurde an 838 Beinen von 435 Tieren, d. h. durchschnittlich an jeweils 2 Beinen eines Tieres wahrgenommen; in größter Zahl, zu 35,6%, an den beiden Hinterbeinen; zu 32,4% nur an einem Hinterbein, zu 9% nur an einem Vorderbein; in 4,5% der Fälle an den beiden Vorderbeinen, der Fälle an sämtlichen vier Extremitäten.

Die Aufschlüsselung nach Alter und Gewicht enthalten die Tabellen II und III.

Tabelle II

Alter Jahre	Untersuchte Tiere		Gewebsvermehrung	
	Anzahl	%	Anzahl	%
0—1	469	1,29	2	0,4
1—2	961	26,3	66	6,9
3—5	948	26,0	144	15,2
6—10	917	25,1	160	17,4
über 10	354	9,7	63	17,9
Insgesamt	3649	100,0	435	11,9

Tabelle III

Gewicht kg	Zahl der untersuchten Tiere (Mastrinder)	Gewebsvermehrung	
		Anzahl	%
300—400	202	7	3,8
400—500	767	39	5,1
über 550	218	50	22,9
Insgesamt	1187	96	8,1

Untersuchen wir die Altersangaben, so fällt auf, daß unter 469 Rindern bis zum Alter von 1 Jahr nur 2 Fälle (0,4%) vorkamen, unter den 1—2 Jahre alten 961 Tieren aber bereits 66 Fälle (6,9%). Zwischen dem 3. und 5. Jahr nimmt die Zahl der Veränderungen sprungartig zu, da sie bei 144 von 948 Rindern (15,2%) und im Alter von 6—10 Jahren unter 917 Tieren in 160 Fällen (17,9%) vorkamen. Berücksichtigen wir sämtliche Alterskategorien, so wurde das Leiden bei 11,9% der 3649 Tiere beobachtet, was zu bedeuten

hat, daß das Leiden im allgemeinen bei jedem 8.—9. ungarischen Buntvieh bzw. bei jedem 6. der über 5jährigen Tiere auftritt.

Sehr häufig ist die Veränderung bei Zuchtbullen zu beobachten; wir fanden sie bei 49,1% der untersuchten 124 Stiere. Die Angaben über die Zuchtbullen enthält Tabelle IV.

Tabelle IV

Alter Jahre	Aufschlüsselung der untersuchten Zuchtbullen nach dem Gewicht in kg					
	600—700	701—800	801—900	901—1000	1001—1100	1101—1300
1—2	18 3*	7 —	1 —	— —	— —	— —
2—3	6 1*	9 4*	21 10*	4 2*	— —	— —
3—4	— —	4 3*	6 4*	19 14*	9 5*	2 2*
4—5	— —	— —	— —	1 1*	13 10*	— —
5—10	— —	— —	— —	3 1*	— —	1 1*
Insgesamt	24 4*	20 7*	28 14*	27 18*	22 15*	3 3*
%	16,6	35,0	50,0	66,6	68,2	100

* Die Zahl der Gewebsvermehrungen innerhalb der einzelnen Kategorien.

Wie Tabelle IV entnommen werden kann, kommt die Gewebsvermehrung auch bei 16,6% der Bullen vor, die das 2. Jahr und ein Gewicht von 700 kg noch nicht erreicht haben, und hat die Zahl der Erkrankungen proportional zum Alter und Gewicht zugenommen. Außer den 124 ungarischen Bullen hatten wir Gelegenheit, noch 11 Simmenthaler und 10 Tiere anderer Rasse (Jersey, Schweizerisches Braunvieh, dänisch-rote und Charolais) zu untersuchen. Unter diesen fanden wir Gewebsvermehrungen nur bei den Simmenthalern, und zwar bei 7 von 11 Tieren.

Unterbringung, Betreuung und Klauenpflege der Bullen waren einwandfrei. Jährlich mindestens zweimal, nötigenfalls aber auch mehrmals wurde das Klauenhorn sämtlicher Tiere von einem Fachmann behandelt; Bullen mit anomal wucherndem Klauenhorn haben wir nur vereinzelt vorgefunden. Die Unterbringung, Betreuung und der Pflegezustand der anderen in unserer Statistik enthaltenen Tiere waren sehr verschieden. Wir beobachteten, daß an den ständig im Stall gehaltenen, festgebundenen Kühen Gewebsvermehrungen viel öfter vorkamen als bei den frei gehaltenen Tieren, obschon letztere häufig in schmutzigen, kotigen, ernsthaft zu beanstandenden Ausläufen untergebracht waren.

Im weiteren untersuchten wir die Bein- und Klauenentwicklung, über die Tabelle V unterrichtet.

Am ungarischen Buntvieh ist ebenfalls vielfach zu beobachten, daß sich die Klauen nicht aneinanderschmiegen, sondern 1—2, ja auch 3 cm weit

Tabelle V

Bein- und Zehenachsenstellung, Klauengestaltung	Anzahl der Gewebsvermehrungen innerhalb der beiden Typen		Insgesamt	%
	1. Typ	2. Typ		
Normale Bein- und Klauenstellung Fessel	40	100	140	32,2
Steile Fessel, offene Ferse	4	6	10	2,3
Weiche Fessel	2	10	12	2,7
Säbel- und Kuhstellung	9	20	29	6,7
Divergierende Klauen	6	34	40	9,2
Andere Klauenanomalien	54	81	135	31,1
Hinken	4	65	69	15,8
Gesamtzahl der Tiere	119	316	435	100,0

voneinander stehen, ohne daß in diesen Fällen eine Gewebsvermehrung vorhanden wäre. Unsere Untersuchungen bieten keine Stütze für die Literaturangaben, wonach die sog. »Spreizklaue« von der sich interdigital entwickelnden massiven Schwellung zustande gebracht wird, doch kann man ebensowenig sagen, daß stets eine Schwellung an der Spreizklaue entsteht.

Unter den gespreizten Klauen beobachteten wir zwei Formen. In dem einen Fall liegen die beiden Klauen am Kronrand und am Tragrand vollständig oder ganz nahe beieinander und entfernen sich in der Mitte daubenartig voneinander. Die Form der Klauen ähnelt einer Kralle, ihre Spitzen divergieren in den verschiedenen Schrittphasen in geringerem oder größerem Maße (Abb. 3). Bei der anderen Form der gespreizten Klauen konvergieren die beiden Klauen auch am Tragrand nur selten, in der Regel berühren sie den Boden parallel zueinander in einer Entfernung von 2—3 Fingern. Diese Klauen divergieren bei der Belastung in noch stärkerem Maße (Abb. 4).

Literatur über die Ätiologie und Pathogenese

Gottwald (1953), Schnyder (zit. Gottwald) und Riemann (1958) beschrieben das Krankheitsbild als Papillomatose. Silbersiepe-Berge (1954) spricht von traumatischer Einwirkung und von den Folgen des Panaritiums. Laut Jurný und Král (1958) kommt das Leiden durch die Zweiteilung der Klauen, ihre zu starke Belastung sowie durch die unter Wirkung von exogenen Traumen eintretenden Erosionen, Ulzerationen, Nekrosen und Hypergranulation zustande. Comberg (1961), Went (1961) und andere vertreten die Meinung, daß die gespreizten Klauen zur Entstehung der Zwischenklauengewebsvermehrung disponieren. Böttger (1960), Bauer (1961), Dittmar (1962) und Ebertus (1962) bringen das häufige Vorkommen bei den schwarzbunten Niederungsrindern mit der lockeren Beinstruktur in Zusammenhang.

Nach Mead, Gregory und Regan (1949) werden die gespreizten Klauen rezessiv vererbt, doch sei das Erscheinen der Zwischenklauengewebsvermehrung hiervon unabhängig. Von den deutschen Forschern äußerte zuerst Götze (1952) die Meinung, daß das Leiden rezessiv vererbt werde. Ebenso wie dieser Autor schrieben auch Klafki (1954), Koch, Fischer, Schumann (1957) und viele andere dem Leiden genetische Bedeutung zu.

Eigene Untersuchungen über die Ätiologie und Pathogenese

Nach eigenen Untersuchungsergebnissen muß das Zustandekommen der Gewebsvermehrung zwischen den Klauen auf die anomale Belastung der Zehen zurückgeführt werden. Zu einer anomalen Belastung kommt es in sämtlichen Fällen, in denen ein äußerer Umstand, z. B. das zu weit hinausgewachsene Klauenhorn, die zu starke Spreizung der Klauen, unebener Boden usw. eine Veränderung in der normalen Belastung der Klauen herbeiführen. In einem Teil unserer Fälle hat die unregelmäßige Extremitäten- und Zehenachsenstellung die unregelmäßige Belastung der Zehengelenke und damit zugleich die zu starke Zerrung der Sehnen und Bänder hervorgerufen. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle beobachteten wir die Veränderung bei klinisch normal erscheinender Glieder- und Zehenachsenstellung; hierbei ist eine auf konstitutioneller Grundlage eingetretene Lockerung des Gesamtorganismus und natürlich auch der Extremitäten anzunehmen, welche die ungleiche Belastung der Klauen zustande bringt.

Unter Wirkung der auf diese Weise eintretenden Zerrungen bzw. permanent zur Geltung kommenden Mikrotraumen entstehen chronisch-produktive Entzündungen und als deren Resultat ständig wachsende Schwellungen bzw. Gewebsvermehrungen an den Ursprungs- und Haftstellen der Sehnen und Bänder sowie im Haut- und subkutanen Bindegewebe. Diese Feststellungen vermochten wir mit pathologisch-anatomischen, histopathologischen und Röntgenuntersuchungen zu erhärten.

Anatomischer Hinweis auf die Zehenfunktion

Die beiden Hauptzehen des Rindes divergieren bei normaler Bein- und Zehenachsenstellung fast parallel bzw. etwas abwärts. Diese Divergenz geht unter normalen Verhältnissen nicht über einen Winkel von 5° hinaus. Bei der normalen Zehenfunktion kommt den gleichrichtenden Bandsystemen, den Beuge- und Strecksehnen, die Zehen fixierenden und ihre Spreizung hemmenden Bändern sowie dem Haut- und subkutanen Bindegewebe große Bedeutung zu. Bei der Verhinderung der allzu starken Zehenspreizung spielen hauptsächlich die Interdigitalbänder, und unter diesen besonders das den zweiten und dritten Zehenknochen verbindende distale Interdigitalband sowie die die dritten Zehenphalangen in der Ebene des Tragrandes verbindende massive Hautbrücke, eine große Rolle. Diese Hautbrücke hängt mit dem distalen Interdigitalband zusammen.

Bei normaler Beinstellung wird das Körpergewicht von beiden Klauen, größtenteils aber von der inneren Klaue getragen. Im Falle anomaler Belastungsverhältnisse kommt es zur ungleichmäßigen und daher teilweise gesteigerten Inanspruchnahme der erwähnten Gebilde.

Durch Sektionen stellten wir fest, daß es sich in jedem Fall um die produktive Entzündung des Haut- und subkutanen Bindegewebes am Interdigitalabschnitt des Tragrandes einer oder der anderen, gegebenenfalls beider Klauen und nachfolgend um die Verdickung dieser Formationen handelt. Der Ausgangsbereich der Entzündung fällt mit dem Haftgebiet des die Zehen fixierenden distalen Interdigitalbandes, der dorsal damit zusammenhängenden Hautbrücke, des dorsalen elastischen Klauengelenkbandes und der langen bzw. der gemeinsamen Zehenstrecksehne zusammen. Liegen Gewebsvermehrungen vor, so entwickelt sich eine ossifizierende Entzündung an den Haftstellen der Sehnen bzw. Bänder am Zehenknochen.

Röntgenbefunde

Die von den Tieren mit kranken Klauen gemachten Röntgenaufnahmen bestätigten teils, daß die Achse der Zehen dieser Tiere statt eines normalen Winkels von etwa 5° einen solchen von 20—25° bildet, so daß die Achse der medialen Zehe der des Mittelfußes nahekommt und die laterale Zehe seitlich ausweicht oder ihre Zehenachse häufig sogar bricht (Abb. 5). In den Aufnahmen ist interdigital an den Klauen- und Kronbeinen, an der Haftstelle der die Finger fixierenden Bänder häufig auch der Schatten einer unregelmäßigen, oft schnabelförmigen Knochenvermehrung zu beobachten. Auffallende Knochenschatten sahen wir ferner interdigital an den Fesselbeinen, an den Haftstellen der oberen Interdigitalbänder. Die gröbste Veränderung sahen wir schließlich am Processus extensorius des Klauenbeins, wo Knochenschatten von spongiöser oder kompakter Struktur mit unebener Oberfläche vorhanden waren (Abb. 6).

Histopathologische Befunde

Die histopathologischen Untersuchungen ergaben, daß das Epithel im Bereich der Veränderungen bedeutend verdickt ist; man sieht Hyper- und Parakeratose. Die Koriumpapillen sind breiter, länger und reichen tief in das Epithel hinein (Abb. 7); man sieht zahlreiche sekundäre Papillen auf ihnen (Abb. 8). In den Papillen können wir Gefäße mit weitem Lumen und perivaskulär stellenweise auf Entzündung deutende Zellen wahrnehmen. Die wesentlichsten Veränderungen befanden sich immer in den tieferen Koriumschichten. In dem die groben kollagenen und elastischen Fasern verbindenden lockeren Bindegewebe sind Anzeichen vaskulärer und perivaskulärer Entzündung zu beobachten (Abb. 9). Den Ablauf dieser lokalen Entzündungen begleitete lebhafte Faserbildung, die später sehr grobe Fasern enthaltende, zellarme Gewebsprodukte zustande brachte.

Besprechung

Der lockere Organismus wird vererbt und damit auch die Disposition für die Entstehung der Gewebsvermehrung. Damit läßt es sich erklären, daß wir Gewebsvermehrung bei 11,9% der untersuchten Tiere beobachteten, obschon die Beinstellung, der Zustand des Klauenhorns und die Haltungsverhältnisse bei den meisten Tieren einwandfrei waren. Bei diesen Tieren wurde die Entwicklung der Zwischenklauengewebsvermehrung durch das große Körpergewicht, das hohe Alter und die Nutzung beschleunigt. Demgegenüber hatte sich bei den Tieren mit festem Organismus selbst im Falle kleinerer Unregelmäßigkeiten in der Glieder- und Zehenachsenstellung oder anomaler Klauen keine Gewebsvermehrung entwickelt.

Aus wirtschaftlichen Gründen müssen wir uns nicht nur durch die Verbesserung der Haltungsverhältnisse sowie die systematische und sorgfältige Klauenpflege, sondern auch mit Züchtungsmethoden gegen die Erkrankung schützen: es ist unzweckmäßig, Bullen für die Zucht zu verwenden, zwischen deren Klauen Gewebsvermehrung anwesend ist. Ebensowenig sollten wir Zuchtbullennachkommen von Kühen aufziehen, an deren Extremitäten das Leiden vorkommt. Bei den Zuchtbullen müssen wir naturgemäß auch die Wirtschaftlichkeit in Erwägung ziehen, d. h. die Schwere der Veränderung im Zusammenhang mit den anderen Eigenschaften des Bullen (Herkunft, Milchhinterung usw.) berücksichtigen.

Empfehlenswert wäre es, bei den Tieren mit kranken Klauen anläßlich der Registrierung einen entsprechenden Punktabzug vorzunehmen. Nach unserer Meinung ist die Zwischenklauengewebsvermehrung auch als ein Index des lockeren Organismus zu betrachten. Die lockere Konstitution bedeutet zuweilen nicht nur ein schwächeres, weniger widerstandsfähiges Fußende und damit die Disposition zur Zwischenklauengewebsvermehrung, sondern auch eine kürzere Lebensdauer, stärkere Empfänglichkeit für andere Erkrankungen und geringere Fruchtbarkeit.

Die Zwischenklauengewebsvermehrung kann in einem Teil der Fälle zu schwerer Lahmheit, Appetitlosigkeit, Hinfälligkeit der Tiere, bei Kühen zum wesentlichen Rückgang des Milchertrages, bei Stieren zur Verringerung oder zum völligen Ausbleiben der Deckungslust führen. Vor dem Erscheinen dieser auffallenden klinischen Symptome liegt aber das Leiden schon seit Wochen oder Monaten vor und beeinflußt in geringerem Maße auch die Produktion nachteilig. Gesteigert wird die Schädigung, wenn der dem Boden zugewendete Abschnitt der Gewebsvermehrung unter Wirkung mechanischer Traumen lädiert wird und ulzeriert. Die durch den Kontinuitätsdefekt eindringenden Bakterien können eine eitrige Entzündung im Klauenkorium oder im subkutanen Bindegewebe des Tragrandes in Gang setzen.

Behandlung

In Anbetracht der Pathogenese gelingt es nur selten, die Gewebsvermehrung endgültig zu beseitigen. Bei dem von äußeren Umständen (zu weit gewachsener Klauenpatrize, unebenem Boden usw.) hervorgerufenen Leiden läßt sich ein definitives Resultat erzielen, doch rezidiviert die wegen des lockeren Organismus entstehende Gewebsvermehrung nach einer gewissen Zeit wiederum, weil die Grundlagen nicht eliminiert werden können.

Man kann versuchen, die Gewebsvermehrung konservativ (mit Dermosalyl-, SBC-Salbe) oder operativ zu beseitigen.

Die konservative Behandlung besteht im wesentlichen darin, daß wir 3—4täglich einen Dermosalyl-Salbenverband auf den veränderten Bezirk geben, unter dessen Wirkung sich das verdickte, verhornte Oberflächenepithel ablöst, die Gewebsvermehrung aber erweicht und elastisch wird. Nach diesem Verfahren vermögen wir nur die wenig umfangreichen, beginnenden und am Tragrand befindlichen Schwellungen erfolgreich zu behandeln. Bemerkt sei, daß diese Behandlungsmethode langwierig und wegen des Verbrauchs von viel Verbandzeug auch kostspielig ist. Die Tiere genasen im allgemeinen innerhalb von 1—6 Wochen.

Die walnußgroßen oder noch größeren Schwellungen und die lamellär zwischen die Klauen hineinreichenden Gebilde beseitigen wir operativ. Am Tragrand, von der Interdigitalfurche ausgehend, führen wir je nach der Größe und Ausdehnung der Schwellung den Schnitt so, wie dies bei der Exstirpation gutartiger Geschwülste üblich ist. Die Exzisionstiefe erstreckt sich bis zum interdigitalen Fettpolster. Man muß darauf achten, daß nach Exzision der Gewebsvermehrung die Tragrandhaut über der Interdigitalspalte mit 1—2 Einzelnähten vereinigt werden kann. Nach Abschluß der Operation geben wir einen Schutzverband auf die Klaue.

Interdigital hineinreichende lamelläre Gewächse müssen tief, auch zwischen den Klauen, bis zum subkutanen Bindegewebe herausgeschnitten werden. Die Wundränder am Tragrand vereinigen wir auch in diesem Fall mit Einzelnähten. Durch die Vorbereitung, Erweichung mit Dermosalyl-Salbenbehandlung wird die Durchführung der Operation erleichtert. Günstige Erfahrungen machten wir mit dem Dermosalyl-Salbenverband im Falle postoperativer Hyperproliferationen. Die Tiere genasen nach der Operationsbehandlung innerhalb von 2—4 Wochen.

Im Falle allzu stark gespreizter Klauen empfiehlt es sich, postoperativ ein dünnes Klaueneisen anzubringen, weil dies zu starke Spreizung der Klauen und die Zerrung der Operationswunde verhindert.

Abb. 1. Gewebsvermehrung 1. Typs

Abb. 2. Gewebsvermehrung 2. Typs

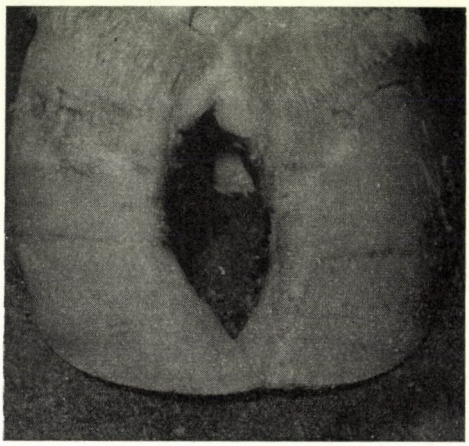


Abb. 3. Auseinanderstehende, krallenähnliche Klauen

Abb. 4. Auseinanderstehende normale Klauen

Abb. 5. Die Zehenknochen stehen entfernt voneinander. Krallenähnliche Knochenauflagerungen an den Ursprungs- und Haftenstellen der Bänder

Abb. 6. Große Exostose mit spongiöser Struktur am Processus extensorius des Klauenbeins

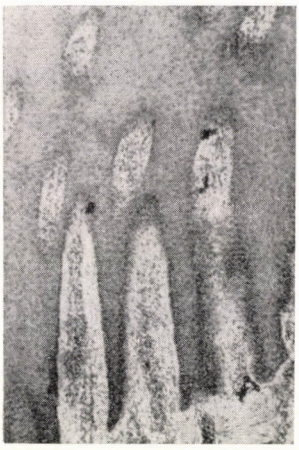


Abb. 7. Tief in das verdickte Epithel eindringende kompakte Koriumpapillen

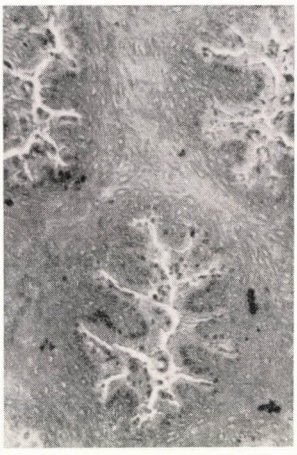


Abb. 8. Querschnitt der Koriumpapille mit sekundären Papillen

Abb. 9. Entzündlich infiltrierte Regionen zwischen den groben Fasern in der Tiefe der Gewebsvermehrung

ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchung von 3649 Individien ungarisch. Buntviehs ergab, daß bei 11,9% der Tiere eine Gewebsvermehrung zwischen den Klauen anwesend war. Im Gegensatz zu den Benennungen in der Literatur (Narbenkeloid, Limax, Tylom usw.) wird die Veränderung Zwischenklauengewebsvermehrung (Pachydermia et elephantiasis regionis interdigitalis) genannt und zwecks Erleichterung der Beschreibung sowie Untersuchung in zwei Typen eingereiht. Als Entwicklung 1. Typs wird die am Interdigitalabschnitt des Tragrandes befindliche abgeflachte, mit intaktem Epithel bedeckte Schwellung bezeichnet. Die walnußgroße oder größere, ja auch die am Tragrand hervorragende, gegebenenfalls entzündliche und ulzerierte Veränderung gehört dem 2. Typ an.

In höchstem Prozentsatz (49,1) kommt die Veränderung bei Zuchtbullen, hiernach zu 22,6% bei Kühen vor; erheblich seltener wurde sie bei Mastrindern (8,1%) und Kalben (3,2%) beobachtet. Mit zunehmendem Alter und Gewicht tritt die Veränderung häufiger zutage. Bei den 1—2 Jahre alten Tieren kam sie zu 6,9%, bei den 6—10jährigen zu 17,4%, bei den Tieren mit einem Gewicht von 300—400 kg zu 3,8% und bei Tieren mit einem Gewicht von mehr als 550 kg zu 22,9% vor. Die Erkrankung führt nicht in jedem Fall zum Hinken, doch kann die ausgedehnte und zwischen die Klauen hineinreichende Gewebsvermehrung zum Rückgang des Milchertrages bei Kühen und zum Aufhören der Deckungslust bei Bullen führen.

Den Untersuchungen zufolge entwickelt sich wegen der anomalen Belastung der Zehensehnen und -bänder unter Wirkung der sich wiederholenden Mikrotraumen eine produktive Entzündung in der Haut und im subkutanen Bindegewebe. Dies beweisen u. a. auch die von den Gewebsvermehrungen hergestellten histologischen Schnitte, in denen auf beträchtliche vaskuläre und perivaskuläre Entzündung deutende Veränderungen angetroffen werden können. In den an kranken Extremitäten gemachten Röntgenaufnahmen sind Knochenauflagerungen an den Ursprungs- und Haftstellen der Bänder, welche die Zehengelenke fixieren, an der Haftstelle des langen bzw. des gemeinsamen Zehenstreckers sowie am Processus extensorius des Klauenbeins zu beobachten. Im Haut- und subkutanen Bindegewebe entwickelt sich gleichfalls eine leichtere oder schwerere Entzündung, die zur Gewebsvermehrung führt. Es wird im Gegensatz zur Auffassung anderer Forscher die Meinung vertreten, daß das Leiden hauptsächlich konstitutionell bedingt ist und nicht die Gewebsvermehrung, sondern der lockere Organismus vererbt wird.

Zur Beseitigung der in Entwicklung begriffenen, sich flach hinstreckenden Gewebsvermehrung wird der Dermosalyl-Salbenverband (Gemisch von Salizyl-, Borsäure und Phenol), zur Entfernung der umfangreichen sowie der auch zwischen die Klauen hineinreichenden Schwellung die Operation empfohlen.

LITERATUR

BAUER, H.: Züchtungskunde **33** (1961), 49—59. BÖTTGER, T.: D. T. W., 1960, 383. COMBERG, G.: Tierzüchter **7** (1961), 151. DITTMAR, J.: Züchtungskunde **34** (1962), 307—319. EBERTUS, R.: Monatshefte f. Vet. Med. **17** (1962), 659—666. GOTTWALD, W.: Der Zwischenklauenwulst, ein Erbfehler beim Rind. Inaug. Diss. Berlin, 1953. GÖTZE, R.: Tierärztl. Umschau **7** (1952), 466. JURNÝ, F., KRÁL, E.: Specielní veterinární chirurgie. Praha, 1958. KLAFKI, A.: Systematische Untersuchungen über das Vorkommen des Zwischenklauenwulstes beim Rind. Inaug. Diss. Giessen, 1954. KOCH, P., FISCHER, H., SCHUMANN: Erbpathologie der landwirtschaftlichen Haustiere. Berlin und Hamburg, 1957. MEAD, S. W., GREGORY, P. W. und REGAN, W. M.: J. Hered. *40* (1940), 151. RIEMANN, A. TH.: Ref. Landw. Zbl. Abt. IV. Berlin **3** (1958), 241. SILBERSIEPE—BERGE: Lehrbuch der speziellen Chirurgie für Tierärzte. Stuttgart. 1954. WENT, E.: Über Limaxbildung beim Rind, Entstehung und Häufigkeit. Inaug. Diss. Hannover, 1961.

HAEMOLYTIC PROPERTIES OF ORGAN EXTRACTS FROM CHICKENS INFECTED WITH NEWCASTLE DISEASE VIRUS

By

P. Oláh and Z. Palatka

Phylaxia State Serum Institute (Director: J. Molnár), Budapest

(Received November 16, 1963)

In a previous paper (Oláh and Palatka, 1962) we reported on the haemolysis of guinea-pig erythrocytes by organ extracts obtained from dogs infested with, or died of, infectious canine hepatitis. In the present experiments organ extracts from chickens or chick cadavers infected with various Newcastle disease virus (NDV) strains were tested for haemolytic activity.

The haemolytic effect of egg-adapted NDV strains on red blood cells of various animal species was already observed by Kilham (1949). Ever since this phenomenon has been studied by numerous authors. Some of them (Burnet and Lind, 1950; Liu Ch'ien, 1952) investigated the physical and chemical properties of the haemolytic agent, while others (McCollum and Brandly, 1955; Sagik and Levine, 1957; Klemperer, 1960) studied its mechanism of action. All these authors used egg-propagated NDV strains throughout their experiments.

Studying the properties of organ extracts containing NDV Gürtürk (1952), Leitner (1954), McClurkin, Sinha and Hanson (1954) and Weidenmüller (1955) uniformly arrived at the conclusion that chicken erythrocytes are agglutinable by the above extracts and thus the haemagglutination test is suitable for the demonstration of infection with NDV.

In the present paper we report on the haemolytic activity of organ extracts containing NDV, on properties of the haemolytic agent and on the diagnostic value of the haemolytic test.

Materials and methods

In our experiments the following egg-propagated NDV strains were used: 1. virulent virus; 2. H (Hertfordshire) virus; 3. L (Lederle) virus; 4. B_1 (Blacksburg) virus. The virus-containing allantoic fluid was diluted 1 : 200 in saline and inoculated subcutaneously into the wing web of 3—4-month-old susceptible chickens in doses 0.2 ml per animal. Simultaneously, the same amount of inoculum was given also intranasally. Organ extracts of chickens died or emergency-slaughtered between the first and 12th days after infection were tested for haemolytic activity. As a control, extracts from freshly-dissected organs of non-infected healthy chickens were used. From the homogenized organs 20 per cent suspensions were prepared with saline and centrifuged for 10 minutes at 4000 r.p.m. From the supernatant serial twofold dilutions were prepared in saline of pH 7.2. From every dilution step 0.5 ml was withdrawn and mixed by shaking with an equal amount of defibrinated and 3 times washed guinea-pig erythrocyte suspension. The results were read after incuba-

tion for 1 hour in a water bath at 40°C. The last dilution step capable of complete haemolysis was considered as end titre.

Haemolysis-inhibition tests were performed using organ extracts containing 8 haemolytic units of the virus. The determination of the haemolytic unit, and the performance and evaluation of the haemolysis-inhibition test were made according to the procedure used in the haemagglutination-inhibition test.

Experimental

The haemolytic abilities of organ extracts from chickens infected artificially with NDV and died 3—8 days afterwards were determined in preliminary experiments. The organ extracts of 7, 101, 80, 20 and 11 chickens, died on the 3rd, 4th, 5th, 6th and 7th day, respectively, were examined. As a control the organ extracts of 30 chickens susceptible to infection with NDV, and of 20 chickens immunized against Newcastle disease were used. It was found that guinea-pig erythrocytes were lysed in every instance by kidney extracts and in the majority of cases also by lung extracts from chickens infected with virulent NDV, whereas extracts of the same organs of healthy or immunized chickens failed to produce haemolysis (Table I).

Table I

Haemolytic properties of kidney and lung extracts from chickens infected with virulent Newcastle disease virus

Group	No. of animals	Organ extract	Dilution of organ suspensions							Positive reactions	
			2	4	8	16	32	64	128	No	per cent
Infected with virulent NDV	220	kidney	8	25	52	68	48	19	—	220	100
		lung	22	23	7	1	1	1	—	55	25
Susceptible or immune	50	kidney	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		lung	—	—	—	—	—	—	—	—	—

According to our observations, haemolysis may be influenced by several factors. In this respect the origin of erythrocytes is of great importance. A kidney extract, producing no lysis of red blood cells from horse, calf and sheep, haemolysed the erythrocytes of guinea pigs in dilution 1 : 32, dog and chicken erythrocytes in 1 : 8, while rabbit and pig erythrocytes only in a dilution of 1 : 4.

The degree of haemolysis is also influenced by the concentration of erythrocytes. Using the same kidney extract, lysis of 0.25, 0.5 and 1.0 per cent guinea-pig red blood cell suspensions could be effected with 128fold, 64fold and 16fold dilutions of the extract, respectively.

Another important factor is the pH of the diluent. In order to investigate its effect, we established a pH-range by adjusting a buffer solution to different pH values with 0.15 M disodium hydrophosphate and 0.15 M potassium dihydrophosphate. It was found that using the same organ extract, an 0.5 per cent guinea-pig erythrocyte suspension was haemolysed up to serum dilutions 1 : 256, 1 : 128, 1 : 64 and 1 : 16 when suspended in buffer solutions at pH 6.5, 7.0, 7.5 and 8.0, respectively.

Examinations on the influence of temperature and incubation period had revealed that the values of haemolytic titres rose parallel to an increase in the temperature or in the incubation period. A kidney extract, kept in the water bath at 40°C for 1 hour, exhibited haemolytic activity up to 1 : 64, whereas it produced lysis only up to 1 : 2 when incubated at 22°C for the same period. The same kidney extract failed to lyse guinea-pig erythrocytes after allowed to stand at +4°C for 1 hour.

In order to examine the physical and chemical properties of the haemolytic agent, the organ extracts were treated by various procedures. It was found that the haemolytic titres of kidney extracts treated with 0.2—0.4 per cent formalin and kept in the incubator for 1 hour did not differ from the titre values of the untreated control material. Similarly, haemolytic activity remained uninfluenced by heat treatment at 56°C for 30 minutes, or boiling for 10 minutes. The haemolytic agent was, however, only partially filterable through asbestos K filter pad, and completely unfilterable through asbestos E.K. pad.

The inhibition of haemolysis was attempted with specific convalescent sera, heterologous sera (normal sera from horse, calf, sheep, pig, dog, rabbit, poultry and guinea pig) and also with purified human albumin and 1 M $CaCl_2$ solution. All these materials exhibited haemolytic titres from 1 : 64 to 1 : 512. A linear relationship could be demonstrated between the albumin concentration of sera and the haemolysis-inhibition titre.

Since, according to our experimental data only virus-containing kidney and liver extracts were capable of causing haemolysis, it seemed to be plausible that lytic activity was due either to the virus itself or to metabolic by-products of cells damaged by viral action. In order to elucidate this problem, a series of experiments were performed with the aim to determine the earliest time of the appearance of haemolytic activity in kidney and lung extracts of chickens infected with NDV. For this purpose chickens were infected besides virulent NDV, also with certain vaccine strains (B_1, H and L). Following infection several chickens were killed daily and their kidney and lung extracts were tested for haemolytic activity. The results of these experiments are summarized in Table II.

As shown in the Table, one of the kidney extracts exhibited haemolytic activity as soon as on the first day after infection with virulent NDV. The percentage of lytic kidney extracts was 33, 53 and 100 per cent on the 2nd,

Table II

Haemolytic properties of organ extracts from chickens infected with various NDV strains and killed at different times afterwards

Virus strain	Organ extract	Days after infection, resp. vaccination						
		1	2	3	4	5	6	7—10
Virulent virus	kidney	1/15*	5/15	8/15	15/15	—	—	—
	lung	0/15	1/15	2/15	3/15	—	—	—
Vaccine strains	kidney	0/28	0/28	0/28	0/28	8/52	15/52	0/104
	lung	0/28	0/28	0/28	0/28	2/52	1/52	0/104

* The denominator denotes the number of infected resp. vaccinated chickens, the numerator that of chickens showing positive reaction.

3rd and 4th day after infection, when tested with guinea-pig red blood cells. It ought to be mentioned here that by the 4th day all chickens were severely ill. Lung extracts from the same animals haemolysed guinea-pig erythrocytes in a much lower percentage. The organ extracts of chickens given NDV vaccine strains also exhibited haemolytic activity but not before the 5th or 6th day after vaccination and only 15—29 per cent of the kidney extracts were haemolytic. The percentage of haemolytic lung extracts was still lower. Differences were but insignificant among the haemolytic activities of the organ extracts from chickens inoculated with the different vaccine strains.

As already mentioned, several authors have found chicken erythrocytes agglutinable by organ extracts of chickens died or emergency-slaughtered after infection with NDV. In a series of experiment we compared the results of haemagglutination and haemolytic tests performed with the same organ extracts. For this purpose we used kidney extracts from 30 chickens infected artificially with virulent NDV and emergency-slaughtered when Newcastle disease reached climax. The results are shown in Table III.

