

21.58

SBORNÍK

ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

*Veterinární
medicina*

3

ROČNÍK XXIX — PRAHA, BŘEZEN 1956

CENA 10 Kčs

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

dopisující člen ČSAZV prof. MVDr Vincenc Jelínek

Redakční rada:
Редакционный совет:
Editorial Board:

*gen. MVDr Jaroslav Chládek, MVDr Eduard Zach, MVDr František Nižňanský,
MVDr Jiří Boháč, Antonín Cívárek, MVDr Antonín Klauz, prof. MVDr Richard
Harnach, MVDr Jaroslav Dražan, prof. Dr Karel Šobra.*

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

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

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

The Annals of the CAAS the Series Veterinary Science appear monthly. They publish the results of the scientific and research works and critical reviews of veterinary science. Head-Editor Václav Kořínek. The annual subscription rate 120 Kčs, single copies 10 Kčs. Publisher: The Czechoslovak Academy of Agricultural Sciences. Editorial and executive offices: Praha XII, Slezská 7, tel. num. 575-41, 577-51-5. A 15183

Příspěvek k enzootické hepatitidě koní

К вопросу энзоотического гепатита лошадей

A Contribution to the Enzootic Hepatitis in Horses

Beitrag zur enzootischen Leberentzündung der Pferde

MVDr Karel BLAŽEK

Státní vědecký veterinární ústav, Praha

Došlo 1. IX. 1955

Úvod

V roce 1954 měli jsme příležitost pozorovat četné případy ikteru koní, a to ve dvou okresech (A a B) Pražského kraje. Tyto případy onemocnění byly zajímavé nejen svým průběhem a obrazem pathologicko-anatomickým, ale bylo nutno se jimi zabývat i blíže i proto, že onemocnění postihlo koně ve větším počtu, takže tím vznikla dosti značná hospodářská ztráta. Jelikož jsme později zjistili obdobné případy — spíše sporadicky se vyskytující — i jinde na území Čech, pokládáme za účelné naše poznatky zveřejnit a tím upozornit na chorobu, která se dodnes u nás buď vůbec nevyskytovala, anebo nebyla diagnostikována pro svoji poměrnou vzácnost. Popíšeme proto její klinickou symptomatologii, obraz pathologicko-anatomický, pokus o přenos a rozbor krajiny výskytu nemoci s hlediska půdního a botanického.

Část klinická a pathologicko-anatomická

A. Průběh nemoci

Celkem bylo vyšetřeno klinicky a laboratorně 18 koní a u 5 dalších koní byla zjištěna přesná anamnesa. U vyšetřovaných koní šlo z 50 % o onemocnění v akutní fázi, u 50 % koní šlo o vyšetření po prodělání nemoci, anebo o vyšetření v již déle trvající rekonvalescenci. Deset koní z vyšetřovaných 23 případů uhynulo nebo bylo nutně poraženo.

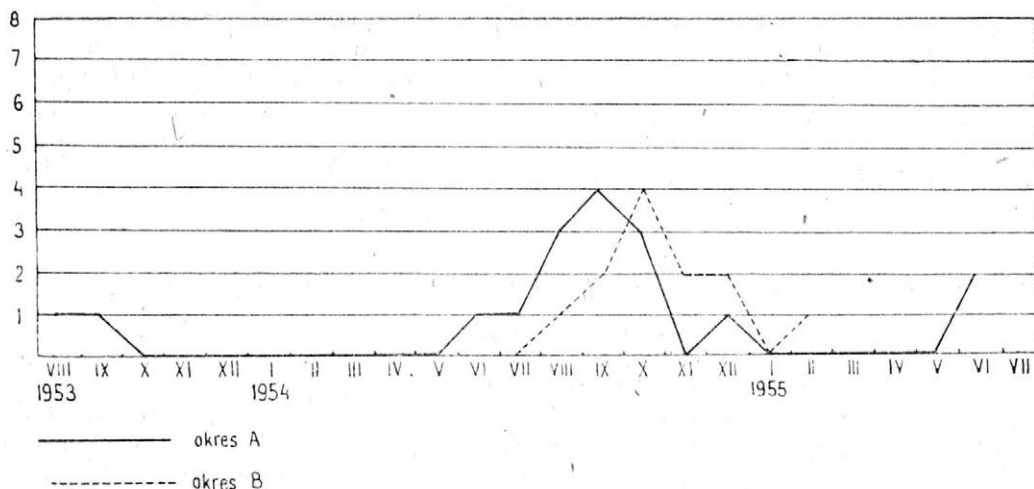
Onemocnění začíná náhle, většinou bez výrazných předzvěstí. Kůň odmítá krmivo, anebo sbírá stelivo pod sebou. Současně se dostavuje celková apatie, trus je odsazován v menším množství a je jakoby zpečený. Cévy episklerální jsou silně nastříklé, spojivka zarudlá. Po dvou až třech dnech po začátku onemocnění se objevuje žloutenka různého stupně, která může být majitelem zvířete přehlédnuta, jindy však je ikterické zbarvení spojivek a bělma očního nápadné i pro laika. Ikterus může být jen lehce naznačen v případech abortivních, zatím co v případech typických jsou spojivky, bělmo, sliznice nozder

a pysků oranžově žlutě zbarvené. Je možno říci, že ikterus je pravidelným příznakem onemocnění. V době, kdy se objeví ikterus, moč se zabarvuje do hněda a právě tato tmavší moč je pro majitele zvířete dříve nápadná, než ikterické zbarvení spojivek. Barva moče se často vrací brzy k normálu, anebo se zabarvení střídá. V těžkých případech, končících letálně, se objevuje haemoglobinurie, při níž je moč barvy červeného vína. Haemoglobinurie je předzvěstí blížící se smrti a kůň hyne nejdéle do 24 hodin po jejím objevení.

V našich případech provázela chorobu zvýšená teplota, až horečka. Tato se pohybovala mezi 40–41° C, někdy dosáhla teprve v konečných stadiích choroby hranice 39,4–39,6, zatím co v počátku onemocnění nebylo zvýšení teploty nad horní hranici normálu konstatováno. V ojedinělých případech majitel udával, že kůň horečku neměl, přestože byl pravidelně měřen. Febrilní neb subfebrilní stav trvá tři až čtrnáct dní a po této době klesá teplota do normálního rozmezí. Někdy je pozorováno nápadné pocení (7 případů), případně při těžkém průběhu foetor ex ore (2 případy). Onemocnění je často provázeno příznaky poruchy nervové činnosti. Nemocní koně jsou otupělí, stojí s hlavou hluboko svěšenou, nebo ji opírají o žlab či o zeď, při chůzi je pak nápadná ataxie zádi. Citlivost povrchová je snížena až úplně vymizelá (ucho, korunka). V ojedinělých případech kůň lehá a vstává jako skot. Jindy je možno pozorovat i záchvaty nervové předrážděnosti, kdy kůň kouše do žlabu, chytá sousedního koně a snaží se kousnout i svého ošetřovatele. V těžkých případech se setkáváme s excitacemi charakterizovanými stálým říčením a nutkavými pohyby kupředu. V tomto stadiu se stává kůň neovladatelným a vážně ohrožuje svoje okolí.

Tab. 1. Grafické znázornění početnosti případů hepatitidy koní v jednotlivých měsících.

Табл. 1. Графическое изображение частоты заболеваний гепатитом у лошадей в отдельные месяцы



Onemocnění končí po týdnu až čtrnácti dnech uzdravením, v případech abortivních trvá choroba jen dva až tři dny. Uzdravení je úplné, ale v některých případech lze pozorovat určitá residua v podobě snadné unavitelnosti a dyspnoických stavů při těžší práci. Rovněž výživný stav se během choroby zhorší a kůň se dostává do dobré kondice teprve po určité době rekonvalescence. V četných případech (v naší sestavě 42 % případů) končí však choroba letálně, a to do 8 dnů po začátku nemoci, a někdy je průběh tak rychlý, že dojde k exitu již druhý den choroby.

Morbidita dle stáří je v naší sestavě tato: Ve věku do 5 let onemocnělo

5 koní; od 6—10 let 6 koní; od 11—15 let 4 koně, od 16—20 let 6 koní. Moria lita dle stáří je tato: Ve věku do 5 let uhynuli 4 koně; od 6—10 let 2 koně; od 11—15 let 1 kůň; od 16—20 let 1 kůň. U dvou koní nebylo určeno stáří, a proto nebyli pojeti do statistického zhodnocení morbidity a mortality dle stáří.

Mezi nemocnými koňmi byly 4 březí klisny. Dvě z nich uhynuly, dvě onemocnění přestály. Z těchto jedna předčasně porodila živý, avšak života neschopný osmiměsíční plod, druhá porodila ve správném čase zdravé hříbě. Kadaver předčasně narozeného hříběte nemohl být blíže vyšetřen.

B. Pomocná vyšetření klinická

Červená složka krevního obrazu nevykazovala v akutním stadiu choroby odchylek od normy. Počet erytrocytů se pohyboval od 6,500.000 do 9,000.000 v 1 *cm*m. Pokles pod nejnižší normální mez nebyl u akutních případů nikdy pozorován. Erytrocyty nebyly ve své struktuře změněny. U rekonvalescentů, vyšetřovaných 2—6 měsíců po prodělání choroby, byla zjištěna u čtyř z osmnácti vyšetřovaných případů anaemie, ve dvou případech výrazná, kdy pokles počtu erytrocytů dosáhl množství 4,900.000 a 4,055.000 v 1 *cm*m.

Změny v bílém krevním obraze byly pozorovány v několika případech jak v akutní fázi choroby, tak i v rekonvalescenci. Počet BK se v akutní atace pohyboval buď v mezích normy, nebo byl zvýšen, v případě leukocytosy byl pozorován mírný posun doleva (10.800, 15.000). V rekonvalescenci byl počet BK normální nebo klesl pod nejnižší normální mez, takže nastala mírná leukopenie (5.400 v 1 *cm*m). V 39 % vyšetřovaných případů byla v rekonvalescenci zjištěna relativní lymfocytosa (vyšetření v údobí 1—6 měsíců po akutní fázi).

Při akutním průběhu, kdy se vyvinula akutní atrofie jater, bylo pozorováno nápadné zpomalení sedimentace krve.

Současně s krevním obrazem byl sledován obsah bilirubinu v seru krevním, byly provedeny běžné jaterní testy (Takata, thymolová zákalová reakce, kefalín-cholesterolový test), v několika případech bylo zjištěno i množství bílkovin v seru metodou refraktometrickou, u čtyř koní provedeno orientačně elektro-

Tab. 2a. Hodnoty bilirubinu a jaterní testy u zdravých koní.

Табл. 2а. Количество билирубина и печеночные тесты у здоровых лошадей.

Číslo koně	Bilirubin	TZR	Takata	Kef.-Chol.
1	0,77	1,7	+	
2	0,77	2,2	+	
3	0,77	3,2	+	
4	0,77	3,2	+	
5	0,61	2,2	±	
6	0,40	2,07	+	
7	0,82	2,2	+	
8	1,4	4,2	+	
9	0,66	2,2	+	
10	0,61	3,2	+	
11	1,14	2,2	+	
12	0,71	2,0	+	
13	0,55	3,9	+	
14	0,82	2,0	+	
15	0,87	2,7	+	
16	0,87	2,0	++	
17	0,66	5,5	+	
18	0,56	4,0	±	
19	1,03	2,2	+	
20	0,55	3,5	+	

Tab. 2a.

Čís. koně	Bilirubin	TZR	Takata	Kef.-Chol.
21	0,66	3,5	+	
22	0,77	3,2	+	++
23	1,35	1,2	±	++
24	0,77	1,7	±	++
25	1,4	5,0	±	
26	0,87	1,0	+	+++
27	0,82 mg %	0,70 j.	+	+++

foretické vyšetření krevního sera (doc. dr. A. Sokol, vet. fakulta v Košicích). Pro srovnání vyšetřili jsme obdobně krevní serum u 28 koní zdravých. Výsledky těchto vyšetření jsou pro přehlednost zachyceny v tabulce čis. 2 a souhrnně budou zhodnoceny v diskusní části této práce.

Téměř konstantním příznakem choroby v typickém průběhu byl silný ikterus. Bylo tedy provedeno serologické vyšetření na leptospirósu, a to s těmito kmeny: *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa* A a B, *L. canicola* a *L. pomona*. Vyšetření bylo provedeno v akutním onemocnění a u případů, končících uzdravením, opětovně v rekonvalescenci. Serologické vyšetření na leptospirósu za použití uvedených kmenů bylo vesměs negativní. U koní uhynulých jsem pátral po leptospirách v játrech a ledvinách, a to v řezech, barvených metodou stříbření dle Levaditiho. Rovněž toto vyšetření bylo negativní.

C. Pathologicko-anatomické nálezy a popis několika případů

Během sledování choroby provedl jsem pitvu 6 koní, a to pitvy kompletní, doplněné histologickým vyšetřením změněných orgánů. U jednoho koně nebylo možno histologické vyšetření provést pro pokročilou autolysu vnitřních orgánů. Pathologicko-anatomický obraz choroby byl tento:

U koní, kteří uhynuli nebo byli poraženi v akutní atace nemoci, je nápadné ikterické zabarvení sliznic, podkoží a svaloviny kosterní a srdeční. Plíce bez patologických změn; degenerace srdečního svalu; u jednoho pitvaného koně z naší sestavy krváceniny na epikardu i endokardu. Chlopně bez nálezu. Slezina většinou nevykazuje podstatných změn, někdy je mírně zvětšená a v ojedinělých případech (1) je zvětšená, s tmavočervenou a na řezu prominující pulpou.

Játra jsou jen mírně zvětšená nebo nezvětšená, ostrých okrajů, které se jen v některých úsecích mírně zaoblují. Zbarvení jater se mění podle pokročilosti procesu a podle stupně ikteru. Vždy je význačné ikterické zbarvení, takže játra jsou červenohnědá s nádechem do žluta, až hnědozelená. Ve formalinu játra zelenají a barví fixační tekutinu zeleně. Podle pokročilosti případu se mění jejich konsistence. Při vzniku žluté atrofie jsou poněkud zmenšená, chabá, ostrých okrajů, setřené struktury a ložiskovitě křehčí konsistence (i po fixaci mají konsistenci gummy). Místy jsou na řezu patrné okrsky červenohnědé, dosud zachované jaterní tkáň nebo uzlovité regeneráty. V případech, kdy nedošlo ještě k rozsáhlejší nekrobiose tkáně, je na povrchu jater i na řezu zřetelná kresba lalůčků, kdy se střídají proužky tmavě zbarvené se stromečkovitou světlejší a nad úroveň řezu poněkud prominující tkání.

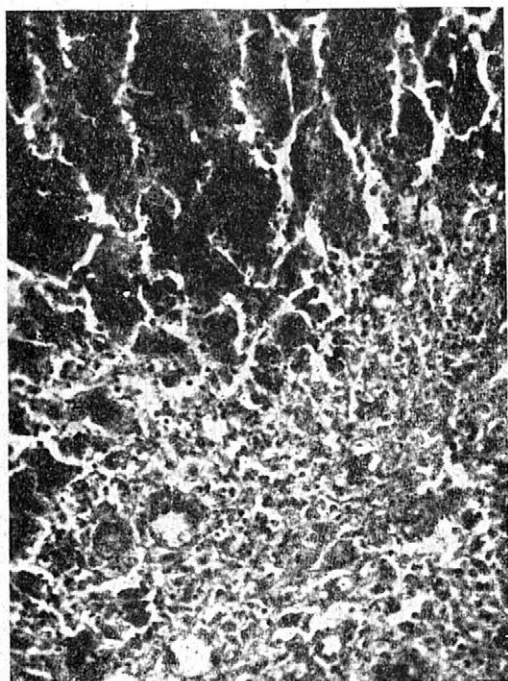
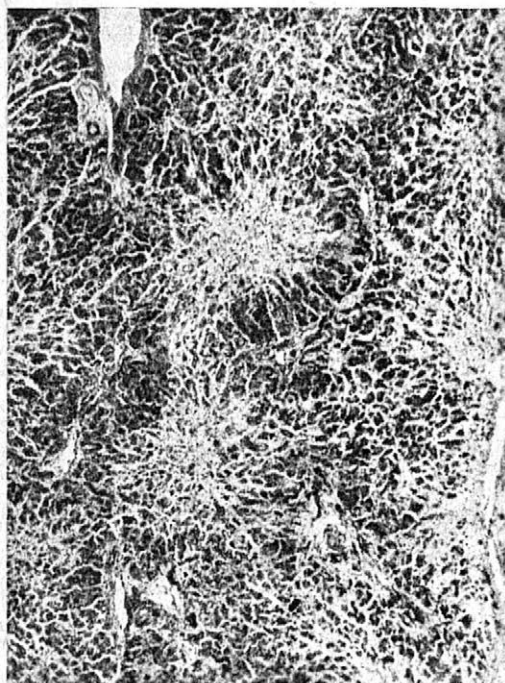
Histologické vyšetření jater v případech méně pokročilých, kdy kůň byl dán na porážku po krátkém trvání choroby, prokáže hepatitidu s difusně roz-

Tab. 2b. Hodnoty bilirubinu a jaterní testy u koní nemocných a rekonvalescentů.

Табл. 26. Количество билирубина и печеночные тесты у лошадей больных и находящихся в состоянии реконвалесценции.

Majitel koně	Kůň	Bilirubin	TZR	Takata	Kef.-Chol.	Datum nemoci	Datum vyšetření	Albu-miny	Globu-liny	A/G	Celková bílkovina
Č., K.	K4r	1,40	—	+-	++++	19. 10. 54.	27. 10. 54.				
Č., K.	K4r	0,39	0,7	—	+++++	19. 10. 54.	18. 11. 54.				
P., K.	V	—	5,0	+	++++	20. 10. 54.	27. 10. 54.				
P., K.	K15r	0,77	0,7	+	+++++	14. 10. 54.	18. 11. 54.				
Č., K.	V17r	1,03	1,5	++	+++++	9. 12. 54.	22. 12. 54.				
M., K.	V17r	10,0	0,7	+	+++++	17. 11. 54.	18. 11. 54.				
H., T.	V	1,08	1,7	+-	++++	29. 9. 54.	11. 11. 54.				
H., T.	V	0,50	1,5	+	+++++	25. 9. 54.	6. 1. 55.	3,90	2,75	1,42	6,65
M., R.	K6r	0,5	2,7	+-	++++	21. 9. 54.	11. 11. 54.				
M., R.	K6r	0,66	3,3	+	+++++	21. 9. 54.	6. 1. 55.				
M., Z.	V10r	0,55	1,5	+	+++++	10. 54.	6. 1. 55.				
T., D. L.	V16r	0,42	1,5	+	+++++	6. 54.	6. 1. 55.	2,50	4,80	0,52	7,30
K., D. L.	V11r	—	2,5	+	+++++	10. 54.	6. 1. 55.				
K., Č.	K15r	1,1	1,7	++	+++++	9. 54.	12. 1. 55.	2,29	3,54	0,64	5,83
V., Č.	K12r	1,08	1,00	+	+++++	10. 54.	12. 1. 55.	2,62	3,80	0,68	6,42
K., Č.	K6r	1,67	4,5	+	+++++	8. 54.	12. 1. 55.				

hozeným, převážně lymfocytárním infiltrátem, nakupeným hlavně kolem žlučodů. Je zde význačná cholestáza. Při dalším postupu nebo při prudším průběhu sledujeme vývin nekrobiosy v centru acinu (obr. č. 1); nekrosa postihuje při vzniku žluté atrofie většinu jaterní tkáně, takže nastává obraz těžkého rozpadu jater. Vyšetření na leptospiry metodou stříbření podle Levaditiho bylo negativní.