Table III

Distribution by haemolytic and haemagglutination titres of kidney extracts from chickens infected with virulent Newcastle disease virus

Test	No. of test animals with the titres given below								Control
	2	3	3	5	7	6	3	1	12
Haemolytic titre	4*	8	8	16	16	32	32	64	0
Haemagglut. titre	0	0	4	4	8	8	16	64	0

* Reciprocals

The data summarized in the Table reveal a distinct correlation between the values obtained by the haemolytic and haemagglutination tests. Generally, the higher was the haemolytic titre of a test material, the higher was also its haemagglutination titre. Nevertheless, according to our results, the latter was inferior in sensitivity to the former, since only 80 per cent of the kidney extracts from chickens with manifest Newcastle disease were capable of haemagglutination, whereas all of them proved positive in the haemolytic test. In addition, the haemolytic titres were remarkably higher than the haemagglutination titres.

Discussion

The haemolytic activity of organ extracts containing NDV is a phenom, enon essentially similar to that observed by us previously (OLÁH and PALATKA-1962) for organ extracts from dogs succumbed to infectious canine hepatitis. The physical and chemical properties of the haemolytic agent are identical in both cases. However, on the basis of its physical and chemical behaviour the agent found by us appears to differ from that observed by KILHAM (1959), BURNET and LIND (1950), and MCCOLLUM and BRANDLY (1955) in the NDV-containing allanto-amniotic fluid. Unlike the amnion-allantoic fluid, the haemolytic substance present in the organ extracts proved to be thermostable, insensitive to formalin and unfilterable through Seitz filter pads. However, the conditions of haemolytic reaction as well as its mechanism of action have been highly similar. Both allantoic fluid and organ extracts produced most distinct haemolysis at 40°C, whereas at lower temperatures the reaction was delayed or missing. The haemolytic titre of both materials was found to be dependent on the ratio of haemolytic agent and erythrocyte concentration involved in the test as well as on the pH of the diluent. Similarly, besides specific inhibition by convalescent sera from chickens infected with NDV, non-specific inhibition of haemolysis could be produced in both cases with heterologous sera and 1 M $CaCl_2$ solution.

According to the authors cited above, the haemolytic activity of the allantoic fluid is due mainly to its NDV content. In the present experiments we failed to arrive at such a conclusion. Our results have been suggestive that since kidney and lung extracts from non-infected control animals produced no haemolysis, the haemolytic property is a consequence of infection with NDV. However, evidence has been lacking whether haemolysis was due to the virus or to metabolic by-products of cells damaged by viral infection.

The red blood cells of guinea-pigs were also lysed by the liver and lung extracts of certain animals given the vaccine strains B_1, H or L. Nevertheless, the low incidence of haemolytic extracts, the low titre values and the short duration of haemolytic activity suggest that virus multiplication was consider-

ably poorer after the administration of vaccine strains than after infection with virulent virus.

The results of the haemagglutination and haemolytic tests performed with organ extracts permit the conclusion that the haemolytic test is more sensitive and reliable in indicating infection with NDV. Unfortunately, however the diagnostic value of the haemolytic test appears to be doubtful if the fact is considered that guinea-pig erythrocytes were haemolysed in every instance by kidney extracts from 24 chicks died or emergency-slaughtered because of fowl cholera, and even the lung extracts obtained from 21 of the above 24 animals exhibited haemolytic activity. However, no haemolysis whatever could be produced by organ extracts from 20 chickens with *Salmonella pullorum* infection and another 16 chickens infected with fowl-pox virus. Accordingly, the haemolytic test may be helpful in the diagnosis of Newcastle disease, provided the possibility of fowl cholera can be excluded.

SUMMARY

In the course of examinations performed with organ extracts from chickens infected with virulent Newcastle disease virus (NDV) or NDV vaccine strains, the following phenomena were observed:

1. Kidney and lung extracts from chickens infected with NDV have haemolytic effect on guinea-pig erythrocytes when incubated for 1 hour at 40°C. Organ extracts from non-infected controls failed to produce haemolysis.

2. In haemolytic tests the use of kidney extracts is preferable because they exhibit high titre values, and yield positive reaction in a higher percentage than do lung extracts.

3. Haemolysis was produced by every kidney extract obtained from chickens died or emergency-slaughtered after infection with virulent NDV, whereas only by 15—29 per cent of the kidney extracts obtained from vaccinated animals. The latter extracts were active exclusively if obtained on the 5th or 6th day after vaccination.

4. The lytic titre of the kidney extract was dependent on the animal species that supplied the test erythrocytes, on the concentration of erythrocytes, on the pH of the diluent and on the time and temperature of incubation.

5. The haemolytic agent could not be destroyed by treatment with 0.2—0.4 per cent formalin, heat treatment at 56°C for 30 minutes or boiling for 10 minutes. The agent was only partially filterable through asbestos K pad and unfilterable through asbestos E.K. pad.

6. Specific inhibition of haemolysis can be effected with convalescent sera, whereas heterologous sera, purified albumin and 1 M $CaCl_2$ are non-specific inhibitors of haemolysis.

7. There is a correlation between the haemolytic and haemagglutinating activities of the organ extracts. However, the haemolytic test was found to be superior in sensitivity to the haemagglutination test.

8. Since the red blood cells of the guinea pig are haemolysed also by organ extracts from chickens died of fowl cholera, the haemolytic test may be used for the diagnosis of Newcastle disease only if the possibility of infection with fowl cholera can be excluded.

REFERENCES

BURNET, F. M. and LIND, P. E.: Austr. J. exp. Biol. Med. Sci. **28** (1950), 129. GÜRTÜRK, S.: Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1952, 371. KILHAM, L.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **71** (1949), 63. KLEMPERER, H. G.: Virology **12** (1960), 540. LEITNER, J.: Inaug. Diss. München, 1954. LIU CH'IEN: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **81** (1952), 646. MCCLURKIN, A. W., SINHA, S. K. and HANSON, R. P.: Amer. J. Vet. Res. **15** (1954), 314. MCCOLLUM, W. H. and BRANDLY, C. A.: Amer. J. Vet. Res. **16** (1955), 584. OLÁH, P. and PALATKA, Z.: Acta vet. Hung. **12** (1962), 409. SAGIK, B. P. and LEVINE, S.: Virology **3** (1957), 401. WEIDENMÜLLER, H.: Mh. Tierheilk. **7** (1955), 42.

STUDIES ON THE OVIDUCT AND SERUM OF FOWLS

I. OXYGEN UPTAKE, ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY, CONCENTRATION OF PHOSPHORUS, CALCIUM AND MAGNESIUM IN ADULT HUNGARIAN YELLOW HENS

By

M. S. MISRA and A. KEMÉNY

Department of Physiology (Head: Professor A. KEMÉNY), University of Veterinary Sciences Budapest

(Received December 5, 1963)

There is little information on the composition of the oviduct as well as the metabolic status of its different regions, which are undoubtedly essential in making our knowledge complete as regards the mechanism of egg formation.

The metabolic status of the regions of the oviduct of the laying Light Sussex hens has been reported recently by BROWN and BADMAN (1962) who demonstrated that the respiration rate of the uterine tissue as well as its alkaline phosphatase content are higher than that of the other regions.

It has been shown by DRIGGERS and COMAR (1948) that 24 hrs after ingestion of labelled Ca, 30—35% is deposited in the egg laid and O'NEIL (1947) observed that phosphorus is also deposited in the egg 24 hrs after feeding. SENDROY et al. (1961) observed a pronounced increase in serum calcium in the laying pigeons. As has been reported by TAYLOR and HERTELENDY (1960), the concentration of calcium in the isthmus is high, while the magnesium concentration of the magnum is approximately twice that of the other regions of the oviduct. It was observed by HURWITZ and GRIMINGER (1961) that nearly all of the ingested calcium, retained by the laying hens, takes part in the egg formation and there appears to be a great variability in the retention of the ingested phosphorus. They have also noted that the plasma alkaline phosphatase level came down in consequence to an increase in calcium level.

According to STUTTS et al. (1957) the phosphatase level of the serum is partly regulated by the genes, and age does not influence it significantly in mature male or female birds. BELL (1960) observed that the plasma phosphatase increased by 50% as the birds come to lay. It has been reported by several workers (MCDANIEL and CHUTE 1961, TANABE and WILCOX 1960, TANABE 1962) that the chicken plasma phosphatase level declines with age. TANABE (1962) noted that the phosphatase level increased with the initiation of egg laying, after which it gradually declined, even though the birds continued to lay.

In view of the multifarious role of the oviduct in the production of egg, it was considered to be of interest to investigate the composition and metabolic status of the oviduct. Simultaneously the serum was examined for the elements taking part in egg production.

Materials and methods

One and half years old Hungarian Yellow hens were provided by the Gödöllő Small Animal Research Station out of which 14 were regularly laying and 12 were nonlaying, even though all were having past records of egg laying. Out of the first lot six were having egg in the uterus at the time of

slaughter (Fig. 1) — hereafter called as Group I — while eight were having fully formed follicles — Group II. Out of the second lot 10 birds were found to have atrophied ovary with atrophied oviduct (Fig. 2) Group III. Both the lots were reared in the same place under identical conditions.

The blood from the birds was collected from the jugular vein for serum analysis. The birds were decapitated, abdominal cavity was opened and the oviduct was taken out into Ringer's solution. It was cut into different regions, portions of the duct opened and washed, fluid from it drained off by filter paper and approximately 150 to 200 mg taken for observing the oxygen uptake after weighing accurately by a torsion balance. The tissue was cut into small pieces and placed in the Warburg vessels containing 3 ml incubation medium (as described by ROBINSON 1949). The Warburg apparatus used was of constant volume type. The apparatus was set within half an hour after slaughter of the bird for noting the O_2-uptake.

Serum phosphatase activity for one hour was determined by using β-glycerophosphate as the incubation medium with sodium barbiturate as the buffering agent and was expressed in B.U. (BODANSKY 1933). Serum Ca was determined by $KMnO_4$ titration method [CLARK—COLLIP (1925) modification of the KRAMER—TISDALL method (1921)], phosphorus by modified FISKE—SUBBAROW (1925) technique and magnesium by modified DENIS method (1922).

For determining the tissue alkaline phosphatase activity, method of ROBINSON (1940) was adopted. 0.5 ml tissue fluid was used for incubation and expressed in B.U. per 1 g dry tissue.

Simultaneously tissues were taken in weighed porcelain vessels, weighed, dried in a chamber having 100° to 105°C temperature, weighed and put in a furnace having a temperature of 800°C overnight. The ash in the vessel was weighed, and then dissolved in 2 ml HCl (1 : 1), volume made up to 10 ml with distilled water and its Ca, P and Mg were determined in the same way as with the serum.

Statistical analyses were carried out by the methods described by JUVANCZ (1955).

Results

The data for the O_2 uptake for one and two hours for the different regions of the oviduct with the statistical significance between the groups are collected in Table I. In the first two groups the O_2 uptake of the uterus is the highest and that of the magnum the lowest. In the group with atrophied ovary and oviduct, the O_2 uptake of the uterus is nearly half of that of the first two groups. The magnum of Group III is having a significantly higher O_2 uptake than the corresponding figures for the first two groups, specially at the end of 2 hours.

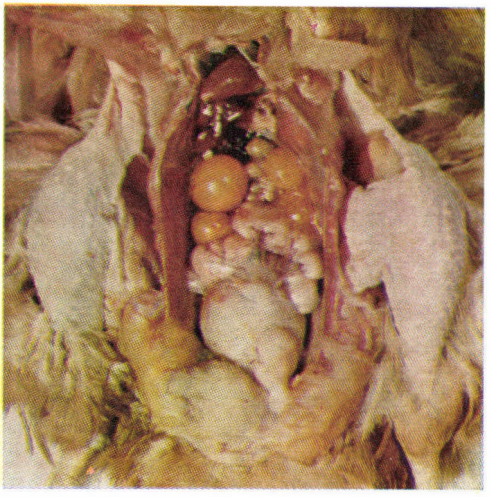


Fig. 1. Fully-formed egg present in the uterus

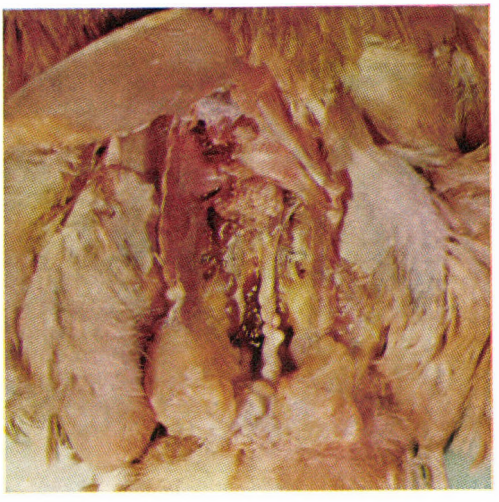


Fig. 2. Ovary and oviduct atrophied

Table I

O_2 uptake by different parts of the oviduct of adult Hungarian Yellow hens
(μl/mg dry tissue)

Group	d. f.	Infundibulum		Magnum		Isthmus		Uterus		Vagina	
		1 hr.	2 hrs.	1 hr.	2 hrs.	1 hr.	2 hrs.	1 hr.	2 hrs.	1 hr.	2 hrs.
I	5	1.91	3.41^{x}	0.97^{xx}	1.65^{xx}	1.91	3.58	3.23^{xx}	6.14^{xx}	1.83	3.28
		±0.39	±0.51	±0.14	±0.21	±0.13	±0.13	±0.30	±0.68	±0.14	±0.22
II	7	2.58**	4.89**	1.08	1.98**	1.96	3.71	3.52**	6.17**	1.88	3.47
		±0.41	±0.67	±0.11	±0.18	±0.34	±0.69	±0.44	±0.53	±0.42	±0.54
III	7	1.27**	2.28^{x}**	1.51^{xx}	3.09^{xx}**	1.78	2.74	1.70^{xx}**	2.95^{xx}**	1.29	2.65
		±0.20	±0.31	±0.21	±0.49	±0.21	±0.49	±0.19	±0.19	±0.12	±0.39

^{x} $p < 0.05$ (between Gr. I and III)
^{xx} $p < 0.01$ (between Gr. I and III)

* $p < 0.05$ (between Gr. II and III)
** $p < 0.01$ (between Gr. II and III)

In Fig. 3 the O_2 uptake of the uterus in the three groups at half hourly intervals have been presented. The O_2 uptake for the 1st, 2nd and 3rd group at the end of 2 hrs is 6.14, 6.17 and 2.95 μl/mg dry tissue respectively.

Values for inorganic phosphorus, calcium and magnesium in mg% and alkaline phosphatase in B.U. of the serum have been presented in table II. The inorganic phosphorus appears to be in the same level in all the three groups. The calcium level is 25.48 mg% for the hens having egg in the uterus and 16.16 mg% for the birds with atrophied ovary. In the birds with fully developed

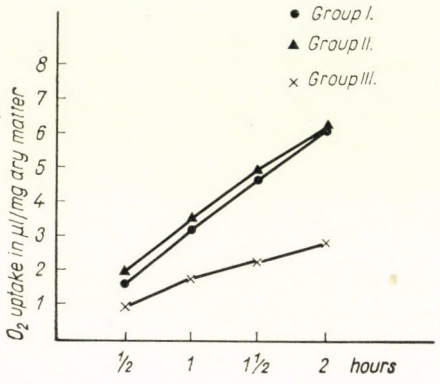


Fig. 3. O_2 uptake of the uterine tissue at half hourly intervals

follicles there is a great variation in the calcium concentration of the serum. The magnesium concentration of serum is 3.43, 2.47 and 2.18 mg% for the 1st, 2nd and 3rd group respectively. Alkaline phosphatase activity of the serum does not show great variation between the groups.

In Table III/a the figures for the percentage of the dry matter (D.M.%), ash in dry matter (Ash% D.M.) and ash in the wet tissue (Ash% W.T.) for

Table II

Serum analysis

Group	d. f.	Inorganic phosphorus (mg%)	Calcium (mg%)	Magnesium (mg%)	Alkaline phosphatase (B. U.)
I	5	5.14 ±0.93	25.48** ±0.99	3.43 ±0.73	6.60 ±1.48
II	7	4.81 ±0.45	18.78 ±6.36	2.47 ±0.29	7.01 ±1.39
III	9	5.21 ±0.73	16.16** ±0.76	2.18 ±0.50	5.50 ±0.87

** $p < 0.01$ (between Gr. I and III).

Table IIIa

Tissue analysis
Dry matter and ash percentage

Designation	Group	d. f.	Infundibulum	Magnum	Isthmus	Uterus	Vagina
D. M. (%)	I	5	15.80^{x} ±0.44	27.27 ±2.21	21.69 ±1.06	16.29 ±0.74	16.49 ±1.96
	II	7	16.91* ±0.88	25.09 ±1.41	21.75 ±0.83	18.32 ±0.77	14.37 ±0.72
	III	7	22.32^{x}* ±1.56	20.25 ±1.47	23.92 ±2.47	19.49 ±0.68	16.79 ±1.22
Ash % (D. M.)	I	5	7.66 ±1.51	5.92 ±1.60	7.06 ±1.15	8.80 ±1.57	7.39 ±1.58
	II	7	7.75 ±1.44	4.51 ±0.13	7.03 ±0.50	6.96 ±0.80	8.62 ±0.83
	III	7	12.48 ±1.44	7.06 ±1.01	9.23 ±1.41	7.07 ±0.93	9.64 ±1.03
Ash % (W. T.)	I	5	1.16^{x} ±0.30	1.45 ±0.26	1.34 ±0.27	1.38 ±0.17	1.22 ±0.29
	II	7	1.29* ±0.21	1.14 ±0.06	1.51 ±0.11	1.26 ±0.17	1.15 ±0.09
	III	7	2.86^{x}* ±0.44	1.31 ±0.09	2.25 ±0.42	1.23 ±0.19	1.59 ±0.16

^{x} $p < 0.05$ (between Gr. I and III) * $p < 0.05$ (between Gr. II and III)
^{xx} $p < 0.01$ (between Gr. I and III) ** $p < 0.01$ (between Gr. II and III)

tste different regions of the oviduct have been collected along with their inandard errors. The significant differences between the groups have been hdicated by the symbols by the side of the figures, if there is any. Dry matter

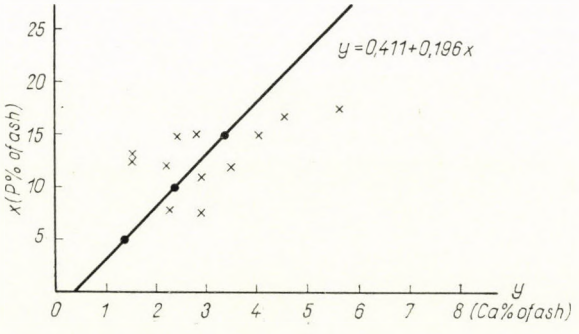


Fig. 4. Regression of phosphorus on calcium in the oviduct (excluding the uterus)
× — Symbolise the averages of phosphorus percentages and their corresponding calcium percentages in the ash of the oviduct tissue (see Table III)
● — Indicates the regression values as calculated from the equation

percentage of magnum was found to be the highest. The ash percentage of the wet tissue of different regions of the oviduct lie between 1.16 and 1.51. The ash percentage of the infundibulum is significantly higher in Group III in comparison to the other two groups.

In Table III/b the figures for P, Ca and Mg percentages of the ash of different regions of the duct as well as the alkaline phosphatase activity of the regions (B.U./1 g dry tissue) have been presented with symbols by their sides, if any, to represent the significant difference between groups. The calcium concentration in the uterine wall is significantly higher in hens waiting for ovulation than in those having fully formed egg in the uterus.

Table IIIb

Tissue analysis
P, Ca, and Mg, and alkaline phosphatase

Designation	Group	d. f.	Infundibulum	Magnum	Isthmus	Uterus	Vagina
P % (Ash)	I	5	17.70^{xx} ±3.83	13.41 ±3.15	15.22 ±3.17	12.49 ±1.59	12.67 ±2.27
	II	7	17.02** ±3.52	15.05 ±1.76	12.46 ±1.83	12.26 ±1.35	15.08** ±2.00
	III	7	7.61^{xx} ±0.86**	12.27 ±1.16	11.15 ±2.51	12.49 ±2.00	8.32** ±1.09
Ca % (Ash)	I	5	5.59^{xx} ±1.19	1.53 ±0.49	4.03 ±0.80	1.54+ ±0.37	1.50 ±0.67
	II	7	4.51 ±1.45	2.44 ±0.51	3.48 ±0.50	3.24+ ±0.44	2.71 ±0.95
	III	7	2.86^{xx} ±0.12	2.19 ±0.21	2.90 ±0.51	2.69 ±0.43	2.22 ±0.30
Mg % (Ash)	I	5	1.13 ±0.45	3.46 ±0.75	1.37 ±0.40	1.03 ±0.28	1.22 ±0.16
	II	7	0.78 ±0.17	4.91 ±1.22	1.51 ±0.42	1.64 ±0.34	1.03 ±0.32
	III	7	0.85 ±0.26	3.03 ±0.74	2.50 ±1.08	1.63 ±0.39	— —
Alkaline phosphatase (B.U.) 1 g dry matter	I	5	6.70 ±1.63	2.36 ±0.80	2.47 ±1.70	7.76 ±2.36	6.53 —
	II	7	6.37 ±2.19	4.19 ±0.90	4.29 ±1.17	5.30 ±1.27	6.19 ±2.44
	III	7	3.94 ±0.67	3.53 ±0.84	3.78 ±0.76	4.74 ±1.19	3.90 ±1.03

^{x} $p < 0.05$ (between Gr. I and III) * $p < 0.05$ (between Gr. II and III)
^{xx} $p < 0.01$ (between Gr. I and III) ** $p < 0.01$ (between Gr. II and III)
+ $p < 0.05$ (between Gr. I and II)

Taking the average values of calcium and phosphorus percentages of the ash of different regions of the oviduct of the three groups into consideration, as tabulated under Table III a correlation coefficient of 0.57 was found to exist between them. The value for the uterus was not taken into account in this calculation, as the Ca concentration was fluctuating due to its role in egg shell formation, which is amply exemplified by the significant difference in the calcium concentration between the first two groups. The regression of phosphorus on calcium has been calculated, the equation being $Y = 0.411 + + 0.196\ x$, where Y = calcium percentage of the ash and x = phosphorus percentage of the ash (Fig. 4). The average values for the different regions of the groups (vide Table III) are also plotted on the graph.

Discussion

A perusal of Table I leads to the contention that in the hens having matured follicles the metabolic activity of the infundibulum is high. However, this activity becomes still higher after oviposition as the infundibulum is to receive the egg, though the difference could not be found to be of statistical significance. In the case of the birds with atrophied ovary the activity of the infundibulum is significantly low as is expected. There is practically no difference in the O_2 uptake between group I and group II so far as the magnum is concerned. Surprisingly enough, contrary to the expectation, the O_2 uptake of the magnum in the third group is significantly higher than in the other two groups, specially when the figures for two hours activity are taken into consideration. However the reason for this phenomenon is not clear. The state of activity of the isthmus is practically the same in all the three groups. The metabolic status of the uterus in the first two groups is significantly higher than that of the atrophied group ($p < 0.001$) showing that in the latter group the state of activity of the uterus is affected to the maximum (Fig. 3). It may be noted here that the O_2 uptake of different regions of the oviduct of the Group III is practically on the same level. It leads to the contention that the regions of the duct have lost their individual functions and are acting as a single unit.

The phosphorus level of the serum is practically the same in all the three groups. The calcium level is very high in Group I showing that calcium is perhaps mobilized from the bone for egg formation. Similar results were observed by SENDROY et al (1961) for the laying pigeons. The level is statistically significant from that of the Group III, though not from Group II, as the standard error is very high in the case of the latter. The very high standard error in Group II may be explained on the basis of the number of eggs in a clutch and the period of the interval. If the clutch is a long one with small intervals, there is a high calcium requirement. This calls upon the bone to

mobilize calcium, which perhaps explains the fact that in Group II a calcium level as high as 32 mg% and as low as 14 mg%, have been recorded. The latter appears to be a case completely reverse of the former. So in the Group II a great variation is encountered. The magnesium value for Group I is the highest, Group III the lowest, with Group II lying in between in the same order as that of the calcium. The serum calcium, inorganic phosphorus and magnesium do not bear any relation to each other signifying that they vary independently.

Taking the ash percentage of the D.M. and of the wet tissue into consideration, it may be stated that the figures for Groups I and II are practically identical even though it appears as if the ash% (D.M.) of the uterus in Group I is higher than that of Group II, though not statistically significant. It might be that minerals are mobilized to the uterus to take part in the shell formation causing the ash percentage to rise, which requires a further confirmation. The infundibulum in the third group is having a significantly higher ash percentage, than that of the other two groups.

The P percentage of the ash between the first two groups is exactly the same. In the third group it is significantly lower in cases of infundibulum and vagina than the corresponding figures in the other two groups. Perhaps this is a result of the atrophy. But why it is only so in the extremities of the duct is a question to be investigated. The Ca percentages of ash in the regions of the oviduct between the first two groups are showing some variations. The infundibulum is having a high Ca concentration, the reason for which is not clear. The Ca concentration of the isthmus is also high in the first two groups, which is in agreement with the report of TAYLOR and HERTELENDY (1960). There is a significant difference between Ca concentration of the uterus of the first two groups. It leads to the hypothesis that in the first group the Ca has been used up for egg formation causing the Ca level of the uterine wall to be low and after oviposition the concentration of Ca again goes high in the wall as preparation goes on for receiving the next egg. The Ca concentration in the third group is practically the same in all the regions. The magnesium levels are of the same order between the groups, while in a group the magnum magnesium level is surprisingly higher than in the other regions, though its O_2 uptake is the lowest, the reason for which is not known. The alkaline phosphatase activity of the uterus in the Group I is the highest, perhaps due to its role in egg formation. However after oviposition the phosphatase level goes down in the uterus, whereas it slightly increases in the isthmus and magnum after the oviposition. There is practically no difference between Groups I and II so far as the phosphatase activity of the infundibulum and vagina is concerned. In the third group there is no appreciable difference in the phosphatase activity between the regions showing that the regions are be- having as a single unit losing their previous individual functions which confirms the earlier findings.

The phosphorus and calcium contents of the ash of the oviduct (excluding the uterus) are related to each other ($r = 0.57$) to the extent of 33%. This signifies that other factors are responsible in causing the change of calcium concentration in the regions of the oviduct to the extent of 67%. In the uterus concentration of calcium is in a state of flux due to its role in the egg formation.

SUMMARY

The oviductus of 6 adult (1½ year old) Hungarian Yellow hens with egg in the uterus (Group I), 8 with fully developed follicles (Group II), and 10 with atrophied ovary and oviduct (Group III) were examined for the O_2 uptake of the different regions, their D.M.%, ash % (D.M.), ash % (W.T.), ash Ca, P and Mg percentages and the alkaline phosphatase activity. The serum was simultaneously examined for the inorganic phosphorus, calcium, magnesium and alkaline phosphatase activity.

The O_2 uptake of the uterus was found to be the highest and of the magnum the lowest. Infundibulum activity was found to be high before ovulation. The O_2 uptake of the regions of the oviduct was practically in the same level in the Group III. The serum calcium of the birds before oviposition was 25.48 ± 0.99 and birds with atrophied ovary 16.16 ± 0.76, varying highly in the birds with fully developed follicles waiting for ovulation. Magnesium level of serum follows the pattern of calcium. The serum Ca, P, Mg and alkaline phosphatase do not bear any relation to each other. Dry matter percentage was the highest in magnum (27.27%). In the atrophied oviduct the P content of infundibulum and vagina was significantly low. Calcium content of isthmus and infundibulum was high. High Ca content of statistical significance was observed in the uterine wall of the hens before ovulation as compared to those before oviposition. A correlation coefficient of 0.57 was found between the ash Ca and P of the oviduct with a regression equation of $Y = 0.411 + 0.196\,x$, where Y = Ca% of ash and x = P % of ash. The magnum magnesium concentration was found to be much higher than that of the other regions.

Acknowledgement

The authors are highly thankful to Mrs. E. Szikszay for her untiring assistance in conducting the investigation. Thanks are also due to Mr. B. Lacza, Research Officer, Small Animals Research Station, Gödöllő, for supplying the birds for the investigation.

LITERATURE

Bell, D. J.: Biochem. J. **75** (1960), 224. Bodansky, A.: J. Biol. Chem. **101** (1933), 93. Brown, W. O. and Badman, H. G.: Poultry Sci. **41** (1962), 654. Clark, E. P. and Collip, J. B.: (cit. Hawk, P. B., Oser, B. L. and Summerson, W. H.: Practical Physiological Chemistry, Philadelphia, 1949.). Denis: (cit. Hawk, P. B., ibid.). Driggers, J. C. and Comar, C. L.: Poultry Sci. **28** (1948), 420. Fiske and Subbarow: (cit. Hawk, P. B. ibid.). Hurwitz, S. and Griminger, P.: J. Nutrit. **73** (1961), 177. Juvancz, I.: (In Bálint, P. and Hegedüs, A.: Klinikai Laboratóriumi Diagnosztika, Budapest, 1955.). Kramer and Tisdall: (cit. Hawk, P. B., ibid.). McDaniel, L. S. and Chute, H. L.: Amer. J. Vet. Res. **22** (1961), 99. O'Neil, J.: Poultry Sci. **27** (1947), 674. Robinson, R. (In Bamann, E. and Myrback, K.: Die Methoden der Fermentforschung. Leipzig, 1940.). Robinson, J. R.: Biochem. J. **45** (1949), **68**. Sendroy, J. Jr., MacKenzie, M. and Collison, H. A. : Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.) **108** (1961), 641. Stutts, E. C., Briles, W. E. and Kunkel, H. O.: Poultry Sci. **36** (1957), 269. Tanabe, Y.: Gen. Comp. Endocrin. **2** (1962), 446. Tanabe, Y. and Wilcox, F. H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **103** (1960), 68. Taylor, T. G. and Hertelendy, F.: Nature (Lond.) **187** (1960), 244.

IMMUNIZATION EXPERIMENTS WITH IRRADIATED LARVAE

II. THE RESISTANCE-INDUCING EFFECT OF TREATMENT WITH IRRADIATED LARVAE OF ASCARIDIA GALLI IN CHICKENS

By

I. VARGA

Helminthological Research Laboratory of the Department of Parasitology (Director: Prof. S. KOTLÁN), University of Veterinary Sciences, Budapest

(Received January 2, 1964)

The results obtained so far by various investigations on the acquired resistance against *Ascaridia galli* are so contradictory as to arouse even doubts upon its existence.

According to HERRICK (1926) a previous exposure to infestation does not, or but insignificantly, influence the results of a second exposure to infestation 30 to 120 days later. In trials of GRAHAM, ACKERT and JONES (1932) the initial infestation with 500 larvae did not induce resistance against a challenge dose of 300 larvae, though bird groups challenged with smaller doses of larvae proved significantly resistant. REBRASSIER and MC CRORY's (1931) immunization experiments with intracardially-injected worm-extracts were unsuccessful. Exactly the same was experienced by EISENBRANDT and ACKERT (1940), who, in addition, pointed out that between a possibly positive sero-precipitation test and the resistance of birds there seems to be no correlation whatever. In contrary to the above opinions SADUN (1948) found that following a single infestation as well as on repeated ones a "strong resistance" developed against *A. galli*. Moreover, according to SADUN (1949) the serum of resistant birds contains protective antibodies the titre of which may be determined by serial dilutions used with larvae-precipitation. TODD and HANSEN (1951) called the attention to the great importance of the birds' resistance from an oeconomic point of view by demonstrating how the birds' growth in weight is reduced by energies necessary to subdue the parasite's development and settlement. However, according to EGERTON and HANSEN (1955), a previous treatment of birds with immune serum has no effect whatever upon the growth of worms, and facilitates even their settlement to a higher number. Birds harbouring more worms proved to gain higher body-weight. Finally, DEO and SRIVASTAVA (1961) observed resistance lasting for 4 to 5 weeks against the second challenge infection even in cases when the intestinal tract of the birds proved free of worms originating from the previous infestation.

This paper deals with experiments carried out to show whether a previous exposure to infestation by X-ray-inactivated larvae be likely to influence the development of a worm population of *A. galli* against a challenge exposure to infestation with normal larvae of that species. An X-ray dose of 10 thousand to 20 thousand r appeared to suit best for the inactivation of larvae.

Material and methods

Methods employed for rearing infective larvae of *Ascaridia galli* for irradiation, or harvesting worms from the intestinal tract for their measuring, determination of sex, etc., were the same as described in a previous paper (VARGA, 1964).

To collect worms from the decanted intestinal contents, a binocular stereomicroscope was used, the entire tract of the small intestine flattened by means of a glass-compressorium was examined likewise by the microscope. To standardize the number of larvae for infestation a dilution method was

employed. In order to control full infectivity of the larvae, and to prove the optimal dose of irradiation expected, simultaneously with each vaccination two chickens were infested with non-inactivated and two birds with irradiated larvae. These birds were sacrificed two weeks after infestation. The fact that in all four chickens worms could be detected served as a proof of the infectiveness of the larvae, while the absence of male worms in birds treated with irradiated larvae indicated the expected degree of inactivation. Leghorn white breed birds of both sexes had been kept under parasite-proof conditions since hatching. Following artificial infestation each specimen was housed in a separate cage in order to prevent mutual infestation. All birds were fed identically. The commencement of egg production was controlled by coprologic examinations carried out at first weekly, from the 35th day on, *i.e.* following challenge-infestation, daily. As soon as in the control groups mature worms could be detected by coprologic examination, all treated birds were killed.

Results

Experiment I. Single vaccination

(It should be noted that the term vaccination is used in the following to indicate an infestation with either irradiated or non-irradiated larvae prior to the challenge exposure to infestation. In consequence worms developing in the experimental birds are termed "vaccination-worms" and "challenge-worms".)

Three groups, each consisting of 10 chickens, were vaccinated when 6 weeks old, each bird receiving 500 larvae irradiated with 20 000 r [group A_1], with 10 000 r [group B_1], or non-irradiated larvae [group C_1]. Three weeks later each bird of these groups was challenged with 1000 non-irradiated larvae, and at the same time a control group of 10 healthy chickens, originating from the same litter, was treated similarly [group D_1].

Worm-eggs could be discovered at first in group D_1 on the 42nd day following infestation, then in group C_1 as soon as on the 46th day following the vaccination. Worm eggs were excreted also in several birds of groups A_1 and B_1. After challenge animals were sacrificed on the 46th to 49th days.

As no particular differences in number and growth could be noted between worms detected at necropsy of the birds in any group, only their average number and size for group are recorded (Table I).

The average number of worms for group equals the total number in group divided by the number of birds. This number includes in the groups A_1, B_1 and C_1 besides "challenge-worms", also "vaccination-worms". The average length of worms for group equals the quotient of the total length of the worm burden expressed in mm per number of worms in groups.