Obr. č. 1. Kůň A-7719/54. Játro. Hepatitis s centroacinosní nekrobiosou. Délka klinického onemocnění 9 dní. Hematoxylin-eosin. Zvětšeno 55krát.

Рис. 1. Лошадь А-7719/54. Печень. Гепатит с центроацинозным микробиозом. Продолжительность клинического заболевания 9 дней. Гематоксилин-эозин. Увелич. в 55 раз.

Obr. č. 2. Detail nekrotického okrsku z obrazu čís 1. V okrsku diskretní infiltrace, buněčný detritus, v pravém dolním rohu 2 velké tukové vakuoly. Hematoxylin-eosin. Zvětšeno 180krát.

Рис. 2. Деталь некротического очага из рисунка № 1. В очаге дискретная инфильтрация, клеточный детритус, в правом нижнем углу две большие жировые вакуоли. Гематоксилин-эозин. Увелич. в 180 раз.

Ledviny jsou hnědožlutě zbarveny, křehké, s dilatovanými povrchovými cévami, ve dřeni radiární žíhání. Ojedinele jsou v koře zjišťována šedavá ložiska velikosti špendlíkové hlavičky — buněčné infiltráty převážně lymfocytární povahy. Ve stočených i přímých kanálcích ledvinných jsou zelené a oranžově zbarvené hrudky barviv.

Na zažívadlech nejsou zjišťovány výrazné pathologicko-anatomické změny. Jen v jednom případě, provázeném příznaky haemorrhagické diathesy, byly zjištěny jak v tenkém, tak i tlustém střevě tečkovité, velmi drobné krváceninky, rozhozené na bledé sliznici téměř po celé délce střev.

Mozek bez makroskopických změn. Ani v případech, kdy se onemocnění projevovalo v konečném stadiu delirantním stavem, nebyly zjištěny zánětlivé změny. V jednom případě byly však zjištěny degenerativní změny na některých

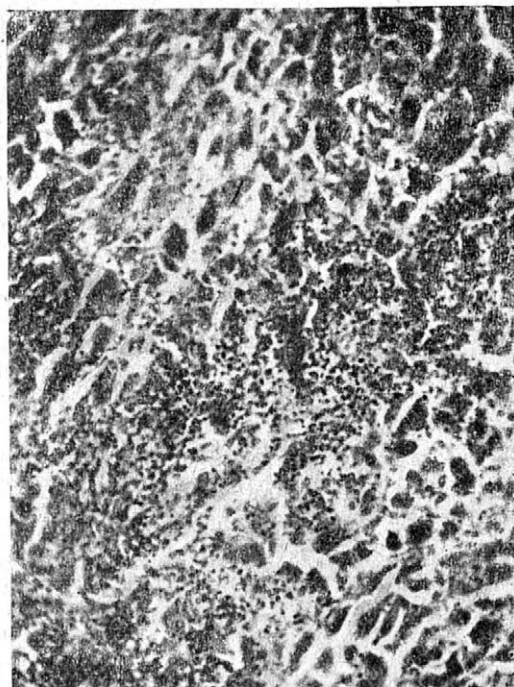
gangliových buňkách Ammonova rohu v podobě výrazné satellitosis (deset až šestnáct satellitů kolem jedné gangliové buňky) a sraštění jádra a celé buňky. V gangliových buňkách pontu výraznější ukládání Sudan — i šarlach pozitivních látek.

Svalovina kosterní nejeví známek degenerace. Nález při chronickém průběhu uvedu v dalším popisu několika vyňatých případů.



Obr. č. 3. Kůň A-7598/54. Játra. Difusní hepatitis s nahloučením infiltrátu v portobiliárních prostorech a na periférii acinu. (Tmavá pole.) Délka klinického onemocnění 2 dny. Hematoxylin-eosin. Zvětšeno 50krát.

Рис. 3. Лошадь А-7598/54. Печень. Диффузионный гепатит с накоплением инфильтрата в портобилиарных пространствах и на периферии ацина (темное поле). Продолжительность клинического заболевания 2 дня. Гематоксилин-эозин. Увелич. в 55 раз.



Obr. č. 4. Detail infiltrátu z obrazu č. 3. Buňky jaterní špatně přijímají barvivo pro imbibici žlučovým barvivem, jádra jaterních buněk jsou nezřetelná. Hematoxylin-eosin. Zvětšeno 140krát.

Рис. 4. Деталь инфильтрата из рисунка № 3. Печеночные клетки плохо реагируют на красителя для имбиции желчным красителем, ядра печеночных клеток неясны. Гематоксилин-эозин. Увелич. в 140 раз.

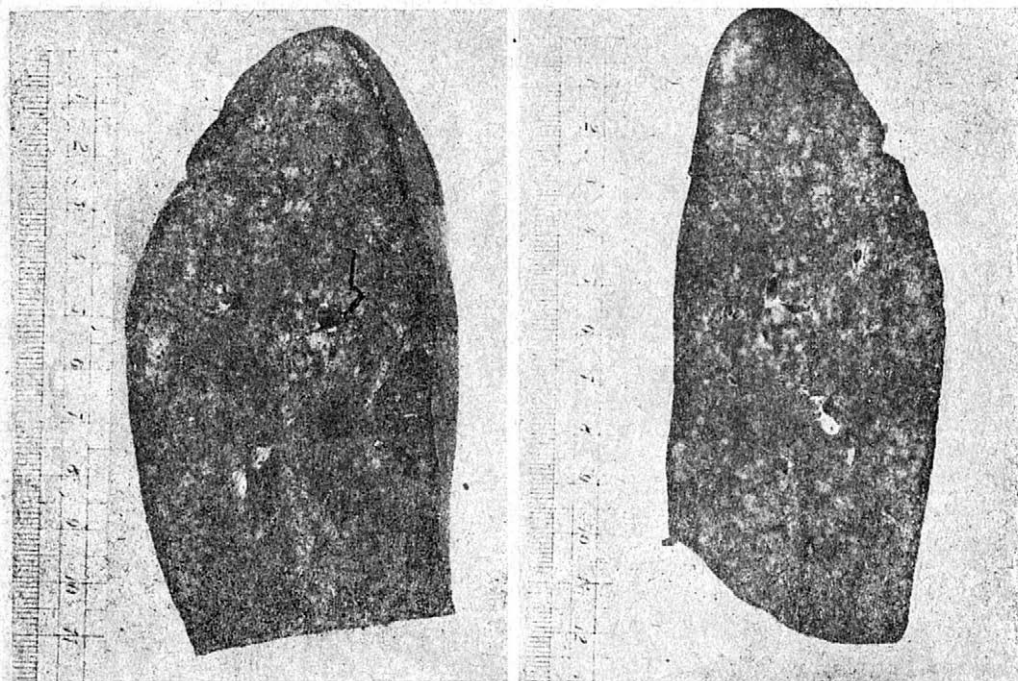
Případ č. 1

Orgány poraženého koně, pit. prot. č. A-7598/54

Anamnesa: Kůň onemocněl 19. 10. 1954, týden po klisně, která onemocněla přestála. Onemocnění začalo odmítáním krmiva a pozdějším nechutenstvím. Žvance píce nechával kůň při žvýkání třet mezi pysky. Při pití nořil hlavu do vody až po oči. Těžká žloutenka. Poražen 21. 10. 1954 v komatu. Zasláné orgány: slezina, játra, ledvina, kosterní svalovina.

Slezina zcela mírně zvětšená, s ojedinělými subkapsulárními krváceninami, na řezu parenchym tmavě rudý, trámčina výrazná. Játra mírně zvětšená, na povrchu barvy šedomodrohnědé, na řezu žlutohnědá. Ledvina: pod snadno slupitelným pouzdrům povrch žlutě skvrnitý, kora žlutě zbarvená, dřev překrvená. Bakteriologické vyšetření orgánů neprokázalo pathogenní zárodky.

Histologické vyšetření jater: jaterní tkáň poměrně zachované struktury, na periferii lalůček výrazné, převážně lymfocytární infiltráty, které v některých místech obkružují celý acinus, jinde jsou však omezeny jen na portobiliární prostory. V okolí centrální veny buňky jaterní degenerovány; v těchto místech diskretní infiltrace. Kapiláry mezi trámečky rozšířené, se množstvím buněčných elementů. Jsou zde četné okrouhlé nebo trojúhelníkovité buňky značně



Obr. č. 5, 6. Kůň A-4492/55. Hypertrofická cirrhosa jater. Pohled na řez lalokem jaterním.

Рис. 5. и 6. Лошадь А-4492/55. Гипертрофический цирроз печени. Вид на срез печеночной доли.

turgescenční a napěchované černavě hnědými zrnky pigmentu. Tyto buňky se hromadí hlavně blíže centra acinu, kde ojediněle najdeme shluky zrněk i v plasmě degenerovaných jaterních buněk. Argyrofilní kostra jater není porušena.

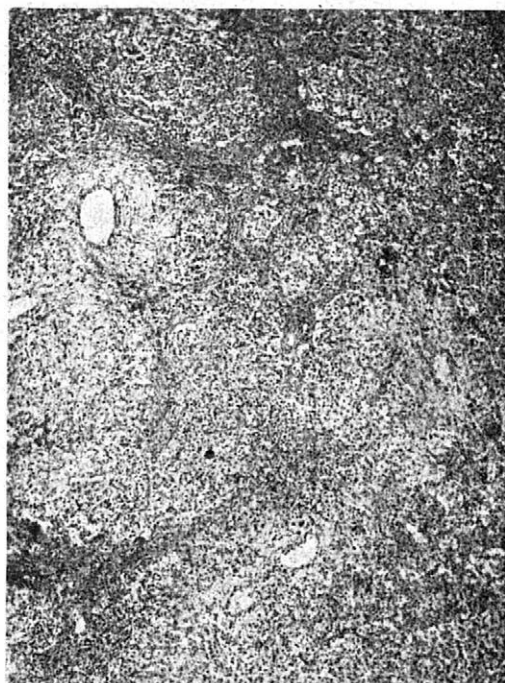
V ledvinách zjištěny na několika místech ložiskové infiltráty buněk lymfoidního i polynukleárního typu. V průřezu stočených kanálků a v luminu kanálků přímých hrudky oranžově a zeleně zbarvené.

Případ č. 2

Kůň, valach, ryzák se sv. hř., 5 r.

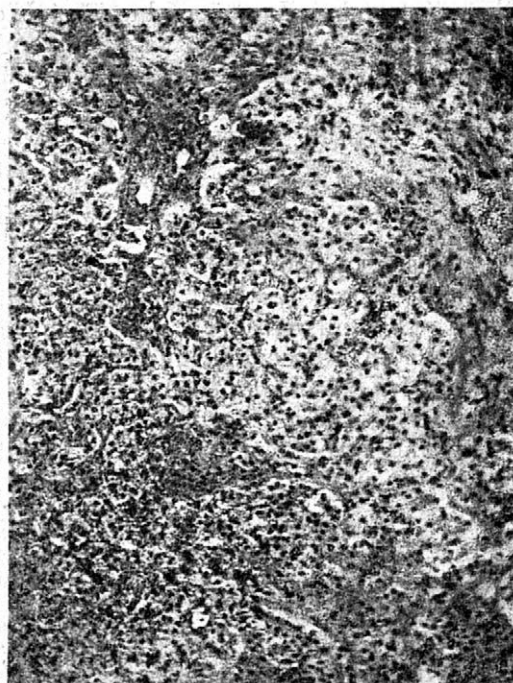
Onemocněl 20. 10. 1954. Apatie, nechutenství, silný ikterus. Teplota v počátku nemoci 38,3–38,5; 26. 10. T=38,7, 27. 10. T=39,4. Koně jsem vyšetřil klinicky 27. 10. 1954: silné ikterické zbarvení bělma očního, spojivek, sliznice nozder a tlamy. Somnolence, Necitlivost v krajině korunky. Ataxie zádi při chůzi. Podle výpovědi majitele byla moč zbarvena tmavěji; zachycena nebyla. Počet erytrocytů 6,610.000, nátěry krevní na piroplasmosu negativní. Serum haemolytické. Jaterní testy: Takata⁺; TZR 5 j.; kefalín-cholesterolový test⁺⁺⁺. Kůň uhynul 29. 10. 1954. ve 13,30 hod. Pitva provedena téhož dne ve 20,30 hod. (čís. pit. prot. A-7719/54):

Silné ikterické zbarvení bělma očního, spojivek, sliznice nosder a tlamy. Na plicích ojedinělé subpleurální krváceniny, levostranná hypostáza. Na levém srdci v okolí sestupné větve koronarie skupina malých plošných krvácenin. Na endokardu levého srdce čárkovité a plošné krváceniny. Chlopně bez pathologického nálezu. Myokard iktericky zbarvený, křehčí konsistence. Slezina silně zvětšená se zaoblenými okraji. Na řezu je trabekulární systém vkleslý, zatím co



Obr. č. 7. Kůň A-4492/55. Cirrhosa jater. Přehledný snímek. Vazivo rozrušuje acinosní strukturu jater. Místy hojnější buněčná infiltrace. Délka klinického onemocnění 7 dní. V. Gieson. Zvětšeno 70krát.

Рис. 7. Лошадь А-4492/55. Цирроз печени. Наглядный фотоснимок. Соединительная ткань разрушает ацинозную структуру печени. Местами более обильная клеточная инфильтрация. Продолжительность клинического заболевания 7 дней. В. Гисон. Увелич. в 70 раз.



Obr. č. 8. Detail z obrazu č. 7. Vazivo obkružuje ostrůvky jaterní tkáně. V. Gieson. Zvětšeno 150krát.

Рис. 8. Деталь к рисунку № 7. Соединительная ткань окружает островки печеночной ткани. В. Гисон. Увел. в 150 раз.

červená pulpa promínuje; z řezu vytéká množství krve. Ledviny zduřelé, pouzdro dobře slupitelné. Dilatace povrchových cév, v koře místy šedivá ložiska zánětlivých infiltrátů. Žaludek bez nálezu, na bledé sliznici tenkého a slepého střeva drobné tečkovité krváceniny hlavně podél řas. V tlustém střevě krváceniny zcela ojedinělé. Středně silná invase strongylů.

Játra celkově nezvětšená, chabá, hnědavě šedozelené barvy na povrchu. Místy viditelná lalůčkovitá kresba; na řezu mají játra žlutozelený nádech a je zde patrna stromečkovitá struktura. Konsistence jater je místy poněkud křehčí.

Histologické vyšetření jater je ztíženo ikterickým zbarvením, buňky špatně přijímají barvivo. V centru lalůček nastává nekrobiosa jaterních buněk, která postupuje různě daleko do periferie acinu (obr. č. 1 a 2). V místech nekrotické

tkáně nacházíme buněčný detritus a řídký infiltrát. Místy lehké zmnožení kolagenních vláken. Na přechodu nekrosy v ostatní tkáň jsou buňky jaterní s několika malými anebo jedinou velkou tukovou vakuolou; jádro mnohdy mizí a na periferii buňky nacházíme pak jen zbytek temně se barvícího chromatinu. V degenerované tkáni lze nalézt četné vakuolární útvary, uvnitř kterých je shluk hnědočerně se barvících jehliček, přes sebe překládaných nebo paprscitě vyběhávících. Nejzachovalejší jsou buňky jaterní na periferii acinu. Četné kapilární žlučové tromby. Zmnožení buněčných elementů mezi trámci jaterními. Zrnka rezavě hnědého pigmentu. Vazivo kolem žlučovodů prosáklé s nakupením lymfo- a histiocytárního infiltrátu. Argyrofilní kostra jater je destruována v centru acinů.

Případ č. 3

Kůň, klisna, Hd, 6 r.

Klisna onemocněla 21. 10. 1954, kdy náhle odmítla krmivo. Somnolence, hlava opřená o zeď nad žlabem, fibrillární záškuby v krajině plevní. Kouše vedle stojícího koně. Při krmení nechává třet sousta mezi pysky. Žloutenka.

Dne 25. 10. jsem klisnu sám vyšetřil. Somnolence trvá, hlava opřená o žlab. Při odběru krve klidně stojí. Dá se těžko ovládat udidlem. Ikterus výrazný. Klisna vstává tak, že zvedne nejprve zad, klečí na předních končetinách a pak se zvedne i předkem. Uzdravení nastalo po 14 dnech nemoci. Později klisna normálně pracovala, aniž projevila nějaké známky poruchy zdravotního stavu.

Případ č. 4

Kůň, valach, Hd, 17 r.

Dne 17. 11. 1954 ráno přestal přijímat krmivo, trus byl sušší a byl odsazován v malém množství. Malátnost, svěšená hlava, při chůzi vrávorá. Moč hnědě zbarvená. Vyšetřen 18. 11. 1954: apatie, chůze normální. Spojivky pomerančově zbarvené. Počet erytrocytů 7,480.000 v 1 cm, bílých krvinek 9.000 v 1 cm. Serologické vyšetření na leptospirózu negativní. Bilirubin v seru krevním: 10 mg %. Jaterní testy: Takata⁺, TZR = 0,7 j., kef. -choi.⁺⁺⁺, zlatosol neg. Elektroforetické vyšetření krevního sera poukazovalo na jaterní proces v akutnějším stadiu. Při kontrole 25. 11. bylo zjištěno, že ikterus vymizel, kůň je opět živého temperamentu, nedá na sebe sáhnout. Při pozdějších opakovaných kontrolách majitel udává, že kůň normálně pracuje a je zdravý.

Případ č. 5

Kůň, klisna, Hd, 5 r., č. pit. prot. A-4492/55

Anamnesa: Dne 9. 6. byla klisna malátnější. Přivolaný veterinární lékař nařídil dietu. Klisna byla somnolentní. Dne 12. 6. 1955 opírala hlavu o žlab a chvěla se v krajině plevní. Teplota 38,3. Žloutenka nebyla pozorována. Moč z počátku nahnědlá, později žlutá. Trus měkký, v menším množství než obvykle. Krmivo přijímala poměrně dobře po celou dobu nemoci. Dne 14. 6. 1955 ráno bylo pozorováno chvění ve slabinách a celková slabost. Téhož dne odpoledne objevilo se silné pocení, klisna řičela a vzpínala se předními nohama do žlabu a na zeď. Tlačila se proti zdi, při vyvádění nereagovala na pobídku ani na udidlo a šla kupředu bez ohledu na překážky. Byla poražena 15. 6. 1955. Pitvu jsme provedli téhož dne několik hodin po smrti s tímto nálezem: podkožní tuk mírně iktericky zbarven.

Játra jsou zvětšená, zaoblených okrajů, váží 9,5 kg. Na povrchu prosvítají pod Glissonovým pouzdrém nepravidelná, nažloutle šedá ložiska, poněkud prominující. Játra jsou na pohmat velmi tuhá, na řezu převládá skvrnitě žlutošedá barva (obr. č. 5 a 6), struktura rozrušená, řez jakoby složen z velkých granul. Místy je tkáň jaterní zachovalejší, což se projevuje tmavší hnědí parenchymu, jinde zase jsou žlutě zbarvené dystrofické okrsky. Velké žlučovody bez patologických změn. Na diaphragmatické ploše několik zvápenatělých uzlíků velikosti krupky parasitárního původu.

Slezina nezvětšená, ostrých okrajů, těstovité konsistence. Barva na povrchu růžově šedomodrá, na řezu výrazný trabekulární systém bez význačnější aktivační bílé pulpy.

Ledviny bez patologických změn.

Žaludek: Obsah v přiměřeném množství, tužší, bez plynů a tekutiny, stěna žaludku přiléhá těsně k obsahu. Sliznice beze změn.

Tenké střevo: Obsah hlenovitě vodnatý, zlatově hnědě zbarvený. Sliznice tenkého, slepého i tlustého střeva bez patologických změn.

Mozek bez makroskopických změn.

Ostatní orgány, zde nepopsané, nevykazovaly úchyly od normálu.

V histologickém obraze jater převládá těžká destrukce jaterní tkáně. Acinosní struktura jater úplně mizí v důsledku zmnožení vaziva, které se v pružích vnořuje od portobiliárních prostorů do nitra acinu a rozděluje tak acinus na ostrůvky buněčných skupin, vazivem obkroužených. Vazivo tvoří však také jemné proužky, které obdávají skupiny třeba jen několika buněk, jak je vidět na preparátech barvených podle v. Giesona a zejména pak na preparátech impregnovaných stříbrem. Vazivo je místy silněji infiltrováno buněčnými elementy. Buňky jaterní jsou zachovalé ve své struktuře jen zčásti; místy jsou hyperplastické, jinde podléhají atrofii, při čemž jsou jádra hyperchromní a poněkud svraštělá. Nacházíme zde ložiskové překrvení až haemostasu. Vznikají drobná krevní jezírka v důsledku porušeného krevního oběhu v játrech. Hojný rezavě hnědý pigment, většinou fagocytovaný. Místy ojedinělé eosinofilní leukocyty. Celkový obraz jater makro- i mikroskopický odpovídá hypertrofické cirrhose.

Na mozkou nebyly zjištěny výrazné histopathologické změny.

Ostatní sledované případy nepopisují, neboť by to přesahovalo rámec této práce.

Pokus o přenos na koně

Za účelem zjištění případné infekčnosti choroby inokulovali jsme dvěma koním materiál z akutně a letálně probíhajícího případu. Jako inokula bylo použito 10% suspense tkáně jaterní a sleziny z koně č. pit. prot. A-7.719/54. Každému z pokusných koní bylo vstříknuto 10 ccm suspense podkožně. Šlo o vyřazené starší koně, neboť nebylo možno opatřit koně mladší nebo hříbata.

U koně Z., valacha,

se pohybovala teplota po celý čas pozorování po očkování (od 13. 11. 1954 do 18. 2. 1955) v mezích normy, mnohdy naopak byla subnormální. Krevní obraz byl sice sledován, protože však byla koni odebírána krev častěji ještě pro jiné účely, není možno objektivně posoudit zjištěné změny. Vyšetření krevního sera z 23. 11.: bilirubin nepř. 1,46 mg %; TZR 1,25 j.; Takata⁺; kef. -chol. ⁺⁺⁺ zlatosol negativní. Serologické vyšetření na leptospirosu negativní.

Vyšetření krevního sera 1. 12. 1954.: bilirubin nepř. 1,24 mg %; TZR 0,4 j.; Takata ⁺⁺; kef. -chol. ⁺⁺⁺; vyšetření na leptospirosu negativní.

Vyšetření krevního sera 8. 12. 1954.: bilirubin nepř. 1,83 mg %; TZR 1,7 j.;

Takata⁺; kef. -chol.++++; serologické vyšetření na leptospirósu negativní. Téhož dne bylo provedeno elektroforetické vyšetření krevního sera. Posudek (Sokol) vyzněl v tom smyslu, že jde o jaterní proces ve stadiu stabilisace.

Kůň byl poražen 18. 2. 1955. Makroskopicky nebylo lze pozorovat změny na vnitřních orgánech. V játrech ložiskové zmnožení buněčných elementů v okolí žlučových i v prostorách mezi trámcí jaterními. Změny jsou však tak diskretní, že je nelze objektivně hodnotit jako patologické.

Kůň C., klisna, inokulace 13. 11. 54

Dne 29. 11., t. j. za 16 dní po inokulaci stoupá teplota na 39,2, spojivky jsou zarudlé. V následujících dnech (30. 11., 1. 12.) teplota se pohybuje od 39° C do 38,8° C, spojivky silně nastříklé. Je pozorována ochablost.

Vyšetření krevního sera 1. 12.: bilirubin nepř. 2,63 mg %; TZR 1,0 j.: Takata⁺; kef. -chol.+++; teplota klesá na normu po čtyřech dnech a její zvýšení není do konce pozorovacího období zaznamenáno.

Vyšetření krevního sera 8. 12.: bilirubin 1,83 mg %; TZR 3,3 j.: Takata⁺⁺; kef. -chol.+++; vyšetření na leptospirósu negativní. Posudek elektroforetického vyšetření krevního sera z téhož dne (Sokol) udává přítomnost subakutního jaterního procesu.

Dne 18. 2. 1955 byla klisna poražena a na jejích vnitřních orgánech kromě chronické cystitidy a močového písku nebyly zjištěny makroskopické změny. Histologický obraz jater odpovídal diskretním změnám po prodělané hepatitidě (3 měsíce po akutní fázi).

Jsme si vědomi toho, že tyto dva pokusy o přenos nejsou dokonalé. Přesto však jsou slibné, a proto bude nutno pokusy o přesnost rozšířit a propracovat, což bude naším dalším úkolem.

Botanický a půdní charakter postižených oblastí

Případy onemocnění v jednom z pozorovaných okresů (B) vyžadovaly pro svůj rychlý průběh vyšetření krmiva také s hlediska botanického, neboť v době, kdy jsme ještě neměli ucelenou představu o podstatě choroby, bylo nutno vyloučiti či potvrditi možnost intoxikace, ať už intoxikace chemickými jedy či bylinami, které obsahují alkaloidy. Vyšetřením obsahu žaludku uhynulých koní a také podrobným anamnestickým průkazem v tomto směru v postižených hospodářstvích vyloučili jsme otravu chemickou. Z literatury je známo, že některé rostliny působí toxicky látkami, které obsahují; tak na př. po bažance (*Mercurialis*) onemocní skot i koně často smrtelně rovněž za příznaků žloutenky a haemoglobinurie, lupinus vyvolává po delším zkrmování poškození jater, pro- vázené žloutenkou. Proto jsme téměř ve všech hospodářstvích odebrali opakovaně vzorky krmiva a zejména jsme věnovali pozornost dvěma hospodářstvím, kde uhynulo postupně více koní. V žádném případě jsme nezjistili byliny jedovaté. Ve zmíněných dvou objektech byla přimíšenina rostlin nežemě- dělských tak nepatrná, že vyšetřovaný porost se dal považovat za čistou kul- turu vojtěšky. Nebyly zde zastoupeny rostliny jedovaté, anebo i když jsou zde byliny, obsahující toxické látky (svlačec, oves hluchý), neobsahují části je- dovaté (svlačec je v listu, zatím co toxin je obsažen v semeni), anebo jsou v množství, které není nutno brát v úvahu. Pro ilustraci uvádím názvy při rozboru zjištěných rostlin, přimíšených do vojtěšky, která byla v kritické době zkrmována v sušeném stavu: žito (*Secale cereale*), svlačec (*Convolutus arven- sis*), srpek (*Falcaria* sp.), hrachor hliznatý (*Lathyrus tuberos.*), pupava, pcháč rolní, škarda, smetanka, jetel luční; v otavě nalezen oves hluchý, jílek, svlačec, maceška, kopretina přímořská, bedrník obecný, pcháč rolní, mochna jarní, škarda dvouletá a jetel luční.

Oves byl velmi dobré jakosti. Začátkem června 1955 podnikli jsme botanický průzkum v lokalitě A i B, abychom získali přehled o druhovém zastoupení rostlin v období vegetace.

V oblasti B se půda skládá většinou z vápenců. Pole se střídají s křovinatými porosty, ovčími pastvinami a smíšenými lesy. Vojtěškové kultury jsou poměrně čisté, místy zaplevelení maceškou rolní, ojedinělé exempláře pryskyřníku, černýše rolního, piply osmahlé a vikve. Na kamenitých mezích kakost smrdutý, prysec chvojka, toten menší, rozchodník prudký. Na ovčích pastvinách s nízkým travnatým porostem zjištěn rozrazil rozprostřený, mochna jarní a popenec. Pole jsou namnoze vroubena hlohem, trnkou a babykou. V lesních kulturách borovice, smrk, bříza. Podle údajů chovatelů roste zde i hlaváček letní, a to jen na určitých místech a čas od času, je chovatelům dobře znám a není koním zkrmován, protože ho vyhazují, nebo seno vůbec odmítají. Dále bylo zjištěno, že na mezích roste jetel kočíčí, jehož odvaru hospodáři používají jako močopudného prostředku u koní.

Lokalita A má geologické složení úplně odlišné. Základ zde tvoří žuly s úzkými pruhy ssuti a recentních náplavů. Pole se střídají s loukami a smíšenými lesy. Pěstuje se hlavně jetel červený, který je v létě zkrmován čerstvý ve směsi s řezankou. V jeteli byl zjištěn jitrocel kopinatý a šťovík. Místy maceška rolní. Na mezích rožec a smolnička. Louky dávají sladké seno (kostřava, bojínek, psárka, kopretina, pampeliška srstnatá). Jen na nepatrných úsecích nejsou louky meliorovány a jsou proto vlhké. V těchto mokřadlech vyrůstají trsy kyselých trav, pryskyřník, kohoutek luční a suchopýr úzkolistý. Dietní závady zjištěny nebyly. Chovatelé již po léta krmí stejným způsobem.

Na základě terénního průzkumu a pro odlišnost obou lokalit jsme usoudili, že onemocnění koní není v přímém vztahu ke složení půdy ani ke květeně.

Zhodnocení případů s hlediska epizootologického

V okrese A se onemocnění vyskytlo v několika případech již v roce 1953, kdy mu nebyla věnována pro sporadický výskyt patřičná pozornost. Teprve v letních měsících 1954 nastal nenadálý vzestup počtu případů a také letos jsme již během sestavování této práce zachytili dva nové případy. Choroba se vyskytla ve více osadách okresu. Je pozoruhodné, že se mnohdy onemocnění projevilo jen u jednoho koně, zatím co druhý zůstal zdravý, i když byl v denním styku s nemocným. V několika případech onemocněli oba koně, a to nikoli současně, ale asi ve čtrnáctidenním intervalu. Ve stejné době či krátce po sobě objevila se nemoc v různých částech obce; často byly postiženy usedlosti spolu sousedící.

V okrese B choroba propukla náhle ve dvou usedlostech jedné obce a později byly postiženy ještě dvě jiné usedlosti. Všechna postižená hospodářství jsou ve stejné části obce. Průzkumem bylo zjištěno, že do hospodářství Ř. byl přiveden kůň, který byl delší čas předtím v okrese A. Asi po čtrnácti dnech po příchodu onemocněl za neurčitých příznaků a musel být odporažen. Při sousedské svépomoci zapůjčil rolník P. rolníku Ř. jednoho koně, který přes den byl krměn a ustájen v usedlosti Ř. a jen na noc se vracel domů. Také soused Č. se výpomocí zúčastnil. Oběma těmto rolníkům onemocněli postupně všichni koně (celkem 9 koní). Interval mezi jednotlivými případy se pohyboval od 7 do 30 dnů. Kromě toho onemocněl v té době jeden kůň hospodáře M., jenž se s oběma postiženými stýkal. V únoru 1955 se vyskytlo další onemocnění, avšak diagnosa nemohla být pitevně a histologicky ověřena pro pokročilý hnilobný rozklad vnitřních orgánů kadaveru.

Stojí za povšimnutí, že se choroba vyskytovala v letních měsících, počínajíc červnem, s maximem v srpnu a září. V okrese B byly první případy zachyceny

v září, poslední v prosinci (v únoru). Charakter průběhu onemocnění nepoukazuje na intoxikaci. Piroplasma byla vyloučena vyšetřením krevních nátěrů, nehledě k tomu, že klíšata nebyla na koních nalezena, případně se onemocnění vyskytovalo i v době, kdy napadení klíšat nepřicházelo vůbec v úvahu. Orientačně bylo několik prvních případů s nervovým syndromem a benigním průběhem vyšetřeno serologicky na klíšovou encefalitidu čs., západní koňskou a choriomeningitis. Výsledek byl negativní (Kolman, SZÚ). Z mozkové tkáně jednoho koně, poraženého in extremis, založili jsme isolační pokus na chorioalantoidové bláně kuřecích zárodků s výsledkem negativním.

Výskyt ikteru u koní máme zjištěn také na několika jiných místech Čech. Jsou to však případy ojedinělé a benigně probíhající. Vyšetřovali jsme je pouze biochemicky, a proto jsme je nezahrnovali do této sestavy.

Souhrn

Je popsán výskyt hepatitidy u koní, její klinická symptomatologie a nálezy pitev. Hepatitis je provázena téměř vždy ikterem, což se projevuje kromě jiných známek také podstatným zvýšením obsahu bilirubinu v krevním seru (až na 10 mg %). Jde o bilirubin, dávající nepřímou reakci v Berghovu. Jestliže podle dnešních názorů máme za to, že retikuloendothel bilirubin tvoří a jaterní buňka je orgánem, který toto barvivo přijímá a předává do žlučových cest, pak tato skutečnost znamená, že bilirubinaemie je v našich případech způsobena poškozením jaterní buňky, která není schopna zachytiti barvivo, nabídnuté jí retikuloendothelem. Nastává t. zv. funkční blokáda jaterní buňky. Zvýšení obsahu nepřímo reagujícího bilirubinu v seru je zjišťováno také při haemolytické žloutence, o kterou však v našich případech neběží.

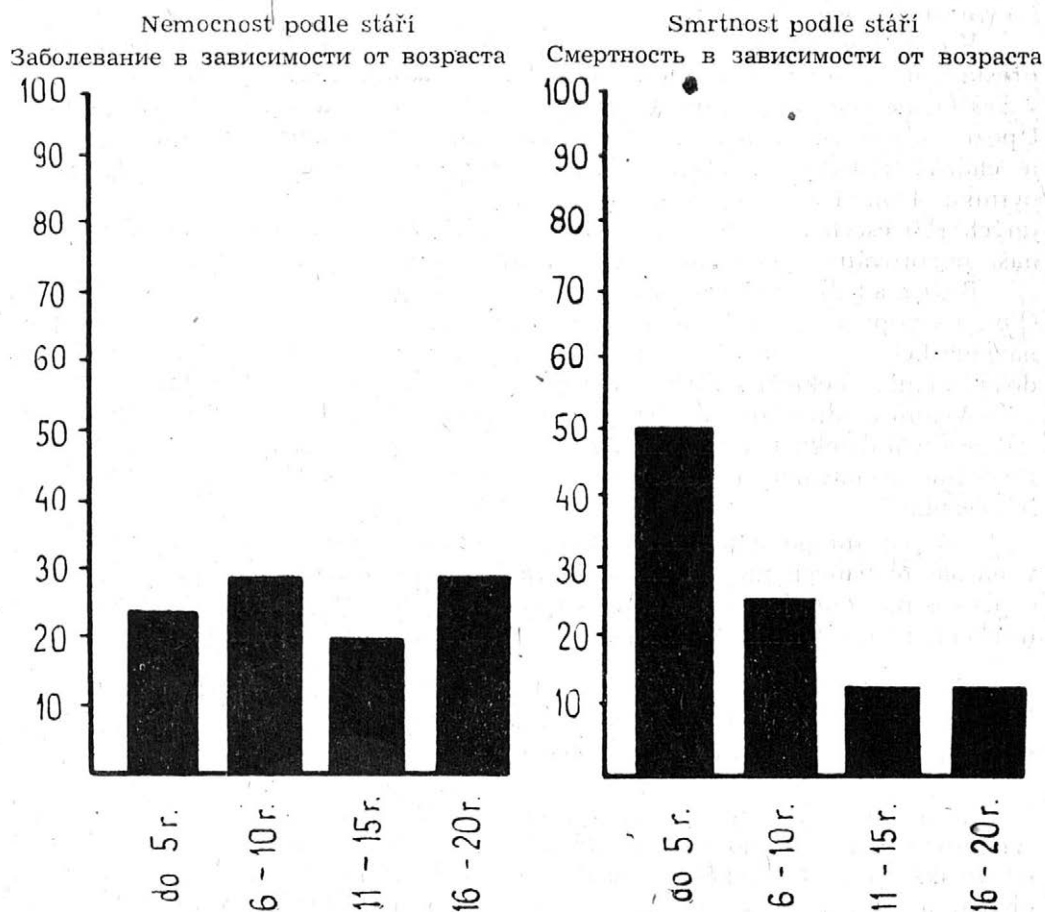
Při vzniku těžké hepatodystrofie v průběhu onemocnění nastává v posledních hodinách života v některých případech haemoglobinaemie a haemoglobinurie. Je to důkazem toho, že nejen jaterní parenchym, ale i retikuloendothel, v němž se bilirubin tvoří z haemoglobinu, je komplexně blokován, takže nedochází ani ke zpracování haemoglobinu, který vzniká při normálním zániku erytrocytů.