Table I

The average number and size of worms recovered from birds following single vaccination

Group	Average number of worms	Average size of worms
A_1	144.8	14.36 mm
B_1	135.5	9.08 mm
C_1	140.7	13.34 mm
D_1	90.6	14.15 mm

An analysis of the worms' size shows that worms of group D_1 reached within 7 weeks approximately the same size as the challenge-worms of group A_1, B_1 and C_1 within 7, and the vaccination-worms within 10 weeks altogether. Out of the worms present in groups A_1 and B_1 some specimens could be recognized as vaccination-worms, this in turn indicating that the challenge-worms of Aroup A_1, B_1 and C_1 were somewhat smaller in size than those found in group D_1. The smaller number of worms in group D_1 might be due presumably to the fact that birds of that group had been infected but once.

Experiment II. Two vaccinations

For arrangement of this experiment see Table II.

Table II

Group	Number of birds	X-ray dose	Age of birds when treated: 6 weeks; Number of larvae admin. per bird: 1 vaccination with irradiated larvae	Age of birds when treated: 7 weeks; Number of larvae admin. per bird: 2 vaccinations with irradiated larvae	Age of birds when treated: 10 weeks; Number of larvae admin. per bird: challenge with non-irrad. larvae
A_2	11	20 000	500	1000	1000
B_2	11	10 000	500	1000	1000
C_2	10	0	500	1000	1000
D_2	10	—	—	—	1000

Chicken No. 55 of group C_2 discharged worm-eggs on the 42nd day following first vaccination, while chicken No. 53 on the 45th day following challenge. No worm-eggs were excreted by any of the birds of groups A_2 and B_2.

It was planned then to kill the experimental birds in order to assess the results of this experiment. Unfortunately, however, meanwhile several animals had died of intercurrent illnesses. Those birds which died at a too early date

were disregarded. But even then, the number of days passed, and consequently the duration of the worms' development from the challenge-infestation until the postmortems, was not exactly the same for all birds, even in the same group. This is, no doubt, unfavourable for the exact evaluation of results. As, however, early postmortems had to be made particularly in vaccinated bird groups, the smaller size of their challenge-worms, due, no doubt, to their shorter life span, is somewhat counterbalanced by, and might have augmented to, the size of a number of recovered vaccination worms (originating from the first or, possibly, second vaccination *i.e.* of surviving worms having lived 3 to 4 weeks longer than the challenge worms. Nevertheless, it appears possible that the numerical values of group-averages, without those experimental drawbacks, might have proven — although insignificantly — different.

In Table III the average data established in the individual groups and their birds are recorded. In order to eliminate generalization of the data obtained by postmortems on different days, the more important data are detailed by individual birds. Beyond number and average size, these data are likely to be informative on the number of days required for the development of the worm-population in question. The figures presented in the fourth column of the heading "Days elapsed from infestation to postmortem", are fictitious being derived from the summarized days of parasitic life of the vaccination- and challenge-worms. These figures reflect most spectacularly the real difference existing between the growth of worms in group D_2, and those in the other groups.

From an analysis of the Table's data it is clear that it would be unfounded to overestimate the consequences of the above-mentioned drawbacks. Though it cannot be excluded that the worms present in birds died earlier, might have grown, anyhow the effect of resistance is evident. Comparing the average size of the 30 days old worms of group D_2 (see bird No. 90) with the average size of the relative worms of groups C_2 (bird No. 56), B_2 (No. 31) and A_2 (No. 10) the same peculiarity is recognized as when the size of the sexually mature worms (see birds Nos 91 and 97) of group D_2 is compared with the size of the corresponding worms of group C_2 (birds 49 and 53), group B_2 (birds Nos 27 and 25) or even of group A_2 (Nos 5 and 1). The same relation in average size of worms is shown also by the precarious range limits. The average length of worms (vaccination-worms and challenge-worms altogether) of the vaccinated groups (C_2, B_2, A_2) is smaller than of those of the control group (D_2) having received but one infestation. The difference is most pronounced between worms of groups D_2 and B_2.

The average number of worms in every vaccinated group is greater than in the control group (D_2).

It is difficult to interprete the quality of this biological phenomenon. A little more is expressed by Fig. 1. This diagram illustrates the apportionment

Table III

Data obtained in bird-groups vaccinated twice

Mark of group	Mark of chickens	Days elapsed from infestation to postmortem: 1st vaccination	2nd vaccination	challenge	total	Number of worms	Average size in mm
A_2 20 000 r	9.	51	44	24	119	129	2.06
	10.	57	50	30	137	85	3,60
	4.	59	52	32	143	70	3.87
	7.	65	58	38	161	166	3.19
	3.	68	61	41	170	309	5.20
	8.	68	61	41	170	112	5.93
	2.	69	62	42	173	180	6.85
	5.	69	62	42	173	192	3.91
	1.	73	66	46	185	65	5.23
	6.	73	66	46	185	71	4.64
	Average	65.2	58.2	38.2	161.6	137.9	Group-average 4.71
B_2 10 000 r	31.	58	51	31	140	179	3.08
	26.	59	52	32	143	238	2.21
	32.	64	57	37	158	174	3.73
	24.	65	58	38	161	164	2.47
	29.	68	61	41	170	132	3.33
	27.	69	62	42	173	508	4.29
	25.	71	64	44	179	162	2.30
	28.	71	64	44	179	102	3.13
	33.	73	66	46	185	32	4.50
	30.	75	68	48	191	222	11.70
	Average	67.3	60.3	40.3	167.9	191.3	Group-average 4.28
C_2 0 r	55.	43	36	16	95	268	3.74
	52.	52	45	25	122	159	5.21
	54.	54	47	27	128	269	5.68
	56.	63	56	36	155	96	3.72
	57.	68	61	41	170	152	2.52
	49.	70	63	43	176	297	5.92
	53.	73	66	46	185	102	18.64
	Average	60.4	53.8	33.4	145.8	191.8	Group-average 5.79
D_2 control	90.			30	30	43	13.55
	91.			43	43	49	17.04
	97.			44	44	48	24.43
	89.			51	51	93	15.18
	93.			51	51	65	19.75
	94.			52	52	133	30.97
	95.			53	53	100	16.12
	96.			53	53	102	30.95
	98.			53	53	156	25.57
	Average			47.7	47.7	87.6	Group-average 22.94

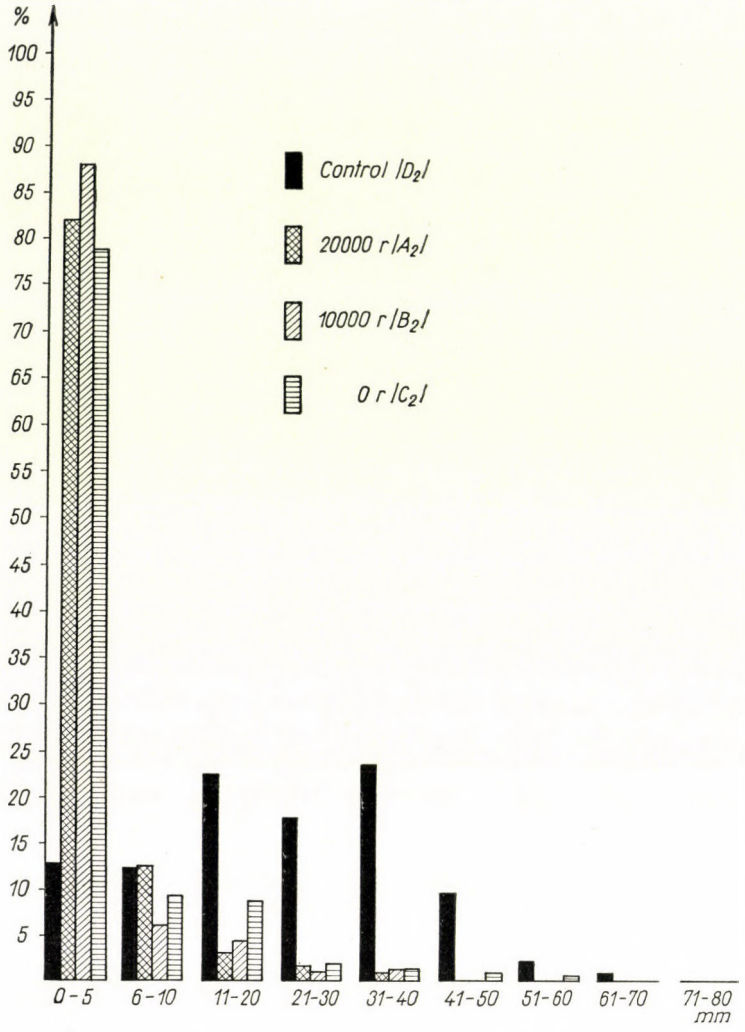


Fig. 1. The length range of worms expressed in percentage in twice vaccinated and control groups

of their size by the percentage of worms recovered in individual groups. It appears evident that the mean percentage of worms found in the vaccinated birds (attaining 87 per cent in group B_2) consists of specimens retarded in development, measuring scarcely 5 mm, *i.e.* of second- resp. third-stage larvae which in the host have not yet moulted or only once. Sexually mature worms occurred, except in birds of the control group (D_2), in birds treated with non-irradiated larvae (group C_2) only.

In Fig. 2 the numerical data of size range of worms isolated from birds of groups D_2 (controls) and B_2 are given. The recovered specimens from both

groups may be seen in the photos of Fig. 3. Each tube contains specimens found in a single bird.

As shown by Figs 2 and 3, three birds of group B_2 harboured, in addition to numerous small-sized specimens, a number (compare bird No. 30) of larger worms (up to 41 mm in length). With particular reference to SADUN's findings, according to which worms in resistant birds, originating from both the previous and the subsequent (challenge) infestation, become eliminated from the

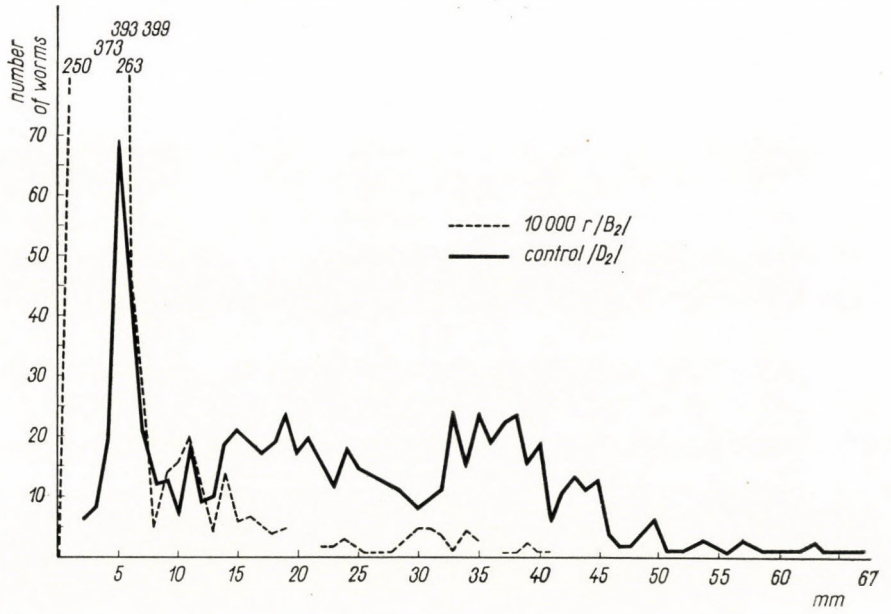


Fig. 2. The size range of worms in groups B_2 and D_2

intestine, it would be of interest to know whether the above-mentioned larger specimens be assigned to "vaccination-worms" or to "challenge-worms". To decide this question their size alone cannot be taken into account because irradiated larvae, though being, as a rule, somewhat retarded in growth in comparison to untreated ones, yet in view of the infestation with them having taken place 3 to 4 weeks earlier, their longer span of parasitic life might possibly compensate their retarded growth. Taking, however, into consideration that according to our previous experiments (1964), on the one hand, the development of male worms was stopped by irradiating larvae even with 10 000 r and, on the other, that the females originating from irradiated larvae may, at least in part, and those exceeding the size of 25 to 30 mm, can safely be distinguished from non-irradiated ones by morphological changes due to irradiation (undeveloped gonads in about 30 per cent of them), it seems doubtless that the larger worms recovered from group B_2 belong partly to vaccination-worms, partly

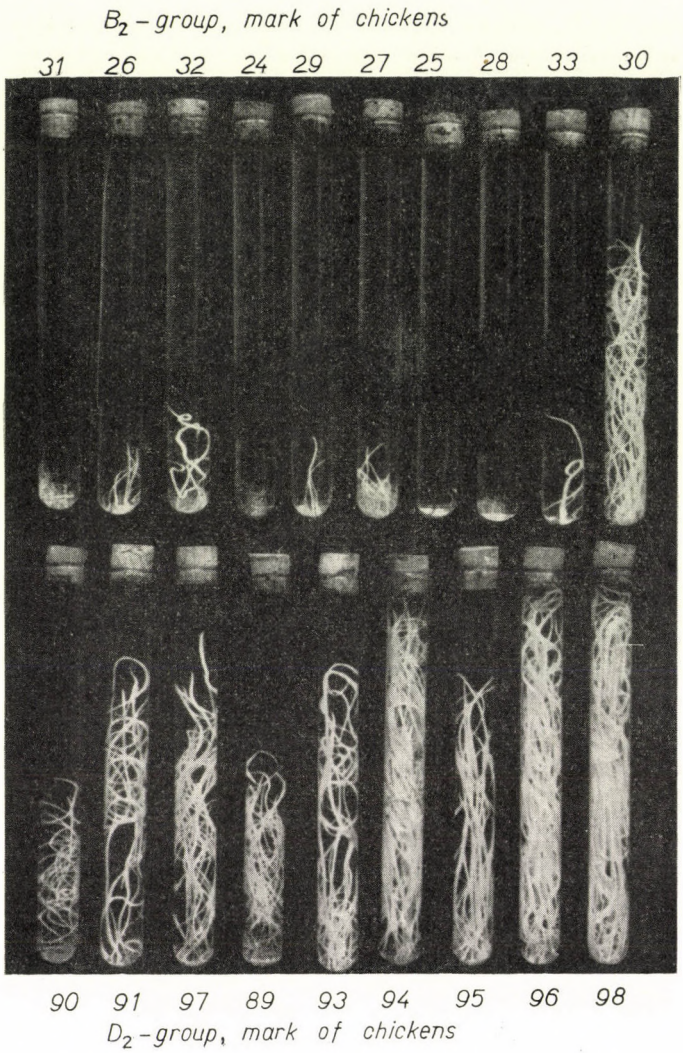


Fig. 3. Worms found in groups B_2 and D_2

to challenge-worms. It may be, therefore, asserted that the three larger specimens recovered from bird No. 32, on account of the absence of males, represent "vaccination-worms". The same is true for the two larger specimens of bird No. 33, while the 32 larger specimens harboured by bird No. 30, originated partly from vaccination-larvae partly from challenge-larvae.

The smaller worms (0.5 to 25 mm in size) are of both sexes, the ratio of ♂ and ♀ specimens does not differ from that calculated from cases of a single infestation. It follows, therefore, that these specimens represent most probably "challenge-worms" retarded in development. The same conditions prevail in

the birds of group A_2. In group C_2 the "vaccination" was carried out with non-irradiated larvae, the differentiation of "vaccination-worms" from "challenge-worms" is, therefore, not possible. The sexually mature specimens found in bird No. 55 are doubtless "vaccination-worms" (as may be judged from the date of egg-production), in the case of bird No. 53 this cannot be decided.

Discussion

It seems evident that the present experiment, considering its mentioned drawbacks and the relatively small number of experimental animals used, does not permit to draw comprehensive conclusions. If, however, the average size of worms can be looked upon as a criterion of the host's resistance, as it was done by ACKERT et al. (1925), the present results are, no doubt, in favour of an acquired resistance against *A. galli*. That a previous infestation with *A. galli* is likely to induce resistance against subsequent infestations with this parasite, has been proven by SADUN (1948), DEO and SRIVASTAVA (1961). Their investigations ascertained the fact that from resistant animals the worm burden originating from the initial infestation as well as that developing upon challenge infestation is, in most cases, eliminated. Moreover, the acquired resistance will persist for 4 to 5 weeks even in cases, when the worms having induced it are eliminated prior to the challenge infestation.

The present experiment has shown that resistance develops not only in animals previously infected by normal larvae, but also in those treated with irradiated larvae. In the latter case the resistance is manifested, instead of elimination of the worms, by definite inhibition of their development. It might be supposed that the two kinds of result represent different degrees of resistance.

A single vaccination produced practically unsatisfactory results.

A comparison of worms obtained from bird groups vaccinated twice, and of those found in control groups a more pronounced retardation in development of the former is shown. The superior effect of repeated vaccination has been experienced already in calves with *Dictyocaulus viviparus* by JARRETT et al. (1959), and in guinea-pigs by POYNTER et al. (1960), in sheep with *Dictyocaulus filaria* by SOKOLIĆ et al. (1961), in dogs with *Uncinaria stenocephala* by DOW et al. (1961).

It is remarkable that according to the present observations the degree of resistance induced by vaccination is roughly the same regardless the larvae used for vaccination had been irradiated or not. This appears to admit the inference that the effect of mitigation of larvae by irradiation was optimal. The reason of preferring mitigated larvae for immunization appears to be evidenced by the quality of the worms developing from them. These, though

preserve their immunogenic capacity, remain sexually sterile. Worms developing per chance from mitigated larvae are exlusively female specimens unable to produce fertile eggs. This has been proven also by the second experiment during the course of which an egg-discharge occurred in groups D_2 and C_2 only.

The most pronounced resistance developed in group B_2. As it may be evidenced from Figs 2 and 3 none of the birds of this group harboured mature worms, and specimens attaining 20 to 41 mm in size were rarely seen. It is true that chicken No. 30 contained vaccination- and challenge-worms remarkably greater in number and size, yet none of these reached sexual maturity until postmortem examination. Their feeble resistance might have been due to individual properties of the host.

Many of the worms showing retarded development proved to be second-stage specimens having not moulted in the host, or third- and fourth-stage larvae. Consequently, it might be inferred that the same close relation must exist between the mechanism of resistance and the processes of moulting. More intimate details on the mechanism of resistance can be expected from further research work.

SUMMARY

In order to learn whether a previous infestation of chickens by irradiated larvae of *Ascaridia galli* be likely to influence a subsequent challenge infestation, two experiments were carried out.

Groups, each consisting, in average, of 10 six weeks old chickens, were infested partly with non-irradiated, partly with irradiated (10 thousand and 20 thousand r) larvae of *A. galli*. In the first experiment infestation took place once (single vaccination), while in the second birds were infested twice at an interval of one week (two vaccinations). Three weeks later the bird-group was infested with normal larvae. As soon as in the latter group sexually mature worms could be detected, all experimental birds were sacrificed.

Birds discharging worm-eggs occurred in all groups except those vaccinated twice with irradiated larvae (groups A_2 and B_2).

In birds vaccinated once, no noteworthy resistance developed.

In birds vaccinated twice, however, a strong retardation in development of the challenge-worms was observed. The degree of resistance, though fairly alike in the three groups, was most pronounced in the group vaccinated with larvae irradiated with 10 000 r. The majority of challenge-worms recovered from the resistant birds until the date of postmortem, consisted of 2nd, 3rd and 4th stage larvae.

Acknowledgements

The author is glad to express his thanks to Professor S. KOTLÁN for his interest shown in this investigation. The assistance of Mrs. Z. PARÁDY and Dr. V. VÁRTERÉSZ of the Radiobiological Research Institute, in providing the X-ray machine used, is greatly appreciated.

REFERENCES

ACKERT, J. E., PORTER, D. A. and BEACH, T. D.: J. Par. **21** (1935), 205. DEO, P. G. and SRIVASTAVA, H. D.: Indian J. Vet. Sci. **31** (1961), 203. DOW, C., JARRET, W. F. H., JENNINGS, F. W., MCINTYRE, W. I. M. and MULLIGAN, W.: Am. J. Vet. Res. **22** (1961), 352. EGERTON, J. R. and HANSEN, M. F.: Exp. Par. **4** (1955), 335. EISENBRANDT, L. L. and ACKERT, J. E.: Amer. J. Hyg. **32** (1940), 1. GRAHAM, G. L., ACKERT, J. E. and JONES, R. W.: Ibidem **15** (1932), 726. HERRICK, C. A.: Ibidem **6** (1926), 153. JARRETT, W. F. H., JENNINGS, F. W., MCINTYRE, W. I. M., MULLIGAN, W., SHARP, N. C. C. and URGUHART, G. M.: Amer. J. Vet. Res. **20** (1959), 522. POYNTER, D., JONES, B. V., NELSON, A. M. R., PEACOCK, R., ROBINSON, J., SILVERMAN, P. H. and TERRY, R. J.: Vet. Rec. **72** (1960), 1078. SADUN, E. H.: Amer. J. Hyg. **47** (1948), 282. IDEM: Ibidem **49** (1949), 101. SOKOLIĆ, A., JOVANOVIĆ, M., NEVENIĆ, V., SOFRENOVIĆ, D., ČUPERLOVIĆ, K. and MOVSESIJAN, M.: Veterinarski Glasnik (Beograd), 1961, 635. REBRASSIER, R. E. and MCCRORY, B. R.: J. Amer. Vet. Med. Ass. **32** (1931), 349. TODD, A. C. and HANSEN, M. F.: Amer. J. Vet. Res. **12** (1951), 58. VARGA, I.: Acta Vet. Hung. **14** (1964), 95.

IMMUNIZATION EXPERIMENTS WITH IRRADIATED LARVAE

III. THE EFFECT OF X-RAYS UPON EGGS AND LARVAE OF SYNGAMUS TRACHEA

By

I. VARGA

Helminthological Research Laboratory of the Department of Parasitology (Director Prof. S. KOTLÁN), University of Veterinary Sciences, Budapest

(Received January 2, 1964)

At the time when these studies were planned, the effect of X rays on Syngamus has not yet been discussed in literature. However, shortly before the present paper was sent to press, our attention was directed to an abstract of SHIKHOBALOVA and PARUZHINSKAYA's paper on "*I. Radiosensitivity of eggs of Syngamus parasites of poultry*" [The Vet. Bulletin, vol. 33 (1963), abstract No. 2872] dealing with irradiation of eggs and larvae of *Syngamus skrjabinomorpha*. Not taking into account whether or not the species dealt with has anything in common with *Syngamus trachea*, there may be no doubt that its radiosensitivity, as shown by the named authors, is close to that experienced with *S. trachea*. Unfortunately we have not succeeded to read in detail the original paper. It was, therefore, thought best to publish the results of our examinations without commenting the above-cited paper, and to determine the dose of irradiation most suitable to mitigate Syngamus larvae for immunizing purposes.

Material and methods

a) Artificially-infected New Hampshire chickens were used for collecting Syngamus-eggs by means of the flotation technique. The eggs being in the 4th, 8th or 16th stage of segmentation were repeatedly washed in tap water, exposed to irradiation, and embryonated at 28°C. While in the incubator the eggs were daily washed and aerated. The course of embryonation was examined daily on 200 eggs per dish.

b) Another sample of similarly handled eggs was embryonated for 9 days, and the larvae, meanwhile developed to the 3rd stage, were treated with X rays. Each of the one-day-old experimental birds received 400 irradiated larvae apportioned by the dilution method. From the lungs of the experimental birds free larvae were isolated in saline at 28°C for two hours. The latter as well as those obtained from the trachea were counted, measured and their sex determined. Paired adults were separated simply in individual dishes with saline and kept in the incubator, the embryonic stage of eggs shed by females was examined as mentioned under *a)*.

The presence of paired worms was determined from the 8th day on following infestation by macroscopic examination through the wall of the trachea in translucent light, or by direct observation through the opening of the trachea on mechanical lifting of the epiglottis. The beginning of egg-discharge was controlled by coprologic examination from the 12th day following infestation.

For irradiation a Medicor THX—250 type roentgen apparatus was used under the following arrangement: KV 190, mA 15, no filter, air-dose 573 r/min., distance 20 cm, under 2 mm water-level in Petri-dish.

Results

a) *The effect of irradiation upon the embryonic development of S. trachea*

Eggs showing 4 to 16 blastomeres were exposed to doses of 5, 10, 20, 40, 60 and 80 Kr. The course of their embryonic development was as follows:

1st day: morula stage occurred in 95 per cent of the control eggs, in 90 per cent of the eggs exposed to 5 Kr, in 75 per cent of the eggs exposed to 10 Kr, in 5 to 10 per cent of those irradiated with 20 to 80 Kr.

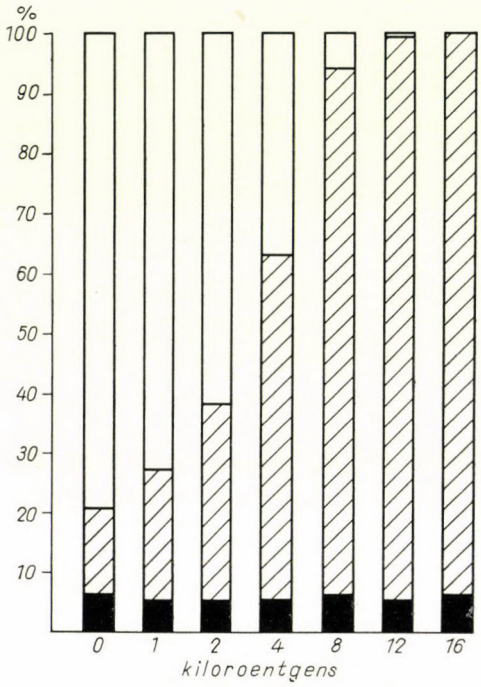


Fig. 1. The embryonic development of irradiated eggs of *Syngamus trachea*
□ larval stage; ▨ morula stage; ■ 8—16 blastomere stage

2nd day: tadpole-stage in 82 per cent of the control eggs; in 40 per cent of eggs exposed to 5 Kr; the most advanced stage of the other eggs was that of morula.

3rd day: in 85 per cent of control eggs the first-stage larva was visible; the same stage had been reached by only 2 per cent of the eggs exposed to 5 Kr. The majority of the eggs of the other groups showed the morula stage, while 6 to 10 per cent remained in the 8- to 16-blastomere stage.

4th day: the same as on the 3rd day.

5th day: larva appeared in 85 per cent of the control eggs, in 48 per cent of those irradiated with 5 Kr, and in 3 per cent of those treated with 10 Kr.

In the other groups the eggs were mostly in the morula stage, while 5 to 10 per cent remained unchanged.

As no essential modification took place on the subsequent days, the final results were read on the 14th day:

The percentages of eggs containing first-stage larvae was as follows.

Control eggs, 89 per cent;

eggs irradiated with 5 Kr, 50 per cent;

eggs irradiated with 10 Kr, 7 per cent;

eggs irradiated with 20, 40, 60 or 80 Kr, 0 per cent.

5 to 10 per cent of eggs in each group remained unchanged, while the majority of the remainder contained a dark brown, picnotic morula.

The above data favour the evidence that the eggs of *Syngamus trachea*, as related to those of other nematodes, are strikingly sensitive to irradiation, and that the administered X-ray doses proved to be excessive. In the course of the next experiment the X-ray dose was, therefore, reduced. Data referring to this experiment evaluated on the 14th day are shown in Fig. 1.

b) *The effect of irradiation on the post-embryonic development of Syngamus trachea*

In order to gain preliminary information, two groups consisting of 3—3 chickens each were exposed to infestation with eggs containing infective larvae treated with 1, 2, 3, 4 and 8 Kr, while one group was exposed to infestation with non-irradiated larvae.

Following infestation on the 8th day paired worms could be seen by clinical examination in the trachea of control birds, and also in birds receiving larvae irradiated with 1 or 2 Kr. In other birds no worms could be detected in the trachea at necropsy even on the 21st day following infestation, though worms could be isolated from the lungs. This appears to indicate that an X-ray dose as small as 4 Kr is sufficient to check the migration of worm-larvae into the trachea, their copulation and maturation.

To clear up these results more exactly, the following experiment was carried out. Of bird groups, each consisting of 10 chickens, one group was exposed to infection with non-irradiated larvae (group A), the others with larvae treated with 1 Kr (group B), 2 Kr (group C), 3 Kr (group D), 4 Kr (group E) and 8 Kr (group F). On the 8th day following infestation all birds of groups A, B and C, 7 out of the 9 birds of group D showed paired specimens by clinical examination, while in group E and F no worms could be detected until the 41st day.

The daily coprologic examination started on the 12th day following infestation revealed worm-eggs in all live birds of group A, in four birds out of the 6 live birds of group B on the 14th or 15th day. In one bird of group

C egg-discharge started on the 17th day, in another on the 34th day. No eggs could be detected in birds of groups D, E and F by the 41st day.

During the experiment 3, 1 and 3 birds died of syngamosis in groups A, B and C, respectively. The number of larvae and worms recovered from the lungs and trachea of individual birds killed between the 3rd and 41st days is shown in Table I.

Table I

Number of 3rd- to 5th-stage larvae and adults recovered from birds infested with 400 non-irradiated or irradiated larvae each

Group	A		B		C		D		E		F	
r-dose (Kr)	0		1		2		3		4		8	
Days past since infestation	lung	trachea	lung	trachea	lung	trachea	lung	trachea	lung	trachea	lung	trachea
3	17	0	32	0	3	0	32	0	6	0	1	0
6	13	0	13	1	8	3	—	—	6	0	28	0
9	1	28	7	14	2	8	6	10	7	1	4	0
13	0*	44*	2	58	8*	46*	4	12	20	0	0	0
17	1*	38*	1	30	1*	28*	7	9	6	3	0	0
20	0*	24*	1	8	2*	8*	1	14	0	1	3	0
23	1	7	0	12	0	4	0	0	0	0	0	0
							0	14				
27	0	22	0*	14*	0	12	1	0	1	0	1	1
34	0	6	0	12	0	6	1	3	3	0	0	0
41	0	6	0	2	0	2	0	2	0	0	0	0
Total	208		207		141		116		54		38	

* Birds died of syngamosis

Red-coloured adult worm-pairs occurred in the trachea not only in group A, but also in groups B, C and D. Worms recovered from birds of group E sacrificed on the 9th, 17th and 20th day and in those of group F sacrificed on the 27th day were 5th-stage female larvae 1.5 to 2.5 mm in size, and of grayish-white colour.

In the birds of groups E and F, though the trachea was reached exclusively by female larvae, yet among the larvae recovered from the lungs of these birds, male specimens occurred at the same ratio as in groups A, B, C and D.

All larvae isolated on the 6th day from birds of group A were of the 5th stage, in group B 4, in group C 2, in group F 14 larvae reached the fourth stage, while in group F 3 larvae proved to be of the third stage.

The majority of non-irradiated larvae migrate from the lungs to the trachea on the 6th to 8th day. Comparing the total number of larvae recovered

from the lungs of birds sacrificed during the 9th to 41st day with the total number of worms and larvae detected in the trachea of the same birds, results in the following figures:

Group	Number of specimens found	
	in lungs	in trachea
A	3	175
B	11	150
C	13	114
D	20	64
E	37	5
F	8	1

Since worm pairs in birds of group A reached sexual maturity as soon as on the 14th to 15th day, the egg production of the apparently mature specimens recovered from the trachea of birds sacrificed between the 17th to 41st day had to be examined and, subsequently, the embryonic development in the eggs controlled. The results are shown in Table II.

Table II

The production and embryonic development in eggs of both control and irradiated larvae

Group	A			B			C			D		
r-dose (Kr)	0			1			2			3		
Age of worm-pairs (in days)	Number of worms producing immature or no eggs	Number of worms producing normal eggs	Percentage of larvae developed from normal eggs	Number of worms producing immature or no eggs	Number of worms producing normal eggs	Percentage of larvae developed from normal eggs	Number of worms producing immature or no eggs	Number of worms producing normal eggs	Percentage of larvae developed from normal eggs	Number of worms producing immature or no eggs	Number of worms producing normal eggs	Percentage of larvae developed from normal eggs
17	6	13	88	13	2	3	14	0	0	4	0	0
20	3	9	96	0	4	18	4	0	0	7	0	0
23	0	3	98	2	4	20	2	0	0	7	0	0
27	3	8	90	5	2	6	4	2	28	—	—	—
34	0	3	96	4	2	52	2	1	2	1*	0	0
41	1	2	96	0	1	6	1	0	0	1	0	0
Total	13	38		24	15		27	3		20	0	

* The worm produced small number of spherical, egg-like bodies; the other specimens did not produce eggs at all.

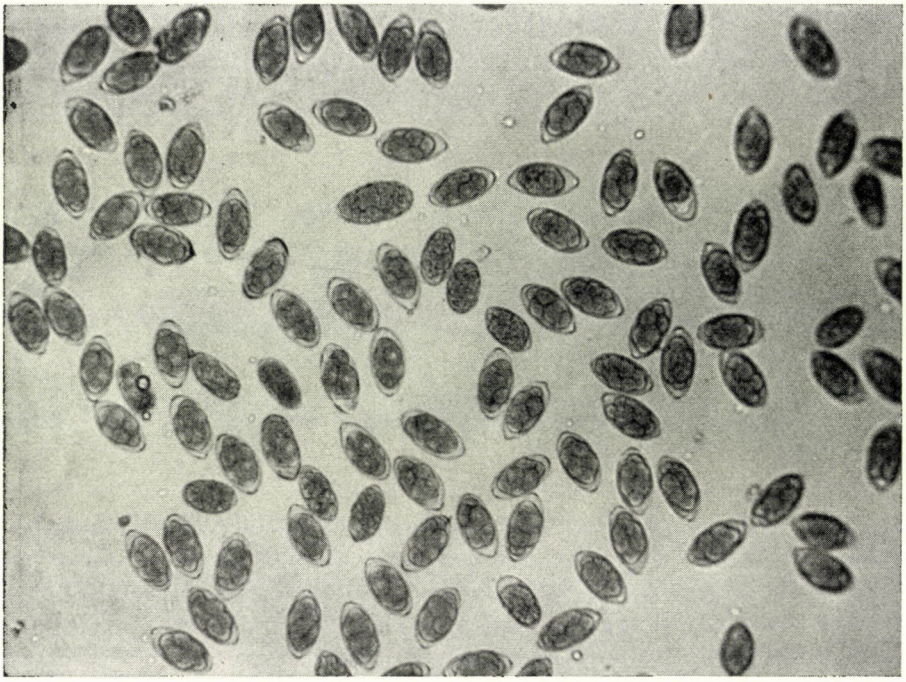


Fig. 2. Normal eggs of *Syngamus trachea*

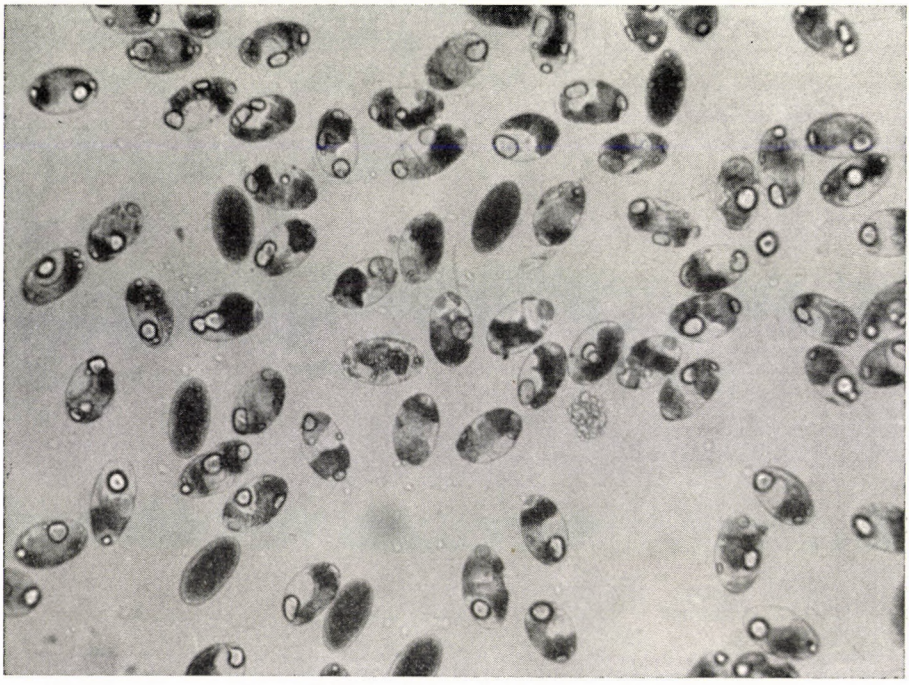


Fig. 3. Immature eggs of *Syngamus trachea*

In Fig. 2 normal eggs, while in Fig. 3 immature eggs, unable to pass segmentation are seen. Eggs like those shown in Fig. 3 were deposited also by several worms of group A, while the great majority of the females in groups B and C produced similar eggs (see Table II). Among worms recovered from group D a sole specimen occurred which produced dark brown, spherical egg-like bodies.