Rozpad haemoglobinu a jeho přeměna nejsou s konečnou platností vyřešeny. Podle Netouška (ústní sdělení) se u koně haemoglobin rozpadá způsobem dosud neznámým, ale je jisto, že zde neplatí bez výhrady poučka o vztahu haemoglobinu a bilirubinu, známá z medicíny humánní. Biochemické poměry jaterních funkcí u koně jsou totiž poněkud odlišné od poměrů u člověka, a proto se ani biochemické zkoušky, zastavené na lidský organismus, nedají bez příslušné úpravy většinou hodnotit. Ani v naší sestavě nemůžeme na základě provedených jaterních testů vytyčit nějaký markantní rozdíl mezi výsledky u koní zdravých a výsledky, získanými vyšetřením ser koní v akutní fázi onemocnění či v rekonvalescenci. Jedině kefalín-cholesterolový test vychází u koní nemocných vždy na +++++, zatím co u koní zdravých na ++ a v ojedinělých případech na +++.

Bude úkolem našich veterinárních biochemiků zabývatí se blíže biochemismem při jaterních poruchách koní a vypracovati laboratorní metody zkoušek, které by klinikovi dovedly něco říci o stavu jaterního parenchymu.

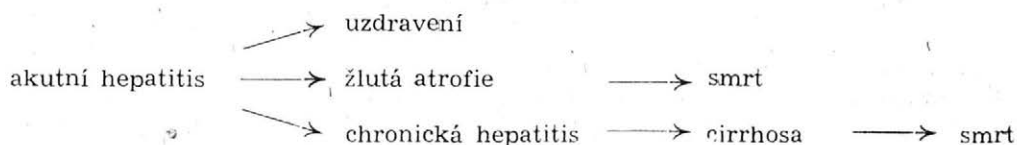
Na základě pitev a histologických vyšetření, které jsme v našich případech provedli, můžeme si učinit představu o změnách, vznikajících na játrech v průběhu onemocnění: v akutních případech vzniká hepatitis, charakterisovaná převážně lymfocytární infiltrací, řídce rozhozenou po celém parenchymu, při čemž dochází k nakupení infiltrátu v portobiliárních prostorech. Při těžším průběhu vzniká v centrálních partiích acinu nekrobiosa jaterních buněk, sahající různě

hluboko k periferii acinu. Ve zvláště těžkých případech nastává difusní rozpad jaterní tkáně, takže vzniká obraz žluté atrofie jater. Tehdy jsou zachovány jen poměrně malé okrsky jaterní tkáně hlavně v okolí portobiliárních trigonů. V jednom případě byl zjištěn pokročilý chronický zánět jater, vlastně již cirrhosa. Tento kůň pocházel z území, kde se hepatitis vyskytuje již třetí rok (okres A)



a z hospodářství, kde před rokem onemocněl jiný kůň za příznaků žloutenky s benigním průběhem. Nedá se přesně určit, kdy nastala laese jaterního parenchymu, neboť kůň nikdy nejevil zřetelné známky onemocnění. Podle nálezu dá se však předpokládat, že nejméně před několika měsíci vzniklo subklinické, latentní onemocnění, které se projevilo až v posledních stádiích, kdy nastala jaterní insuficience v důsledku cirrhosy.

Schema průběhu onemocnění by bylo tedy následující:



V několika případech, které končily letálně, jsem zjistil delirantní stavy, které jsou způsobeny selháním jaterní činnosti. Vyskytly se jak při vzniku žluté atrofie, tak i při cirrhose. Bude naším dalším úkolem objasnit blíže podstatu těchto nervových poruch. O zánětlivé onemocnění CNS neběží.

V jednom případě s letálním koncem v komatu byl jasně vyznačen obraz haemorrhagické diathesy, takže na základě makroskopického nálezu pitevního bylo vysloveno podezření infekční anemie jednokopytníků. Toto podezření bylo však dalším šetřením vyloučeno. U hepatitid, zvláště pak u žluté atrofie jater, je často silně vyznačen sklon k haemorrhagické diathese. Tento stav je zaviněn poruchou funkcí jater, ve kterých se tvoří také látky, důležité v systému krevní srážlivosti.

V červeném krevním obraze byla patrna u několika koní, kteří onemocněli přestáli, lehká anemie, v bílé krevní složce v akutní atace někdy leukocytosa, v rekonvalescenci v několika případech leukopenie a relativní lymfocytosa. Upozorňujeme zejména na lymfocytosu, o níž někteří autoři předpokládají, že je charakteristickým znakem chronického průběhu infekční anemie jednokopytníků. Domníváme se, že se lymfocytosa může vyskytnout u koní také při jiných procesech a stavech, zejména při zánětech jater, jak tomu nasvědčuje naše pozorování a jak je to konečně známo v humánní medicíně.

Bernardt, Dobberstein, Krage, Móczy, Stenius, Cohrs popisují případy hepatitidy u koní, končící v 70–80 % smrtelně, pod názvem Leber — Gehirnkrankheit. Udávají, že příčina tohoto onemocnění není dosud známa, někteří z nich považují toto onemocnění za intoxikaci.

Akutní atrofie jater u koní je popisována v jižní Africe pod názvem akut staggers (Malziekte), v Severní Americe je označována názvem blind staggers. Posledně jmenovaná choroba je prý způsobena intoxikací semeny *Amsinckia intermedia*.

Při pátrání po objasnění etiologie popsaného onemocnění nepodařilo se v našich případech nalézt fakta, která by poukazovala na intoxikaci. Pokus o přenos na koně, jakož i celkový charakter nemoci poukazuje na onemocnění infekční, nebakteriální. V pokusech o přenos dále pokračujeme.

Z á v ě r

Jsou popsány případy enzootické hepatitidy u koní. Je podán rozbor symptomů, pathologicko-anatomických a histologických nálezů, rozbor případů s hlediska epizootologického, je podán botanický a půdní charakter postižených oblastí a popsán pokus o přenos na dva koně. Autor uvádí, že jde o hepatitidu, která může končiti úplným uzdravením nebo vznikem žluté atrofie, nebo může přejíti do chronicity a končí pak cirrhosou jater. Zdá se, že tato choroba je způsobena infekční noxou. Nejde o leptospirosu či jiné bakteriální onemocnění. Je zde značná podobnost s virovou hepatitidou lidskou. Práce dosud nejsou skončeny a o výsledcích dílčích výzkumů bude referováno po jejich ukončení.

Literatura

1. Bokori J., Kovács F., Haraszi E.: Lovak egynyári szélfü (Mercurialis annua) Mérgézésé. (Magyar állatorvosok lapja 1955.) — 2. Brzozowski Ch.: Przypadek masowego zatrucia koni lubinem. (Meyc. Weteryn. 1955, č. 3.) — 3. Dierhofer K., Kment A.: Bingelkrautvergiftung beim Rind. (WTM, 1943, 37/38, 39/40.) — 4. Domanský Fr.: Příspěvek k hematologické diagnostice nakažlivé chudokrevnosti a k její terapii. (Čas. čs. vét. 1948, č. 17.) — 5. Hořejší J.: Choroby jaterní, I, II. díl, 1947. — 6. Hutýra F., Marek J., Maninger R., Móczy J.: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. (Jena 1952.) —

7. Jelínek V.: Všeobecná etiologie. (Brno 1947.) — 8. Jockovič M., Davidovič B.: Vergiftungen mit Stachys annua bei Pferden. (Ref. WTM, 1955, seš. 7.) — 9. Kolektiv autorů: Infekční hepatitis. (Praha 1954.) — 10. Nieberle, Cohrs: Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. (Jena 1949.) — 11. Netoušek M.: Přednáška o rozpadu krevního barviva. (Praha 1955.) — 12. Pěer H.: Bericht über die in den Jahren 1953 und 1954 eingelaufenen Futterproben und ihre schädlichen Pflanzenbestandteile. (WTM, 1955, seš. 5., roč. 42.) — 13. Postuvanschitz H. H.: Erythrozytensenkungsgeschwindigkeit und Blut-eiweißkörper bei Pferd und Hund. (Ref. WTM 1955, seš. 5., roč. 42.) — 14. Tala-fant E.: O povaze přímého a nepřímého bilirubinu. (Chem. listy, 1954, č. 5.) — 15. Wirth D.: Grundlagen einer klinischen Hämatologie der Haustiere (1950).

К вопросу энзоотического гепатита лошадей

В предложенной работе описаны случаи энзоотического гепатита у лошадей. В работе излагается анализ симптомов патологическо-анатомических и гистологических признаков, анализ случаев с точки зрения эпизоотологической и описан ботанический и почвенный характер пораженных областей и опыт переноса заболевания на двух лошадей. Автор указывает, что дело идет о гепатите, который может окончиться полным выздоровлением животного, или возникновением у него желтой атрофии печени, или, наконец, может принять хроническую форму и кончиться циррозом печени. Очень вероятно, что эта болезнь вызывается инфекционной ноксой. В настоящем случае речь не идет о лептоспирозе или ином бактериальном заболевании. Однако ход этой болезни значительно подобен вирусному гепатиту наблюдаемому у людей. Исследовательские работы до сих пор не закончены и о результатах частичных исследований будет сделан доклад после их окончания.

A Contribution to the Enzootic Hepatitis in Horses

There are described the cases of hepatitis enzootica in horses. It is given an analysis of clinical symptoms, pathologico-anatomical symptoms, and pathologico-histological findings, an analysis of cases from the epizootological point of view and is given the botanical character and the character of the soil of the infested territories; there is described the experiment of transferring of the illness on two horses. The author makes known that the disease in question is hepatitis which can be ended either by recovery, or by yellow atrophy, or is able to go over to chronicity and is ended by cirrhosis hepatis. It looks like this illness is caused by infectial agents; it is neither leptospirose nor any other bacterial illness. There is a remarkable resemblance with human hepatitis caused by virus. The experiments aren't finished yet and about the results of partial experiments an account will be given.

Beitrag zur enzootischen Leberentzündung der Pferde

In der Arbeit wird die enzootische Leberentzündung der Pferde beschrieben, und zwar ihre klinische Symptomatologie, und pathologisch-anatomische und histologische Befunde. Weiter wird die Krankheit aus der epizootologischen Hinsicht besprochen und es wird auch der Übertragungsversuch auf zwei Pferde geschildert.

Der Verfasser vermutet, daß es sich um eine Leberentzündung handle, welche mit Genesung oder mit der gelben Leberatrophie endigt. Diese akute Hepatitis kann aber in die Chronizität bis in die Leberzirrhose übergehen. Die Krankheit scheint durch eine infektiöse Noxe verursacht zu sein. Es handelt sich aber nicht um eine Leptospirose oder um bakterielle Erkrankung anderer Art. Die Ähnlichkeit der enzootischen Leberentzündung der Pferde mit der virösen Leberentzündung des Menschen ist auffallend. Die Versuche sind noch nicht völlig beendet. Über Resultate einzelner Teilversuche werden wir bis nach ihrer Beendigung referieren.

Studium účinků chlorovaných uhlovodíků a některých derivátů substituované kyseliny karbaminové proti škrkavce vepřové *Ascaris suum* Goeze in vitro

Изучение действия хлорированных углеводородов и некоторых дериватов
субститутных карбаминových кислот против глистов свиней
Ascaris suum Goeze in vitro

The Study of Effects of the Chlorated Hydrocarbons and of Some Derivates of the Substituted Carbamine Acid against the Swine Maw-Worm *Ascaris suum* Goeze in vitro.

Das Studium der Wirkungen von chlorierten Kohlenwasserstoffen und einiger Derivaten der substituierten Karbaminsäure gegen den Schweinespulwurm *Ascaris suum* Goeze in vitro.

Dr Ing. V. KOULA, O. VESELÁ

Výzkumný ústav rostlinné výroby ČSAZV v Praze-Ruzyni, oddělení ochrany rostlin —
fytofarmaceutická laboratoř

Došlo dne 20. X. 1955

Úvod

V roce 1951 bylo tehdejší fytofarmaceutické laboratoři Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii uloženo prostudovat celkem 44 látek s převážně insekticidním charakterem, u kterých se theoreticky dal předpokládat anthelmintický účinek. Většinu z nich syntetisoval Dr Weichet a mnohé zkoušené látky nebyly dosud v literatuře popsány.

Studium anthelmintik vynutila si naše veterinární praxe, která volala po účinných přípravcích proti střevním parazitům domácích zvířat, zejména proti škrkavce vepřové *Ascaris suum* (Goeze). Daný úkol svou problematikou nespadal do pracovní náplně této laboratoře, avšak omezené možnosti a časová tíseň nedovolily jiné řešení. Původně nebylo naším úmyslem práci zveřejňovat, avšak příznivé výsledky klinického studia látek námi in vitro vyhodnocených, prováděné prof. Kloboukem a později prof. Lebduškou (2), si toho vyžadují.

Část všeobecná

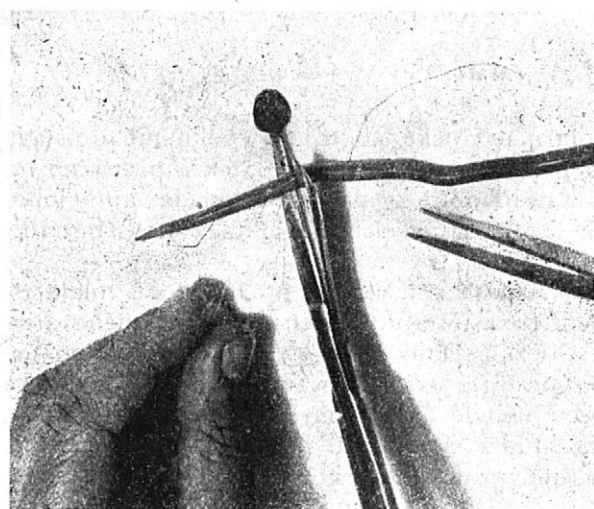
K testování anthelmintik in vitro používá se neporušených parazitických a volně žijících červů nebo jejich izolovaných svalových po případě neurosvalových částí. Z parazitických červů používá se nejčastěji škrkavky vepřové *Ascaris suum* (Goeze), která se může přechovávat podle starších prací v 1 %

roztoku chloridu sodného po dobu 3—5 dní a po saturaci kyslíčným uhlíkem i déle. Dobu přežívání možno prodloužit přidáním 0,6 % hydroxydu sodného. Velká řada autorů pěstovala škrkavky v různě modifikovaném Ringerově, Tyrodově a Fenwickově fyziologickém roztoku. V našich pokusech jsme použili jako testovacího materiálu rovněž škrkavky vepřové, opatřované v Ústředních jatkách a přenášené do laboratoře v termoskách, obsahujících B a l d w i n e m (1) modifikovaný Ringerův fyziologický roztok tohoto složení: 80 g chloridu sodného, 2 g chloridu draselného, 2 g chloridu vápenatého, 1 g chloridu hořečnatého a 10 litrů destilované vody. V tomto roztoku při teplotě 38° C se mohou škrkavky v laboratoři přechovávat maximálně 13 dní. Do pokusů berou se však čerstvě přinesené z jatek nebo v laboratoři 1 den přechovávané, protože jinak jejich odolnost vůči chemickým látkám klesá s dobou umělého přechovávání. Anthelmintika se studují in vitro buď metodou kymografickou nebo metodou přeživacích pokusů.

Část experimentální

1. Kymografická metoda

Na pohyblivé samičce škrkavky vepřové byla slabým, ale pevným hedvábím provedena první ligatura (3) asi 30 mm frontálně od genitálního poru, druhá ligatura asi 4 mm frontálně od genitálního poru, třetí ligatura asi 25 mm kaudálně za pysky a čtvrtá ligatura nejdále $\frac{1}{2}$ mm za pysky. Frontálně od první, kaudálně od druhé a třetí ligatury byla škrkavka přestřižnuta a tím získány dva uzavřené preparáty, při čemž přední obsahoval svalovinu oesophagu a nervový kruh s největším počtem gangliových buněk a střední byl čistým preparátem neuromuskulárním. Jednotlivé takto získané fragmenty mají délku



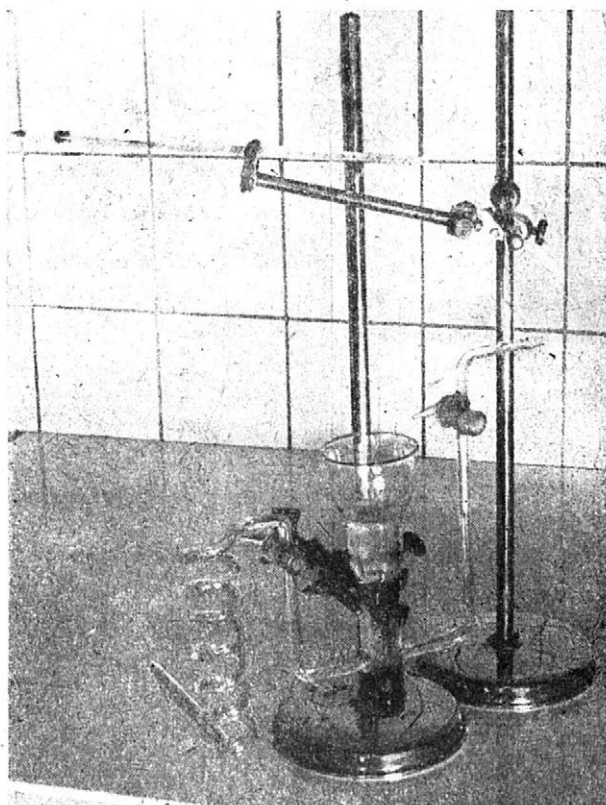
Obr. 1. Příprava fragmentu ze škrkavky vepřové (*Ascaris suis*). Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně.

Рис. 1. Приготовление фрагмента аскариды свиной (*Ascaris suis*)

asi 2 cm a vkládají se do testovací skleněné komůrky o obsahu asi 50 ccm, válcovitého tvaru, nahoře rozšířené. Dno komůrky je tvořeno gumovou zátkou, opatřenou drátěným očkem pro upevňování fragmentů. Testovací komůrka je spojena se spirálovým skleněným předeřhříváčem pro ohřívání fyziologického roztoku a opatřena zařízením pro jeho odssávání. Předeřhříváč i odssávací zařízení jsou od komůrky odděleny kohouty. Komůrka je ponořena do vodní lázně, vytápěné elektricky na konstantní teplotu 38° C. Fyziologický roztok se

doplňuje z nádoby umístěné mimo lázeň. V testovací komůrce jsou fragmenty upevněny tak, že jeden konec je tenkým pevným hedvábím uvázan k drátěnému očku ve dně komůrky a druhý konec je spojen s páčkou kymografu.