Discussion

The results obtained from irradiating both eggs and larvae, convincingly favour the evidence that *Syngamus trachea*, as shown already by SHIKHOBALOVA and coll. (1962) with *Syngamus skrjabinomorpha*, is strikingly sensitive to X rays.

However, assessing the effect of irradiation upon the course of segmentation of eggs, it must be pointed out that even doses up to 16 Kr do not influence notably segmentation until the morula stage is reached. Furthermore, as shown in Fig. 1, the percentage of eggs remaining unchanged is approximately the same for non-irradiated as for irradiated eggs. Thus it is the first larval stage which will be retarded in direct relation to the applied X-ray dose.

The postembryonic development of larvae irradiated by different doses, has been studied in 60 birds and their worm burden. From Table I the evidence may be drawn that, in direct relation to the X-ray dose applied, the worm count was reduced and the development of worms was retarded, though a small percentage of larvae treated even by 4 Kr were able to migrate to the trachea.

Furthərmore, while under normal conditions, according to WEHR (1939), paired specimens may be found already on the 7th day after infestation (such specimens were seen in the trachea, in our cases at first on the 8th day), no paired worms appeared in birds of groups E and F by the end (41 days) of the experiment. Considering the numbers and location of the worms recovered from birds which were sacrificed after the day when worms appeared in the trachea of control birds, it seems evident that an increase in the X-ray dose reduced the number of worms in the trachea, while on the contrary, that of the larvae found in the lungs varied reciprocally. This observation appears to indicate that there exists an X-ray dose which prevents the worms to attain the trachea, without preventing the larvae to reach the lungs. In view of the goal pursued by our experiments, this fact appears to be of importance. Assuming the pathogenicity of *Syngamus trachea* to depend principally on the worms' settlement in the trachea, it seems fair to conclude that for immunization experiments larvae irradiated with 4 to 5 Kr might prove suitable.

In birds of groups B, C and D the worms reached the trachea, copulated and grew to the size of adults, though in worms recovered from group D, deficiently developed female gonads were apparent even by low-power micro-

scopic examination. Out of the 20 pairs collected in that group, 19 did not produce eggs at all, while but a single female showed some egg-like spherical bodies.

The majority of females recovered from groups B and C (see Table II) produced immature eggs unable to segment (Fig. 3), and even the eggs appearing normal reached the first larval stage in a smaller percentage than those of the control worms.

Apart from the fact that irradiation with a suitable X-ray dose reduces the number of larvae capable to develop normally, some additional effects are as follows:

1. adults attaining per chance sexual maturity produce less eggs capable of normal development;
2. egg-production, in general, is deficient;
3. copulation does not take place;
4. migration to the trachea is checked.

SUMMARY

None of the eggs of *Syngamus trachea* irradiated with 16 Kr developed to the first larval stage, though the majority of eggs reached the morula stage.

The irradiation of eggs containing infective larvae reduced, proportionally to the X-ray dose applied, the number of larvae capable to develop normally.

On irradiation with 1 or 2 Kr, larvae though developing to adults, produce but in a small percentage eggs capable to develop, while on irradiation with 3 Kr, the developing adults do not produce eggs at all. Larvae treated with 4 and 8 Kr never attain the adult stage, and though they may sporadically migrate as 5th-stage larvae into the trachea, do not copulate. It appears, therefore, that larvae mitigated by an exposure to 4 to 5 Kr might suit best for immunization experiments.

Acknowledgements

The author would like to express his thanks to Prof. S. KOTLÁN for the interest which he has taken in this investigation. The assistance of Mrs. H. BRAUN (Péterfy Sándor Hospital) in providing the X-ray machine used, is greatly appreciated.

REFERENCES

ШИХОБАЛОВА, Н. П. and ПАРУЖИНСКАЯ, Л. С.: гельминтологической лаъоратории АН СССР **12** (1962), 317-324; Cit.: In The Veterinary Bull. **33** (1963), abstract No 2872. WEHR, E. E.: Trans. Amer. Micr. Soc. **56** (1937), 72.

Address: Dr I. VARGA, Budapest VII. Rottenbiller u. 50

KALB MIT DOPPELTEM GESICHT

(DIPROSOPUS, TETRAOPHTHALMUS, DIOTUS, TRIGNATUS, TETRACORNUS)

Von

GY. FEHÉR und F. GYÜRÜ

Lehrstuhl für Anatomie und Histologie (Leiter: Prof. GY. KOVÁCS)
der Veterinärmedizinischen Universität, Budapest

(Eingegangen am 15. Februar 1964)

Mit der Aufarbeitung dieser verhältnismäßig seltenen Entwicklungsanomalie verfolgten wir über die Beschreibung hinaus den Zweck, die Funktion der sich paarig entwickelnden Organe auch am lebenden Tier zu untersuchen und mitzuteilen. Mit den Untersuchungen zur Klarstellung der Ursache dieser Entwicklungsanomalie wünschten wir die im Verlauf der Ontogenese zur Geltung kommenden Wechselwirkungen in der Entwicklung der einzelnen Organe des Kopfes zu erforschen.

Die Entwicklungsform der Mißbildungen läßt sich am ehesten mit der FILATOWschen Theorie erklären. Hiernach enthält der sich entwickelnde Keim Zellgruppen mit verschiedenen Stoffwechselprozessen. Von den Zellgruppen mit höherem Stoffwechsel — als Zentren — nimmt die Stärke des Stoffwechsels in radiärer Richtung ab. Die Zellgruppen mit höherem Stoffwechsel stehen in enger Wechselwirkung mit ihrer Umgebung, sie stellen gleichsam regulierende, beeinflussende Organisationszentren dar. Diese Zentren sind exogenen Einwirkungen gegenüber empfindlicher als die Zellgruppen der Umgebung. Dadurch kommen lokal unterschiedlich prädisponierte Territorien zustande, die mehr oder weniger organspezifisch, aber auch dem eindringenden Stoff gegenüber spezifisch sind. Die Lokalisation, der Zeitpunkt und die Zeitdauer des Effektes der zugeführten toxischen Substanz oder der physikalischen Schädigung determinieren gleichsam die Form der entstehenden Entwicklungsanomalie. Den Zeitpunkt, in dem eine die Entwicklungsanomalie auslösende Ursache auftritt, nennen wir die teratogenetische Terminationsphase (den Zeitpunkt) der betreffenden Mißbildung. Die Entwicklungsanomalien treten desto schwerer zutage, je früher die schädigende Einwirkung den Keim trifft. Eine sich in demselben Entwicklungsstadium manifestierende Einwirkung ruft — sofern sich nicht mehrere andere Einwirkungen dazugesellen — eine im großen und ganzen ähnliche Entwicklungsanomalie hervor. Unter den Organanlagen des sich entwickelnden Keims sind besonders empfindlich die in der Körperachse gelegenen Zellgruppen, vor allem das Neuralrohr, die Prächordialplatte und die Urgrube.

Das Kalb mit doppeltem Gesicht (Abb. 1) kam als 6. Kalb des Muttertieres am 16. Oktober 1963 in der Gemeinde Kovácsszénája zur Welt. Das Muttertier ist eine 11jährige gesunde Kuh mit normaler Körperbeschaffenheit, deren frühere Kalbungen ebenso wie diese leicht verliefen. Das Kalb vermochte nicht am Muttertier zu saugen und wurde vom Besitzer mit dem Gummisauger ernährt. Eine durch den offenen Tränensack eingedrungene Infektion schwächte das auf künstlichem Wege ohnehin schon schlecht ernährte Tier, so daß es am 43. Tage nach der Geburt geschlachtet und aufgearbeitet wurde.

Das Kalb hatte ein doppeltes Gesicht. Es entwickelten sich zwei Nasenlippenteile und Nasen (Abb. 2), von denen die linksseitigen größer sind.

4 Augäpfel sind vorhanden, von denen zwei in der mittleren gemeinsamen Augengrube liegen (Abb. 3). Die beidseitig in einer selbständigen Augengrube befindlichen Augäpfel und deren Nebenorgane sind intakt. Diese Augäpfel haben sich, während das Tier lebte, lebhaft bewegt, und das Tier konnte gut mit ihnen sehen. In der mittleren Augengrube ist das obere Augenlid der Aug-

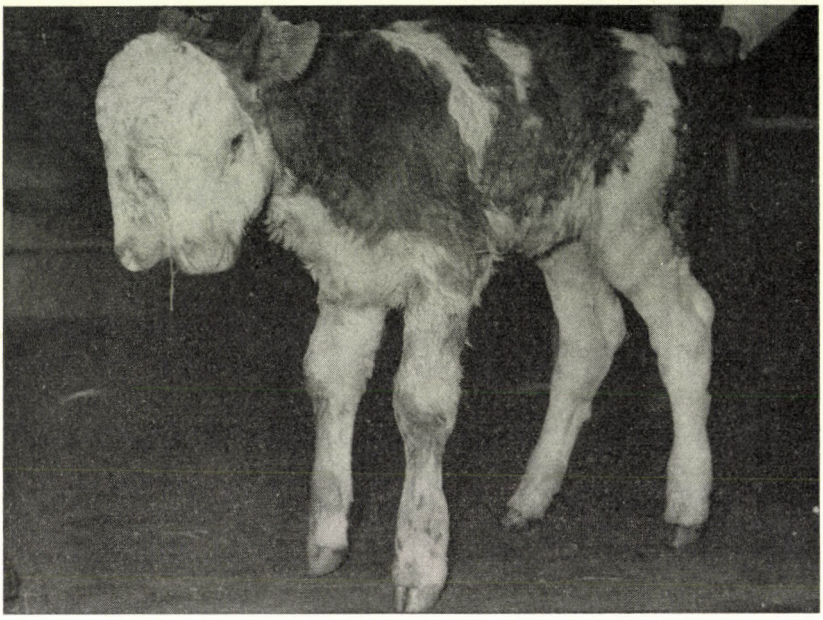


Abb. 1. Das Kalb mit doppeltem Gesicht (Diprosopus, Tetraophthalmus, Diotus, Tetracornus)

äpfel homogen, während das untere fehlt. Die Sclerae der hier vorhandenen Augäpfel sind an den einander zugewendeten Oberflächen zusammengewachsen (Semicyclops) (Abb. 4; 9—10). Die Intraorbitalmuskeln beider Augäpfel sind gut entwickelt. Die zu den verwachsenen Seiten der Sclera laufenden geraden Augenmuskeln bilden einen einheitlichen Muskel. Die beiden Augäpfel bewegen sich gleichzeitig. Nach der Geburt konnte das Tier auch mit den beiden zusammengewachsenen Augen gut sehen. An den Hornhäuten bildete sich später — infolge des mangelhaften Entwicklungszustandes der Augenlider und des Tränenapparates sowie der ständig offenen Augenspalte — eine Trübung, wegen der das Kalb bei der Schlachtung mit diesen beiden Augen nicht mehr sehen konnte. Der Initialabschnitt des Tränenableitungsapparates der mittleren Augen fehlt, der Tränensack ist offen (Abb. 3; 3).

An der einheitlichen Stirngegend sind 4 Hornanlagen tastbar.

Die zu beiden Seiten des Kopfes gelegenen zwei Ohren wurden vom Tier gut bewegt. In der Nasolabialgegend befinden sich je 2 Nasenöffnungen von

normaler Form und einer dem Alter des Tieres entsprechenden Größe. Die Plana nasolabialia sind feucht. Die unteren Labia bestehen aus drei Teilen; es haben sich zwei seitliche und eine mittlere Lefze entwickelt (Abb. 5; 2, 3, 4). Die linksseitige ist am besten entwickelt, die rechtsseitige kleiner und die mittlere am kleinsten. Nach hinten zu gehen die unteren Lefzen in die Kinnspitzen

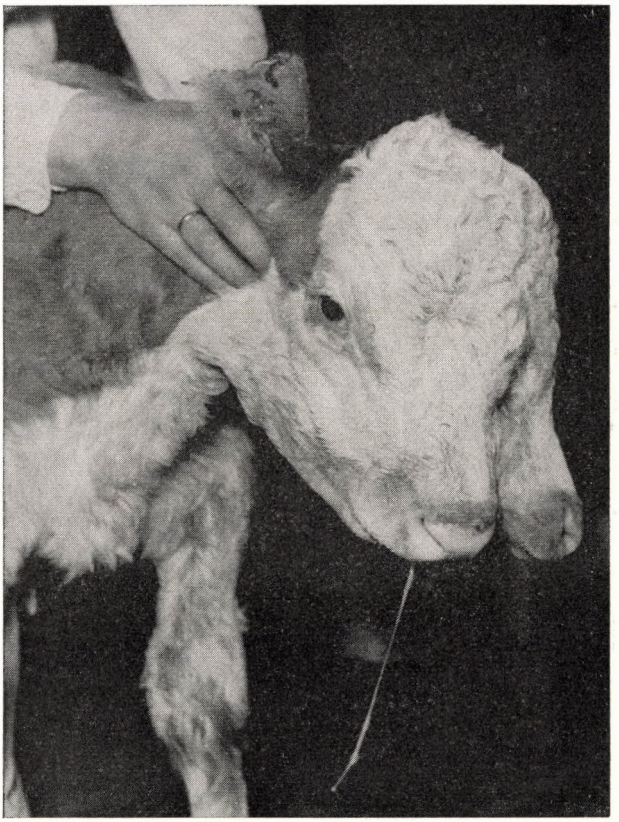


Abb. 2. Der Kopf des Kalbes

über. Die benachbarten Lefzen sind so verwachsen, daß sich Spalten zwischen ihnen befinden (Abb. 5; 5). Die beiden äußeren unteren Lefzen gehen beidseitig an den Kommissuren im Mundwinkel, Angulus oris, in die oberen Lefzen über. Die von ihnen gebildete Mundspalte schließt sich nicht ganz. Die Lefzen hängen mit dem Schneidezahnabschnitt der Unterkieferbeine zusammen. Der Rachengang ist von außen doppelt; die miteinander verwachsenen inneren Kieferbeine teilen ihn in zwei Abschnitte. Die Unterkieferbeine wölben sich unter der Haut vor.

Es sind zwei Unterkieferbeinpaare vorhanden, von denen die äußeren Unterkieferbeine (Abb. 6; 1) proportional entwickelt sind; die Pars molaris ihres S-förmig gekrümmten Körpers ist gewölbt, die Pars incisiva konvergiert medial. Lediglich an diesen befinden sich Gelenkfortsätze, durch die sie mit dem Schläfenbein artikulieren. Auf diese Weise haben sich zwei Mandibular-

Abb. 3. Der Kopf des Kalbes (von vorn). 1, Mittlere gemeinsame Orbita; 2, gemeinsames oberes Augenlid; 3, offene Tränensäcke

gelenke entwickelt. Die Innenpaare der äußeren Kieferbeine (Abb. 6; 2) sind rudimentär, etwa halb so groß wie die vorigen. Die beiden Kieferbeine des linken Gesichtes hängen vorn in einer Pseudarthrose, Symphysis mandibulae (Abb. 6; 3) zusammen, während die Kieferbeine des rechten Gesichtes am Schneidezahnabschnitt nicht miteinander verbunden sind. Die Pars molaris der inneren Unterkieferbeine des linken Gesichtes und sein schwächer entwickelte Zweig sind mit dem inneren Unterkieferbein des rechten Gesichtes verknöchert (Abb. 6; 4). Ihr hinterer Abschnitt endet in der Basis des die beiden Mund-

höhlen trennenden Septums in einem stumpfen Knorren. Mit dem Gehirnschädel sind sie nicht direkt verbunden. Die verwachsenen linken und rechten inneren Unterkieferbeine treffen jedoch in einer Pseudarthrose, Symphysis mandibulae, mit dem rechten äußeren zusammen und sind daher durch dessen Mandibulargelenk indirekt an den Gehirnschädelbeinen aufgehängt. In der

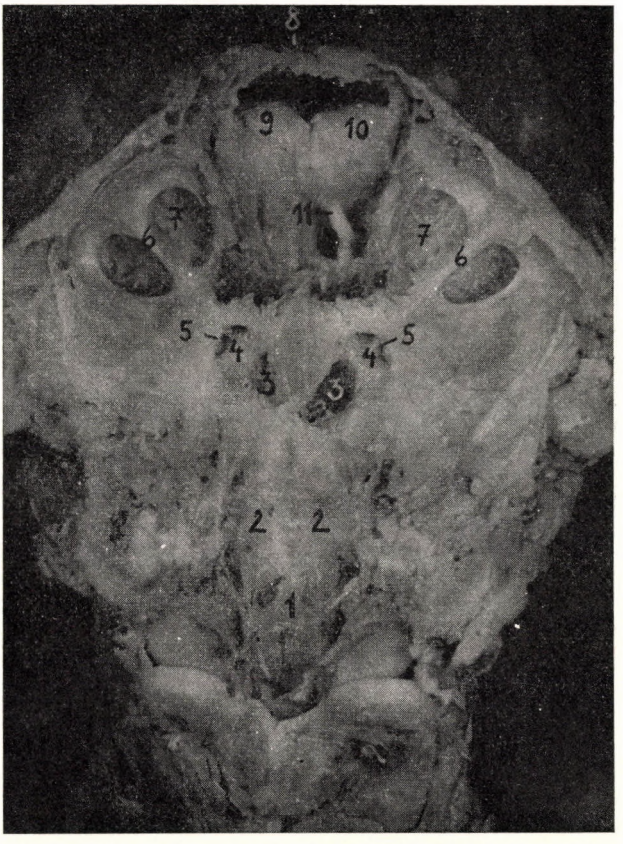


Abb. 4. Die Basis der Schädelhöhle. 1, Fossa medullae oblongatae; 2, Fossa pontis; 3, Fossa hypophyseos (rechtsseitig des Operculum sellae turcicae durchtrennt, die Hypophyse entfernt); 4, Sulcus chiasmatis; 5, Crista orbitosphenoidea; 6, Crista galli; 7, Fossa ethmoidea; 8, mittlere gemeinsame Orbita; 9, linker, 10, rechter Augapfel (Augenmuskeln entfernt); 11, Nervus opticus

Pars incisiva der gesonderten Unterkieferbeine des rechten Gesichtes finden wir je 4, im zusammengewachsenen Unterkiefer des linken Gesichtes 7 Schneidezähne (Abb. 7; 1, 2). In jedem der vollentwickelten vier Processus alveolares der Unterkieferbeine sitzen je 3 Vormolaren (Abb. 8; 4), in den beiden lateralen Unterkieferbeinen je 3, in den beiden medialen je 2 Vormolaren (Abb. 7; 3—4). Von den Kauflächen der unteren und oberen Zahnreihe berühren einander

beim Kauen nur die seitlichen, doch ist der Kontakt nur auf einem kleinen Gebiet, am hinteren Zahn komplett. Die inneren unteren und oberen Zähne treffen nicht zusammen. Ein vollkommenes Kauen des Tieres ist nicht gewährleistet. Sämtliche Kieferbeine sind kürzer als normalerweise, so daß sich an

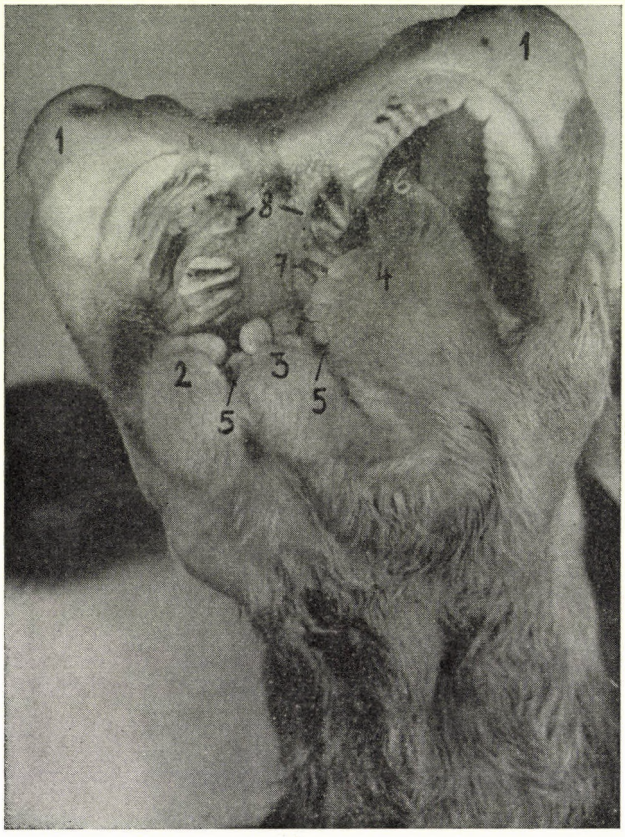


Abb. 5. Die Mundhöhle des Kalbes. 1, Flotzmaul; 2, rechte, 3, mittlere, 4, linke Unterlippe; 5, Interlabialspalten; 6, Spitze der linken Zunge; 7, Scheidewand zwischen den Mundhöhlen; 8, obere mediale Molaren

beiden Gesichtern Karpfenmaulbildung entwickelt hat (Abb. 5). Beim Kauen und Saugen bewegen sich die 3 Kiefer synchron. Den Bewegungen der Mundhöhlenorgane des rechten Gesichtes folgen die Organe des linken Gesichtes schlaffer und umgekehrt. Es sind vier submentale Speicheldrüsen vorhanden (Abb. 6; 5). Die medialen liegen hinter dem zusammengewachsenen Kaudalende der inneren Kieferbeine und hängen eng zusammen. Die subparotischen Speicheldrüsen sind bilateral unter der Parotis anzutreffen.

Bei dem Tier haben sich zwei Zungen entwickelt (Abb. 7; 5), die in einer einheitlichen Wurzel zusammentreffen. Die Spitze der rechtsseitigen Zunge

wird von dem nach vorn reichenden Zungenbändchen hinter den Schneidezähnen an den Mundboden fixiert (Abb. 7; 6). Die beiden Zungen bewegen sich nach allen Richtungen. In den beiden Gesichtern kann man zwei Mundhöhlen unterscheiden. Im Vorderabschnitt der Mundhöhlen ist die Differenzie-

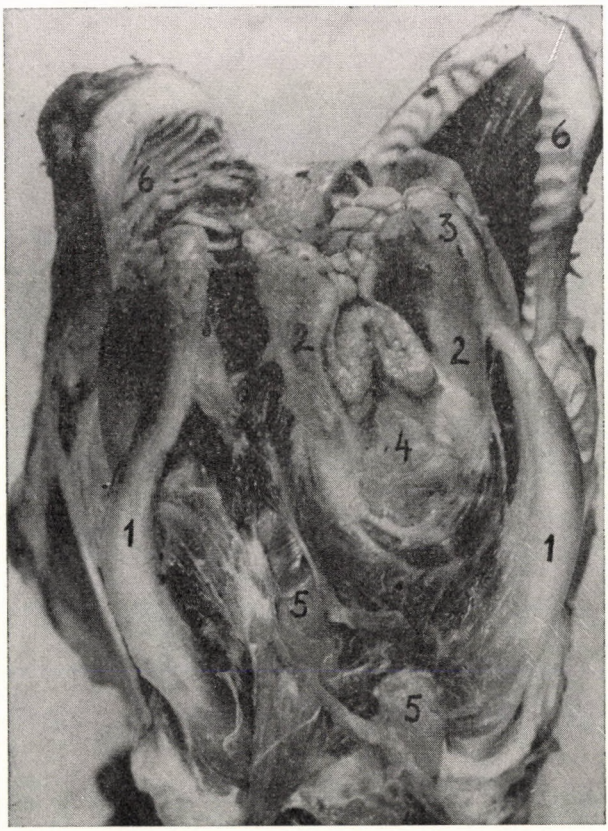


Abb. 6. Rachenganggegend (Untersicht). 1, Äußere Unterkieferbeine; 2, innere Unterkieferbeine; 3, Symphysis mandibulae; 4, Verknöcherungsstelle der inneren Unterkieferbeine; 5, submentale Speicheldrüsen; 6, Gaumenstufen

rung vollkommen, an den Hinterabschnitten aber nicht, da sie hier lediglich durch ein 2,5 cm dickes zentrales Septum voneinander getrennt sind (Abb. 9; 1). Die Scheidewand hat sich infolge Verwachsung der benachbarten Backen gebildet. Der Vorderrand ist unten, zu den Schneidezähnen hin, schwellungsartig verdickt (Abb. 9; 2). Seine Struktur stimmt mit der der Backen überein. An der Scheidewand befinden sich große Papillen. Der vordere freie Rand der Scheidewand reicht dorsal zwischen die beiden inneren mandibulären Molarreihen und breitet sich dort am Knochen auseinander (Abb. 9; 3). Auch hier sind Backenpapillen anwesend. Der rechtsseitige harte Gaumen ist deformiert,

von innen nach außen komprimiert, und die Molarreihe neigt sich darüber (Abb. 8; 1; Abb. 9; 4). Die Gaumenstufen treten deutlich hervor. Am linken Gesicht hat sich der harte Gaumen nicht voll entwickelt. Die Zwischenkieferbeine und die Processus palatinus der Kieferbeine sind schwach entwickelt,

Abb. 7. Die paarige Zunge. 1, Pars incisiva der rechten äußeren und inneren Unterkieferbeine; 2, Pars incisiva des linken Unterkieferbeins; 3, Pars molaris der rechten und linken äußeren Unterkieferbeine; 4, Pars molaris der rechten und linken inneren Unterkieferbeine; 5, Spitze der linken Zunge; 6, längere Spitze der rechten Zunge; 7, rechter und linker Zungenkörper; 8, Zungenwurzel; 9, Stylohyoides; 10, Kehlkopfdeckel; 11, Kehlkopf; 12, untere Schnittfläche der Scheidewand zwischen den Mundhöhlen; 13, ventrale Schwellung der Scheidewand; 14, Zungenbändchen

die bilateralen nicht zusammengewachsen. Ebenso fehlt die Pars horizontalis der Gaumenbeine. Infolgedessen konfluiert die Nasenhöhle mit der Mundhöhle und gestaltet sich zu einer einheitlichen linksseitigen Nasen-Mundhöhle (Abb. 9; 5). An den Uranlagen der Gaumenfortsätze finden wir die schmalen Gaumenstufen der harten Gaumen (Abb. 6; 6). Der untere Rand der linksseitigen Nasenscheidewand wird dicker und verbreitert sich zylindrisch (Abb. 8; 3);

die Nasenhöhle ist mit Schleimhaut bedeckt. Von den weichen Gaumen haben sich nur die Anlagen entwickelt (Abb. 8; 2). Die rechtsseitige Mundhöhle und die linksseitige Mund-Nasenhöhle führen in eine einheitliche Rachenhöhle (Abb. 10; 4). Die Rachenhöhlenöffnungen sind kranial eigenartig entwickelt.

Abb. 8. Die geöffnete Mundhöhle (nach Durchtrennung der die beiden Mundhöhlen trennenden Scheidewand). 1, Rechtsseitiger harter Gaumen; 2, linksseitiger harter Gaumen; 3, Basis des Nasenseptums; 4, obere Molaren; 5, mit Backenschleimhaut bedeckte Verwachsungsstelle der inneren Maxillae; 6, untere und obere Schnittfläche der Scheidewand zwischen den Mundhöhlen; 7, Fragment des weichen Gaumens; 8, Rachenhöhle; 9, Zungenwurzel; 10, Schneidezahnabschnitt des rechten äußeren, 11, des rechten inneren, 12, des linken äußeren und inneren Unterkieferbeins

Rechts dorsal und nasal finden wir die beiden Choanen, die in die Nasenhöhle des rechten Gesichtes führen. Ventral und oral von der Mundhöhle befindet sich die in die Rachenhöhle führende Schlundenge, die infolge Unterentwicklung des Gaumensegels sehr weit ist. Links oral ist infolge der Anlagen des von den beiden Seitenwänden saumartig hineinragenden harten Gaumens eine etwas geteilte große Öffnung vorzufinden, welche in die einheitliche Nasen-Mund-

höhle führt. Zu beiden Seiten des Rachens münden dorsolateral die beiden Ohrtrompeten. Aboral befindet sich der Larynxeingang, kaudodorsal davon die Ösophagusöffnung. Die Knorpel, aus denen der einheitliche Kehlkopf besteht, sind im Verhältnis zum Alter des Tieres gut entwickelt, so daß die Kehlkopfhöhle weit ist.

Abb. 9. Die bilateralen Mundhöhlen trennende Scheidewand (Vorderansicht). 1, Septum; 2, ventrale Schwellung des Septums; 3, dorsal ausgebreiteter Teil des Septums; 4, rechter harter Gaumen; 5, linke Mund-Nasenhöhle

Die Gesichtsschädelknochen sind doppelt vorhanden. Von den Gehirnschädelknochen sind der Schuppen des Hinterhauptbeins, die Scheitelbeine, das Interparietalbein, das Stirnbein und die Schläfenbeine doppelt anwesend. Im Verlauf der paarigen Entwicklung des Kopfes sind die inneren Schläfenbeine zusammengewachsen und daher deformiert, komprimiert. Die Stelle der Verknöcherung sieht man an der Außenfläche in Form einer Furche, an der Innenfläche in Form einer leistenartigen Erhebung (Abb. 11; 1). Der hintere

Abb. 10. Die geöffneten Mundhöhlen (von der rechten Seite). 1, Rechte Mundhöhle mit der Zunge; 2, linke Mund-Nasenhöhle; 3, die Mundhöhlen trennende Scheidewand; 4, Rachenhöhle; 5, rechte äußere-obere, 6, rechte äußere-untere Molaren; 7, Schneidezahnabschnitt des rechten äußeren, 8, des rechten inneren, 9, des linken äußeren und inneren Unterkieferbeins

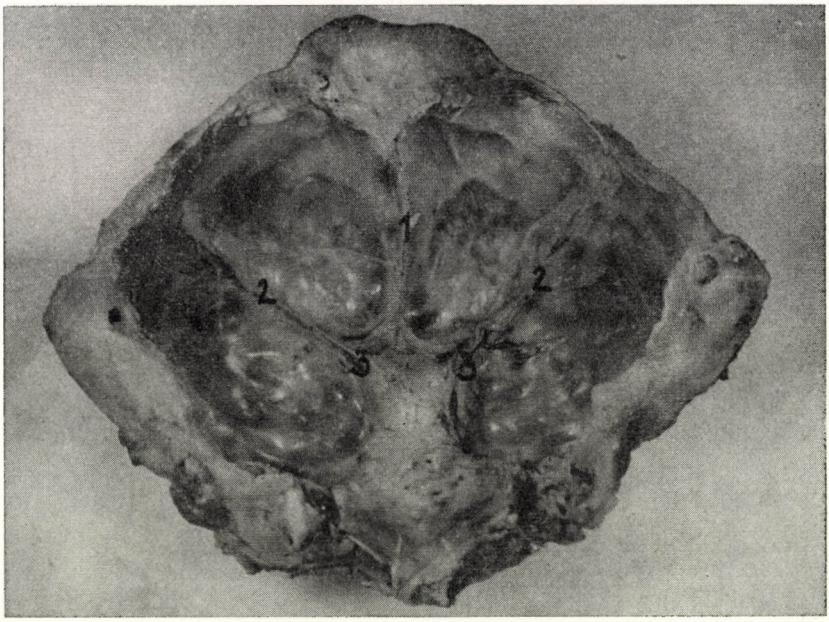


Abb. 11. Das Schädeldach (Untersicht). 1, Knochenleiste an der Verwachsungsstelle der Schlä fenbeine; 2, Falx cerebri; 3, Tentorium cerebelli membranaceum

Abschnitt der Leiste ist höckerartig verdickt. In der Mittellinie der Innenfläche beider Hinterhauptschuppen findet sich eine kreuzförmige Erhebung, Eminentia decussata, und an diesen die Protuberantia occipitalis interna. Von diesen nach vorn ausgehend ragt, bis zu den Stirnbeinen reichend, je eine Crista sagittalis interna für den Sichelfortsatz, Falx cerebri, hinein (Abb. 11; 2).