Každý fragment se ponechá nejdříve 10 minut v čistém fyziologickém roztoku, aby byl patrný jeho normální zápis. Po 10 minutách se roztok odssaje a vymění fyziologickým roztokem, obsahujícím zkoušenou látku v předepsané koncentraci. Pokud studované látky nejsou rozpustné ve vodě, rozpouštějí se v ethylalkoholu v množství, které ještě nepoškozuje pohyblivost fragmentu.

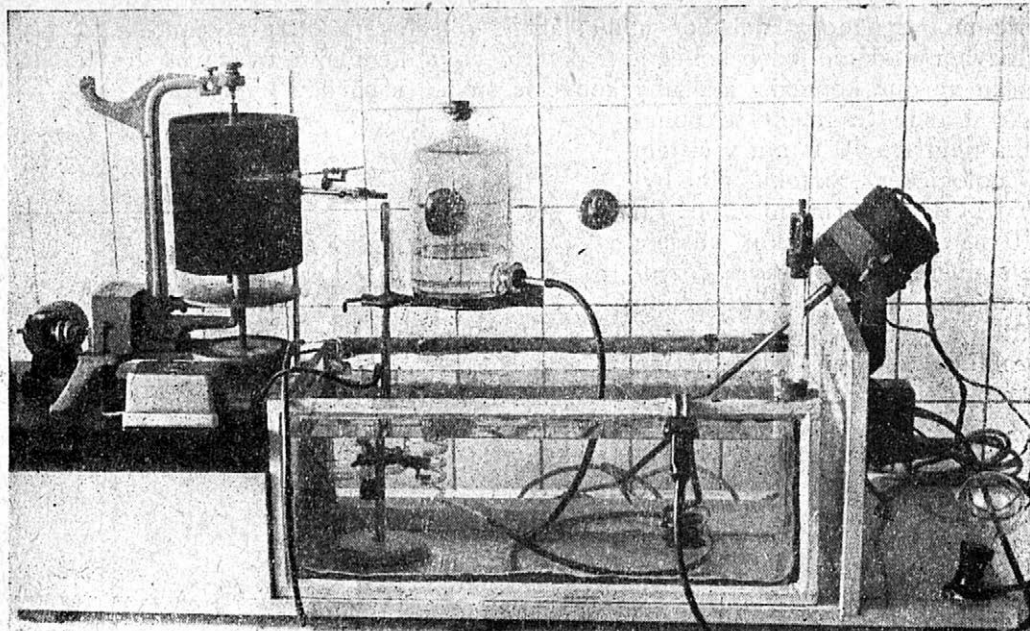


Obr. 2. Testovací komůrka s páčkou a pisátkem kymografu. Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně.

Рис. 2. Камера тестов с рычажком и писчиком кимографа

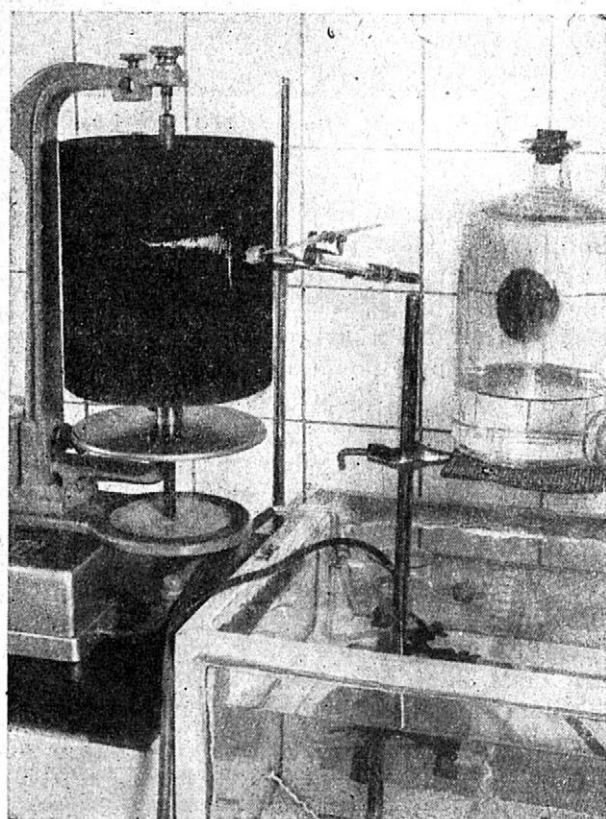
Z látek, které nejsou rozpustné v ethylalkoholu, se připraví mikrosuspense, které se během pokusů ještě probublávají. V takto připraveném roztoku nebo mikrosuspensi se ponechá každý fragment 45 minut. V pokusech jsme používali vždy 2 fragmenty přední a 1 fragment střední ze škravky čerstvě přinesené a 2 fragmenty přední a 1 fragment střední ze škravky přechovávané 1 den v laboratoři. Pro každou látku a koncentraci bylo použito celkem 6 fragmentů. Látky byly studovány v koncentraci 0,1 % a v případě potřeby dále ředěny v poměru 10.

Myografické zápisy pro jednotlivé fragmenty jsou charakteristické. Tak na př. přední fragment vykonává řadu komplexních pohybů rychle po sobě následujících, pohyby středního fragmentu jsou naopak jednodušší a pomalejší. Počet pohybů za časovou jednotku je různý a závisí na celkové pohyblivosti fragmentu. Proto se doporučuje brát do pokusů pouze fragmenty značně pohyblivé a ze škravek, přechovávaných v laboratoři maximálně 1 den. Po zapojení fragmentu na kymograf může dojít k jistým nepravidlostem pohybů a někdy i k jejich dočasnému zastavení. Myografický zápis není ovlivňován kolísáním teploty v rozmezí od 37° do 39° C. Teplota přes 40° C značně poškozuje pohyblivost fragmentu. Při započetí pokusu nejprve pozorujeme dráždivý účinek na fragment, který se projevuje snížením amplitudy, zrychlením frekvence výkyvů, po případě stadiem přechodných rychlých stahů. Poté následuje oby-



Obr. 3. Kymograf s testovací komůrkou ve vodní lázni. Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně.

Рис. 3. Кимограф с камерой тестов в водной ванне



čejně paralysa. Účinnost studovaných látek se vyjadřuje paralysou fragmentu v minutách, kdy myografický zápis vykazuje vodorovnou přímku. Zároveň se přihlíží ke stoupání a klesání tonusu, což je důsledek reakce fragmentu na určité dráždivé účinky zkoušených látek. Jako srovnávací látka v pokusech byl použit hexylresorcinol a thymol.

Při kymografické metodě v koncentraci 0,1% zkoušené látky bylo dosaženo těchto výsledků zachycených v tabulkách na následující straně:

Obr. 4. Detailní pohled na kymograf se zápisem. Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně.

Рис. 4. Кимограф с автоматической записью

Tab. 1. Skupina chlorovaných uhlovodíků.
Табл. 1. Группа хлорированных углеводородов.

Pořadové číslo	Název účinné látky	Paralýsa v minutách		Poznámka
		přední fragment	střední fragment	
1	Hexylresorcinol	8	9	Pořadové číslo 1 a 2 jsou srovnávací látky
2	Thymol	10	7	
3	Kondensát 2, 4-dichlorfenolu s 2 mol. chloralu	—	—	
4	bis-p-Dimethylanilino-trichlorethan	—	—	Vzestup tonusu
5	p-Dimethylanilinotrichlorethanol	—	—	
6	Hydrochlorid p-dimethylanilinotrichlorethanolu	—	—	
7	Oktachlordiethylether	—	—	Vzestup tonusu
8	3,4-Dimethoxyfenyltrichlorethanol	—	—	
9	Dithymoltrichlorethan (Thymolový analog DDT)	40	39	
10	Kondensát chloralu s methylbenzthiazolem	—	—	
11	3,4,5-Trioxo-2-trichlor-methylftalid	—	35	
12	4-Oxy-3,3-dimethoxy-2-trichlormethylftalid	—	—	
13	p-Chlorfenyltrichlor-ethanolacetát	—	—	
14	Kondens. produkt thymolu s chloralem (1 : 1)	—	—	
15	Pentakisdimethylanilinoethan	—	—	
16	p-Dimethylanilinotrichlormethoxyethanol	—	—	
17	1-(p-Dimethylanilino)-1-(p-diethylanilino)-trichlorethan hydrochlorid	—	—	
18	Chlorethon	40	—	
19	Heptachlorpropen	—	—	
20	Kondensační produkt cyklohexanonu s chlorbenzenem	—	—	
21	Kondensát 2,4-dichlorfenolu s chloralem II.	—	—	
22	Kondensát 2,4-dichlorfenolu s chloralem III.	—	—	
23	Hexachlorethan	—	—	

Tab. 2. Skupina karbamátů.

Табл. 2. Группа карбаматов.

Pořadové číslo	Název účinné látky	Paralyza v minutách		Poznámka
		přední fragment	střední fragment	
1	Hexylresorcinol	8	9	Pořadové číslo 1 a 2 jsou srovnávací látky
2	Thymol	10	7	
3	Thymol-karbamát	37	27	
4	Karbamát bis-p-hydroxyfenyl-trichlorethanu	—	—	
5	p-Benzylfenol-karbamát	—	—	
6	Thymol-isoamylaminkarbamát	—	—	
7	p-Benzylfenol-methyl-karbamát	—	—	
8	p-Benzylfenol-ethanol-aminkarbamát	—	—	
9	Benzylfenol-diethylkarbamát	—	—	
10	Benzylresorcinmethyl-ester-karbamát	38	—	
11	p-Benzylfenol-piperidinokarbamát	—	—	Vzestup tonusu
12	Benzylfenol-morfolino-karbamát	—	—	

Tab. 3. Různé organické sloučeniny.

Табл. 3. Различные органические соединения.

Pořadové číslo	Název účinné látky	Paralyza v minutách		Poznámka
		přední fragment	střední fragment	
1	Hexylresorcinol	8	9	Pořadové čís. 1 a 2 jsou srovnávací látky
2	Thymol	10	7	
3	Ethylester pyrosilizové kyseliny	17	27	
4	Dichloramin	—	—	
5	4-Chlor-2-methylfenoxy-octová kyselina	—	—	
6	2,4-Dichlorfenoxyoctan sodný	—	—	
7	Phenoxthin	—	—	
8	Dicyklohexylamin	—	—	
9	Phenthiazin	—	—	
10	Furalakrolein	—	—	
11	Furalaceton	—	—	
12	2-Chlor-4-nitrofenoxy-octová kyselina	—	—	
13	Kaliumethylxanthogenat	—	—	
14	As ... ethylxanthogenat	—	—	

Chemické názvy jsou zkráceny pro nedostatek místa a neodpovídají přesné chemické nomenklatuře.

Ze 43 látek studovaných kymografickou metodou zaznamenaly anthelmintický účinek tyto látky:

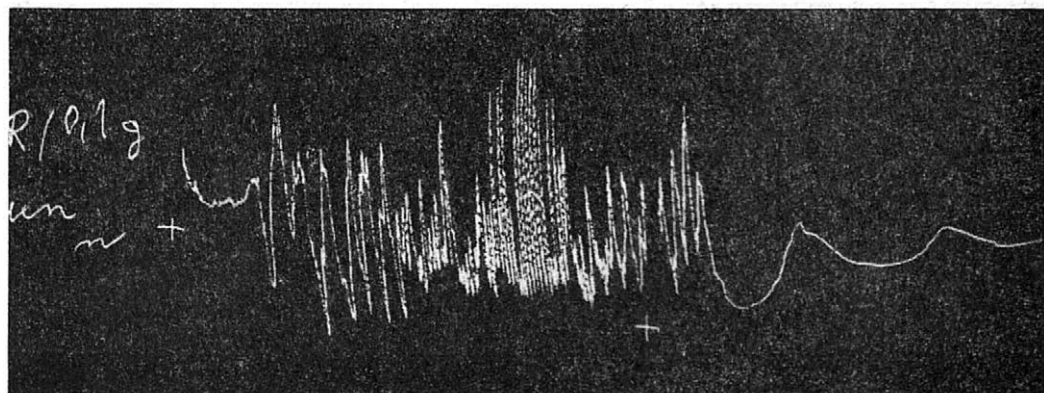
Vzestup tonusu byl pozorován u těchto látek:

Pořadové číslo	Název látky
1	Ethylester pyrosilizové kyseliny
2	Thymol-karbamát
3	Benzylresorcinmethyl-ester-karbamát
4	Dithymoltrichlorethan (Thymolový analog DDT)
5	Chlorethon

Pořadové číslo	Název látky
1	Kondensát 2,4 dichlor-fenolu s 2 mol. chloralu
2	Kondensát chloralu s methylbenzthiazolem
3	Kondens. produkt thymolu s chloralem (1:1)
4	Benzylfenol-morfolino-karbamát
5	Furalakrolein
6	Furalaceton

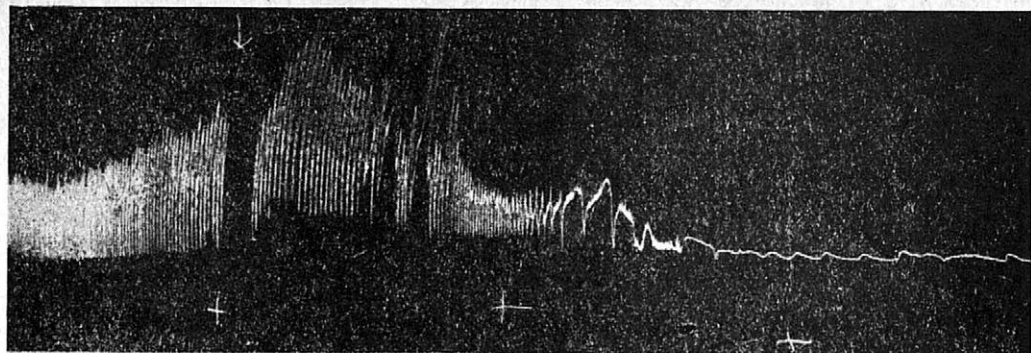
2. Metoda přeživacích pokusů

Přeživací pokusy byly prováděny v krystalizačních miskách za použití škrkavky vepřové *Ascaris suum* (Goeze). Studované látky byly zkoušeny jako 1%, 0,1%, 0,01% a 0,001% roztoky nebo mikrosuspense v modifikovaném Ringerově fyziologickém roztoku. Do pokusů byly brány vždy 4 škrkavky stejného stáří jako u kymografické metody, z toho 3 samičky a 1 sameček. Na jednu škrkavku připadlo 100 ccm fyziologického roztoku. Krystalizační misky byly potom vloženy do termostatu a chovány při teplotě 38° C. První kontrola byla provedena po 1 hodině, další po 2, 3, 4, 5, 6, 20 a 24 hodinách, a to tak, že nepohyblivé škrkavky byly vhozeny do vody 60° C teplé za účelem zjištění jejich životnosti. Ty škrkavky, které se v teplé vodě pohybovaly v obou směrech, byly považovány za živé, ostatní za uhynulé. Každý pokus byl ve všech koncentracích třikrát opakován. Jako srovnávací látka byl použit hexylresorcinol a thymol. Procento účinnosti studovaných látek se vypočítalo podle Abbotova vzorce $\frac{100 \cdot (K - P)}{K}$ (K = procento živých jedinců v kontrolním pokuse, P = procento živých jedinců ve zkoušené látce), čímž se eliminovala přirozená úmrtnost, která nesmí přesahovat 15 %. Jinak je nutno pokus anulovat jako málo průkazný.



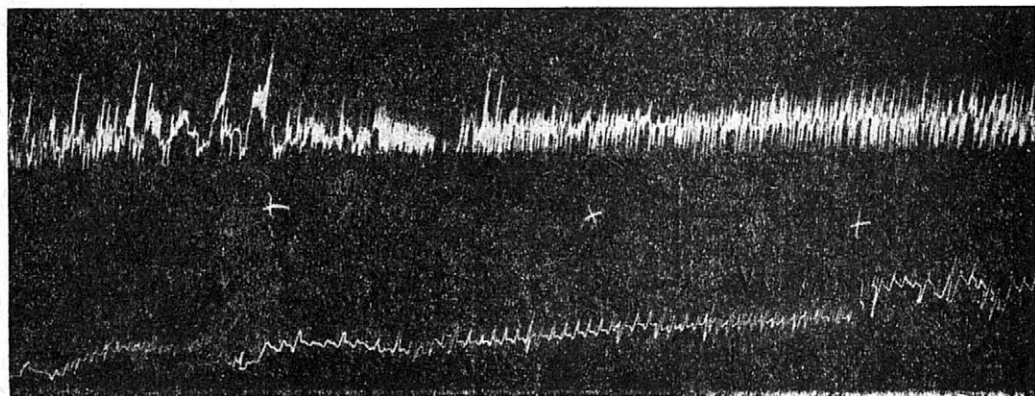
Obr. 5. Účinek hexylresorcinolu na přední fragment škrkavky vepřové. Z myografického zápisu je patrna paralýza svalové činnosti. Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně.

Рис. 5. Действие hexylresorcinoli на передний фрагмент аскариды свиной. На монографической записи виден паралич мускульной деятельности



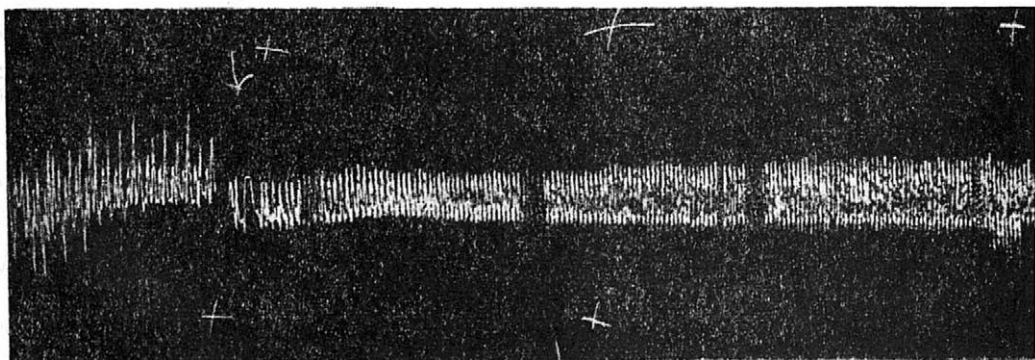
Obr. 6. Účinek thymolkarbamátu na přední fragment škrkavky vepřové se záznamem paralysy svalové činnosti. Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně.

Рис. 6. Действие thymolkarlamati на передний фрагмент аскариды свиной с записью паралича мускульной деятельности



Obr. 7. Účinek p-dimethylanilino-trichlorethanolu na přední (nahore) a střední (dole) fragment škrkavky vepřové. Ze zápisu je patrné, že k paralysy svalové činnosti nedošlo. Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně.

Рис. 7. Действие p-dimethylanilino-trichlorethanolu на передний (сверху) и средний (снизу) фрагмент аскариды свиной. По записи видно, что паралич мускульной деятельности не настал.



Obr. 8. Účinek kondensátu 2,4-dichlorfenolu s 2 mol. chloralu na přední fragment škrkavky vepřové. Zápis rovněž nevykazuje paralysu svalové činnosti. Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně.

Рис. 8. Действие концентрата 2,4-dichlorfenoli с 2 mol. chlorali на передний фрагмент аскариды свиной. Запись также не указывает на паралич мускульной деятельности

V následujících tabulkách podáváme přehled výsledků přeživacích pokusů:

Tab. 4. Skupina chlorovaných uhlovodíků.
Табл. 4. Группа хлорированных углеводородов.

Pořadové číslo	Název účinné látky	Procento úmrtnosti v koncentraci úč. látky				Rychlost účinku v hodinách
		0,001	0,01	0,1	1	
1	Hexylresorcinol	0	42	100	100	1
2	Thymol	0	17	100	100	1,30
3	Kondensát 2,4-dichlorfenolu s 2 mol. chloralu	0	0	0	8	20
4	bis p-Dimethylanilino-trichlorethan	0	0	0	0	—
5	p-Dimethylanilino-trichlorethan	0	0	0	0	—
6	Hydrochlorid p-dimethylanilino-trichlorethanolu	0	0	42	83	20
7	Oktachlordiethylether	0	0	0	0	—
8	3,4-Dimethoxyfenyltrichlorethan	0	0	0	17	20
9	Dithymoltrichlorethan (Thymolový analog DDT)	0	0	0	50	20
10	Hexachlorpropen	0	42	100	100	20
11	Kondensát chloralu s methylbenzthiazolem	0	0	0	17	20
12	3,4,5-Trioxo-2-trichlormethylftalid	0	0	17	25	20
13	4-Oxy-3,3-dimethoxy-2-trichlormethylftalid	0	0	0	8	20
14	p-Chlorftenyltrichlorethanacetát	0	0	0	0	—
15	Kondens. produkt thymolu s chloralem (1:1)	0	0	58	100	20
16	Pentakisdimethylanilinoethan	0	0	0	8	20
17	p-Dimethylanilino-trichlorethanmethoxyethanol	0	0	0	0	—
18	1- (p-Dimethylanilino)-1- (p-diethylanilino)-trichlorethan hydrochlorid	0	0	25	42	20
19	Chlorethon	0	0	0	100	20
20	Heptachlorpropen	0	0	91	100	20
21	Kondensační produkt cyklohexanonu s chlorbenzenem	0	91	100	100	20
22	Kondensát 2,4-dichlorfenolu s chloralem II.	0	0	17	17	20
23	Kondensát 2,4-dichlorfenolu s chloralem III.	0	0	10	33	20
24	Hexachlorethan	0	0	0	17	20

Pořadové číslo 1 a 2 jsou srovnávací látky.

Tab. 5. Skupina karbamátů.

Табл. 5. Группа карбаматов.

Pořadové číslo	Název účinné látky	Procento úmrtnosti v koncentraci úč. látky				Rychlost účinku v hodinách
		0,001	0,01	0,1	1	
1	Hexylresorcinol	0	42	100	100	1
2	Thymol	0	17	100	100	1,30
3	Thymol-karbamát	0	8	50	100	20
4	Karbamát bis-p-hydroxy-fenyl-trichlorethanu	0	0	0	0	—
5	p-Benzylfenol-karbamát	0	0	50	67	22
6	Thymol-isoamylamin-karbamát	0	0	8	75	20
7	p-Benzylfenol-methyl-karbamát	0	0	0	10	20
8	p-Benzylfenol-ethanol-aminkarbamát	0	17	100	100	20
9	Benzylfenol-diethylkarbamát	0	0	25	—	20
10	Benzylresorcinmethyl-ester-karbamát	0	0	83	—	20
11	p-Benzylfenol-piperidinokarbamát	0	0	51	—	20
12	Benzylfenol-morfolino-karbamát	0	58	100	100	20

Pořadové číslo 1 a 2 jsou srovnávací látky.

Tab. 6. Různé organické sloučeniny.

Табл. 6. Различные органические соединения.

Pořadové číslo	Název účinné látky	Procento úmrtnosti v koncentraci úč. látky				Rychlost účinku v hodinách
		0,001	0,01	0,1	1	
1	Hexylresorcinol	0	42	100	100	1
2	Thymol	0	17	100	100	1,30
3	Ethylester pyroslizové kyseliny	0	0	17	100	20
4	Dichloramin	0	0	100	100	20
5	4-Chlor-2-methylfenoxyoctová kyselina	0	0	17	17	20
6	2,4-Dichlorfenoxyoctan sodný	0	0	0	17	20
7	Phenoxthin	0	0	0	0	—
8	Dicyklohexylamin	0	0	0	83	20
9	Phenthiazin	0	0	17	25	20
10	Furalakrolein	0	0	100	100	20
11	Furalaceton	0	8	100	100	20
12	2-Chlor-4-nitrofenoxyoctová kyselina	0	10	100	100	20
13	Kaliumethylxanthogenat	0	0	62	100	20
14	As ... ethylxanthogenat	0	100	100	100	20

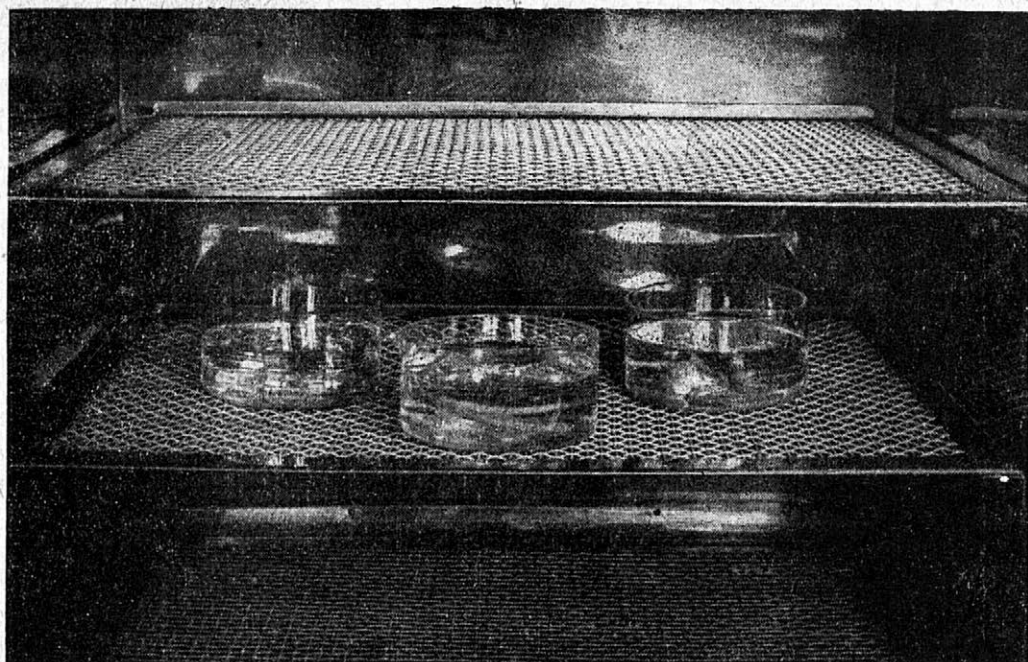
Pořadové číslo 1 a 2 jsou srovnávací látky.

Ze 44 látek studovaných metodou přeživacích pokusů zaznamenaly účinnost tyto látky:

Pořadové číslo	Název látky
1	As ... ethylxanthogenat
2	Kondenzační produkt cyklohexanonu s chlorbenzenem
3	Hexachlorpropen
4	p-Benzylfenol-ethanolaminkarbamát
5	2-Chlor-4-nitrofenoxyoctová kyselina
6	Benzylfenol-morfolinokarbamát
7	Furalaceton
8	Furalakrolein
9	Dichloramin
10	p-Benzylfenol-piperidinokarbamát
11	Heptachlorpropen
12	Kaliumethylxanthogenat
13	Benzylresorcinmethylester-karbamát
14	Kondens. produkt thymolu s chloralem (1:1)
15	Thymol-karbamát
16	p-Benzylfenol-karbamát
17	Hydrochlorid p-dimethylanilinotrichlorethanolu
18	Ethylester pirosilizové kyseliny
19	Kondenzační produkt cyklohexanonu s chlorbenzenem
20	Dicyklohexylamin
21	Thymol-isoamylaminkarbamát
22	Dithymoltrichlorethan (Thymolový analog DDT)

Účinek u většiny látek se dostavil až po 20 hodinách, zatím co hexylresorcinol a thymol účinkovaly již do 1 hodiny 30 minut.

U látek, které zaznamenaly v pokusech oběma metodami nejvyšší účinek, byly stanoveny LD 50 na myších k zjištění toxicity vůči teplokrevným obratlovcům.



Obr. 9. Krystalizační misky se škrávkami v termostatu. Foto M. Novák, VÚRV Ruzyně.

Рис. 9. Кристаллизационные миски с аскаридами в термостате

Název látky	LD 50/1 kg živé váhy
Kondenzační produkt cyklohexanonu s chlorbenzenem	0,2–0,4 g
Hexachlorpropen	0,2 g
Benzylfenol-morfolinokarbamát	nebyla stanovena
p-Benzylfenol-ethanolamin-karbamát	nebyla stanovena
Furalaceton	0,2–0,5 g
Furalakrolein	0,2–0,5 g
p-Benzylfenol-piperidino-karbamát	nebyla stanovena
Heptachlorpropen	0,5 g
Kaliumethylxanthogenat	0,1–0,5 g
Benzylresorcinmethylester-karbamát	nebyla stanovena
p-Benzylfenol-karbamát	9,2 g
Hydrochlorid p-dimethyl-anilino-trichlorethanolu	1,1 g

Na základě zjištěné toxicity s přihlédnutím k technologii studovaných látek byly p-benzylfenol-karbamát, hydrochlorid p-dimethylanilino-trichlorethanolu, hexachlorpropen a p-benzylfenol-ethanolamin-karbamát předány veterinářské fakultě Vysoké školy zemědělské — profesoru Kloboukovi — k dalšímu klinickému zkoušení.

Z á v ě r

V laboratorních pokusech bylo studováno celkem 44 chemických látek metodou kymografickou a metodou přeživacích pokusů za účelem zjištění jejich anthelmintického účinku. Jako srovnávací látka byl použit hexylresorcinol

a thymol. Nejvyšší účinnosti v pokusech oběma metodami docílil hydrochlorid p-dimethylanilino-trichlorethanolu, hexachlorpropen, p-benzylfenol-karbamat a p-benzylfenol-ethanolaminkarbamat. Uvedené látky byly vzhledem k jejich toxicitě a technologii předány veterinářské fakultě Vysoké školy zemědělské v Brně — prof. Kloboukovi — k dalšímu klinickému zkoušení.

Literatura

1. Baldwin E.: An in vitro method for the chemotherapeutic investigation of anthelmintic potency. - Parasitology, 35, 3, 1943, str. 89-111. — 2. Lebeduška J., Willomitzer J., Švec R.: Účinnost benzylfenyl-esteru-beta-hydroxyethyl-karbaminové kyseliny na škrkavce u drůbeže. - Sborník ČSAZV, XXVII., 6, 1954, str. 691-698. — 3. Petrů M.: Účin některých látek na hlísty in vitro. - Časopis čs. lékařnictva, LXII., 1950, str. 265-275.

Изучение действия хлорированных углеводородов и некоторых дериватов субститутированных карбаминных кислот против глистов свиней *Ascaris suum* Goeze in vitro

В лабораторных опытах изучалось действие 44 химических препаратов против аскаридов свиней. Исследования проводились кимографическим методом и методом переживания. В качестве сравнительных препаратов применялись гексил-ресорциноль и тимол. Самое лучшее действие оказали препараты p-dimethylanilino-trichlorethanolhydrochlorid, hexachlorpropen, p-benzylfenol-karbamat, p-benzylfenolethanolamin-karbamat. Для дальнейшего клинического испытания эти препараты были переданы проф. Клобуку на ветеринарный факультет Сельскохозяйственного института в Брно.

The Study of Effects of the Chlorated Hydrocarbons and of Some Derivates of the Substituted Carbamine Acid against the Swine Maw-Worm *Ascaris suum* Goeze in vitro.

The anthelmintic properties of 44 chemicals were tested in vitro by kymographic and surviving method. Hexylresorcinol and thymol were used for comparison. Best effective toxic effect on *Ascaris suum* (Goeze) was found in p-dimethylanilino-trichlorethanolhydrochloride, hexachlorpropen, p-benzylphenol-carbamat and p-benzylphenol-ethanolamin-carbamat. These effective chemicals with regard to their toxicity and technology were forwarded for further clinical studies to professor Klobouk's clinic of the Veterinary College in Brno.

Das Studium der Wirkungen von chlorierten Kohlenwasserstoffen und einiger Derivaten der substituierten Karbaminsäure gegen den Schweinespulwurm *Ascaris suum* Goeze in vitro.

In Laboratoriumversuchen wurden 44 chemische Stoffe mit Hilfe einer kymographischen- und Überlebenmethode zur Feststellung ihrer anthelmintischen Wirkung geprüft. Als Vergleichungspräparate wurden Hexylresorcinol und Thymol verwendet.

Die beste Wirkung in den Versuchen bei beiden Methoden wurde für p-Dimethylanilino-trichlorethanolhydrochlorid, Hexachlorpropen, p-Benzylphenol-karbamat und p-Benzylphenol-ethanolaminkarbamat erzielt. Diese Stoffe wurden mit Berücksichtigung zu ihrer Toxizität und Technologie an die Veterinärfakultät der Landwirtschaftlichen Hochschule in Brünn dem H. Prof. Klobouk zur weiteren klinischen Prüfung übergeben.

Praktická hodnota niektorých metód koncentrácie vírusu chrípky ošípaných*)

Практическое значение некоторых методов концентрации вируса гриппа свиней

The Practical Value of Some Methods of Concentrating the Swine Fever Virus

Doc. Dr. SOKOL A. — Dr. NEUBERT J. — Dr. Tirčo Št. — Dr. VASIL M.

Katedra mikrobiologie a imunologie Vet. fakulty v Košiciach

Došlo dne 14. XII. 1955

Snaha po zavedení a spresnení rutinej virologickej diagnostiky ako aj po zhotovení efektívnych očkovacích látok u niektorých viróz často naráža na mnohé prekážky. Jednou z nich je pomerne nízka koncentrácia vírusu v patologickom materiáli, hlavne v pozdejších štádiach ochorenia, kedy sa už uplatnila aj sekundárna mikroflóra.

V humánnej medicíne boli v poslednej dobe vypracované rôzne metódy, ktorými sa dá zvýšiť koncentrácia vírusu chrípky v spracovávanom materiáli.

Tovarnickij a Čalkina (1951) vypracovali dve metódy koncentrácie vírusu z tkaniva, a to:

a) sádrovú metódu založenú na adsorpcii vírusu na koloidné častice sádry. Touto metódou purifikovali vírus chrípky na 25—30 % a súčasne koncentrovali 200—400krát.

b) urátovú metódu, pri ktorej sa vírus adsorbuje na zásadité soli kyseliny močovej za mrazu. Pomocou tejto metódy purifikovali chrípkový vírus na 63—68 % a koncentrovali 150—200krát.

Tumová a spolupracovníci (1953) použili ku koncentrácii vírusu humánnej chrípky centrifugáciu v mrazivej centrifúge pri 17.000 až 19.000 obr./min. po dobu 45 minút ako aj adsorbčne-elúčnu metódu založenú na Hirstovom fenoméne hemaglutinácie.

Adsorpciu vírusu prevádzali v chladničke pri +4° C na 1 % morčacie erytrocyty cez noc. Vírus z erytrocytov eluovali do 1/3 pôvodného objemu v termostate 35 minút a 10 minút vo vodnom kúpeli 37° C. Vírus chrípky takýmto spôsobom zahustený vo výplachu dal sa snadno izolovať aj v mimoepidemickom období na kuracích embryách a preukazoval signifikantný hemaglutinačný titer.

Feltynowski a Zyha (1953) vypracovali metódu dvojnásobnej adsorbcie a elúcie. Prvý krát adsorpciu robili 1 hodinu pri +4° C za použitia kuracích erytrocytov a elúciu 1,5 hodiny vo vodnom kúpeli 37° C. Druhý proces adsorbcie a elúcie bol zhodný s prvým, pričom sa hemaglutinačné titry koncentrovaného materiálu zvýšili 4krát oproti jednorázovej adsorpcii a elúcii. Kontrolu elúcie robili elektrónovým mikroskopom.

Pokotnickij a Luzijana (1953) v elektrónovom mikroskope zistili, že základná masa vírusu chrípky sa adsorbuje na erytrocyty za 5—15 minút, pričom ďalšie predlžovanie doby adsorbcie nevedie k zvýšeniu počtu adsorbovaných vírusových častíc.

Tieto koncentračné metódy neboli doposiaľ dostatočne využité vo veterinárnej medicíne a ani nie je dostatočne známa vhodnosť tejto metódy pre koncentráciu vírusu chrípky ošípaných.

*) Prednesené na virologickej konferencii usporiadanej ČSAV v dňoch od 12.—22. októbra 1955 v Smoleniciach.

V tejto našej práci vzali sme si za úkol overiť použiteľnosť niektorých koncentračných metód vírusu ľudskej chrípky pre koncentráciu vírusu chrípky ošipaných cieľom zistenia najefektívnejšej metódy zahusťovania tohoto vírusu ako k diagnostickým, tak aj výskumným účelom.

Konkrétne riešili sme tieto dĺžkové otázky:

1. Koncentráciu vírusu chrípky ošipaných centrifugáciou pri 18.000 obr./min. po rôzne dlhú dobu.

2. Koncentráciu vírusu chrípky ošipaných pomocou embryonálnych kuracích červených krviniek.

3. Koncentráciu vírusu chrípky ošipaných adsorbčne-elúčnou metódou na kuracie a morčacie erytrocyty.

4. Kontrolne preveriť výsledky hemaglutinačnej reakcie titráciou na kuracích embryách, či s HT sa zvyšuje aj infekčný titer (IT).