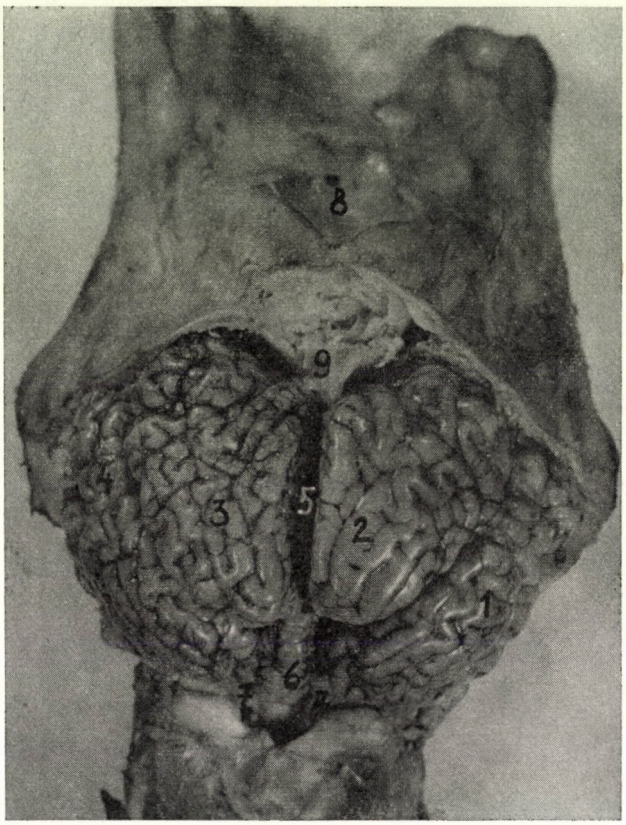


Abb. 12. Das Gehirn (Aufsicht; das Schädeldach entfernt). 1, Rechte laterale, 2, rechte mediale, 3, linke mediale, 4, linke laterale Hemisphäre; 5, Fissur zwischen den beiden Großhirnen; 6, Kleinhirnwurm; 7, Kleinhirnhemisphären; 8, mittlere gemeinsame Orbita (die Periorbita teilweise entfernt); 9, Periorbita

Die Schädelhöhle ist einheitlich. Von den Schädelgruben ist die hintere einheitlich, während sich die mittlere und vordere paarig entwickelt haben (Abb. 4; 1, 2). Das Tier hat ein Zungenbein, dessen Körper kurz und massenhaft ist; der Processus lingualis (Abb. 15; 1) fehlt. Vom Körper gehen beiderseitig aboral die beiden Kehlkopfhörner, Cornua laryngica, zum Schildknorpel des Kehlkopfes. Die sich dem Ende der Basis des Zungenbeins anschließenden kleinen Zungenbeinhörner, Cornua minora, sind — vom Normalen abweichend — nicht auf- und vorwärts gerichtet, sondern bilden, nach vorn und seitlich

gehend, kranial einen konvexen Bogen (Abb. 15; 3); sie schließen sich dem Aufhängeapparat des Zungenbeins an (Abb. 15; 4). Die kleinen Zungenbeinhörner sind doppelt so lang wie normalerweise und außerdem auffallend massig. Von den äußeren eigenen Zungenmuskeln geht der M. hyoglossus und der M. genioglossus wegen des kurzen Zungenbeinkörpers hauptsächlich von

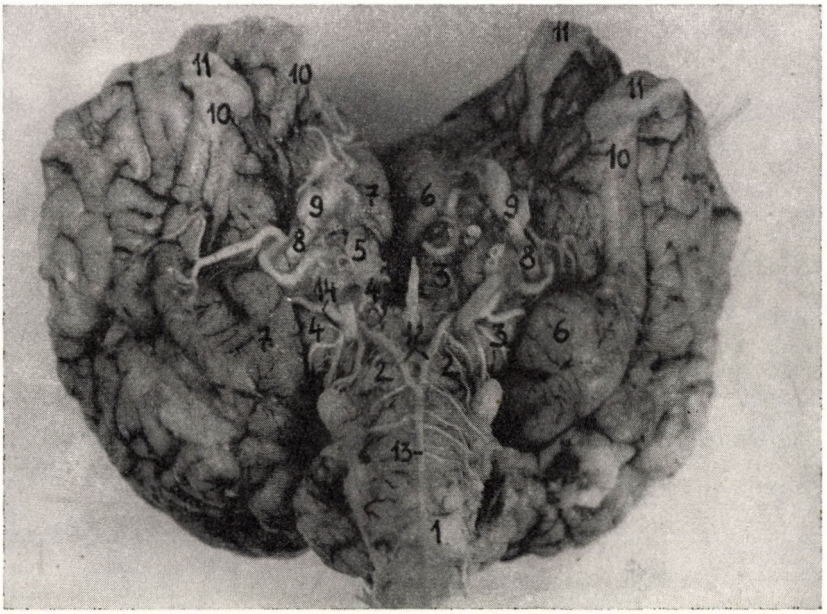


Abb. 13. Das Gehirn (Untersicht). 1, Medulla oblongata; 2, rechte und linke Pons Varoli (an der Oberfläche die A. basialis cerebri); 3, Gehirnstiele des linken Gehirns; 4, rechtsseitige Gehirnstiele; 5, rechte Hypophyse; 6, Lobi piriformes des linken Gehirns; 7, Lobi piriformes des rechten Gehirns; 8, Tractus optici; 9, linkes und rechtes Chiasma opticum; 10, Tractus olfactorii; 11, Bulbi olfactorii; 12, A. basialis cerebri; 13, Stamm der A. basialis cerebri; 14, Ramus aboralis

den Cornua minora aus. Der hintere Abschnitt der den beiden Gesichtern entsprechend paarig entwickelten M. mylohyoidei, Pars aboralis, erstreckt sich bis zu den horizontal liegenden kleinen Zungenbeinhörnern. Bei den Mm. geniohyoidei handelt es sich um starke, zylindrische Muskeln. Die bilateralen Muskeln desselben Gesichtes treffen im Rachengang zusammen. Die Mm. genoihyiodei des rechten Gesichtes entspringen am Schneidezahnabschnitt des äußeren Kieferbeins, die des linken Gesichtes in dem linken Angulus mentalis und haften an den homolateralen kleinen Zungenbeinhörnern.

Das Großhirn ist doppelt vorhanden (Abb. 12; 1—4). Zwischen die beiden Großhirne dringt tief eine Duraduplikatur ein (Abb. 11; 1), die von der Verknöcherungsleiste der beiden Schläfenbeine ausgeht. Die Tentorii cerebelli membranacei entspringen an den beiden Eminentiae decussatae und sind

paarig (Abb. 11; 3). Sie treffen V-förmig zusammen. Es gibt zwei Sichelfortsätze, Falx cerebri, die von der Crista sagittalis interna ausgehen und zwischen die homolateralen Gehirnhemisphären eindringen. Das hintere Gehirn, Rhombencephalon, ist mit Ausnahme der Varol-Brücke, einheitlich. Die Medulla

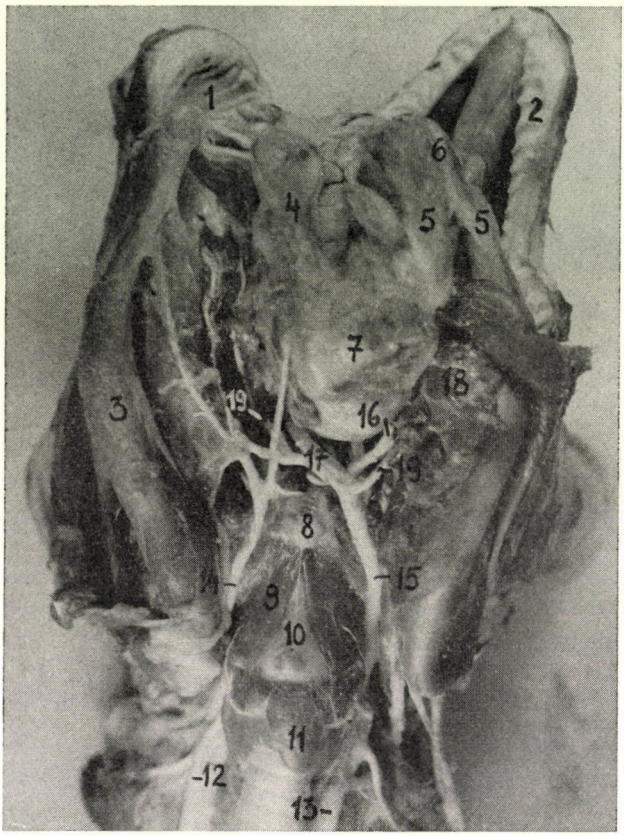


Abb. 14. Rachenganggegend (Untersicht; die Gefäße injiziert). 1, Rechtsseitiger, 2, linksseitiger harter Gaumen (Wolfsrachen); 3, rechtes äußeres, 4, rechtes inneres, 5, linkes äußeres und inneres Unterkieferbein; 6, Symphysis mandibulae; 7, hinterer, zusammengewachsener Abschnitt der inneren Unterkieferbeine; 8, Zungenbeinkörper; 9, M. thyreohyoideus; 10, Schildknorpel; 11, Schilddrüse; 12, A. carotis communis dextra; 13, A. carotis communis sinistra; 14, A. carotis externa dextra; 15, A. carotis externa sinistra; 16, zu den mittleren Unterkieferbeinen gehender Gefäßstamm der A. carotis externa sinistra; 17, gemeinsamer Stamm der innenseitigen Aa. maxillares; 18, mediale submentale Speicheldrüsen; 19, innere Aa. linguales

oblongata wird nach vorn breiter (Abb. 13; 1), auf ihr treten deutlich das seitliche Loborbündel, die Fissura mediana ventralis und dorsal die Rautengrube zutage. Die Pyramis medullae oblongatae und das hintere Marksegel sind voll entwickelt. Aus der Medulla oblongata treten die VI.—XII. Gehirnnervenpaare hervor. Der Plexus chorioideus ventriculi quarti ist doppelt so

dick wie normalerweise. Die Varol-Brücke ist paarig; die beiden Schenkel sind kaudomedial V-förmig verwachsen (Abb. 13; 2). An dieser Stelle fehlen die Brückenarme und gehen nur von zwei Seiten zum Kleinhirn. Der Kleinhirnwurm ist größer als normal und erhebt sich stark über die Hemisphären.

Abb. 15. Das Zungenbein (Untersicht; die Muskeln teilweise entfernt). 1, Zungenbeinkörper; 2, kleine Zungenbeinfortsätze (Cornua minora); 3, Epihyoides; 4, Stylohyoides; 5, Schildknorpel; 6, M. thyreohyoideus; 7, Zungenwurzel

Das Mesencephalon ist doppelt vorhanden. Aus den Bodenplatten haben sich vier Pedunkel (Abb. 13; 3), aus den verdickten Gehirnschenkelhauben zwei Corpora quadrigemina mit acht Hügeln entwickelt. Es sind zwei Wasserleitungen des Gehirns vorhanden. Das Prosencephalon hat sich ebenfalls doppelt entwickelt. Die Facies convexa der miteinander im Kontakt befindlichen Hemisphären der beiden Großhirne ebenso wie die einander zugewendete Facies medialis der Hemisphären sind fast eben. Beide Großhirne sind proportional entwickelt. Die Sulci und Gyri der Gehirnhemisphären treten markant in Erscheinung. Die beiden Hypophysen sind gleich groß (Abb. 13; 5), die medialen Lobi piriformes abgeflacht. Das I.—V. Gehirnnervenpaar ist doppelt anwesend, die am Treffpunkt der Varol-Brücken heraustretenden (inneren) Nerven des N. trigeminus sind schwächer entwickelt und nur halb so dick wie die lateralen. Ähnlich haben sich der doppelte N. abducens und der N. oculomotorius entwickelt. Unter den Nn. optici sind die zu den seitlichen Augen laufenden länger; die zu den in der gemeinsamen Augen-

grube befindlichen Augäpfeln gehenden weisen eine stärkere S-förmige Krümmung auf (Abb. 4; 11).

Das arterielle System der beiden Köpfe stammt von den Zweigen der bilateralen A. carotis communis. Die A. carotis communis sinistra (Abb. 14; 13) ist stärker und versorgt auch einen Teil des rechten Kopfes mit Blut. Die A. lingualis und A. sublingualis des rechten und linken Mundbodens und der inneren Hälfte der doppelten Zunge gehen direkt von der linksseitigen A. carotis externa aus, weil die inneren Aa. faciales fehlen (Abb. 14). Die A. carotis externa sinistra teilt sich in zwei Aa. maxillares, von denen die linksseitige die üblichen Zweige der A. maxillaris gibt. Die rechtsseitige läuft am Dorsalabschnitt der Backe zwischen den bilateralen Mundhöhlen nach vorn und liefert die Gefäße der Organe in der mittleren, zusammengewachsenen Orbita und in den beiden inneren medialen Kinnbeingegenden. Es haben sich zwei Rete mirabile epidurale entwickelt, die außer von der A. vertebralis und der A. condylica auch von den beiden seitlichen der Aa. maxillares mit Blut versorgt werden. Die Aa. carotides cerebrales sind gut entwickelt. Die je zwei Rami orales vereinigen sich vorn miteinander. Von den Rami aborales sind nur die äußeren entwickelt (Abb. 13) und stärker als normalerweise; zu den von den inneren Rami aborales versorgten Organen wird das Blut somit von den medialen Ersatzzweigen der äußeren Rami aborales geliefert. Die Rami aborales gehen nach hinten zum Sulcus basialis pontis und laufen von hier an als A. basialis cerebri (Abb. 13; 12). Die beiden Aa. basiales cerebri vereinigen sich hinter der Varol-Brücke und geben von hier an den Stamm der in der Fissura mediana entlanglaufenden einheitlichen A. basialis cerebri (Abb. 13; 13), der hinten in die A. spinalis ventralis übergeht.

Besprechung

Die beschriebene Anomalie veranschaulicht die Beziehungen der Entwicklungsprozesse, sowie die topographischen und zeitlichen Wechselwirkungen und Zusammenhänge zwischen den einzelnen Organen und ermöglicht deren Studium.

Die mitgeteilte Mißbildung setzte vermutlich mit der Verdoppelung des Embryokopfes und zugleich des vorderen Neuralrohrendes vor Verschluß des Neuroporus anterior ein. Am Gehirnabschnitt des offenen doppelten Neuralrohres erschienen die Anlagen der Orbita und Augenblase; dementsprechend entwickelten sich sodann vier selbständige Netzhäute, Retinae. Die Netzhaut brachte als Induktor des Sehapparates die Entwicklung von vier Augen in Gang. Dies wirkte sich auf das benachbarte Mesoderm und auf das dieses bedeckende Ektoderm so aus, daß sich daraus die Augenhüllen, die Gefäße, die Augenlinse und die Hornhaut entwickelten.

Als Folge der doppelten Entwicklung des zerebralen Neuralrohrabschnitts entwickelten sich zwei primäre Mundgruben und Mundöffnungen, die von den fünf Kopffortsätzen des Embryos begrenzt waren. An den Stirnfortsätzen entwickelte sich erst das Geruchsfeld und später die Nasenöffnungen. Die Vorderabschnitte der Stirnfortsätze umgaben die beiden entstandenen vorderen Gehirnblasen, so daß ihre weitere Entwicklung mit deren Gestaltung zusammenhängt. Die Adenohypophyse schnürte sich vom Dach der elementaren Mundhöhle ab, die Neurohypophyse stammte aus dem Diencephalon, und da sich diese doppelt entwickelten, kamen zwei Hypophysen zustande.

Aus der primären Mundhöhle entwickelten sich die sekundäre Mundhöhle, der Rachen und ein Teil der Nasenhöhle. Die Verdopplung des Kopfteils kam lediglich wenig über den Abschnitt hinter der Rachenmembran, Membrana buccopharyngica, hinaus zustande, weshalb sich die Mundhöhle, die Nasenhöhle und der vordere Abschnitt der Rachenhöhle doppelt entwickelten. Der sog. Kopfdarm oder Kiemendarm hinter der Rachenmembran hat sich bis zu den vorderen Kiemenbögen, Arcus mandibulares, verdoppelt. Dementsprechend ist der hintere Abschnitt der Rachenhöhle einheitlich, dagegen haben sich die aus dem ersten Kiemenbogen entstehenden Organe, der Unterkiefer und das Oberkieferbein, doppelt entwickelt. Am zweiten Kiemenbogen ist keine Verdopplung mehr eingetreten, weshalb das sich darin entwickelnde Zungenbein einheitlich ist.

Den beiden primären Mundhöhlen entsprechend hat sich an ihrem Boden je eine vordere Zungenanlage (Tuberculum impar, T. linguale laterale dextrum et sinistrum) entwickelt, aus denen zwei Zungenspitzen und -körper entstanden. Vom zweiten Kiemenbogen an ist die doppelte Entwicklung ausgeblieben. Die hintere Zungenanlage, die sich aus dem ventralen Teil der 2.—4. Kiemenbögen, dem Mesobranchialgewebe bildet, ist somit einheitlich geblieben und daher auch die sich daraus entwickelnde Zungenwurzel einheitlich geworden. Am linken Gesicht entstand der Wolfsrachen (Palatoschysis) als Fragment der embryonalen Gaumenspalte, weil die Ränder der beiden Processus palatini des Oberkieferbeinfortsatzes infolge der behinderten Entwicklung in der Mittelebene nicht in der Naht zusammenwuchsen. Der Verlauf der Nerven, die Innervation, beruht auf der verdoppelten Gehirnentwicklung. Das Gefäßsystem entwickelt sich nachträglich und gewährleistet daher die Blutversorgung der Organe in außerordentlich variabler Form.

Die Bewegung der paarig entwickelten Organe ging derart synchron vor sich, daß sich die Organe des einen Gesichtes in derselben Richtung bewegten wie die gleichen Organe des anderen Gesichtes. Als unmittelbare Folgeerscheinung der exogenen, taktischen Reize war die Bewegungsintensität in den Ernährungsorganen jedoch stärker.

ZUSAMMENFASSUNG

Die verhältnismäßig seltene Entwicklungsanomalie, ein Kalb mit doppeltem Gesicht (Diprosopus, Tetraophthalmus, Diotus, Tetracornus), konnte 43 Tage am Leben erhalten bleiben. Infolge einer Störung im Verschluß des Neuroporus anterior hat sich die vordere, mittlere und an einem Teil auch die hintere Gehirnblase paarig entwickelt. Auf Grund der Induktionskette bzw. der Wechselwirkungen entwickelten sich einige Kopforgane doppelt.

Das Kalb hatte zwei Nasolabialgegenden, Nasen, Nasenhöhlen, zwei Mundhöhlen und zwei Zungen. Die Zungenwurzel und das Zungenbein waren jedoch einheitlich. Drei Lippen und vier Kieferbeine hatten sich entwickelt. Letztere waren so entstanden, daß die Kiefer im rechtsseitigen Gesicht am Schneidezahnabschnitt nicht zusammengewachsen sind. Von den vier Augäpfeln befanden sich zwei in einer gemeinsamen Orbita. Die einander zugewendete Oberflächen ihrer Sclera waren miteinander verwachsen. Das Vorder- und Mittelgehirn sowie die Varol-Brücke des hinteren Gehirns waren doppelt, die anderen Teile des hinteren Gehirns einheitlich vorhanden. Vier Hornanlagen waren tastbar. Schädelhöhle, Schädelbasis, Rachen und Kehlkopf traten einheitlich zutage. Die paarigen Organe bewegten sich synchron, d. h. die Organe des einen Gesichtes bewegten sich übereinstimmend mit denen des anderen Gesichtes.

LITERATUR

Faludi, B.: Öröklléstan. Budapest, 1961. Joest, E.: Spezielle pathologische Anatomie der Haustiere. Berlin, 1929. Kitt, Th.: Lehrbuch der pathologischen Anatomie der Haustiere. Stuttgart, 1929. Kovács, Gy.: Fejlődéstan. Budapest, 1954. Kövessi, F.: Inaug. Diss. Budapest, 1935. Sályi, Gy.: Általános kórtan. Budapest, 1961. Schwalbe, E.: Die Doppelbildungen. Jena, 1925. Szabó, Z.: Stomatologiai Közlöny **6** (1937), 3—9. Törő, I.: Fejlődéstan. Budapest, 1960. Zimmermann, Á.: Természettudományi Közlöny, 1926, 435—439.

THE FREQUENCY OF GENES CONTROLLING SERUM β-GLOBULIN TYPES IN HUNGARIAN SPOTTED CATTLE

By

J. MÁRKUS, GY. KOVÁCS and L. FÉSÜS

Institue of Animal Nutrition (Director: Prof. J. MÁRKUS)
University of Veterinary Sciences, Budapest

(Received February 28, 1964)

Besides the blood group factors a recently recognized polymorphism in inherited serum protein fractions can also be evaluated in parentage control tests. Serum protein polymorphism was first detected by means of zone electrophoresis in starch-gels.

The serum beta-globulins are known as important vehicles in the body of man and animals. These proteins proved to be the specific iron-binding fractions of the serum and were named therefore transferrins *(Tf)* by GIBLETT, HICKMAN and SMITHIES (1959).

The beta-globulins of cattle were first described by HICKMAN and SMITHIES (1957) and ASHTON (1957). Five phenotypes were found at first but shortly afterwards ASHTON (1958) described a sixth one. Like the blood-group properties the serum beta-globulin types also show a codominant inheritance. On the basis of six phenotypes (or rather genotypes) found so far in cattle, ASHTON suggests the presence of three alleles (β^A β^D β^E or Tf^A Tf^D and Tf^E) acting independently of age and sex. Recently two further alleles were detected by ASHTON (1959) in Zebu cattle.

In this paper the frequency-relationships of transferrin types in the Hungarian Spotted Cattle will be dealt with.

Our investigations were performed using the method described by GAHNE (1962).

Identification of serum types

The six beta-globulin *(Tf)* types can be readily distinguished in starch-gels on the basis of five separate bands controlled by three allels (β^A β^D and β^E or Tf^A Tf^D and Tf^E). There are five possible bands (designated by letters *A*, *B*, *C*, *D*, *E*), all of which are present in the genotype Tf^A/Tf^E (*ABCDE*). The genotypes Tf^A/Tf^D (*ABCD*) and Tf^D/Tf^E (*BCDE*) can be recognized by four bands. These are the three heterozygous genotypes. There are also three homozygous genotypes: Tf^A/Tf^A, Tf^D/Tf^D and Tf^E/Tf^E, each of which involves three bands (*ABC*, *BCD* and *CDE*) (see Fig. 1).

It is more difficult to identify the *Tf*-types of new-born calves as between the fast-α_2-globulin and *Tf-A* band appears a darkly stained protein fraction, named fetuin (GAHNE, 1961), which gradually disappears after two weeks of age.

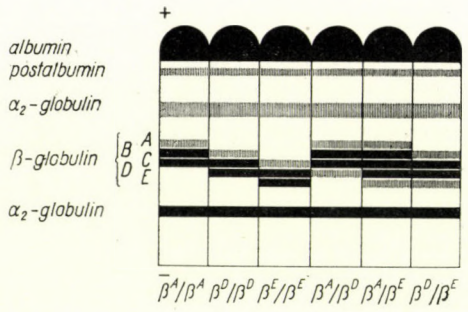


Fig. 1. Diagram of β-globulin types in cattle (ASHTON, 1958)

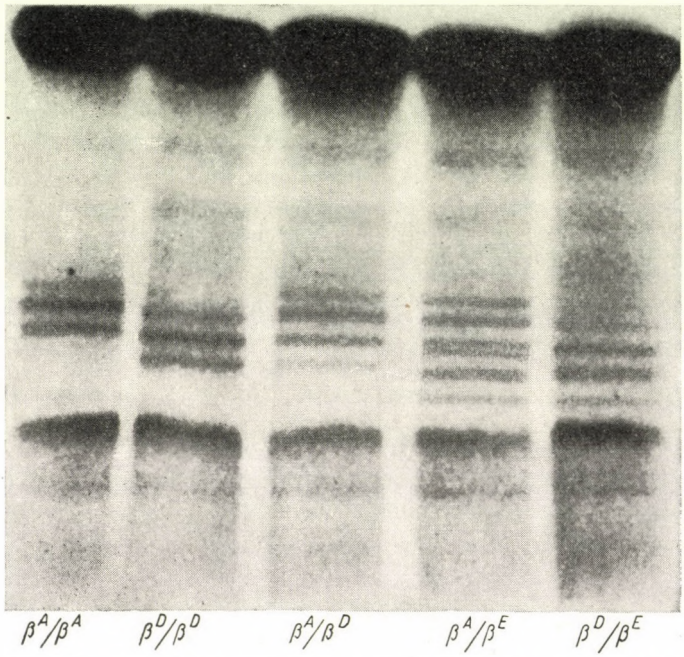


Fig. 2. Photograph taken of the five transferrin types found in the animals investigated. From left to right the elphogram of Tf^A/Tf^A, Tf^D/Tf^D, Tf^A/Tf^D, Tf^A/Tf^E, Tf^D/Tf^E can be seen. Amido-black staining

Practical importance of Tf-types

Besides parentage control the *Tf*-types are used in tweenstudies to determine the zygozity as they are not influenced by the embryonal vascular anastomosis (GAHNE, 1960).

The results of some investigations indicate that correlations can be established between *Tf*-types and certain economic factors (ASHTON, 1960). It was supposed that early fetal-mortality is due to the Tf^E/Tf^E-type (ASHTON, 1960).

Experimental results

To determine the frequency of *Tf*-genes in the Hungarian Spotted Cattle (this breed is very like the Simmenthal one) serum samples were collected from 631 animals 1—12 years of age deriving from different counties of Hungary. The results are given in the following Table:

Tf^A/Tf^A	48
Tf^D/Tf^D	321
Tf^E/Tf^E	0
Tf^A/Tf^D	237
Tf^A/Tf^E	4
Tf^D/Tf^E	21
	631

The frequency of genes controlling *Tf*-types was determined by means of the following formula:

$$q_{\beta A} \text{ or } q_{Tf^A} = \frac{2\,Tf^A/Tf^A + Tf^A/Tf^D + Tf^A/Tf^E}{2\,N};$$

$$q_{\beta D} \text{ or } q_{Tf^D} = \frac{2\,Tf^D/Tf^D + Tf^A/Tf^D + Tf^D/Tf^E}{2\,N};$$

$$q_{\beta E} \text{ or } q_{Tf^E} = \frac{2\,Tf^E/Tf^E + Tf^A/Tf^E + Tf^D/Tf^E}{2\,N};$$

The standard deviation is given by the formula

$$\sigma_q = \sqrt{\frac{q\,(1-q)}{2\,N}},$$

where

$q_{\beta A}$ or rather q_{Tf^A} etc. are the frequencies of alleles,
Tf^A/Tf^A, etc. are the numbers of *Tf*-types found,
N is the number of animals investigated.

The following gene frequencies were obtained:

$q_{\beta A} = 0.267 \pm 0.0125$
$q_{\beta D} = 0.713 \pm 0.0127$
$q_{\beta E} = 0.020 \pm 0.0014$

Discussion

On the basis of our investigations it is evident that in our breed the frequency of allele Tf^D is the highest while that of allele Tf^E is rather low. This finding is corresponding with the results obtained in different cattle

breeds investigated in other countries. The data of some other cattle breeds are given in the following Table.

Breed and author	q_{Tf^A}	q_{Tf^D}	q_{Tf^E}
English Friesian (ASHTON, 1958)	0.490	0.470	0.040
Shorthorn (ASHTON, 1958)	0.606	0.366	0.028
Hereford (ASHTON, 1958)	0.409	0.576	0.015
Ayrshire (ASHTON, 1958)	0.253	0.642	0.105
Jersey (England) (ASHTON, 1958)	0.681	0.319	0.000
Jersey (Denmark) (HOJGAARD, 1961)	0.706	0.291	0.003
SDM (HOJGAARD, 1961)	0.518	0.459	0.023
SRB (GAHNE, 1961)	0.500	0.210	0.290
SLB (GAHNE, 1961)	0.480	0.500	0.020
Swedish Red Polled (GAHNE, 1961)	0.440	0.540	0.020
Swedish Mountain (GAHNE, 1961)	0.290	0.540	0.170
Icelandic Cattle (BRAEND, RENDEL, GAHNE, ADALSTEINSSON, 1962)	0.346	0.645	0.010
Czechoslovakian Red and White Spotted Cattle (MATOUŠEK, 1962)	0.273	0.675	0.052
South German Mountain Cattle (BUSCHMANN, 1963)	0.139	0.844	0.017

It is much more expressive to represent the frequency-values of different cattle breeds with population-points in a DeFinetti triangle (Fig. 3).

Considering that transferrins are of triallele properties, the frequencies of *Tf*-genes had to be used instead of genotype frequencies.

Among the 631 animals under study (which give the reliable average of the Hungarian Spotted breed of cattle) no Tf^E/Tf^E individual was found and the number of heterozygous animals Tf^A/Tf^E and Tf^D/Tf^E was only 25 altogether (Fig. 3). A lower frequency concerning this gene was found only in the South German Mountain Cattle, the Hereford, the Icelandic Cattle, and the Danish and English Jersey breed. It is of interest that a frequency of this gene exceeding 10% can be found only in the Ayrshire, the Swedish Mountain and the Swedish Red and White Cattle. The frequency of Tf^E gene is also low in the black spotted lowland cattle (SLB, SDM and English Friesian) but they show good equilibrium regarding the other two genes (Tf^A and Tf^D). Similar conditions can be observed in Swedish Red Polled cattle and perhaps in the Hereford as well. It is also of interest to mention that in three cattle breeds (Czechoslovakian Red and White Spotted, Hungarian Spotted and South German Mountain Cattle), all of which originated from the Simmenthal breed, the Tf^D gene shows a very high frequency. Even the South German Mountain Cattle seem to tend to be fixed concerning the Tf^D gene. A high frequency of Tf^A

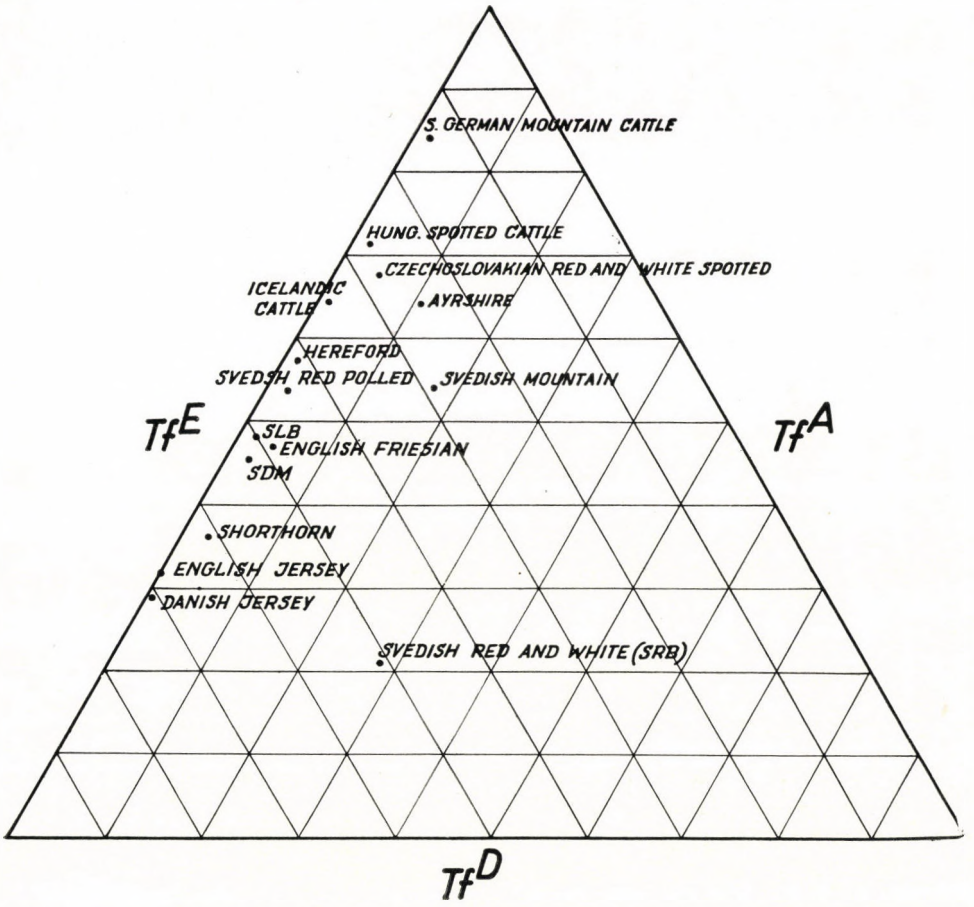


Fig. 3. The lines drawn parallel with the side marked by the allele indicate the frequency of the respective gene (0.1; 0.2, etc.). Taking into consideration the frequencies of the three alleles the position of a certain population can be indicated with a single point

gene can be observed in Danish and English Jersey and Shorthorn breeds. On the basis of the higher frequency of Tf^E gene, occurring in certain northern breeds ASHTON (1958) supposed the influence of some climatic factors, but this suggestion was not confirmed by the results of recent investigations performed on Icelandic Cattle (BRAEND, RENDEL, GAHNE and ADALSTEINSSON, 1962). To solve these problems further investigations are required.

SUMMARY

After a short review of literature regarding the starch-gel electrophoresis and serum transferrins of cattle, authors make us acquainted with the practical importance of these investigations.

They investigated 631 cattle 1—2 years old, all of which belonged to the Hungarian Spotted breed. No homozygous Tf^{E}/Tf^{E} individual was found, even the number of animals heterozygous for this gene was also very low (Tf^{A}) $Tf^{E} = 4$, $Tf^{D}(Tf^{E} = 21)$.

The frequencies and the standard deviations of Tf^{A}, Tf^{D} and Tf^{E} alleles proved to be $0{,}267 \pm 0{,}0125$. $0713 \pm 0{,}0127$ and $0{,}020 \pm 0{,}0014$ respectively.

The frequencies — concerning other breeds — published in the literature are represented in a De Finetti triangle by population points.

REFERENCES

ANDRESEN, E., HOJGAARD, N., JYLLING, B., LARSEN, B., MÖLLER, F., MOUSTGAARD, J. and NEIMANN-SORENSEN, A.: Report of the VI. International Bloodgroup-Congress in Munich, 1959. ASHTON, G. C.: Nature **180** (1957), 917. IDEM: Ibid. **182** (1958), 370. IDEM: Ibid. **183** (1959), 404. IDEM: Ibid. **184** (1959), 1135. IDEM: J. Agric. Sci. **54** (1960), 321. BRAEND, M., RENDEL, J., GAHNE, B. and ADALSTEINSSON, S.: Hereditas **48** (1962), 264. BUSCHMANN, H.: Zbl. Vet. Med. Reihe B. **10** (1963), 49. GAHNE, B., RENDEL, J. and VENGE, O.: Nature **186** (1960), 907. IDEM: Animal Production **3** (1961), 135. IDEM: Report of the VIII. European Bloodgroup-Conferen in Ljubljana, 1962. GIBLETT, E. R., HICKMAN, G. C. and SMITHIES, O.: Nature **183** (1959), 1589. HICKMAN, C. G., SMITHIES, O.: Proc. Genet. Soc. Can. **2** (1957), 39. SCHSOFFEL, J., MATOUŠEK, J.: Živočišná výroba **7** (1962), 313. SMITHIES, O.: Biochem. J. **61** (1959), 629.

STUDIES ON THE OVIDUCT AND SERUM OF FOWLS

II. OXYGEN UPTAKE BY THE REGIONS OF THE OVIDUCT AND EFFECT OF CALCIUM ION ON IT, THE CONCENTRATION OF INORGANIC PHOSPHORUS, CALCIUM AND MAGNESIUM AND THE LEVEL OF ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY IN SERUM OF HUNGARIAN YELLOW PULLETS

By

M. S. MISRA and A. KEMÉNY

Department of Physiology, University of Veterinary Science
(Director: Prof. A. KEMÉNY), Budapest

(Received April 17, 1964)

Hungarian Yellow pullets come to lay by the sixth month of age. By this time the oviduct is expected to develop from the state of inertia to the state of activity due to its role in the egg formation.

In an earlier report (MISRA and KEMÉNY, 1964) it was noted that in the atrophied oviduct the regions behave as a single unit losing their individual functions. In a laying hen the uterus was found to have the highest $Q_{_2}$, whereas the infundibulum was found to show a rising $Q_{_2}$ before ovulation. The serum calcium and magnesium levels and the alkaline phosphatase activity were higher in laying hens than in hens having atrophied oviduct.

It was noted by BELL (1960) that there was a 50% increase in alkaline phosphatase activity as the birds started laying. He attributed the rise in plasma phosphatase level to the osteoblastic recalcification compensating the loss of the bone calcium that was utilized for egg-shell formation. TANABE (1962) reported that the alkaline phosphatase level increased at the initiation of egg laying and dropped thereafter.

In the present study we wished to investigate in six-months-old pullets the extent to which changes in oxygen uptake take place when the oviduct is developing from the state of inertia to the state of activity. Simultaneously serum levels of alkaline phosphatase activity, phosphorus, calcium and magnesium were determined.

Materials and methods

Thirty Hungarian Yellow pullets six months of age were provided by the Gödöllő Small Animal Research Institute; 16 of the pullets were laying. The birds were divided into five groups on the basis of the physiological state of activity as follows (n = the number of birds per group):

Group I — Egg in the uterus ($n = 7$)
Group II — Egg before entering the uterus ($n = 5$)
Group III — Before ovulation ($n = 4$)
Group IV — Developing oviduct and ovary ($n = 5$)
Group V — Rudimentary ovary and oviduct ($n = 9$)

The birds were weighed, blood was taken from the jugular vein for serum analysis and then the birds were decapitated. The abdomen was opened and the oviduct was placed in Ringer's solution. The whole duct was then weighed after draining off the fluid by filter paper. The Warburg apparatus was set as described elsewhere (MISRA and KEMÉNY, 1964) except that 2.5 ml Robinson's medium was pipetted into the Warburg vessels and 0.5 ml calcium chloride solution was placed in the side limb. The $CaCl_2$ solution was mixed with the incubation medium two hours after the determination of the oxygen consumption by the tissue. The $CaCl_2$ solution was adjusted to give a final concentration of 10, 16 and 25 mEq Ca^{++}/l for Group A, B and C, respectively. The effect of Ca^{++} on oxygen consumption was observed from the end of the 2nd hour to the end of the 4th hour. The birds were grouped into A, B and C randomly to observe the effect of Ca^{++} on the regions of the oviduct irrespective of the birds' physiological state. Oxygen consumption was expressed in μl/mg dry tissue.

The serum analyses for alkaline phosphatase activity, inorganic phosphorus, calcium and magnesium were carried out as described in the first report of this series.

Statistical analyses were carried out as described by JUVANCZ (1955).

Results

The data for the body weight and corresponding weight of the oviduct are presented in Table I. The average body weight for each of the first four groups was nearly 2 kg, whereas for Group V it was 1.62 kg, thus significantly lower than for the first four groups (Table II). The weights of the oviduct of

Table I

Body weight and weight of the oviduct of different groups

Attribute	Gr. I	Gr. II	Gr. III	Gr. IV	Gr. V
Body wt. (kg)	2.03 $\pm$0.047	1.99 $\pm$0.10	2.04 $\pm$0.08	1.99 $\pm$0.07	1.62 $\pm$0.06
Wt. of oviduct (g)	42.57 $\pm$2.89	44.62 $\pm$2.34	32.05 $\pm$5.42	16.16 $\pm$2.05	3.03 $\pm$0.35

the hens having egg in the uterus (Group I) and those having eggs in the infundibulum or magnum (Group II) were found to be nearly the same (42.57 g and 44.62 g, respectively), whereas the average weight of the oviduct for Group III was lower, but not significantly, than that for the first two groups

(32.05 g). In Group V the correlation coefficient between body weight and the corresponding weight of the oviduct was 0.71. The regression equation is $Y = -2.645 + 3.504\ x$, where Y = weight of oviduct in g and x = body weight in kg (Fig. 1).

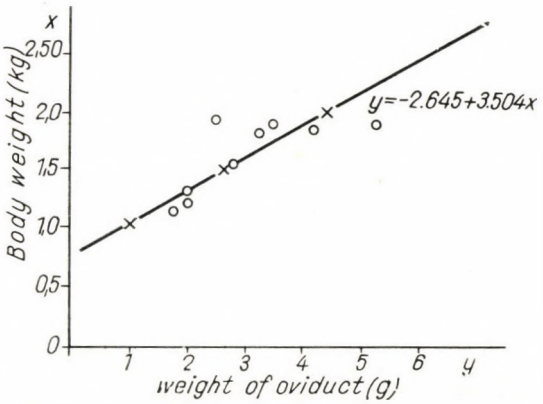


Fig. 1. Regression of body weight (kg) on the weight of the oviduct (g). x, values calculated from the equation; O, values actually obtained during the period of investigation

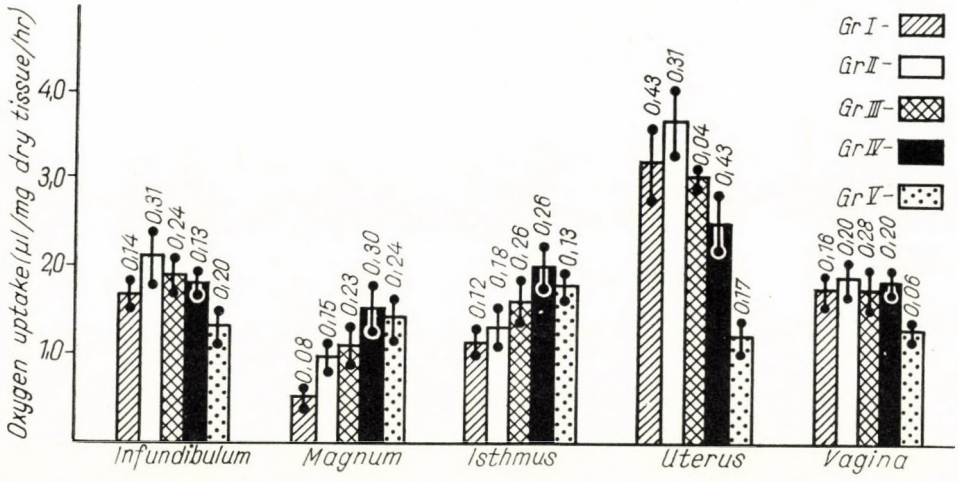


Fig. 2. The Q_{O_2} for different regions in the 5 groups. The arrows on the columns indicate the standard errors

The Q_{O_2} for the different regions of the 5 groups of birds are presented with their standard errors in Fig. 2 in order to give a comparison between the groups. The oxygen uptake by the infundibulum showed a rising tendency before ovulation as compared to the group having egg in the uterus. It was still higher when the egg was in the infundibulum or even when it had reached the magnum (2.08). The infundibulum of the rudimentary oviducts had the

lowest Q_{O_2} (1.29), which was significantly lower than the Q_{O_2} for either of the other groups including the group having developing oviduct.

Table II

Significance of difference between the groups

Attributes	Groups under consideration	Level of significance
Q_{O_2} of magnum, isthmus, uterus and vagina; serum alk. phosphatase, inorg. P, Ca, Mg; body weight, weight of oviduct	I and V	H. S.
Q_{O_2} of infundibulum	I ,, V	$p < 0.05$
Q_{O_2} of magnum	I ,, II	H. S.
Q_{O_2} of magnum	I ,, III	H. S.
Q_{O_2} of magnum, isthmus, serum Ca and weight of oviduct	I ,, IV	H. S.
Serum inorg. P	I ,, III	$p < 0.05$
Q_{O_2} of infundibulum, uterus and vagina; serum alk. phosphatase, inorg. P, Ca, and Mg concentrations; body weight, weight of oviduct	II ,, V	H. S.
Q_{O_2} of isthmus and uterus	II ,, IV	$p < 0.05$
Serum alk. phosphatase and Ca; weight of oviduct	II ,, IV	H. S.
Serum alk. phosphatase and Mg	II ,, III	H. S.
Serum inorg. P and Ca	II ,, III	$p < 0.05$
Serum inorg. P	III ,, IV	$p < 0.05$
Weight of oviduct	III ,, IV	H. S.
Q_{O_2} of infundibulum, uterus and vagina; serum Ca, body weight and weight of oviduct	III ,, V	H. S.
Q_{O_2} of infundibulum, uterus and vagina; serum inorg. P and Ca, body weight and weight of oviduct	IV ,, V	H. S.

H. S. = Highly significant ($p < 0.01$)

As regards the magnum the pattern of oxygen consumption by group of pullets was the opposite of that for the infundibulum. The Q_{O_2} for Group I was the lowest (0.49), significantly lower than that for either of the other groups. The Q_{O_2} values for Groups II and III were almost at the same level (0.92 and 1.04, respectively), whereas it was the highest in case of the developing oviduct (1.49); the difference is not significant. The Q_{O_2} for the magnum of the group with undeveloped oviducts was found to be higher than that for Groups II and III.

The comparative pattern of Q_{O_2} for the isthmus is much similar to that of the magnum except that the O_2 consumption in the first three groups was found to be more or less at the same level. The oxygen consumption in the case of the developing oviduct (1.97) was significantly higher than that of

Groups I and II. Q_{O_2} for Group V (1.76) was also significantly higher than that for Group I.

As to the Q_{O_2} of the uterus, the pattern was similar to that shown by the Q_{O_2} of the infundibulum. The oxygen consumption in case of the laying hens was at a high level, the Q_{O_2} being 3.21, 3.70 and 3.06 for Groups I, II and III, respectively. The Q_{O_2} for the uterus of the developing oviduct was significantly higher than that for the group with rudimentary oviduct, latter being the lowest. A very high correlation (0.94) appeared to exist between the weight

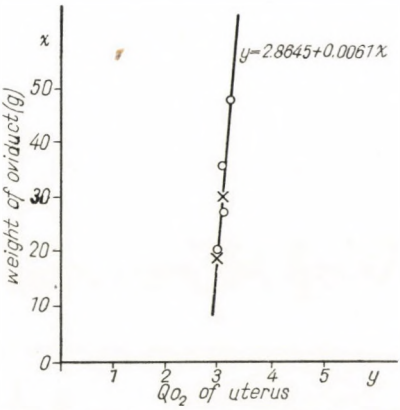
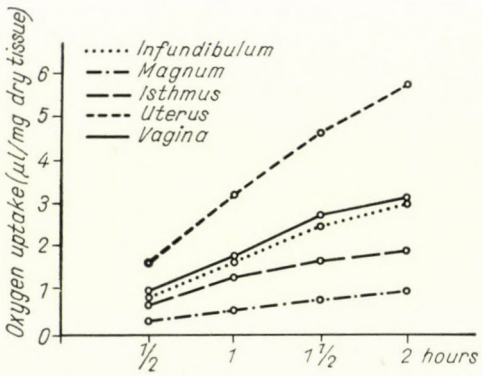


Fig. 3. Regression of the weight of the oviduct (g) on the Q_{O_2} of the uterus. x, values calculated from the equation; O, values actually obtained during the period of investigation

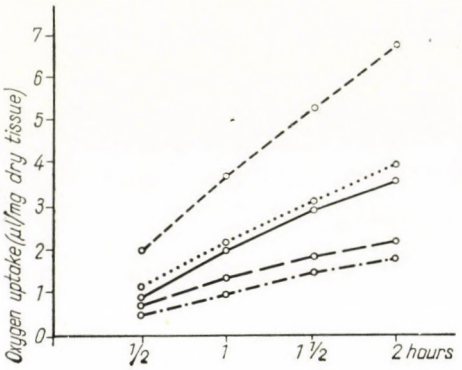
of the oviduct and the corresponding Q_{O_2} of the uterus in the pullets before ovulation. The regression of weight of the oviduct on Q_{O_2} of the uterine tissue in Group III has been calculated, the equation being, $Y = 2.8645 + 0.0061x$, where $Y = Q_{O_2}$ of the uterus, and x = weight of oviduct in grams (Fig. 3).

So far as the oxygen consumption of the vagina was concerned, no particular pattern was noticeable between the groups. The Q_{O_2} for the first four groups were almost at the same level, whereas that for Group V was significantly lower than in all other cases.

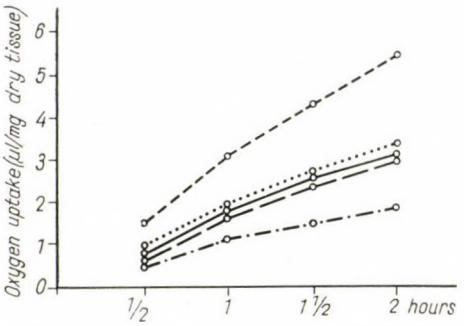
The 30-minute oxygen consumptions by the regions of the duct were determined for a period of two hours. The results are plotted in Fig. 4 for each group separately. The order in which the regions are placed as regards their oxygen consumption was nearly the same for Groups I, II and III. However, while in Groups I and II the data for the vagina and infundibulum were almost at the same level of activity, in Group III the infundibulum, vagina and isthmus were found to show more or less the same amount of O_2 consumption. In Group IV there is a changed picture; the isthmus immediately follows the uterus in the oxygen consumption. However, excluding the uterus, the O_2 consumption for the other four regions was almost the same. In the last group the order of the regions as regards their activity is completely differ-


Infundibulum
Magnum
Isthmus
Uterus
Vagina
Oxygen uptake(µl/mg dry tissue)
0
1
2
3
4
5
6
1/2
1
1 1/2
2 hours

a


Oxygen uptake(µl/mg dry tissue)
0
1
2
3
4
5
6
7
1/2
1
1 1/2
2 hours

b


Oxygen uptake(µl/mg dry tissue)
0
1
2
3
4
5
6
1/2
1
1 1/2
2 hours

c

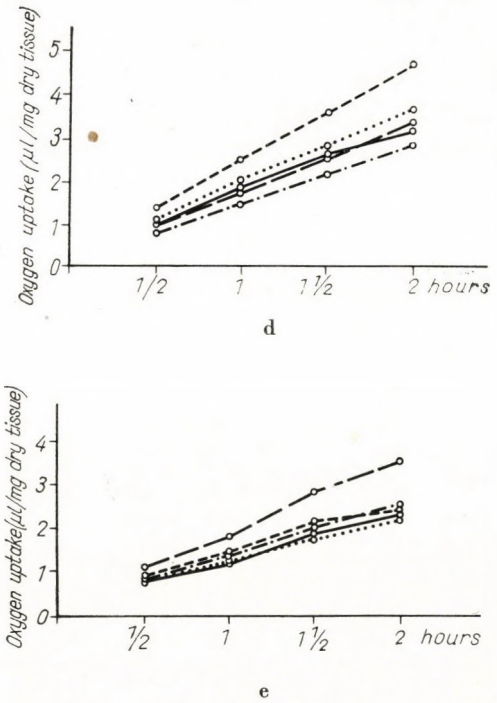


Fig. 4. Oxygen consumption by the regions of the oviduct at 30 minutes intervals. Each group is presented separately

ent, namely the isthmus had the highest oxygen consumption, while the other regions were almost at the same level of activity.

Parallel with the rise in the Ca concentration in the incubation medium, the oxygen consumption of each region, except for the magnum, increased (Fig. 5). In the latter case neither rise nor drop in the oxygen consumption could be observed as the calcium concentration was raised to 10 mEq. The oxygen consumption by the magnum was maximally stimulated (117%) with a calcium concentration of 16 mEq/l while the greatest rise for the isthmus (150%) was found at 25 mEq/l. In the second 30 minutes a distinct fall in oxygen consumption was observed in the case of all the tissues. The higher the Ca^{++} concentration, the steeper was the fall in the O_2 consumption by the magnum. Changes in the Ca^{++} concentration did not influence the O_2 consumption by the uterus markedly.

The alkaline-phosphatase activity of the serum was the highest in the hens having egg in the infundibulum or magnum (18.78 B.U.), significantly higher than in the other groups (Fig. 6). However, the coefficient of variation was high (66.18). The level of activity in Group I was higher than that in Group III; the serum-alkaline-phosphatase level of the last group was found to be the lowest.

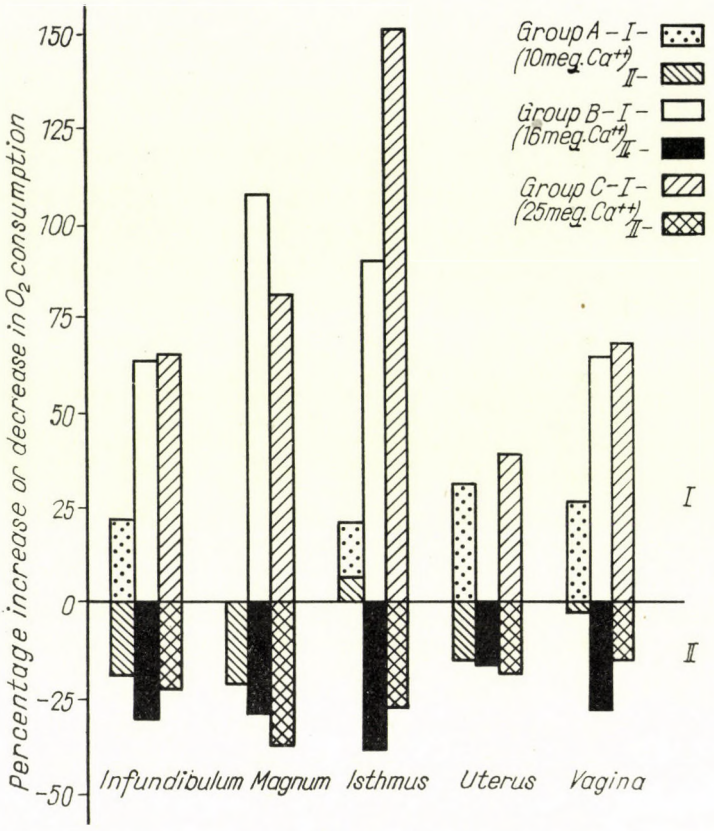


Fig. 5. Effect of Ca^{++} on the oxygen consumption of the regions of the oviduct. I, the columns above the O line indicate the percentage rise in oxygen consumption of the tissue within 30 minutes after the addition of calcium to the incubation medium as compared to the oxygen consumption during the 30 minutes immediately before the addition of calcium; II, the columns below the O line indicate the fall in oxygen consumption of the tissue during the second 30 minutes, as compared to the first 30 minutes, after the addition of calcium. In case of isthmus there is an increase in oxygen consumption by Group A during the second 30 minutes

The concentration of serum inorganic phosphorus was found at the same level in Groups I, II and IV (1.74, 1.70 and 1.85 mEq/l, respectively), it was significantly higher in Groups III (2.85 mEq/l) and V. (3.0 mEq/l).

The serum calcium level was the highest in the pullets having egg in the infundibulum or magnum, significantly higher than in the other groups except Group I. The serum calcium level for each of the first four groups was significantly higher than for Group V (7.48 mEq/l).

The highest serum magnesium concentration was found in Group II (2.94 mEq/l). In this group it was significantly higher than in any of the other groups except Group I. The magnesium levels were significantly higher in the first four groups than in Group V.

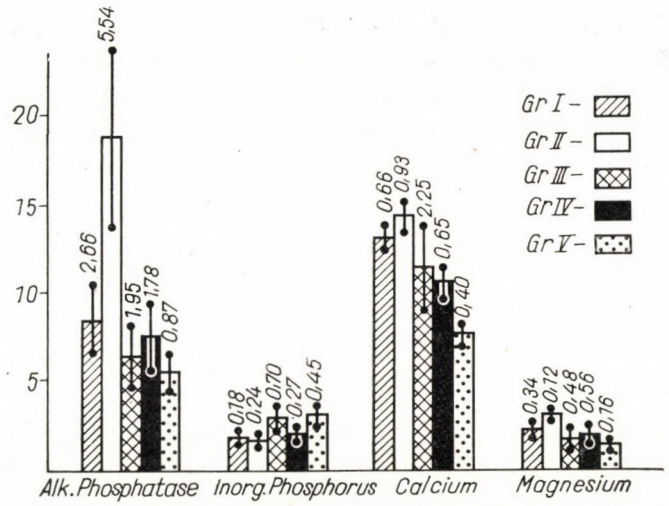


Fig. 6. Inorganic phosphorus, calcium and magnesium, and alkaline phosphatase levels in the serum. The concentrations of minerals are expressed in mEq/l, the alkaline phosphatase activity in B.U.

Discussion

After the birds under study have reached sexual maturity, there was a sudden rise in the growth of the oviduct; its weight increased from 3 g to 40 g. This remarkable increase in the weight was obviously under the influence of the sex hormones, the level of which in the serum must have rose also suddenly. Till attaining the maturity the growth of the oviduct was dependent upon the growth of the bird itself to the extent of nearly 50%, as is evident from the correlation coefficient of 0.71 between body weight and weight of the duct in Group V. It may also be stated that a healthy bird comes to maturity earlier than a bird of comparatively poor health, which is evidenced by a significantly lower body weight of the birds of Group V. It also appears plausible to assume that the birds with lower body weight, which were disease-free as apparent from the autopsy, were genetically different from the others, as practically there was no difference in the rearing of the birds, which could have caused the divergence.

In the oviduct of the sexually matured hen the oxygen consumption of the uterus is undoubtedly the highest. The uterus reached its highest activity before receiving egg. It is of interest to note that before ovulation the coefficient of variation in the Q_{O_2} of the uterus was very high (2.61) and showed a very high positive correlation (0.94) with the weight of the oviduct. This correlation, however, needs verification as the number of birds in the group was very small ($n = 4$). It appears that the heavier the oviduct, the higher is the capacity of the hen to lay. In hens with developing oviduct the activity of the uterus is

yet significantly lower than that of the laying hens. As regards activity the uterus was followed by the infundibulum. It reached the peak of its activity when receiving the egg. The rising tendency in the Q_{O_2} of the hens before ovulation confirmed our earlier findings.

It is a very peculiar fact that the activity of the magnum in the hens having egg in the uterus was significantly lower than that of the other groups under study. It may be assumed that soon after the magnum has fulfilled its role in the secretion of egg albumen, its activity remarkably declines till the egg is laid down, after which it rises significantly, obviously to get prepared for the next egg formation. The activity of the magnum reached its peak in laying hens when the egg was passing through it. However at any physiological phase of the bird there exists a great difference in the O_2 consumption between the magnum and the uterus, though both play important roles in egg formation. It is anticipated that this difference in the O_2 consumption may be explained by investigating the state of the glycolytic cycle in both regions.

The Q_{O_2} of the isthmus showed very little variation in the different phases of activity of the laying hen, though its oxygen consumption was found to be the highest when the egg was present in the magnum. In the case of the isthmus a similar peculiarity was noted as in the magnum, the Q_{O_2} of the isthmus of the undeveloped and developing oviducts being higher as compared to that of the laying hens. It is worth noting here that, when the oviduct was still completely undeveloped, its different regions, except the isthmus, displayed nearly the same level of activity. It may be suggested that at such a stage the isthmus was perhaps the most developed region.

The vagina showed only a negligible variation in its Q_{O_2} in the laying hens as well as in hens with developing oviduct. However, the Q_{O_2} level was found to be significantly lower in an undeveloped oviduct.

Taking into consideration the great Ca transport through the uterine wall for the formation of egg-shell and the high Q_{O_2} of the uterine tissue, it appeared worthwhile to study the effect of Ca^{++} on the regions of the oviduct. There was a general rise in the O_2 consumption as the calcium concentration in the incubation medium was raised. It is worth noting that the rise in the O_2 consumption of the isthmus followed the changes in the calcium concentration of the incubation medium; this is of interest as among the regions of the oviduct this region has the highest calcium concentration (MISRA and KEMÉNY, 1964). The uterus reveals an almost equal rise in O_2 consumption with varying calcium concentration in the incubation medium and the fall in the O_2 consumption in the second 30 minutes is the same, irrespective of the changing concentration of calcium. It may thus be suggested that the uterus is least influenced by the Ca^{++} concentration. This is an important observation as the uterus takes part in the egg-shell formation, which requires a sudden calcium transport to the uterine wall as the uterine tissue does not store calcium

(MISRA and KEMÉNY, 1964). The uterine tissue has to withstand a high mobilisation of calcium without any appreciable change in its activity. The question what factor governs the calcium tolerance of the uterine tissue needs further investigation.

The level of alkaline phosphatase activity rose significantly soon after ovulation and by the time the egg was fully formed in the uterus, there was a significant drop in this activity. The serum of the sexually immature birds was found to have significantly lower phosphatase activity. This leads us to suggest that the sex hormones cause a rise in the serum level of the alkaline phosphatase activity. Peculiarly, the level of serum inorganic phosphorus was found to be significantly higher in the birds before ovulation than in those having egg in the oviduct. When the egg was passing through the oviduct, the high serum phosphatase activity was accompanied by high calcium and magnesium concentrations and the lowest phosphorus concentration. The considerably low magnesium level in immature birds might suggest that either the sex hormones play part in raising the serum magnesium level or the sexual maturation of these birds was suppressed by magnesium deficiency. As all the birds were reared in the same place and on the same feed, the primary magnesium deficiency can be ruled out. It appears only plausible that the difference in magnesium level is due to the sex hormones. This problem requires further investigation.

SUMMARY

Thirty, six-months-old Hungarian Yellow pullets (provided by the Gödöllő Small Animal Research Institute) were divided into five groups according to the physiological state of the oviduct as follows (in parentheses, the number of birds per group).

Group I — Egg in the uterus (7)
Group II — Egg before entering the uterus (5)
Group III — Before ovulation (4)
Group IV — Developing oviduct (5)
Group V — Undeveloped oviduct (9)

The O_2 consumption of the regions of oviduct and the effect of varying Ca^{++} concentration thereupon were observed. Simultaneously serum was analysed for alkaline phosphatase activity, calcium, inorganic phosphorus and magnesium concentrations.

In Group V a high correlation (0.71) was observed between body weight and the weight of the oviduct; the regression equation was: $Y = -2.645 + 3.504\,x$, where Y = weight of the oviduct (g) and x = body weight (kg). As regards the uterus, its oxygen uptake was the highest in Group II ($Q_{O_2} = 3.70$), significantly higher than in Groups IV and V. A high correlation coefficient (0.94) was found in Group III, between the weight of the oviduct and the Q_{O_2} of the uterus (regression equation: $Y = 2.8645 + 0.0061\,x$, where $Y = Q_{O_2}$ of the uterus and x = weight of the oviduct (g). The uterus was found to be highly tolerant to the Ca^{++} concentration. The activity of the infundibulum reached its peak when the egg entered it and was showing a rising tendency of activity before ovulation over that of Group I. The magnum showed the lowest oxygen uptake in Group I and the highest in Group IV. The alkaline phosphatase level was found to be the highest (18.78 B. U.) soon after ovulation and dropped significantly by the time the egg was fully formed in the uterus. The high serum-phosphatase activity was accompained by high calcium and magnesium levels and a low inorganic phosphorus concentration.

Acknowledgements.

The authors express their thankfulness to Mrs. D. SZIKSZAY for her untiring assistance during the period of investigation. Thanks are also due to Mr. F. NÉMETH for his assistance in rearing the pullets and to Mr. B. LACZA, Research Officer, Gödöllő Small Animal Research Station for providing the birds.

REFERENCES

BELL, D. J.: Biochem. J. **75** (1960), 224. JUVANCZ, I.: In BÁLINT, P. and HEGEDÜS, A.: Klinikai Laboratoriumi Diagnosztika, Budapest 1955. MISRA, M. S. and KEMÉNY, A.: Acta Vet. Hung. **14** (1964), XX. TANABE, Y.: Gen. Comp. Endocrin. **2** (1962), 446.

ÜBER DIE PARASITENFAUNA DER FISCHE IN UNGARN

II. BEKANNTE UND NEUE DACTYLOGYRUS-ARTEN AN EINHEIMISCHEN FISCHEN

Von

K. MOLNÁR

Parasitologische Abteilung des Veterinärmedizinischen Forschungsinstituts (Direktor: J. MÉSZÁROS) der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest

(Eingegangen am 20. April 1964)

In der vorigen Arbeit (MOLNÁR und NÉMETH, 1962) referierten wir über die an den Kiemen von Karpfen und Karauschen schmarotzenden *Dactylogyrus*-Arten. Die vorliegende Arbeit enthält eine Beschreibung der an den Kiemen anderer in Ungarn lebender Fische schmarotzenden *Dactylogyrus*-Arten. Die Untersuchungen wurden an Fischen der Donau, Tisza, Körös, Ipoly, des Balaton, Velence-Sees und einiger Teichwirtschaften vorgenommen. Insgesamt untersuchten wir 40 Arten angehörende 1261 Fische, von denen 760 zu den Karpfen-Arten zählten. Aus dem Balaton wurden 500, aus der Donau 300, von anderen Fundorten jeweils 20—100 Fische untersucht.

Unter den Fischen in Ungarn kommen *Dactylogyrus*-Arten am Karpfen und Kaulbarsch vor. In nachfolgender Zusammenstellung ist der Befall der erwähnten Fischarten angegeben. Die Zahl nach dem lateinischen Namen der Fische bezeichnet die Anzahl der untersuchten Fischexemplare und die in Klammern gesetzte Zahl die Anzahl der an den einzelnen Fischarten angetroffenen *Dactylogyrus*-Arten.

Karpfen	*(Cyprinus carpio)*	40	(4)
Flußbarbe	*(Barbus barbus)*	20	(3)
Schlei	*(Tinca tinca)*	20	(—)
Gründling	*(Gobio gobio)*	13	(1)
Brasse	*(Abramis brama)*	122	(5)
Zope	*(Abramis ballerus)*	15	(2)
Zobel	*(Abramis sapa)*	12	(1)
Güster	*(Blicca björkna)*	49	(3)
Zahrte	*(Vimba vimba)*	13	(—)
Bitterling	*(Rhodeus serceus amarus)*	10	(—)
Moderlieschen	*(Leucaspius delineatus)*	20	(—)
Karausche	*(Carassius carassius)*	39	(5)
Ukelei	*(Alburnus alburnus)*	150	(4)
Plötze	*(Rutilus rutilus)*	43	(5)
Döbel	*(Leuciscus cephalus)*	20	(6)
Aland	*(Leuciscus idus)*	7	(2)
Rotfeder	*(Scardinius erythrophthalmus)*	27	(2)
Rotfeder × Plötze — Hybride		3	(1)
Rapfen	*(Aspius aspius)*	15	(1)
Nase	*(Chondrostoma nasus)*	20	(4)
	(Ctenopharyngodon idella)	15	(1)
	(Mylopharyngodon piceus)	3	(—)
	(Hypophthalmichthys molitrix)	70	(—)
	(Hypophthalmichthys nobilis)	3	(1)
Kaulbarsch	*(Acerina cernua)*	100	(2)

Im Verlauf der Untersuchungen hatten wir nicht die Möglichkeit, sämtliche Fischarten an allen Sammelplätzen zu beschaffen, wenn daher gewisse Fundorte (Flüsse, Seen) in der Beschreibung der einzelnen *Dactylogyrus*-Arten nicht vorkommen, so bedeutet dies nicht unbedingt, daß die betreffende *Dactylogyrus*-Art in jenem Gebiet nicht heimisch ist.

Von den Kiemen wurden die Parasiten mit dem Stereomikroskop eingesammelt und ohne vorherige Fixierung in Laktophenol konserviert. Da wir die Ausmaße von Laktophenol-Präparaten unter Deckglas aufgenommen haben, sind wegen der Kompression hauptsächlich in der Körperbreite Differenzen im Vergleich zum lebenden Zustand möglich. Bei den Bestimmungen legten wir jedoch stets die Chitingebilde von konstanter Form und Größe zugrunde.

Es wurden folgende Arten gefunden:

Dactylogyrus alatus Linstow, 1878
Fundort: Balaton, Donau, Ipoly
Wirt: Ukelei *(Alburnus alburnus)*
Befallsintensität: 1—4 Exemplare je Kiemen

Dactylogyrus alatus f. maior Sidorow, 1956
Fundort: Donau
Wirt: Aland *(Leuciscus idus)*. Von dieser Schmarotzerform fanden wir nur ein einziges Exemplar; diese Form haben auch Sidorow (1956) und Agapowa (1960) am Aland angetroffen. Die Form der Chitinorgane zeigt große Ähnlichkeit mit denen des Parasiten von Ukelei, doch sind die Ausmaße verschiden. Die vergleichenden Ausmaße der beiden Formen zeigt nachfolgende Zusammenstellung.

	Ukelei	Aland
Körperlänge	0,520—1,400 mm	2,200 mm
Körperbreite	0,180—0,300 mm	0,340 mm
Länge der Zentralhaken	0,037—0,042 mm	0,044 mm
Länge des Basalabschnitts	0,019—0,022 mm	0,022 mm
Länge des dorsalen Wurzelfortsatzes	0,018—0,024 mm	0,024 mm
Länge des ventralen Wurzelfortsatzes	0,009—0,011 mm	0,012 mm
Spitzenlänge	0,011—0,014 mm	0,013 mm
Dorsale Verbindungsplatte		
Breite	0,027—0,036 mm	0,046 mm
Länge	0,004—0,007 mm	0,009 mm
Ventrale Verbindungsplatte		
Breite	0,024—0,028 mm	0,032 mm
Länge	0,002—0,003 mm	0,003 mm
Länge der Randhaken	0,020—0,025 mm	0,020—0,024 mm
Länge des Kopulationsorgans	0,044—0,050 mm	0,065 mm

D. amphibothrium Wagener, 1857
Fundort: Balaton, Donau
Wirt: Kaulbarsch *(Acerina cernua)*
Befallsintensität: 1—85

D. auriculatus (Nordmann, 1832) Nybelin, 1936
Fundort: Balaton, Tisza, Donau, Körös
Wirt: Brasse *(Abramis brama)*
Befallsintensität: 1—15. In einem einzigen Fall fanden wir diese Art auch an der Zope *(Abramis ballerus)*. Es handelte sich lediglich um ein Exemplar in Begleitung von zahlreichen *D. chranilowi*. Wahrscheinlich ein Gelegenheitsschmarotzer.

D. carpaticus Zachvatkin, 1951
Fundort: Donau, Körös, Ipoly
Wirt: Flußbarbe *(Barbus barbus)*
Befallsintensität: 1—40

D. chondrostomi Malewitzkaja, 1941
Fundort: Donau, Tisza
Wirt: Nase *(Chondrostoma nasus)*
Befallsintensität: 1—15

D. chranilowi Bychowsky, 1933
Fundort: Donau, Tisza, Körös
Wirt: Zope *(Abramis ballerus)*
Befallsintensität: 1—20

D. cornu Linstow, 1878
Fundort: Balaton, Tisza, Donau, Körös
Wirt: Güster *(Blicca björkna)*, Zahrte *(Vimba vimba)*
Befallsintensität: 1—25. In der Donau kommt dieser Parasit an beiden Fischarten sehr häufig vor; in anderen Gebieten untersuchten wir nur den Güster.

D. crucifer Wagener, 1857
Fundort: Balaton, Velence-See, Donau, Körös, Ipoly, Teichwirtschaften
Wirt: Plötze *(Rutilus rutilus)*
Befallsintensität: 1—65. Im Velence-See und Ipoly an Fischen festgestellt, die äußerlich eher der Rotfeder *(Scardinius erythrophthalmus)* glichen, sich aber nach eingehender Untersuchung als Rotfeder-Plötze-Hybride erwiesen.