5. Koncentráciu vírusu chrípky pomocou gummi arabicae-gélu.

Za kritérium koncentrácie jednotlivých kmeňov vírusu chrípky ošipaných sme zvolili najjednoduchší a nám jedine prístupný spôsob stanovovania zmien hemaglutinačného titru pred a po koncentracii, aj keď sme si vedomí nedostatkov vývodov z hemaglutinačnej reakcie (HR).

Vlastná práca

I. Koncentrácia vírusu chrípky ošipaných ultracentrifugáciou

a) Materiál a metodika

Ku štúdiu koncentrácie vírusu chrípky ošipaných ultracentrifugáciou sme použili kmene prof. H a r n a c h a číslo: 55, 47, 54 a nami izolované kmene: Šaca, Kalinovo, pomnožené v allantoidnej tekutine kuracích embryí, zbavené hrubších častíc centrifugovaním pri 2500 obr./min. Vlastnú koncentráciu sme robili odstredovaním ústavnou centrifúgou pri 18.000 obr./min. po dobu $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ a 1 hodinu. Po odcentrifugovaní sme $\frac{4}{5}$ supernatantu opatrne odpipetovali a v zbývajúcej $\frac{1}{5}$ bol sediment rozmiešaný. Výsledok koncentrácie vírusu bol určovaný hemaglutinačnou reakciou v porovnaní s východiskovým hemaglutinačným titrom užitého toho — ktorého kmeňa.

Tab. 1. Výsledok koncentrácie vírusu chrípky ošipaných centrifugáciou pri 18.000 obr./min.

Табл. 1. Результаты концентрации вируса гриппа свиней путем центрифугирования при 18.000 обор./мин.

Číslo kmeňa vírusu	Hemaglutinačný titer						
	východzej alantoid. tekutiny pred centrifug.	supernatantu			koncentrátu		
		po $\frac{1}{2}$ h. centrif.	po $\frac{3}{4}$ h. centrif.	po 1 h. centrif.	po $\frac{1}{2}$ h. centrif.	po $\frac{3}{4}$ h. centrif.	po 1 h. centrif.
55	1 : 2048	1 : 512	1 : 64	1 : 64	1 : 2048	1 : 2048	1 : 4096
47	1 : 2048	1 : 32	1 : 64	1 : 32	1 : 2048	1 : 8192	1 : 32768
54	1 : 1024	1 : 256	1 : 64	1 : 32	1 : 1024	1 : 8192	1 : 8192
Kalinovo	1 : 1024	1 : 128	1 : 32	1 : 32	1 : 1024	1 : 2048	1 : 4096
Šaca	1 : 512	1 : 32	1 : 32	1 : 32	1 : 1024	1 : 1024	1 : 4096

Z tabuľky č. 1 je zrejmé, že odstredovaním po dobu 1 hod. pri 18.000 obr./min. sa vírus chrípky ošipaných odstreďuje z väčšej časti, o čom svedčia nízke hemaglutinačné titry (HT) supernatantu.

K úplnej sedimentácii vírusu chrípky ošipaných treba však vyšších obrátok a dlhšiu dobu. Môžeme tiež zaznamenať, že nami použité kmene nesedimentovali rovnako rýchle a tým sa aj nestejne koncentrovali. Pri centrifugácii za dobu 1 hodiny pri 18.000 obr./min. sa v našich pokusoch kmene vírusu chrípky ošipaných koncentrovali priemerne 7,6krát (v rozmedzi 2–16 krát), zatiaľ čo za $\frac{3}{4}$ hod. len 3,4krát a za $\frac{1}{2}$ hod. 1,2krát.

Naše výsledky ukazujú, že odstredovanie po dobu jednej hodiny pri 18.000 obr./min. dosťahuje pre bežnú laboratórnú potrebu. Táto metóda koncentrácie vírusu chrípkového najmenej zasahuje do štrukturálnych zmien vírusu, preto je vhodné dať jej prednosť pred ostatnými metódami koncentrácie všade tam, kde je možnosť použitia vhodnej centrifúgy.

II. Koncentrácia vírusu chrípky ošipaných kuracím i embryonálnymi erytrocytami

a) Materiál a metodika

K pokusom boli použité kmene chrípkového vírusu číslo 47, 55 a kmeň amerického pôvodu „Shope“. Po 48–72hodinovej inkubácii vírusu chrípky ošipaných inokulovaného do allantoického vaku 10–11 dňových kuracích embryí, po dezinfekcii sa odstráni škorábka nad vzduchovou bublinou a nožnicami pretnú cievy a ponechá sa embryo vykrvacať do allantoidnej tekutiny. Krvácanie podporíme balontážou embrya. Krvavú allantoidnú tekutinu odssajeme do baňky ľadom chladenej na $+3^{\circ}\text{C}$ a necháme vírus adsorbovať na kuracie embryonálne krvinky v chladničke pri $+3^{\circ}\text{C}$ po dobu $\frac{1}{2}$ hod. Potom centrifugujeme pri 1500–1800 obr./min. krvinky s adsorbovaným vírusom a $\frac{9}{10}$ supernatantu odpipetujeme. V zbývajúcej $\frac{1}{10}$ eluujeme vírus vo vodnom kúpeli 37°C teplom po 2 hodiny. Je možno supernatant úplne odpipetovať a vírus z krviniek eluovať do fyziologického roztoku na $\frac{1}{10}$ pôvodného objemu.

Po opätovanej centrifugácii supernatant predstavuje koncentrovaný vírus.

Tab. 2. Výsledok koncentrácie vírusu chrípky ošipaných embryonálnymi krvinkami.
Табл. 2. Результаты концентрации вируса гриппа свиней при помощи эмбриональных эритроцитов.

Číslo kmeňa vírusu	Hemaglutinačný titer		
	allantoid. tek. pred koncent.	cluátu z krviniek	supernatantu po adsorbácii
47	1 : 2048	1 : 8192	1 : 256
47	1 : 512	1 : 4096	1 : 64
55	1 : 1024	1 : 4096	1 : 512
55	1 : 256	1 : 1024	0
Shope	1 : 4096	1 : 8192	1 : 128
Shope	1 : 512	1 : 1024	1 : 128

b) Hodnotenie výsledkov

Touto metódou sa vírus chrípky ošipáných v našich pokusoch koncentroval priemerne 4krát oproti východiskovému materiálu.

Veľké množstvo vírusu zostáva neadsorbované na erytrocyty, čím sa značne znižuje efekt koncentrácie. Behom práce sme sa presvedčili, že je možné touto metódou zvýšiť stupeň koncentrácie, keď použijeme k inokulácii 12 až 13dňové kuracie embryá, u ktorých sú cievy viacej vyvinuté. Týmto sa dostane do allantoidnej tekutiny väčšie množstvo embryonálnych erytrocytov a tak sa zvýši ich adsorbčná plocha.

III. Koncentrácia vírusu chrípky ošipáných kuracími a morčacími erytrocytami

a) Materiál a metodika

K preskúšaniu tejto adsorbčne-elúčnej metódy koncentrácie vírusu, založenej na Hirstovom fenoméne hemaglutinácie, tak s kuracími ako aj morčacími erytrocytami, sme použili kmene vírusu chrípky ošipáných prof. Harnacha, číslo: 42, 47, 54, 55, kmeň Shoppe a nami izolované kmene: Šaca, Chvojnic a Kalinovo.

K allantoidnej tekutine s obsahom pomnoženého chrípkového vírusu sme pridali 3krát preprané kuracie, resp. morčacie erytrocyty v takom množstve, aby tvorili 1% roztok. Adsorbcia vírusu na erytrocyty prebiehala v chladničke pri $+3^{\circ}\text{C}$ po dobu $\frac{1}{2}$ hod., 1 hod., 2 hod. a 12 hod. (cez noc). Po centrifugácii pri 1500 obr./min, po dobu 10 min. sa odpipetovalo $\frac{4}{5}$ supernatantu (koncentrácia na $\frac{1}{5}$ objemu) a v zbývajúcej $\frac{1}{5}$ sa previedla elúcia vo vodnom kúpeli 37°C teplom po dobu $\frac{3}{4}$ hod. 1 a $\frac{1}{2}$ a 2 hodiny. Týmto spôsobom bola uskutočnená koncentrácia len s časťou pokusného materiálu za účelom zistenia optimálnych podmienok adsorbcie a elúcie vírusu. V ďalších pokusoch bola adsorbcia a elúcia robená len za zistených optimálnych podmienok (adsorbcia 2 hod., resp. 12 hod., a elúcia 2 hod.).

Opätovnou centrifugáciou sme krvinky odstredili a so supernatanom ako aj koncentrátom a východzím materiálom bola urobená hemaglutinačná reakcia a určené HT.

Tab. 3a. Výsledky informatívneho zisťovania vhodnej doby adsorbcie a elúcie vírusu chrípky ošipáných kmeň č. 55 na kuracie erytrocyty o východzom HT 1:1024.

Табл. 3а. Результаты предварительного установления подходящего срока адсорбции и элюции вируса гриппа свиней, штамм № 55, на куриных эритроцитах с исходным HT 1:1024.

Doba adsorbcie	HT supernatantu	HT eluátu		
		$\frac{3}{4}$ h.	1 a $\frac{1}{2}$ h.	2 hod.
$\frac{1}{2}$ hod.	1 : 64	1 : 256	1 : 2048	1 : 2048
1 hod.	1 : 64	1 : 256	1 : 2048	nerobené
2 hod.	1 : 32	1 : 2048	1 : 2048	1 : 4096
12 hod.	1 : 128	1 : 1024	1 : 4096	1 : 16384

b) Zhodnotenie výsledkov

Pokusy ukázali, že najvýhodnejšia doba adsorbcie na kuracie erytrocyty je 2 hodiny; pri 12 hodinovej adsorbcii sa začína vírus spontánne eluovať z erytrocytov, čo napomáha druhej fáze koncentrácie — elúcii.

Tab. 3b. Výsledky informatívneho zisťovania vhodnej doby adsorbcie a elúcie vírusu chrípky ošipáných, kmeň č. 55, na morčacie erytrocyty o východnom HT 1:1024.
Табл. 3б. Результаты предварительного установления подходящего срока адсорбции и элюции вируса гриппа свиней, штамм № 55, на эритроцитах морской свинки с исходным HT 1:1024.

Doba adsorbcie	HT supernatantu	HT eluátu		
		¾ hod.	1 a ½ hod.	2 hod.
½ hod.	1 : 256	1 : 256	1 : 512	1 : 512
1 hod.	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512
2 hod.	1 : 64	1 : 64	nerobené	1 : 64
12 hod.	1 : 64	1 : 256	1 : 256	1 : 512

Optimálnou dobou pre elúciu vírusu chrípky ošipáných z kuracích červených krviniek sú 2 hodiny, kedy dostávame najvyššie HT. Vírus chrípky ošipáných sa taktiež dobre adsorbuje na morčacie erytrocyty, avšak sa z nich veľmi špatne uvoľňuje.

Na základe našich poznatkov nemôžeme ku koncentrácii vírusu chrípky ošipáných adsorbčne elúčnou metódou doporučiť morčacie erytrocyty napriek ich vhodnosti pre vírus ľudskej chrípky.

Tab. 4. Komparatívne štúdium koncentrácie kmeňov vírusu chrípky ošipáných kuracími a morčacími erytrocytami pri 2 a 12hod. adsorbcií a 2hod. elúcii.
Табл. 4. Сравнительное изучение концентрации штаммов вируса гриппа свиней при помощи эритроцитов куриных и морской свинки при 2 и 12 часовой адсорбции и двухчасовой элюции.

Číslo kmeňa vírusu	Východzí HT allant. tekut.	Doba adsorbcie 2 hod.				Doba adsorbcie 12 hod.			
		HT supernat.		HT eluátu		HT supernat.		HT eluátu	
		m. ery.	k. ery.	m. ery.	k. ery.	m. ery.	k. ery.	m. ery.	k. ery.
Chvojníca	1:128	1:16	0	1:32	1:512	1:16	0	1:32	1:1024
Šaca	1:256	1:16	0	1:16	1:512	1:16	0	1:64	1:2048
Kalinovo	1:128	1:32	1:16	1:32	1:512	1:32	1:32	1:32	1:512
47	1:512	0	1:16	1:32	1:1024	1:64	0	0	1:1024
54	1:512	nerob.	1:64	1:128	1:1024	1:64	1:256	1:16	1:4096
42	1:512	0	0	1:128	1:512	1:64	1:32	1:128	1:1024
Shope	1:512	1:64	0	1:256	1:1024	1:64	1:32	1:64	1:2048
55	1:1024	1:64	1:32	1:64	1:4096	1:64	1:128	1:512	1:16384

V tabuľke čís. IV. sú uvedené výsledky koncentrácie chrípkového vírusu adsorbčne-elúčnou metódou všetkých kmeňov chrípky užitých v našich pokusoch.

Schopnosť adsorbcie a elúcie vírusu chrípky, ako je zrejmé z našich výsledkov, je podmienená dôležitými faktormi: adsorbčnou schopnosťou vírusu a elúčnou schopnosťou vírusu. Tieto adsorbčné schopnosti rôznych kmeňov chrípkového vírusu za rovnakých podmienok sú niekedy odlišné.

IV. Titrácia výsledkov adsorbčne-elúčnej metódy na kuracích embryách

Cielom zistenia či sa s HT po koncentrácii adsorbčne-elúčnou metódou zvyšuje aj titer infekčný, previedli sme informatívnu titráciu vírusu chrípky ošipaných kmeň č. 55 pred a po koncentrácii na kuracích embryách v zriedení 10^{-2} až 10^{-14} známou metodikou.

Tab. 5. Infekčný titer vírusu chrípky ošipaných, kmeň č. 55, zistený na kuracích embryách, pred a po koncentrácii adsorbčne-elúčnou metódou za optimálnych podmienok.

Табл. 5. Инфекционный титр вируса гриппа свиней, штамм № 55, полученный на куриных эмбриональных эритроцитах, до и после концентрации адсорбционно-элюционным методом при оптимальных условиях.

Infekčný titer Material	-2 10	-3 10	-4 10	-5 10	-6 10	-7 10	-8 10	-9 10	-10 10	-11 10	-12 10	-13 10	-14 10
Východzia al. tek. pred koncent. o HT = 1:512	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Supernatant po konc. vírusu M-eryt. o HT = 1:16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Supernatant po konc. vírusu K-eryt. o HT 1:16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eluát po koncentrácii vírusu M-eryt. o HT = 1:128	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eluát po koncentrácii vírusu K. eryt. o HT = 1:2048	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Pri titracii vírusu chrípky ošipaných č. 55 na kuracích embryách koncentrovaného adsorbčne-elúčnou metódou ako kuracími, tak aj morčacími erytrocytami sa taktiež zvýšil aj infekčný titer. S HT sa v našich pokusoch zvýšil aj IT. Pritom sme si vedomí toho, že HT nie je v priamom pomere k IT. Aj pri titracii na kuracích embryách platila zákonitosť, že vírus chrípky ošipaných, koncentrovaný morčacími krvinkami, dal nižší infekčný titer.

V. Koncentrácia vírusu chrípky ošipaných pomocou gummi arabicae gelu.

a) Materiál a metodika

Táto metodika by mala podľa teoretických predpokladov dávať dobré výsledky pri zahusťovaní veľkého množstva tekutého chrípkového materiálu s nízkym titrom vírusu, preto sme si ju rozhodli vyskúšať v našich pokusoch. Ako materiál slúžili kmene chrípkového vírusu č. 55, Šaca, Kalinovo, Chvojnica. Koncentrácia sa prevádzala v chladničke pri $+3^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hodín. Vírus v podobe allantoidnej tekutiny v celofánovom sáčku bol ponorený do tekutého roztoku gummi arabicae-gelu a ponechaný dialyzovať.

Tab. 6. Výsledok koncentrácie vírusu chrípky ošipaných pomocou gélu gummi-arabicae.

Табл. 6. Результаты концентрации вируса гриппа свиней при помощи геля gummi-arabicae.

Kmeň	Koncentrácia na objem	Doba koncentrácie v hod.	Východzí HT allantoidnej tekutiny jednotlivých kmeňov	HT koncentrátu
Šaca	1/10	24,00	1:1024	1:4096 $\pm$
55	1/10	24,00	1:512	1:2048
Kalinovo	1/10	24,00	1:2048	1:8192 $\pm$
Chvojnica	1/10	24,00	1:512	1:2048

b) Zhodnotenie výsledkov

Výsledky pokusov ukázali, ako je vidieť z tabuľky č. 6, že za našich pomerov pri zahusťovaní na $\frac{1}{10}$ objemu dialýzou po dobu 24 hod. dá sa zvýšiť HT priemerne 4krát v porovnaní s východiskovým titrom materiálu.

Usudzujeme, že buď veľká časť vírusu prechádza cez celofánový sáčok navonok do roztoku gummi arabicae, alebo prechodom určitých iónov z gelu do vnútra sáčku sa časť vírusu určitým spôsobom deštruuje.

Z á v e r

1. Najvhodnejšou metódou koncentrácie sa ukázala centrifugácia po dobu 1 hod. pri 18.000 obr./min., ktorou sme skoncentrovali vírus chrípky ošipaných priemerne 7,6krát pri zahusťovaní na $\frac{1}{5}$ objemu.

2. Taktiež vhodnou a ľahko prevediteľnou metódou je koncentrácia vírusu chrípky ošipaných adsorbčne-elúčnou metódou na kuracie krvinky. Touto metodikou sme vírus chrípky ošipaných koncentrovali 6,5krát pri zahusťovaní na $\frac{1}{10}$ objemu.

3. V našich pokusoch sa menej vhodnou metódou ukázala koncentrácia chrípkového vírusu na embryonálne červené krvinky.

4. Ku koncentrácii kmeňov vírusu chrípky adsorbčne-elúčnou metódou celkom nevhodne sa ukázali morčacie erytrocyty, na ktoré sa síce vírus chrípky ošipaných veľmi dobre adsorbuje, ale veľmi špatne eluuje. Naše výsledky koncentrácie s morčacími erytrocytami teda dali opačné výsledky, aké boli dosiahnuté pri koncentrácii ľudského vírusu chrípky.

5. Kontrolnou titráciou na kuracích embryách, ktorú sme previedli pred a po koncentrácii vírusu chrípky ošipaných adsorbčne-elúčnou metódou, bola overená správnosť výsledkov.

6. Koncentrácia vírusu chrípky ošipaných dialýzou v gelu gummi-arabicae za chladna po ďalšom prepracovaní sa zdá byť nádejnou metodikou.