D. cryptomeres Bychowsky, 1934
Fundort: Balaton, Ipoly
Wirt: Gründling *(Gobio gobio)*
Befallsintensität: 1—8

D. difformis Wagener, 1857
Fundort: Donau, Velence-See, Körös, Teichwirtschaften
Wirt: Rotfeder *(Scardinius erythrophthalmus)*
Befallsintensität: 1—40

D. distinguendus Nybelin, 1937
Fundort: Donau, Körös
Wirt: Güster *(Blicca björkna)*
Befallsintensität: 1—10

D. dyki Ergens & Lucký, 1959
Fundort: Tisza, Körös
Wirt: Flußbarbe *(Barbus barbus)*
Befallsintensität: 1—3. Aus der Donau gelang es bisher nicht, diese Art einzusammeln, obwohl wir mehr Flußbarben aus der Donau als aus der Tisza untersuchten. In der Tisza scheint sie häufig vorzukommen.

D. ergensi Molnár, 1964
Fundort: Donau, Tisza, Ipoly, Körös
Wirt: Nase *(Chondrostoma nasus)*
Befallsintensität: 1—15

D. falcatus (Wedl, 1857)
Fundort: Balaton, Tisza, Ipoly, Körös
Wirt: Brasse *(Abramis brama)*
Befallsintensität: 1—20. Eine charakteristische Art des Balatons, die aber anderswo erheblich seltener vorzufinden ist als die an den anderen Abramis anzutreffenden *Dactylogyrus*-Arten.

D. fallax Wagener, 1857
Fundort: Balaton
Wirt: Plötze *(Rutilus rutilus)*. Trotz Untersuchung zahlreicher Plötze nur einmal an zwei Plötzen im Balaton angetroffen.

D. folkmanovae Ergens, 1956
Fundort: Donau, Tisza, Ipoly
Wirt: Döbel *(Leuciscus cephalus)*
Befallsintensität: 1—3

D. fraternus Wegener, 1909
Fundort: Balaton, Donau, Ipoly
Wirt: Ukelei *(Alburnus alburnus)*
Befallsintensität: 1—10

D. hemiamphibothrium Ergens, 1956
Fundort: Balaton
Wirt: Kaulbarsch *(Acerina cernua)*

D. hemiamphibothrium ist ein für die Brut charakteristischer Parasit, der bei nahezu 50% der Kaulbarsche im Balaton zu beobachten ist. Bei den über 1 Jahr alten Fischen kommt er erheblich seltener vor. Die Befallsintensität

betrug 1—9 Exemplare. Die Untersuchungen an den zahlreichen Kaulbarschnachkommen ergaben, daß diese *Dactylogyrus*-Art von anderen Arten abweichend nicht an den Kiemenplatten schmarotzt, da wir von den Kiemenplatten nur ein einziges Exemplar einzusammeln vermochten, während an der Innenfläche des Kiemendeckels haftend sehr häufig sowohl vollentwickelte, eihaltige als auch in Entwicklung begriffene Formen des Parasiten angetroffen wurden. Als gleichfalls häufige Ansiedlungsstellen erwiesen sich die Kiemenbögen und Rachengegend. Außerdem fanden wir sie in einem Fall auch an den Brustflossen. Auf diese Lokalisation hat bereits ERGENS (1959) hingewiesen.

D. lamellatus Achmerow, 1952
Fundort: Teichwirtschaften
Wirt: *Ctenopharyngodon idella*
Befallsintensität: 1—30. Aus China stammende Fischart; es wurde nur die Brut eines Sommers untersucht, an den untersuchten Fischen war die Extensität 100%ig.

D. malleus Linstow, 1877
Fundort: Donau
Wirt: Flußbarbe *(Barbus barbus)*
Befallsintensität: 1—10. In der Donau häufig anzutreffen.

D. minor Wagener, 1857
Fundort: Donau, Balaton, Velence-See, Ipoly
Wirt: Ukelei *(Alburnus alburnus)*
Befallsintensität: 1—8. Ein sehr oft beobachteter Parasit.

D. nanus Dogiel & Bychowsky, 1934
Fundort: Donau, Balaton
Wirt: Plötze *(Rutilus rutilus)*, Brasse *(Abramis brama)*
Befallsintensität: an Plötzen 1—7, an Brassen 1—4. An Brassen erheblich seltener als an Plötzen zu beobachten. Die Form des Kopulationsorgans weicht an den von den beiden Arten entnommenen Exemplaren ebenfalls ab. Der Parasit wurde stets nur an jüngeren Fischen vorgefunden.

D. naviculoides Ergens, 1956
Fundort: Donau
Wirt: Döbel *(Leuciscus cephalus)*. Es wurde lediglich ein Exemplar gefunden.

D. nobilis sp. n.
Fundort: Teichwirtschaften
Wirt: *Hypophthalmichthys nobilis*
Befallsintensität: 1—10

Von den nach Ungarn eingeführten chinesischen sog. grasfressenden Fischen konnten wir 3 *Hypophthalmichthys nobilis* untersuchen. An den aus verschiedenen Teichwirtschaften stammenden 3 Fischen fanden wir übereinstimmend *Dactylogyrus*-Exemplare, die einer bisher noch nicht beschriebenen Art angehörten.

Auf Grund der Ausmaße von 15 vollentwickelten Parasiten geben wir nachfolgend die Beschreibung der Art:

Körperlänge 0,500—0,800 mm (durchschnittlich 0,593 mm). Körperbreite 0,140—0,280 mm (0,201 mm). Die beiden an der Haftscheibe befindlichen zentralen Haken sind von typischer Form, beide Wurzelfortsätze sind

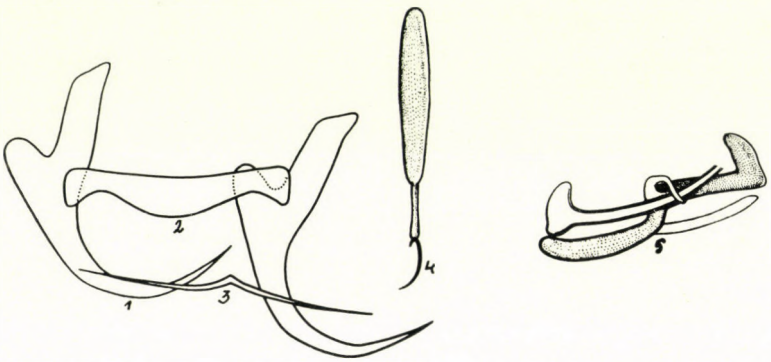


Abb. 1. Dactylogyrus nobilis sp. n. 1, Zentralhaken; 2, dorsale Verbindungsplatte; 3, ventrale Verbindungsplatte; 4, Randhaken; 5, Kopulationsorgan

gut entwickelt, die Spitze ist ziemlich offen. Länge der Haken: 0,039—0,045 mm (0,042 mm). Der Basalabschnitt ist 0,029—0,034 mm (0,032 mm) lang. Der dorsale Wurzelfortsatz hat eine Länge von 0,015—0,016 mm und ein etwas konkaves Ende. Der ventrale Wurzelfortsatz ist 0,006 mm lang und hat ein abgerundetes Ende. Die Spitze der Haken ist 0,012—0,015 mm (0,013 mm) lang.

Beide Verbindungsplatten sind deutlich sichtbar und gut entwickelt, die dorsale Verbindungsplatte ist länglich und verbreitert sich an den beiden Enden und in der Mitte; ihre Ausmaße: an den Enden und in der Mitte 0,007—0,008 mm, an den Zwischenteilen 0,004—0,005 mm lang und 0,032—0,044 mm (0,039 mm) breit. Die ventrale Verbindungsplatte ist sehr dünn, länglich, hat eine Länge von 0,001 mm und Breite von 0,040—0,048 mm (0,044 mm).

Es sind 14 Randhaken vorhanden, und zwar einheitliche und sehr große, deren Länge zwischen 0,036 und 0,046 mm wechselt. Der gut entwickelte und breite Stielabschnitt hat eine Länge von 0,022—0,029 mm. Die Krallen sind groß, offen und 0,005—0,007 mm lang.

Das Kopulationsorgan besteht aus einem Ejakulationsrohr und dem Stützabschnitt. Der Stützabschnitt setzt sich aus drei gut ausgeprägten Fortsätzen zusammen, außerdem verbindet ein kleiner krallenartiger Fortsatz

das Ejakulationsrohr mit dem Stützabschnitt. Die Länge des Kopulationsorgans ist je nach der Lage des Ejakulationsrohres verschieden: 0,037—0,046 mm (0,040 mm).

Die Vaginalöffnung hat kein Chitinskelett.

Für die Validität der Art zeugt neben obiger Beschreibung noch die Tatsache, daß von dieser Fischart bisher in der Fachliteratur keinerlei *Dactylogyrus*-Art beschrieben wurde und diese *Dactylogyrus*-Art unter den in Ungarn eingeführten 4 chinesischen Fischarten nur an *Hypophthalmichthys nobilis* vorkam.

Die unserseits gefundene *Dactylogyrus*-Art unterscheidet sich von sämtlichen fernöstlichen *Dactylogyrus*-Arten in der Form und Größe des Kopulationsorgans sowie der Haken.

D. parvus Wegener, 1909
Fundort: Balaton, Donau, Tisza, Ipoly, Körös
Wirt: Ukelei *(Alburnus alburnus)*
Befallsintensität: 1—7

An Ukeleien ziemlich häufig vorzufinden. Ein einziges Mal fanden wir die Art am Kiemen einer Rotfeder *(Scardinius erythrophthalmus)* im Flusse Körös. Am erwähnten Fisch fanden wir lediglich einen einzigen *D. parvus* in Begleitung von zahlreichen *D. difformis*. Wahrscheinlich handelt es sich um einen Zufallsparasiten.

D. propinquus Bychowsky, 1931
Fundort: Donau, Tisza
Wirt: Zobel *(Abramis sapa)*
Befallsintensität: 1—5

*D. prostae sp. n.**
Fundort: Donau, Tisza
Wirt: Döbel *(Leuciscus cephalus)*
Befallsintensität: 1—3

Sämtliche aus der Donau bei Paks untersuchte 10 Döbel *(Leuciscus cephalus)* waren von *Dactylogyrus*-Arten befallen. An den Kiemen von 3 Exemplaren fanden wir nur zahlreiche *D. tuba*-Exemplare, zugleich aber an sämtlichen anderen 7 Exemplaren *D. folkmanovae* in Begleitung von je einem *D. vistulae* und *D. naviculoides*. An 4 derselben 7 Fische kam auch eine bisher unbekannte *Dactylogyrus sp.* vor, die am ehesten *D. folkmanovae* glich, sich aber in der Größe der Haken und Form des Kopulationsorgans wesentlich von dieser Art unterschied. Später gewannen wir ein einziges Exemplar auch aus dem Flusse Tisza.

Auf Grund der insgesamt 7 vollentwickelten konservierten Exemplare können wir folgende Beschreibung geben:

* Ein zu Ehren der polnischen Forscherin M. Prost kreierter Name.

Mittelgroße *Dactylogyrus*-Art. Körperlänge 0,480—0,800 mm, Körperbreite 0,080—0,240 mm. Die Zentralhaken weisen die typische Form auf, der Krallenabschnitt ist leicht zurückgebogen, im Krallenbogen sieht man deutlich zwei Knickungen. Die Haken haben eine Länge von 0,045—0,051 mm, wovon 0,034—0,040 mm auf den Basalabschnitt entfallen. Das Ende des dorsalen Wurzelfortsatzes ist abgestutzt und hat eine Länge von 0,16—0,018 mm. Der ventrale Wurzelfortsatz ist am Ende abgerundet und 0,004—0,005 mm lang, die Spitze 0,013—0,016 mm lang.

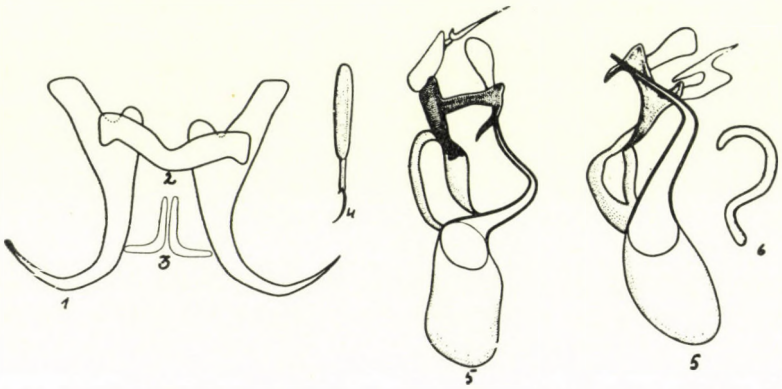


Abb. 2. Dactylogyrus prostae sp. n. 1, Zentralhaken; 2, dorsale Verbindungsplatte; 3, ventrale Verbindungsplatte; 4, Randhaken; 5, Kopulationsorgan (von zwei Richtungen gesehen); 6, vaginale Bewaffnung

Die dorsale Verbindungsplatte ist länglich und wird an den beiden Enden etwas breiter. Sie ist 0,033—0,040 mm breit und 0,006 mm lang. Die schwer wahrnehmbare ventrale Verbindungsplatte zeigt umgekehrte T-Form; sie ist 0,020—0,024 mm breit und 0,012 mm lang.

Die Größe des Randhakens variiert zwischen 0,026 und 0,033 mm, wovon 0,014—0,018 mm auf den Stielabschnitt entfallen. Die offene Kralle ist 0,005—0,006 mm lang.

Das Kopulationsorgan besteht aus einer gut entwickelten Basis, dem davon ausgehenden, schwach gebogenen Ejakulationsrohr und dem komplizierten Stützabschnitt. Die Größe des Kopulationsorgans beträgt 0,029—0,033 mm.

Das vaginale Chitingebilde ist eine mehr oder minder gebogene, 0,008—0,012 mm lange Röhre. Die unserseits hier beschriebene *Dactylogyrus sp.* unterscheidet sich von der ihr am ähnlichsten Art *D. folkmanovae* in der Körpergröße, in der Größe der Haken und des Kopulationsorgans sowie in der Form des letzteren. Die vergleichenden Ausmaße der beiden Parasiten sind nachfolgend zusammengestellt:

	D. prostae mm	*D. folkmanovae*	
		eigene Befunde mm	ERGENS mm
Körperlänge	0,480—0,800	0,280—0,640	0,230—0,500
Körperbreite	0,080—0,240	0,048—0,160	0,047—0,125
Länge der Zentralhaken	0,045—0,051	0,029—0,036	0,027—0,036
Länge des Basalabschnitts	0,034—0,040	0,025—0,032	0,024—0,032
Länge des dorsalen Wurzelfortsatzes	0,016—0,018	0,011—0,014	0,008—0,014
Länge des ventralen Wurzelfortsatzes	0,004—0,005	0,004—0,005	0,003—0,004
Spitzenlänge	0,013—0,016	0,005	0,009—0,016
Länge der dorsalen Verbindungsplatte	0,006	0,004	0,001—0,004
Breite der dorsalen Verbindungsplatte	0,033—0,040	0,025—0,032	0,017—0,025
Länge der ventralen Verbindungsplatte	0,012	0,009—0,012	0,006—0,011
Breite der ventralen Verbindungsplatte	0,020—0,024	0,020—0,026	0,014—0,019
Länge der Randhaken	0,026—0,033	0,025—0,028	0,027—0,036
Länge des Kopulationsorgans	0,029—0,033	0,025—0,033	0,019—0,027
Länge des vaginalen Chitins	0,008—0,012	0,009—0,012	0,012—0,020

D. sphyrna Linstow, 1878
Fundort: Donau, Balaton, Velence-See, Körös
Wirte: Güster *(Blicca björkna)*, Zahrte *(Vimba vimba)*, Plötze *(Rutilus rutilis)*, Nase *(Chondrostoma nasus)*. Kommt am Güster und an der Zahrte häufig in 1—8 Exemplaren vor, während an der Plötze und Nase nur Einzelexemplare anzutreffen sind.

D. suecicus Nybelin, 1937
Fundort: Körös
Wirt: Plötze *(Rutilus rutilus)*
Befallsintensität: 1—2

D. tuba Linstow, 1878
Fundort: Balaton, Donau
Wirte: Rapfen *(Aspius aspius)*, Döbel *(Leuciscus cephalus)*, Aland *(Leuciscus idus)*. An sämtlichen drei Fischarten gleicherweise häufig und in großer Zahl zu beobachten.
Befallsintensität: 1—30

D. vistulae Prost, 1957
Fundort: Donau, Ipoly
Wirte: Nase *(Chondrostoma nasus)*, Döbel *(Leuciscus cephalus)*. Kommt an Nasen häufig (1—7 Exemplare), an Döbeln gelegentlich vor (1—1 Exemplar).

D. wranowiensis Ergens, 1956
Fundort: Tisza, Ipoly
Wirt: Döbel *(Leuciscus cephalus)*
Befallsintensität: 1—1. Die Art vermochten wir von dem aus der Donau stammenden Material nicht einzusammeln.

D. wunderi Bychowsky, 1931
Fundort: Balaton, Velence-See, Donau, Tisza, Körös
Wirt: Brasse *(Abramis brama)*
Befallsintensität: 1—30

D. zandti Bychowsky, 1933
Fundort: Balaton, Velence-See, Donau, Tisza
Wirt: Brasse *(Abramis brama)*
Befallsintensität: 1—30

Besprechung

Bei den Untersuchungen haben wir die Spezifität von *Dactylogyrus* stets berücksichtigt. Mit dieser haben sich bereits mehrere Forscher befaßt, hauptsächlich NYBELIN (1937) und BYCHOWSKY (1957).

NYBELIN unterscheidet sog. mono-, di-, tri- und polykapälische *Dactylogyrus*-Arten, je nachdem ob der betreffende Parasit an einem oder mehreren Wirten vorkommt.

BYCHOWSKY betont, die polykapälischen Arten hätten Primär- oder Hauptwirte, an denen sie am ehesten zu schmarotzen pflegen.

Der Vergleich unserer Untersuchungsergebnisse mit den Angaben der Fachliteratur führte zu der Schlußfolgerung, daß innerhalb der von NYBELIN eingeführten Begriffe die von BYCHOWSKY benutzte Unterscheidung des Primär- oder Hauptwirtes nicht immer ausreicht, vielmehr in gewissen Fällen zwischen definitiven Wirten und Zufallswirten differenziert werden muß, d. h. einzelne Fischarten für gewisse Parasiten nur als Zufallswirte angesehen werden können. Von einem derartigen Gelegenheitsschmarotzertum würden wir sprechen, wenn eine *Dactylogyrus*-Art am betreffenden Fisch nur sehr selten und nur in Einzelexemplaren angetroffen werden kann, obschon die Befallsmöglichkeit permanent vorhanden ist (z. B. gleicher Lebensraum). In diesen Fällen bleibt der Schmarotzer unter Wirkung gewisser Faktoren nur fallweise haften und vermehrt sich wahrscheinlich auch nicht an dem als Zufallswirt dienenden Fisch.

In diesem Sinne ist die Karausche als Zufallswirt für *Dactylogyrus extensus* (MOLNÁR und NÉMETH, 1962), die Zope für *Dactylogyrus auriculatus* oder die Rotfeder für *Dactylogyrus parvus* zu betrachten.

Der Zufallswirt unterscheidet sich von dem seitens BYCHOWSKY eingeführten Begriff des Primär- oder Hauptwirtes, der nur hervorhebt, an welchem der Wirte die betreffende *Dactylogyrus*-Art am häufigsten vorkommt, in welchem Fall aber die Exemplare des betreffenden Parasiten, wenn auch nicht so häufig, aber doch regelmäßig auch an anderen Fischen zutage treten. Demgegenüber bedeutet der Begriff Gelegenheitswirt, daß ein gewisser Schmarotzer nicht zur regelmäßigen Parasitenfauna des betreffenden Fisches zählt, sondern sich aus irgendeinem Grunde zufällig angesiedelt hat.

Der Gebrauch des Begriffes Gelegenheitswirt wäre deshalb nützlich, weil hauptsächlich in zusammenfassenden Arbeiten, die sich oft aus der Synthese der verschiedenen faunistischen Arbeiten eines Landes ergeben (z. B. MARKEVITSCH, 1951; ROMAN, 1960; BYCHOWSKY und Mitarbeiter, 1962), allmählich kaum mehr wirtsspezifische *Dactylogyrus*-Arten anzutreffen sind, obschon die Spezifität für die Mehrzahl der *Dactylogyrus*-Arten kennzeichnend ist. Die Tatsache, daß die Zahl der polykapälischen Arten zunimmt, muß unserer Ansicht nach darauf zurückgeführt werden, daß die betreffenden Autoren im Verlauf ihrer synthetisierenden Arbeit keinen Unterschied zwischen Wirten und Gelegenheitswirten gemacht haben und in der Mehrzahl der Fälle auch solche Zufallswirte als definitive Wirte angeführt werden, deren natürliche Parasitenfauna für die betreffende *Dactylogyrus*-Art nicht charakteristisch ist.

Wenn wir den Gelegenheitswirt nicht vom Wirt differenzieren, so wäre z. B. für *Dactylogyrus cornu* auch die Brasse als Wirt zu bezeichnen, obwohl wir in Übereinstimmung mit NYBELIN im Verlauf unserer Untersuchungen Exemplare von *Dactylogyrus cornu* in keinem einzigen Fall an Brassen feststellen konnten, zugleich aber diese Art an den aus demselben Netz stammenden Güstern mit 100%iger Extensität vorkam. Demgegenüber fanden wir den erwähnten Parasiten gleichfalls häufig an Zahrten. Diese Tatsache läßt den Schluß zu, daß für *Dactylogyrus cornu* als dikapälischen Schmarotzer die Zahrten und Güster als gleicherweise entsprechende Wirte anzusehen sind, dagegen die Brasse nur als Gelegenheitswirt in Frage kommt, ungeachtet dessen, daß die Brasse schon von mehreren Autoren als Wirt von *Dactylogyrus cornu* angegeben wurde.

Zusammenfassend können wir die in Ungarn heimischen *Dactylogyrus*-Arten in folgende Gruppen einreihen:

1. Hauptsächlich die größeren *Dactylogyrus*-Arten, z. B. *D. sphyrna*, *D. vistulae*, aber auch andere, z. B. *D. tuba*, verfügen über einen breiteren Wirtekreis, d. h. sie rechnen zur NYBELINschen polykapälischen Gruppe. In diesen Fällen kann eine Fischart den »Hauptwirt« des betreffenden Parasiten darstellen.

2. Es gibt Arten, und zwar die Mehrzahl, deren Spezifität sich als ziemlich eng erweist, die immer am selben Fisch anzutreffen sind und an anderen nahe verwandten Fischarten als Gelegenheitswirten nur periodisch in Ein-

zelexemplaren vorkommen, z. B. die *forma maior* von *D. alatus* (Ukelei) am Aland, *D. parvus* (Ukelei) gelegentlich an der Rotfeder oder *D. auriculatus* (Brasse) an der Zope.

3. Endlich gibt es *Dactylogyrus*-Arten, die als ständige, gemeinsame und häufige Parasiten von zwei einander in der Art sehr nahestehenden Fischen anzusehen sind, wie *D. vastator* und *D. anchoratus* am Karpfen und an der Karausche.

Als disponierende Faktoren, die bei der zufälligen Wirtswahl wahrscheinlich eine Rolle spielen, erwähnen wir das Fehlen der ursprünglichen Parasitenfauna und die unerkannten Hybridformen.

Der Döbel *(Leuciscus cephalus)* wird in der Fachliteratur (ROMAN, 1960; MARKEVITSCH, 1951) als ein Fisch genannt, an dem die für andere Fischarten bezeichnenden Parasiten häufig anzutreffen sind, und erst in den letzten Jahren hat ERGENS (1956) darauf hingewiesen, daß eine ganze Reihe von spezifischen Parasiten an dieser Fischart schmarotzt. Im Verlauf unserer Untersuchungen fanden wir in der Mehrzahl der Fälle die von ERGENS beschriebenen Arten am Döbel, außer diesen kamen aber noch Arten vor, von denen angenommen wird, daß sie über einen breiten Wirtekreis verfügen *(D. vistulae, D. tuba)*. Daraus scheint hervorzugehen, daß in Fällen, in denen die spezifischen Schmarotzer fehlen, die Möglichkeit des Anhaftens von gelegentlichen Parasiten zunimmt.

Als besonders wichtig erachten wir die genaue Diagnose der Fischart und insbesondere die der Hybridformen der Fische, weil die Hybriden häufig Anlaß zu Mißverständnissen geben. Auf die Eigenheiten der an Hybridfischen lebenden *Dactylogyrus*-Arten hat schon NYBELIN (1937) hingewiesen. Bei den eigenen Untersuchungen fanden wir dreimal eine Scardinius × Rutilus-Hybride, deren Aussehen eher an die Rotfeder erinnerte, während es sich bei den Parasiten um Exemplare des für Plötze charakteristischen *D. crucifer* handelte. Diese *Dactylogyrus*-Art haben wir an der deutlichen Artcharakter zeigenden Rotfeder niemals gefunden. Diese Tatsache lenkt die Aufmerksamkeit darauf, daß es sich lohnen dürfte zu untersuchen, ob es sich in gewissen Fällen des gelegentlichen Schmarotzertums nicht um unerkannte Hybriden handelt.

Als eine spezielle Form des Gelegenheitswirtes ist *D. alatus f. maior* zu betrachten, weil das Vorkommen an verschiedenen Wirten mit wesentlichen Größendifferenzen einhergeht. In diesem Fall scheint es zweifelhaft, ob der häufige Parasit der Ukelei am Aland als Gelegenheitsparasit oder aber als eine an den Aland adaptierte Form anzusehen ist.

Auf Grund unserer Untersuchungsergebnisse muß offenbar die Feststellung BYCHOWSKYS modifiziert werden, daß für die polykapälische Art *D. sphyrna* die Brasse einen Primärwirt darstellt, weil *D. sphyrna* ebenso häufig und in bedeutender Zahl am Güster schmarotzt, während diese Art an

der Brasse neben zahlreichen *Dactylogyrus*-Arten nicht angetroffen werden konnte und sich das gemeinsame Vorkommen von *D. cornu* und *D. sphyrna* zur Diagnostizierung der Fischart *Blicca björkna* als geeignet erwies. All dies schließt aber nicht aus, daß die an mehreren Wirten vorkommende Art *D. sphyrna* auch an der Brasse in Erscheinung tritt.

ZUSAMMENFASSUNG

In Ungarn vorkommende 35 *Dactylogyrus*-Arten werden ausführlich beschrieben.

Bei *Dactylogyrus prostae* und *Dactylogyrus nobilis* handelt es sich um bisher nicht beschriebene neue Arten.

Es wird zur Frage der Spezifität der *Dactylogyrus*-Arten Stellung genommen und vorgeschlagen, im Falle des gelegentlichen Vorkommens eines Parasiten, das für eine gewisse Fischart nicht charakteristisch ist, nicht die Bezeichnung Wirt, sondern die Benennung Gelegenheitswirt zu benutzen.

In der Arbeit werden auch die an Hybridfischen vorkommenden Parasiten erwähnt.

Fernerhin wird auf die anomale Lokalisation von *Dactylogyrus hemiamphibothrium* hingewiesen.

LITERATUR

Ахмеров, А. Х.: Паразитол. сборник Зоол. института АН СССР **14** (1912), 181—212. Быховский, Б. Е.: Моногенетические сосальщики, их система и филогения. Москва—Ленинград, 1957. Быховский, Б. Е. u. Mitarb.: Определитель паразитов пресноводных рыб СССР. Москва—Ленинград, 1962. Ergens, R.: Acta Acad. Sci. Czechosl. basis Brno **28** (1956), 364—376. Idem: Československá parasitologie **VI** (1959), 87—92. Ergens, R. und Lucký, Z.: Věstn. Českoslov. Zool. Spol. **23** (1959), 351—353. Гусев, А. В.: Тр. Зоол. института АН СССР **14** (1955), 171—398. Марцевич, А. П.: Паразитофауна пресноводных рыб УССР. Киев, 1951. Molnár, K.: Acta Vet. hung. **14** (1964), 247—252. Molnár, K. und Németh, I.: Acta Vet. hung. **12** (1962), 249—255. Nybelin, O.: Ark. för Zool. **29** (1937), 1—29. Prost, M.: Acta Parasitol. Polon. **5** (1957), 299—395. Roman, E.: Clasa Monogenoidea. Fauna R. P. Romine, Plathelminthes **2** (1960), 1—149.

RESPIRATORY DISEASE CAUSED IN SUCKLING CALVES BY A PLV VIRUS

By

J. Romváry

Veterinary Medical Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest
(Director: J. Mészáros)

(Received April 22, 1964)

Introduction

Viruses belonging to the psittacosis-lymphogranuloma venereum (PLV) or Miyagawanella group have been isolated namely from sucking and adolescent calves in the USA, Japan, Australia, Africa and in several states of Europe.

These virus strains have been demonstrated mostly in affected organs of cattle suffering from various diseases, but not infrequently they could be isolated from apparently healthy animals too, in particular from their intestinal tract (York and Baker, 1951; Matumoto et al. 1955; Palotay and Christensen, 1959; French and Swadon, 1959; Wilson, 1962 and others). The various PLV strains may be responsible for several diseases. As reported in the literature, they may be causative agents of acute or semi-acute bronchopneumonia, or have secondary role in various pneumonias and their complications. Furthermore, PLV viruses may be involved in the etiology of "polio", *i.e.* sporadic encephalomyelitis among calves (Menges, Harsfield and Wenner, 1953; Wenner et al. 1953; Omori et al. 1954; Tustin et al., 1961, and others) and late abortion (Schoop and Kauker, 1956; Giroud, 1957; Boulanger and Bannister, 1959; Storz et al., 1960) and gastro-intestinal disorders among cows (Kawakami et al., 1955; Moll and Finlayson, 1957; Ozawa, 1957; Palotay and Newhall, 1955). With PLV viruses isolated from cattle suffering from the above diseases, the condition could be reproduced in experimental animals; by administering PLV-virus to the teat canal, even inflammation of the udder could be elicited (Boulanger and Bannister, 1959; Omori et al., 1960).

In the present paper our observations on respiratory disease caused in calves by a PLV virus are reported.

Formerly, respiratory diseases caused by infection with PLV viruses have been observed in man and among domestic mammals such as sheep, goat and cat, and, also in certain rodents used as experimental animals. In cattle, respiratory PLV-infection was first reported in Japan, where the outbreak of an acute benign respiratory disease, infrequently fatal in outcome, was observed in the western areas of the country in the years 1948—50. The virus strains isolated from the sick animals in mice and chick embryos were identified as PLV-viruses (Ishii et al. 1951; Kiuchi and Inaba, 1952). Later on, other Japanese authors (Matsumoto et al., 1955; Omori et al., 1960) and American (Palotay and Newhall, 1958; Palotay and Christensen, 1959), French (Giroud, 1959), Czechoslovakian (Boháč, 1960; Plóny et al., 1960; Balaščak et al., 1960) and Rumanian authors (Sarateanu et al., 1961; Sarateanu and Surdan, 1962; Draghici, 1962) succeeded in isolating PLV viruses from acute or semi-acute catarrhal lesions of the lungs. We learnt from personal communication that in certain areas of Japan, Slovakia and Rumania the disease may be endemic in calves. According to the French nomenclature, the virus strains isolated in the above countries have been mostly called neorickettsiae.

Experimental

In Hungary, during the recent years PLV-virus infection of the lower respiratory tract of calves has been observed in several herds. The epidemiological, clinical and pathological pictures of the disease are not characteristic

enough for its differentiation from similar conditions caused by other agents or etiological factors. Therefore, only successful virus isolation and comparative bacteriological and virological study of the respiratory tract may serve evidence for the primary or secondary role of PLV-virus infection.

As observed by us on animals from which no agent but PLV virus could be isolated, the incidence of the disease is not subject to seasonal fluctuation, although it has occurred most frequently in wet and cool spring or autumn weather. Naturally, in these periods the affection of the respiratory tract is more severe from both clinical and epidemiological respects, and, consequently, also the symptoms of the disease are more conspicuous. Into raising herds the virus may be introduced by sick or convalescent calves, adolescent or adult cattle or apparently healthy carriers. The latter may be symptom-free over a long period, and latent infection becomes manifest only upon a breakdown of resistance or in consequence of exposure to various, hitherto yet incompletely known stress factors. However, latent infection may persist in well-managed suckling calves without coming to clinical manifestation. In such animals infection with PLV virus was demonstrable by the presence of specific antibodies in blood samples taken at random. If such symptomless carriers contract infection with another virus, in particular with one damaging the respiratory epithelium, the PLV virus when implanted in the respiratory tract may also have a role in eliciting pathological lesions.

In herds the incidence of the disease is usually sporadic, spreading slowly mostly among calves in poor condition of health. One to three weeks after the occurrence of the first sporadic cases, further infections were observed. In young calves, after a latency period of 5—9 days, the onset of the disease is indicated by rise of temperature to a varying degree so that it is often overlooked. The other symptoms, such as nasal discharge, lacrimation, cough, symptoms of bronchopneumonia and occasional diarrhea are essentially similar to those of other viral infections known in cattle in Hungary. In dependence of the time passed between infection and death or emergency slaughter, the catarrhal lung lesions may be of acute, semi-acute, or chronic-purulent nature. Frequently the acute bronchopneumonia is linked with chronic lesions of the lung tissue elicited by an earlier pneumonia. In initially intact lungs acute catarrhal lesions develop mainly in the apical and cardial lobe or around the bifurcation but sporadic lesions may occur also in other parts of the lung. The pathological picture is characterized by lymphoid cell infiltration around bronchi, bronchioli and pulmonary vessels. In uncomplicated cases the condition is of benign nature even in very young animals, whereas in the cold, wet seasons considerable losses may occur among calves kept in overcrowded sheds with unfavourable microclimate.

In one of the herds where, in consequence of a severe recurrent virus diarrhoea epizootic, 90 per cent of suckling calves died of the disease within

10—12 weeks, from the acute or semi-acute lung lesions of the cadavers a PLV virus strain (strain K) was isolated. In infection experiments this strain proved markedly pathogenic to experimental animals. Thus two viral agents were involved in the above epidemic, and the PLV strain had a role in the development of pulmonary lesions.

Serological tests. Following the isolation of the first PLV strain in calf herds with suspected respiratory involvement the estimation of the degree of infection was attempted by serological screening tests. In the complement fixation test the thermostable PLV group antigen prepared from ornithosis virus was used. In herds, where successful isolations of PLV-virus were made, paired sera taken immediately after the onset of the disease and 3—6 weeks later, respectively, were tested for specific antibodies. It was found that the serum antibody level increased markedly and by the end of the outbreak demonstrable amounts of specific serum antibodies were present even in several apparently healthy animals. In infected herds the serological screening revealed PVL-virus infection in 50—70 per cent of the animals. In calf herds, where no PLV-infection had occurred for several months, very low (1 : 4—1 : 8) or no antibody titres whatever were demonstrable by serological tests. Specific antibodies were demonstrated in 1 or 2 of animals in dairy herds associated with the infected calf stock. The complement-fixing titres of the individual sera varied from 1 : 16 to 1 : 256.

Virus isolation. From the lung homogenizates or bronchial secretion of died or emergency-slaughtered calves the virus could be isolated in the yolk sac of 6—7 days old embryonated hen eggs. In the 3rd to 4th yolk sac passage the chick embryos died regularly between the 4th and 8th day after infection. It is recommended that direct transfers of virus material from calves be made to guinea pigs and young mice, by the intraperitoneal and nasal route, respectively. A part of the guinea pigs became hyperthermic, but all of them survived. They were killed 6 to 8 days after infection and at necropsy they exhibited moderate swelling of the spleen, mild fibrinous peritonitis and acute catarrhal pneumonia to a varying extent. Out of the mice only a few died of acute bronchopneumonia within 6—7 days after infection. The survivors were killed on the 7th day and at their necropsy pulmonary lesions similar to those occurring in the died ones were found. In impression smears prepared of the villi of infected yolk sacs and from the surface or cross-section of parenchymatous organs, the elementary bodies were recognizable after staining with Castaneda's or Machiavello's stain. The isolated virus multiplied readily on the chorioallantoic membrane of 9—11 days old chick embryos, especially in the 4th or 5th passage, giving rise to severe gelatinous-oedematous infiltration of the membrane. In every instance, the chorioallantoic membranes of embryos, died in due course after infection, were tested for sterility on PPLO-agar. Occasionally prior to culturing on the agar, transfers were made from the

yolk sac to liquid PPLO enrichment medium, in order to get preliminary information on the presence or absence of PPLO infection.

The 10th or 31st passage of the virus strains maintained in the above way proved suitable for the preparation of antigen, provided the virus-containing yolk sacs had been previously stored at +2— +4°C and transfers were made at 1 to 4 weeks' intervals.

Out of the virus strains isolated by us, 3 could be propagated in the yolk sac in an amount sufficient for antigen preparation.

Experimental infection. Upon artificial infection with PLV-virus strains isolated from the respiratory tract of calves, suckling calves contracted the disease in a mild form. Two calves (K and P) given intratracheally 8th resp. 10th passage yolk sacs, exhibited on the 8th and 10th day temperature up to 40.7°, resp. 40.9°C along with muscular tremor, loss of appetite and accelerated respiration. During the febrile course and also afterwards they occasionally discharged pasty stool; one of them had even diarrhoea for 2 days. A third calf, designated J became febrile (40.6°C) on the 7th day and had diarrhoea for 3 days after inoculation with the supernatant of a homogenate prepared of catarrhal lung from an emergency-slaughtered calf, although the homogenate proved sterile on previous testing. Calves K and P were killed on the 17th day after infection and at their necropsy mild enteritis, in the apical and cardial lobe acute catarrhal foci of nut size, and in the peribronchial glands serous edema, were found. In the lung of calf J killed on the 30th day after infection, acute and semi-acute catarrhal foci were found in smaller areas of the lung.

The virus strain K, which in guinea pigs and mice proved more pathogenic than the other strains, was administered intravenously and intratracheally to an approx. 6 weeks old calf. This animal exhibited temperature rise to 40.5°C on the 2nd, and to 41.0°C on the 3rd day after infection, breathed heavily throughout the febrile course, exhibiting a pulse rate of 80—90 and ample serous nasal discharge. The animal was killed in emergency on the 6th day after infection. At necropsy acute bronchopneumonia was found, with large consolidations scattered over the lung.

Since one of the PLV-virus strains (strain I) was isolated from emergency-slaughtered calves kept in a shed not far from a sheep flock where viral abortion of first-pregnant ewes (Stamp virus) and viral bronchopneumonia of lambs had occurred, we assumed that certain relationship might exist between the viral infections in calves and sheep. In order to elucidate this problem, we infected intratracheally 2—4—6 weeks old suckling lambs with virus strain K, which in infection experiments had proved pathogenic for calves. On the 2nd day after infection the lambs exhibited temperature up to 41°C and during the febrile course, which lasted for 2 days, they exhibited extraordinary dyspnoe. The two lambs were killed on the 6th and 8th day, respectively,

and at necropsy viral bronchopneumonia was found. From the lungs of the artificially infected calves and lambs the PLV virus could be recovered.

Control. Since *in vitro* the PLV viruses are damaged by certain broad-spectrum antibiotics, in PLV infections treatment with antibiotics is recommended from the beginning of the febrile course for 3 days, in order to prevent or milder the possible complications. As to the control of PLV infection, it is essential to prevent the introduction of virus into clean herds; in infected herds a continuous improvement of hygienic conditions be provided for, with special respect to improving the resistance of the young animals.

In several countries, where respiratory PLV infection is common among cattle, attempts have been made to inhibit the spreading of the disease by vaccination with live or formalin-killed ornithosis vaccine. However, the evaluation of the results of such vaccinations has been relatively difficult.

Discussion

In young calves, PLV virus may be the causative agent of bronchopneumonia or secondary factor in complications of respiratory disorders caused by non-specific factors or bacterial or viral agents. It ought to be emphasized, however, that besides other (non-specific, bacterial or parasitic) factors also viral agents other than PLV may have an important role in eliciting bronchopneumonia in calf herds.

Among PLV-virus strains isolated from calves also extraordinaly pathogenic strains were found, which elicited severe symptoms in calves upon artificial infection. According to literary data, such strains may be responsible for several diseases in calves. Among others the strain "Shizuoka", isolated in Japan in 1954 (Omori et al.) exhibited such properties; although it was isolated from a sporadic case of encephalomyelitis, it caused regularly bronchopneumonia in experimentally infected calves. It was demonstrated experimentally that this strain was pathogenic for other animal species too.

However, latent infections with PLV virus are very common. A condition for the activation of latent infection in symptomless carriers is the breakdown of resistance in young animals. The simultaneous presence of another viral infection, in this case viral diarrhoea, may be attributed to the same reason. Thus PLV viruses may have a role in the complications of calf diseases other than bronchopneumonia, in particular when associated to other virus infections.

One of the isolated virus strains exhibited excellent antigenic properties, and this and further two strains propagated readily in the yolk sac of the chick embryo, and all 3 strains proved to be suitable for the preparation of complement-fixing antigen even after a large number of consecutive passages

in the yolk sac. As to storage, strains may be kept at +2—+4°C provided they are passaged every 3rd to 4th week, but storage at —79°C is most recommended.

The pneumotropism of the strains is conspicuous. In recent reports PLV strains have been claimed to have polyorganotropic properties, but simultaneously their pneumotropism and tropism to the placenta has been emphasized, which is also supported by the results of PARKER and YOUNGNER (1963) and KRÜGER-HANSEN and WACHENDÖRFER (1962). These authors succeeded in eliciting abortion in pregnant guinea pigs by administering PLV virus isolated from bronchopneumonia cases. On the other hand, viral abortion could be caused in pregnant ewes infected subcutaneously with ornithosis virus. In a newborn calf acute fatal bronchopneumonia was brought about even with ornithosis virus (BEASLEY et al., 1962). From the above results certain authors have concluded that pigeons massively infected with ornithosis virus may play part in the transmission of ornithosis infection to cattle herds and that in the future the PLV virus infections of mammals will possibly be considered as zoonoses.

SUMMARY

In calf herds virus strains belonging to the psittacosis lymphogranuloma venerum (PLV) group could be isolated from the lungs of animals with symptoms of bronchopneumonia.

The virus strain K, which proved extraordinarily pathogenic when used for experimental infection, was isolated from the lung of a suckling calf during an outbreak of viral diarrhoea.

The strain K was successfully used for the experimental infection of suckling lambs too.

Three of the isolated virus strains proved to be suitable for the preparation of complement-fixing antigen.

The virus strains may be stored at +2°—+4°C, provided transfers are made every 3rd to 5th week.

In infected herds the serological screening tests performed with thermostable PLV-group antigen revealed an incidence of PLV-virus infection in 50 to 70 per cent of the animals. The titre values of complement-fixing antibodies demonstrable in the sera varied from 1 : 16 to 1 : 256.

REFERENCES

BALAŠČAK, J., GREGOR, B., KOPPEL, Z., OPLETAL, J., PECHÁČ, O., RENCZ, K., VASIL, M. and VOZARIK, J.: Veterinářství, 1960, 85. BEASLEY, J. N., WATKINS, J. R. and BRIDGES, C. H.: Amer. J. Vet. Res. **23** (1962), 1192. BOHÁČ, J.: Veterinářství, 1960, 81. BOULANGER, P. and BANNISTER, G. L.: Can. J. comp. Med. **23** (1959), 259. FRENCH, E. L. and SWODON, W.: Aust. vet. J. **35** (1959), 267. GIROUD, P.: Arch. Inst. Pasteur Tunis **34** (1957), 187. ISHII, S., KIUCHI, M., TSUKADA, K., TAKAMOTO, H. and INABA, Y.: J. Jap. Soc. Vet. Sci. **13** (1951), 377, cit. OMORI, T. et al.: Amer. J. Vet. Res. **21** (1960), 564. KAWAKAMI, T., OMORI, T., FUKUHARA, S., TOKUDA, G., ISHII, S. and MATUMOTO, M.: Jap. J. Exp. Med. **25** (1955), 57. KIUCHI, M. and INABA, Y.: Exptl. Rep. Govt. Exp. Sta Anim. Hyg. **25** (1953), 37, cit. OMORI, T. et al.: Amer. J. Vet. Res. **21** (1960), 564. KRÜGER-HANSEN, U. and WACHENDÖRFER, G.: Mh. Tierheilk., 1962, 215. MATUMOTO, M., OMORI, T., HARADA, K., INABA, Y., MORIMOTO, T., ISHITANI, R. and ISHII, S.: Jap. J. Exptl. Med. **25** (1955), 23. MENGES, R. W., HARSHFIELD, G. S., WENNER, H. A., HARSHFIELD, G. S. and WENNER, A.: Amer. J. Hyg. **57** (1953), 1. MOLL, T.,

FINLAYSON, A. V.: Science **126** (1957), 401. OMORI, T., MATSUMOTO, M., KAWAKAMI, Y., and FUKUHARA, S.: Jap. J. Exp. Med. **24** (1954), 313. OMORI, T., ISHII, S. and MATUMOTO, M.: Amer. J. Vet. Res. **21** (1960), 564. OZAWA, Y.: Thesis, Colorado State Univ, 1957. PALOTAY, J. L. and CHRISTENSEN, N. R.: JAVMA **134** (1959), 222. PALOTAY, J. L. and NEWHALL, J. H.: JAVMA **133** (1958), 353. PARKER, H. D. and YOUNGNER, R. L.: Amer. J. Vet. Res. **24** (1963), 367. PLÓNY, R., VRTIAK, O. J. and PLEVA, Z. I.: Veterinářství, 1960, 82. SARATEANU, D., SORODOC, G., SURDAN, C. and FÜHRER-ANAGNOSTE, B.: Stud. Cerc. Inframicr. **12** (1961), 353. SARATEANU, D., SURDAN, C., SORODOC, G. and FÜHRER-ANAGNOSTE, B.: Stud. Cerc. Inframicr. **12** (1961), Suppl. 323—328. SURDAN, C. SARATEANU, D., SORODOC, G., ATHANASIU, P. and ANAGNOSTE, B.: Stud. Cerc. Inframicr. **12** (1961), 451—465.

Printed in Hungary

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója — Műszaki szerkesztő: Farkas Sándor

A kézirat nyomdába érkezett: 1964. IX. 22. — Terjedelem: 12 (A/5) ív, 63 ábra (2 színes), 1 melléklet

64.59546 Akadémiai Nyomda Budapest. — Felelős vezető: Bernát György

ACTA VETERINARIA

ТОМ XIV — ВЫП. 4

РЕЗЮМЕ

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ ВАКЦИННЫХ ШТАММОВ ВИРУСА ЧУМЫ КУР НА КУРИНОМ МОЛОДНЯКЕ

Б. ТОТ и П. МАРКОВИЧ

Сравнивались иммуногенные свойства двух мезогенных — Хартфордшайр (Х) и Ледерле (Л) и двух лентогенных — Хичнер B_1 (CB_1) и Ла Сота (ЛС) — вакцинных штаммов вируса чумы кур. Степень иммунизирующей способности измерялась таким образом, что куриный молодняк иммунизировался повышающимися дозами вакцин и потом определялось то количество вакцины, которое спасло 50 и 90% животных, зараженных вирулентным вирусом, т. е. иммунизирующую способность выражали PD_{50} и PD_{90}. Применение вакцин осуществлялось обычным в практике способом.

Среди двух мезогенных штаммов в прививке подкожно лучшими иммуногенными свойствами зарекомендовали себя штамм Л со значением PD_{50} равным $10^{-0,3}$. и PD_{90} равным $10^{0,54}$. Значения вакцины Х равнялись $10^{0,54}$-ым и $10^{1,55}$-ым соответственно. Зарегистрирована сигнификантная разница в иммуногенных свойствах штаммов.

Стоит отметить, что для получения надежного иммунитета от штамма Л при применении его через рот понадобилось пользоваться более концентрированными суспенсиями. Значение вакцины Л при пероральном применении равнялось $10^{1,39}$ (PD_{50}) и $10^{2,4}$ (PD_{90}). Иммуногенные свойства культивировавшегося в эмбрионирующемся курином яйце и в свиной почечной тканевой культуре вируса Л при пероральном применении оказались такими же.

Два изученных лентогенных штамма обладали в экспериментах на курином молодняке значительно худшими иммуногенными свойствами. Значения штамма XB_1 при введении его в конъюнктиву равнялись $10^{3,73}$ (PD_{50}) и $10^{5,17}$ (PD_{90}); значения ЛС при таком же способе применения — $10^{3,43}$ и $10^{5,1}$ соответственно. Значит, между ними почти нет разницы. При пероральной аппликации обнаружена разница между этими штаммами. Штамм ЛС оказался надежнее (PD_{50} — $10^{3,43}$ и PD_{90} — $10^{1,71}$) штамма XB_1 ($10^{3,72}$ и $10^{5,27}$ соответственно). Эта разница однако статистически несигнификантна. От лентогенных штаммов самый слабый эффект получен при подкожном их введении.

Авторы указывают на взаимосвязь между концентрацией применяемого вирусаи степенью вызванного им иммунитета.

ДАННЫЕ К МОРФОЛОГИИ И СВЯЗАННЫХ С ВОЗРАСТОМ ИЗМЕНЕНИЯМ ДОБАВОЧНЫХ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЕЗ БЫКА

ДЬ. ФЕХЕР и Я. ХАРАСТИ

Добавочные половые железы развиваются и после достижения полового возраста В размерах **pars glandularis** семяпровода, пузырьковидных и кауперовых желез отдельных возрастных групп имеется сигнификантная разница. Пузырьковидная железа — это тубулоальвеолярная железа альвеолярного характера, состоящая в среднем из 30—60 долек. Ее выводной проток часто образует общий вестибул или **ductus ejaculatorius** с семяпроводом, впадающий в мочеиспускательный канал. Две части простатической железы только топографически отделены друг от друга, поэтому правильнее говорить о **pars superficialis** и **pars profunda** этого органа. Каупера железа — это тубулоальвеолярная железа с преобладающим тубулярным характером, состоящая из долек, напоминающих листье лука. Ее выводной проток устит в мочеиспускательный канал у края его поперечной полулунной складки. У кауперовых желез можно различить три мышцы, исходящих от **m. bulbocavernosus.** Они защищают железу и участвуют в быстром выведении содержимого железы.

ОБНАРУЖИВАЕМОСТЬ, ЭТИОЛОГИЯ, КЛИНИКА И ЛЕЧЕНИЕ ПАХИДЕРМИИ МЕЖКОПЫТНОЙ ЩЕЛИ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

А. Б.-КОВАЧ, Д. ХАМОРИ и К. ШОМОДЬВАРИ

При осмотре 3649 голов крупного рогатого скота венгерской пестрой породы у 11,9% животных обнаружена пахидермия (**pachydermia et elephantiasis regionis interdigitalis**) межкопытной щели. На основании описания и ради упрощения диагноза авторы различают два типа пахидермии. 1-ый тип пахидермии — это плоское, покрытое неповрежденным эпителием утолщение венчика у краев межкопытной щели. Утолщение в орех или больше, возвышающееся над венчиком с воспалительными и гнойными изменениями — это 2-ой тип пахидермии.

Изменения наичаще обнаруживаются у племенных быков (49,1%), потом у коров (22,6%). Они редки у откормочного скота (8,1%) и нетелей (3,2%). С возрастом и бóльшим живым весом обнаруживаемость заболевания учащается. Среди животных возраста 1—2 лет пахидермия обнаружена у 6—9%-ов животных, возраста 6—10 лет — у 17,4%-ов животных; при живом весе 300—400 кг — у 3,8%-ов животных, а при весе выше 550 кг — у 22,9%-ов животных. Заболевание не всегда сопровождается хромотой, но большие утолщения, внедряющиеся в межкопытную щель у коров могут вызвать понижение молочной продукции, у племенных же быков отказ от случки.

Согласно наблюдениям авторов из-за ненормальной нагрузки сухожилий и связок от повторяющихся подкожных микротравм наступает продуктивное воспалание. Доказательством этому служат гистологические срезы из уплотненных участков, показывающих картину воспаления сосудов и примыкающих к сосудам тканей. На рентгенном снимке из больной конечности на месте прикрепления связок суставов и сухожилий длинного и общего разгибателей на копытной кости видно утолщение костной ткани. В коже и подкожной клетчатке тоже наблюдается воспаление, что ведет к разрастанию ткани.

Для лечения плоской опухоли авторы рекомендуют применять повязку с мазью Дермосалил (смесь салициловой, борной кислот и фенола). Сильно разросшиеся опухоли, внедряющиеся в межкопытную щель, следует удалить оперативным путем.

ГЕМОЛИЗИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ОРГАНОВ ЦЫПЛЯТ, ЗАРАЖЕННЫХ ВИРУСОМ ЧУМЫ КУР

П. ОЛАХ и З. ПАЛАТКА

В экспериментах по изучению экстрактов из органов цыплят, зараженных вирулентным вирусом чумы кур и вакцинными штаммами этого вируса, авторы нашли следующее.

Вируссодержащие экстракты из почек и легких цыплят, зараженных вирусом чумы кур после часового содержания на водяной бане при температуре 40° С гемолизируют эритроциты морской свинки. Экстракты из тканей незараженных цыплят такого эффекта не вызывают.

Для пробы гемолиза наиболее удобен экстракт из почек, ибо он дает положительную реакцию при высоком проценте и титре.

Экстракты из почек цыплят, зараженных вирулентным вирусом после гибели или их вынужденного убоя всегда вызывали гемолиз, тогда как экстракты из почек цыплят, зараженных вакцинными штаммами только у 15—29%-ов случаев давали положительную реакцию и то к 5—6. дням после заражения.

Почечный экстракт показывал различную активность в отношении эритроцитов разных видов животных.

Гемолитический титр зависит от суспенсии применяющихся эритроцитов, от концентрации эритроцитов, от pH разбавителя, от продолжительности времени инкубации и температуры.

Гемолизирующее вещество нельзя уничтожить ни 0,2—0,4%-ным формалином, ни нагреванием до температуры 56° С в течение 30 минут, ни кипячением в течение 10 минут. Гемолизирующее вещество пластинкой «К» азбестного фильтра частично, пластинкой же «ЕК» полностью задерживается.

Гемолиз можно тормозить сывороткой реконвалесцентов и специфическими гетерологическими сыворотками, чищенным альбумином и 1 мольным раствором $CaCl_2$.

Наблюдается взаимосвязь между гемолизирующей и гемагглютинирующей активностью. Проба гемолиза однако чувствительнее пробы гемагглютинации.

Пробу гемолиза можно употребить в диагнозе чумы кур только в случае возможности исключения наличия пастэреллеза, так как экстракты органов павших от пастэреллеза птиц гемолизируют эритроциты морской свинки.

ИЗУЧЕНИЕ ЯЙЦЕВОДА И СЫВОРОТКИ У ПТИЦ

I. Потребность в кислороде, активность щелочной фосфатазы, концентрация P, Ca и Mg у взрослых кур породы венгерская

Б. МИСРА и А. КЕМЕНЬ

У кур возраста полтора года венгерской желтой породы (группа I: 6 животных в утерусе с яйцом; группа II: 8 животных с развитым овидуктусом; группа III: 10 животных с атрофированным овидуктусом и яичниками) изучалась потребность кислорода, % сухого вещества, % золы сухого вещества и % золы влажных тканей; % Ca, P и Mg в золе и активность щелочной фосфатазы в различных участках овидуктуса. Симультанно изучалось содержание неорганического P, Ca и Mg и активность щелочной фосфатазы в сыворотке.

Потребность в кислороде больше всего в утерусе, в магнуме меньше всего. До овуляции наиболее активным явился инфундибулум. Потребность кислорода отдельных участков яйцевода кур группы III была одинаковой. Значение Ca до откладки яиц равнялось $25{,}48 \pm 0{,}99$ мг%, при атрофированном яичнике — $16{,}16 \pm 0{,}76$ мг%. У кур с развитыми фолликулами до овуляции значение Ca было очень изменчивым. Уровень Mg в сыворотке формируется подобно уровню Ca. Необнаружено корреляции между Ca, P, Mg и щелочной фосфатазой сыворотки.

Содержание сухого вещества наивыше в магнуме (27,27%). В инфундибулуме и вагине атрофированного яйцевода содержание P заметно низко. Содержание Ca в истмусе и инфундибулуме высоко. Высокое, статистически сигнификантное содержание Ca обнаружено в стенке утеруса кур до овуляции по сравнению с состоянием овуляции. На основании регрессивного уравнения — $У = 0{,}411 + 0{,}196х$, У = % Ca в золе, х = % P в золе — получен корреляционный коэффициент между %-ом содержания Ca и P в золе яйцевода со значением 0,57. Концентрация Mg в магнуме выше таковой других участков.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО ИММУНИЗАЦИИ ОБЛУЧЕННЫМИ ЛИЧИНКАМИ

II. Повышающее невосприимчивость цыплят к **Ascaridia galli** лечение облученными личинками

И. ВАРГА

Чтобы узнать, влияет ли предварительная обработка цыплят облученными личинками **Ascaridia galli** на последующую инвазию, проведены два эксперимента.

Группы цыплят, каждая по 10 голов, возраста шести недель, заражались отчасти необлученными, отчасти облученными личинками (10 и 20 тысяч **r**). **A. galli.** В первом эксперименте цыплята заражались раз (разовая вакцинация), во втором — после первого заражения через неделю цыплята заражались повторно (двойная вакцинация). Через три недели эти группы птиц суперинвазировались нормальными личинками; такими же личинками инвазирована контрольная группа цыплят. Как только в контрольных цыплятах обнаруживались взрослые нематоды, все экспериментальные птицы были убиты.

Все птицы выделяли яйца гельминтов за исключением тех, которые дважды вакцинировались облученными личинками (группы A_2 и B_2).

У раз вакцинировавшихся птиц надежного иммунитета не обнаружено.

У дважды вакцинировавшихся птиц наблюдалось сильное торможение роста нематод суперинвазии. Степень невосприимчивости, подобно всем трем группам, была наиболее выраженной в группе, вакцинированной личинками, облученными 10 000 **r**. Большинство гельминтов суперинвазии из невосприимчивых птиц к моменту убоя были во 2-ой, 3-ей и 4-ой личиночной стадии развития.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО ИММУНИЗАЦИИ ОБЛУЧЕННЫМИ ЛИЧИНКАМИ

III. Изучение эффекта рентгеновых лучей на яйца и личинки Syngamus trachea

И. ВАРГА

В яйцах **Syngamus trachea**, облученных дозой 16 **kr** как правило не развились личинки I. стадии, но зато большинство яиц развилось до стадии морулы.

Повышение **kr** дозы облучения инвазионных личинок пропорционально понижало количество развивающихся в цыплятах личинок. Только ничтожный процент половозрелых нематод, развившихся из личинок облученных и 1-2 **kr**-ами продуцировали жизнеспособные яйца. От половозрелых особей, развившихся из личинок, облученных 3 **kr**-ами жизнеспособных яиц не получено. При облучении инвазионных личинок 4—8 **kr**-ами они обнаруживались в легких, но в трахею попадали только единичные экземпляры личинок 5. стадии; среди них не было копулирующих особей. Для иммунизации наиболее целесообразно применять личинки, патогенность которых снизили облучением 4—5 **kr**-ами

ДВУХЛИЦЫЙ ТЕЛЕНОК

(Diprosopus, tetraophthalmus, diotus, trignatus, tetracornus)

ДЬ. ФЕХЕР и Ф. ДЮРЮ

Редкий урод, двухлицый теленок (**diprosopus, tetraophthalmus, diotus, tetracornus**) выжил 43 дня. Из-за перебоев в срастании нервного желобка передний, средний и отчасти задний мозговые пузыри развились по-парно, благодаря чему ряд органов головы развились тоже по-парно.

Теленок обладал двумя носами, двумя носовыми полостями, двумя ротовыми полостями и двумя языками. Зато имелся один корень языка и одна язычная кость. Образовались три губы и четыре нижние челюсти. Последние возникли таким образом, что резцовые части нижних челюстей правого лица не срослись.

Среди четырёх глазных яблок два располагались в одной периорбите. Соприкасающиеся поверхности белочных оболочек этих глаз срослись. Передний и средний мозги двойны, дальше, двойной и Варолев мост заднего мозга. Остальные части заднего мозга едины.

Четыре початки рогов можно нащупывать. Полость черепа, основание черепа, глотка и гортань едины. Парные органы двигались синхронно, т. е. органы одного лица проводили тождественные движения с органами другого лица.

ЧАСТОТА ГЕНОВ ОБУСЛОВЛИВАЮЩИХ БЕТА-ГЛОБУЛИНОВЫЕ ТИПЫ СЫВОРОТОК СРЕДИ ПЕСТРОГО ВЕНГЕРСКОГО СКОТА

Й. МАРКУШ, ДЬ. КОВАЧ и Л. ФЕШЮШ

После краткого обзора литературы по бета-глобулинам и крахмальному электрофорезу следует обсуждение значения исследований по трансферинам. В собственных экспериментах при изучении 631 головы венгерского пестрого скота разного возраста (1—12 лет) не обнаружено ни одного гомозиготного животного Tf^{E}/Tf^{E}. Гетерозиготных животных Tf^{E} обнаружено тоже мало ($Tf^{A}/Tf^{E} = 4$, $Tf^{E}/Tf^{D} = 21$).

Частота генов Tf^{A}, Tf^{D} и Tf^{E} и их стандартное отклонение в изученном поголовье равнялось $0{,}266 \pm 0{,}0125$, $0{,}713 \pm 0{,}0127$ и $0{,}020 \pm 0{,}0014$ соответственно.

Данные частоты обнаруживаемости генов у зарубежных пород в литературе представлены в треугольниках Де Финетти. Ген Tf^{E} у большинства пород обнаруживается редко. Зато превалирование аллели Tf^{D} характерно в первую очередь для венгерского пестрого скота с симментальским происхождением, для чешского краснопестрого скота но, главным образом, для южнонемецкого горного пестрого скота. Последняя порода в отношении этого гена приближается уже фиксированию.

ИЗУЧЕНИЕ ЯЙЦЕВОДА И СЫВОРОТКИ У ПТИЦ

II. Потребление кислорода отдельными участками яйцевода и его обусловленность ионом кальция, концентрация неорганического фосфора, кальция и магния и степень щелочно-фосфатазной активности в сыворотке куриного молодняка венгерской желтой породы

М. С. МИСРА и А. КЕМЕНЬ

Изучалась потребность в кислороде разных частей овидуктуса и влияние разных концентраций иона кальция на потребность в кислороде этого органа у куриного молодняка. Параллельно оверялась степень активности щелочной фосфатазы в сыворотке и концентрация в ней кальция, фосфора и магния.

Тридцать голов куриного молодняка венгерской желтой породы, возраста 6 месяцев, согласно физиологическому состоянию овидуктуса, разбито на пять групп: 1-ая: с яйцом в утерусе — 7 голов; 2-ая: с яйцом до поступления в утерус — 5 голов; 3-ья: перед овуляцией — 4 головы; 4-ая: с развитым овидуктусом — 5 голов; 5-ая: с недоразвитым овидуктусом — 9 голов.

В 5. группе обнаружена высокая корреляция (0,71) между живым весом и нормальным весом овидуктуса; регрессионное уравнение: $У = -2{,}645 + 3{,}504\ X$, где У = весу овидуктуса (г) и X = живому весу (кг). Наибольше израсходовано кислорода утерусом во 2-ой группе (Q_{O_2} — 3,70), значительно больше, чем в 4. и 5. группах. Корреляционный коэффициент между весом овидуктуса и Q_{O_2} утеруса в 3. группе был высоким (0,94); регрессивное уравнение: $У = 2{,}8645 + 0{,}0061\ X$ ($У = Q_{O_2}$ утеруса, X = весу овидуктуса в г-ах). Утерус обладает высокой способностью толеранции в отношении концентрации иона кальция. Активность инфундибулума наивысша когда яйцо поступило в инфундибулум, и перед овуляцией показывает более выраженную тенденцию к повышению, чем в 1. группе. Наименьше кислорода израсходовано магнумом в 1. группе, а нибольше — в 4. группе. Скоро после овуляции уровень щелочной фосфатазы достигает своего пика (18,78 BU — **Bodansky unit**) и заметно понизилось, когда яйцо развилось в утерусе. Высокая активность щелочной фосфатазы сыворотки сопровождалась высокой концентрацией кальция и магния и низкой концентрацией неорганического фосфора.

ДАННЫЕ К ПАРАЗИТОФАУНЕ РЫБ ВЕНГРИИ

II. Известные и новые виды рода **Dactylogyrus** в рыбах Венгрии

К. МОЛНАР

Описано 35 видов представителей рода **Dactylogyrus** из рыб Венгрии.

Среди описанных видов **Dactylogyrus prostae** и **Dactylogyrus nobilis** являются для литературы новыми.

Автор считает виды дактилогирусов специфичными для данных хозяев и при обнаружении одного вида на неспецифическом хозяине рекомендует его называть не хозяином, а случайным хозяином.

Упоминаются и паразиты гибридных рыб.

В работе указывается на ненормальную локализацию **Dactylogyrus hemiamphibothrium.**

РАСПИРАТОРНАЯ БОЛЕЗНЬ СРЕДИ ПОДСОСНЫХ ТЕЛЯТ, ВЫЗВАННАЯ ВИРУСОМ ГРУППЫ ПСИТТАКОЗ-ЛИМФОГРАНУЛЕМА-ВЕНЕРЕУМ

Й. РОМВАРИ

Из легких телят с признаками бронхопневмонии изолирован вирус группы пситтакоз-лимфогранулема-венереум (ПЛВ).

В экспериментальных условиях очень патогенный вирусный штамм К изолирован из легких подсосного теленка в момент вспышки вирусного поноса.

Штаммом К с успехом заражались экспериментально и подсосные ягнята.

Три изолированных штамма оказались удобными для приготовления комплемент-связывающего антигена.

Вирусные штаммы можно хранить при температуре +2 — +4° С, но целесообразно их каждые 3 или 5 недель перепривить в желточный мешок эмбрионирующегося куриного яйца.

В благополучных стадах серологическими пробами с термостабильным групповым антигеном обнаружено, что 50—70% животных заражено вирусом ПЛВ. Значение титра комплементсвязывающих антител в сыворотках колебался в пределах 1:16 — 1:256.

The *Acta Veterinaria* publish papers on veterinary science in English, German, French and Russian.

The *Acta Veterinaria* appear in parts of varying size, making up volumes.

Manuscripts should be addressed to:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Correspondence with the editors and publishers should be sent to the same address.

The rate of subscription to the *Acta Veterinaria* is 110 forints a volume. Orders may be placed with "*Kultúra*" Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest I., Fő utca 32. — Account No. 43-790-057-181) or with representatives abroad.

Les *Acta Veterinaria* paraissent en français, allemand, anglais et russe et publient des travaux du domaine des sciences vétérinaires.

Les *Acta Veterinaria* sont publiés sous forme de fascicules qui seront réunis en volumes.

On est prié d'envoyer les manuscrits destinés à la rédaction à l'adresse suivante:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix d'abonnement est de 110 forints par volume.

On peut s'abonner à l'Entreprise pour le Commerce Extérieur de Livres et Journaux «*Kultúra*» (Budapest I., Fő utca 32. — Compte-courent No. 43-790-057-181) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

«*Acta Veterinaria*» публикуют трактаты из области ветеринарных наук на русском, французском, английском и немецком языках.

«*Acta Veterinaria*» выходят отдельными выпусками разного объема. Несколько выпусков составляют один том.

Предназначенные для публикации рукописи следует направлять по адресу:

Acta Veterinaria, Budapest 502, Postafiók 24.

По этому же адресу следует направлять всякую корреспонденцию для редакции и администрации.

Подписная цена «*Acta Veterinaria*» — 110 форинтов за том. Заказы принимает предприятие по внешней торговле книг и газет «*Kultúra*» (Budapest I., Fő utca 32. Текущий счет № 43-790-057-181), или его заграничные представительства и уполномоченные.

36,— Ft

INDEX

TÓTH, B. and MARKOVITS, P.: Studies on the Immunogenicity of Newcastle Disease Vaccine Strains in Growing Chickens 339

FEHÉR, GY. und Frau HARASZTI, A.: Beiträge zur Morphologie und zu den altersbedingten Veränderungen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen von Stieren 347

B.-KOVÁCS, A., HÁMORI, D. und SOMOGYVÁRI, K.: Vorkommen, Pathologie, Klinik und Therapie der Zwischenklauengewebsvermehrung bei Rindern 369

OLÁH, P. and PALATKA, Z.: Haemolytic Properties of Organ Extracts from Chickens Infected with Newcastle Disease Virus 383

MISRA, M. S. and KEMÉNY, A.: Studies on the Oviduct and Serum of Fowls. — I. Oxygen Uptake, Alkaline Phosphatase Activity, Concentration of Phosphorus, Calcium and Magnesium in Adult Hungarian Yellow Hens 389

VARGA, I.: Immunization Experiments with Irradiated Larvae. — II. The Resistance-inducing Effect of Treatment with Irradiated Larvae of *Ascaridia galli* in Chickens 399

VARGA, I.: Immunization Experiments with Irradiated Larvae. — III. The Effect of X-rays upon Eggs and Larvae of *Syngamus trachea* 411

FEHÉR, GY. und GYŰRŰ, F.: Kalb mit doppeltem Gesicht (Diprosopus, Tetraophthalmus, Diotus, Trignatus, Tetracornus) 419

MÁRKUS, J., KOVÁCS, GY. and FÉSŰS, L.: The Frequency of Genes Controlling Serum β-Globulin Types in Hungarian Spotted Cattle 437

MISRA, M. S. and KEMÉNY, A.: Studies on the Oviduct and Serum of Fowls. — II. Oxygen Uptake by the Regions of the Oviduct and Effect of Calcium Ion on it, the Concentration of Inorganic Phosphorus, Calcium and Magnesium and the Level of Alkaline Phosphatase Activity in Serum of Hungarian Yellow Pullets 443

MOLNÁR, K.: Über die Parasitenfauna der Fische in Ungarn. — II. Bekannte und neue *Dactylogyrus*-Arten an einheimischen Fischen 455

ROMVÁRY, J.: Respiratory Disease Caused in Suckling Calves by a PLV Virus 469

Index : 26.026