L i t e r a t ú r a

1. Feltynowski a Zycha, 1953: Badanie morfologii wirusa grypy w mikroskopie elektronowym. Medycyna doświadczalna i mikrobiologia, 4, 423. — 2. Pokotnickij a Luzijana, 1953: Elektronnaia mikroskopiia wirusa grippa adsor-

birovannogo na eritrocyty. Gripp, Trudy Akad. med. nauk SSSR, str. 14. — 3. To-varnickij, 1951: Chimija i biochimija virusa grippa. Uspechi chimiji Tom. XX, č. 2, str. 231. — 4. Tumová-Papírníková, Pečenka I., Brtka F., 1953: Isolace virusu chřipky v mimoepidemickém období, Čs. hygiena, epidemiologie, mikrobiologie, č. 5, 352. — 5. Vasil, Tirčo, Neubert, 1954: Izolácia kmeňov vírusu chřipky ošipaných na Slovensku a štúdium ich základných vlastností, Veterinárství, č. 8/1954.

Практическое значение некоторых методов концентрации вируса гриппа свиней

1. Самым подходящим методом концентрации вируса гриппа свиней является метод центрифугирования в течение одного часа при 18.000 обор./мин. Таким образом нам удалось сконцентрировать вирус гриппа свиней в среднем в 7,6 раза при сгущении до $\frac{1}{10}$ объема.

2. Точно также концентрацию вируса гриппа свиней удобно и легко можно провести адсорбционно-элюционным методом на куриных эритроцитах. Этим методом можно сконцентрировать вирус гриппа свиней в 6,5 раза при сгущении до $\frac{1}{10}$ объема.

3. В наших опытах менее пригодным методом оказалась концентрация вируса гриппа свиней при помощи эмбриональных эритроцитов.

4. Для концентрации штаммов вируса гриппа свиней адсорбционно-элюционным методом эритроциты морской свинки оказались совершенно непригодными, так как вирус гриппа они хорошо адсорбируют, но очень плохо освобождают. Таким образом результаты наших опытов по концентрации вируса гриппа при помощи эритроцитов морской свинки были противоположны тем, которые были достигнуты при концентрации вируса гриппа, поражающего людей.

5. Контрольным титром на куриных эритроцитах, проведенным после концентрации вируса гриппа адсорбционно-элюционным методом, была доказана правильность наших результатов.

6. Концентрация вируса гриппа свиней диализом в геле gummi-arabicae при низких температурах после дальнейшей обработки, обещает быть хорошим методом.

The Practical Value of Some Methods of Concentrating the Swine Fever Virus

1. The most suitable way of concentration was found to be the centrifugal method (1 hour at 18,000 rev. per. min.), by means of which we succeeded in concentrating the swine fever virus adequately 7.6 times, condensing it to $\frac{1}{10}$ of its volume.

2. Another suitable and easily practicable way of concentrating the swine fever virus is the adsorption-separation method using chicken blood corpuscles, by means of which we succeeded in concentrating the swine fever virus 6.5 times, condensing it to $\frac{1}{10}$ of its volume.

3. A less successful method in the course of our experiments has proved to be the concentration of the swine fever virus using red embryonal corpuscles.

4. Totally unsuitable for the purpose of concentrating the swine fever virus by way of the absorption-separation method have been guinea-pig erythrocytes, upon which the swine fever virus adsorbs very well, indeed, but separates badly. Our experiments in concentrating guinea-pig erythrocytes have consequently given contrary results to those obtained in concentrating the human influenza virus.

5. With the aid of titration control upon chicken embryos, carried out before and after the concentration of the swine fever virus through the adsorption-separation method, the correctness of the results obtained has been corroborated.

6. Another very promising method for concentrating the swine fever virus appears to be by means of dialysis in jelly of gum-arabic under refrigeration and after further treatment.

Isolace viru pneumonie prasat a pokus o průkaz jeho etiologické souvislosti s touto chorobou

**Изоляция вируса пневмонии свиней и попытка доказать его этиологическую связь
с этой болезнью**

Isolation of the Pneumonia Virus of Pigs and an Attempt to Demonstrate Its Etiological Relation with the Disease

Isolierung des Pneumonie-Virus bei Schweinen und der Versuch, seinen etiologischen Zusammenhang mit dieser Krankheit nachzuweisen

Dr. Jaroslav ČUPIK

Laboratoř pro výživu a zoohygienu KVÚZ Praha

Došlo dne 22. XII. 1955

Předběžné sdělení I.

Předkládáme-li předběžnou zprávu k uvedenému námětu, činíme tak proto, že zprávy o virové pneumonii prasat nebo enzootické pneumonii, jak ji nazývají severoevropští autoři, jsou stále četnější, stále více je zdůrazňována hospodářská důležitost tohoto onemocnění a konečně že podle sdělení prof. Beveridge z 11. XI. 1955 jsme pravděpodobně dosud jediní, kteří provedli izolaci a přenos na laboratorní zvířata viru, který, jak se v dalším pokusíme dokázat, je závažným etiologickým činitelem v tomto onemocnění, ne-li činitelem jediným. Tento virus jsme po prvé isolovali 13. ledna 1955. Druhý kmen jsme zachytili 18. listopadu 1955. A po necelý rok trvajícím výzkumu viru, jinde zatím neisolovaného a tudíž jen málo probádaného, nelze než vydati předběžnou zprávu s nadějí, že i jiní pracovníci začnou s výzkumem na stejném úseku, prohloubí, ale i opraví možné omyly, jimž nelze se vyhnout. Tolik úvodem a k vysvětlení podtitulku „předběžné sdělení“.

Naše práce se dotýká současné problematiky zahraničních autorů, kteří zdůrazňují diagnostické potíže i nedostatek vhodného antigenu, který by umožnil serologickou diferenciací diagnostiku. Několik laboratorních kmenů virové pneumonie v zahraničí je udržováno jen na selatech a přenášeno suspensí infikované plicní tkáně.

Podle množství inokula (až 20 ml) je zřejmé, že obsah viru v tkáňové suspensi je tak malý, že nedovoluje použití k serologickým nebo alergickým reakcím.

Symptomatologie a klinický rozbor choroby, její diagnostika náleží samozřejmě do oboru veterinární medicíny; je tudíž mimo hranice našeho sdělení, které je omezeno jen na úsek výzkumu, daný označením v záhlaví této práce.

V literatuře, pokud jsme ji získali, je skutečně virová pneumonie prasat (V. P. P. anglických autorů) v popředí zájmu a na kongresu v Belfastu v srpnu

r. 1955 byly referáty řady pracovníků o této otázce na čelném místě. Poslední práce Bettse, Whittlestonea a spolupracovníků shrnují dosavadní vědomosti o této otázce. Z jejich referátu vyjímáme jen ony části, které jsou v těsném vztahu k výsledkům naší práce.

Jmenovaní autoři uvádějí, že očkování, provedené i živým virem, nedalo pokusným zvířatům imunitu, že ani po přirozené infekci nenastupuje tvorba obranných látek; pokusy o specifickou serologickou diagnostiku selhaly a v důsledku toho nezjistitelně vysoké procento inaparentně nemocných zvířat znemožňuje kontrolu onemocnění.

Dále bychom jen uvedli, že průběh onemocnění je vleklý a že znakem klinicky nejvýznačnějším je úbytek na váze. Teploty nejsou téměř ani subfebrilní.

Uvádíme jen tyto podrobnosti, neboť právě jen tyto podrobnosti dotýkají se naší problematiky a naše dosavadní laboratorní výsledky mohou přispět k jejich objasnění.

V souvislosti s úkolem nám přiděleným pokládali jsme za nutné pracovat s kmeny viru chřipky prasat, pocházejícími přímo z pracovišť, na nichž budou eventuálně později konány terénní pokusy.

Jako technicky nejjednodušší způsob získání potřebných kmenů virů chřipky prasat jsme zavedli v humánní medicíně běžnou techniku výtěru dutiny nosní tamponem, smočeným v ustáleném bujónu o pH 7,1. Výhody tohoto způsobu odběru infekčního materiálu jsou zřejmé a umožňují prošetření velkého počtu zvířat, aniž by bylo nutno vyšetřovaná zvířata utratit. Tak se nám zdářilo v prosinci 1954 ze statku Liblice izolovat jeden kmen viru s typickými vlastnostmi viru chřipky. Podle zjištění doc. Pokorného v této době ve stádě Liblice probíhala fulminantně chřipka prasat.

Již předtím pozorovali jsme pravidelně se opakující zjev, že totiž některé ze suspensí tkáně plic prasat pneumonicky pozměněných, jež jsme očkovali do amnionových vaků, usmrcovaly v druhé a třetí pasáži, ač bakteriálně sterilní, embrya, aniž amnionová tekutina aglutinovala ptačí krvinky. Bylo zřejmo, že v amnionové tekutině přenášíme noxu, která ve třetí, někdy až v šesté, v jednom případě až v deváté pasáži při bakteriální sterilnosti počíná být pathogenní pro kuřecí embrya. Tato amnionová tekutina, očkováná na chorioalantois kuřecích zárodků, vyvolávala tvorbu šedých zákalů, někdy pruhů, ale nikdy laesí tak typických, abychom tyto zánětlivé změny mohli hodnotit jako příznačné pro předpokládaný virus. Je známo, že každé podráždění chorioalantoidní membrány, ať chemické či mechanické, může vyvolat podobné změny. V té době byla nám již známa práce Gulrajaniho a Beveridge o virové infekční pneumonii u prasat, kterou tito i jiní autoři (Betts a spol.) nepokládají za totožnou s chřipkou prasat. Drť plic s pneumonickými změnami, aplikována nasálně myšám, nevyvolala nikdy, ač jsme prováděli 4–6 pasáží, změny na plicích myšek. Naše zkušenosti souhlasily až do ledna r. 1955 s údaji zahraniční literatury, která od r. 1948 prací Pullarovou ohlašuje po prvé výskyt virové pneumonie prasat. Materiál, který jsme vyšetřovali v této době, pocházel z našich pracovišť a také z Hluban od dr. Andrlého, za jehož účinnou pomoc jsme mu velmi zavázáni.

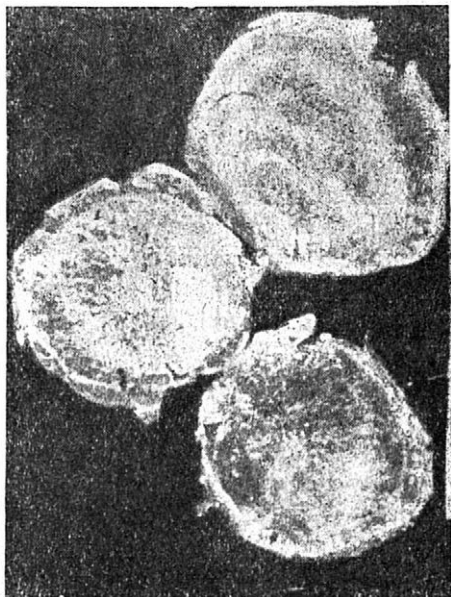
Skutečnou izolaci této noxy — tento virus má naše laboratorní označení VK — jsme provedli teprve v lednu r. 1955, a to z materiálu, pocházejícího z našeho pracoviště Kamenice.

Dne 29. prosince 1954 byly provedeny u 10 selat, vybraných doc. Pokorným, výtěry nosu. Bujony, jimiž byly provedeny, byly uloženy při $-30^{\circ}C$ až do dne 3. ledna 1955, kdy bylo ke třem ml lehce odstředěné směsi těchto bujónů přidáno 2000 o. j. penicilinu a 2 mg streptomycinu na 1 ml a uloženo na

5 hodin při $+4^{\circ}\text{C}$ a na 45 minut při 20°C . Tato vysoká odolnost kmene viru VK vůči antibiotikům byla pozdějšími pokusy potvrzena. Bujony byly po této době obvyklou technikou po 0,3 ml očkovány do amnionových vaků kuřecích embryí vždy v takovém počtu, aby směs bujonů z výtěrů byla kvantitativně spotřebována. Tyto výtěry byly provedeny v době, kdy podle vyšetření doc. Pokorného v této výkrmně se objevila infekční *polyserositis*, a zřejmě onemocnění dýchacích cest téměř celého stáda.

Po 4 dnech byly amnionové tekutiny odčerpány a očkovány na druhou embryonální pasáž, při čemž podle zkušeností z dřívějších část amnionové tekutiny VK E-1 jsme očkovali na chorioalantoidní membránu. V této druhé pasáži ukázalo se na chorioalantoidní membráně po 4 dnech několik dokonale vytvořených bělavých fokusů pravidelného kruhovitěho tvaru. Fokusy silně promínovaly nad niveau chorioalantoidy a vzhledem k tomu, že množství inokula, aplikované na chorioalantois, bylo 0,15 ml amnionové tekutiny, předpokládali jsme, že obsah agens, tvořícího fokusy, je ve směsi amnionových tekutin E-1 velmi nízký. V třetí embryonální pasáži, kdy jsme rozočkovali 10% suspensi této chorioalantoidní membrány opět na další chorioalantois, získali jsme již blány pokryté uzlíky, vyvolanými virem již pomnoženým. Zkoušky sterility, prováděné aerobně i anaerobně, ukázaly abakteriálnost získaného materiálu. V té době jsme byli přesvědčeni, že virus je obsažen jen v amnionové tekutině. Ale v dalších kultivacích jsme pozorovali, že vnitřní stěna amnionového obalu v případě, že byl očkován virus tohoto druhu, je místy zdrsňelá, pokrytá jakoby verukosními útvary. Tyto amnionové membrány, rozetřené a suspendované do amnionové tekutiny, kterou obsahovaly, a bohatě očkované na chorioalantois, ukáží 5–6 fokusů, které v další, t. j. třetí embryonální pasáži se již velmi dobře na chorioalantois pomnoží. Technika izolace tohoto viru, jak ji nyní v naší laboratoři provádíme, je tato:

Očkujeme-li drť z plic, připravujeme ji tak, že nejprve ostrou kyretou seškrábeme výstelku trachey i bronchů, vypreparujeme všechny bronchiální mizní uzliny a přidáme i chorobně změněnou plicní tkáň. Po pečlivém odstředění a přidání antibiotik supernatant očkujeme do amnionového vaku. K bujonům z výtěrů i k této tkáňové suspensi přidáváme podle předpokládané kontaminace materiálu 1000–2000 o. j. penicilinu a 2000 až 5000 j. streptomycinu na 1 ml. Po 4 dnech preparujeme po odčerpání amnionové tekutiny amnionové membrány, rozdrtíme je a suspensi ve vlastní amnionové tekutině očkujeme jednak opět do amnionového vaku, jednak na chorioalantois. Stáří embryí 10–12 dnů. Objeví-li se v této druhé pasáži na chorioalantois fokusy, je jich zpravidla velmi málo, 6–10, a nejvíce jsme jich napočítali 50. Tyto chorioalantoidní membrány rozdrtíme obvyklým způsobem a očkujeme v 10% suspensi na třetí embryonální pasáž, kde zpravidla, jak zjistíme z nálezu na chorioalantois, dochází již k značnému pomnožení viru. Jestliže v druhé pasáži nález na chorioalantois není typický, t. j. neobjeví-li se velké okrouhlé bělavé nad niveau silně prominující fo-



Obr. 1.
Рис. 1.

kusy — samozřejmě vše za podmínek bakteriální sterility — očkujeme amnionové blány z třetí pasáže opět na chorioalantois. Prozatímne tuto cestu získávání viru pokládáme za nejschůdnější, a to proto, že viru v očkovaném materiálu je velmi málo, pomnožení v amnionovém vaku v první a druhé pasáži je velmi chabé, ale projevuje se přece zdrsňením amnionové blány. Zpravidla již ve třetí pasáži se virus rychle na chorioalantois adaptuje a teprve zde dochází k pomnožení.

Tímto způsobem jsme isolovali v listopadu 1955 druhý kmen, pocházející z Liblic, serologicky úplně shodný s naším prvním kmenem z Kamenice. Uvážíme-li počet kultur a množství materiálu námi zpracovaného, pocházejícího z pracoviště, kde skutečně onemocnění dýchacích cest jiného původu než chřipkového je hojné a kde sefologicky nejméně ve 40% zjišťujeme toto onemocnění, soudíme, že k adaptaci viru na kuřecí embrya dojde jen málokdy.

Množení viru v alantoidním vaku

Při očkování drti chorioalantoidní membrány do alantoidního vaku — první tuto kultivaci jsme provedli z páté embryonální pasáže — dochází sice k určitému pomnožení viru ve stěnách alantoidního vaku, který v blízkosti místa vpichu bývá pokryt charakteristickými uzlíky, ale uvolňování viru do alantoidní tekutiny na rozdíl od chřipky je tak nepatrné, že lze sice alantoidní tekutiny použít k přechovávání viru, ale nikoliv udržovat virus výhradně těmito pasážemi. Tuto zkušenost potvrzuje zjištění již dříve uvedené, že při očkování do amnionového vaku sice k pomnožení viru dochází, ač nevíme zatím, zda v orgánech embrya nebo na vnitřní stěně amnionové blány, ale i zde je uvolňování pomnoženého viru do příslušné tekutiny tak malé, že zpravidla obsah partiкул viru nepřevyšuje 500 v 1 ml těchto tekutin.

Alantoidní tekutina, chovající virus VK — a tuto skutečnost jsme vždy ověřovali zpětným očkováním na chorioalantois — neaglutinuje ptačí, morčecí, myši, beraní ani lidské O krvinky, ač pokusy o to prováděli jsme v prostředí o různém pH i různé teplotě. Ani zde výzkum nelze samozřejmě považovat za ukončený.

Domněnku o uvolňování malého množství pomnoženého viru do zárodečných tekutin potvrzuje zjištění LD 50 % pro alantoidní tekutinu z páté embryonální pasáže (v té době jsme totiž předpokládali, že pěstování tohoto viru bude výhodné v alantoidním vaku), které jsme provedli 10. II. 1955. LD 50% alantoidní tekutiny páté embryonální pasáže pro kuřecí embrya bylo $10^{-1,66}$. Naproti tomu LD 50%, provedená z jedenácté embryonální pasáže se suspensí drti chorioalantoidních membrán 18. IV. 1955, ukazuje LD 50% = $10^{-3,26}$. Od sedmnácté embryonální pasáže ustálila se výška LD 50% na $10^{-4,5}$ a okolo této hodnoty se již drží, jak jsme měli možnost zjistit ve dvanácté a dvacáté sedmé embryonální pasáži, jejichž LD 50% bylo $10^{-4,62 \pm 0,19}$.

Přenos na bílé myšky. Vpředu jsme uvedli, že přenos na bílé myšky z výchozího materiálu, ať to byly bujony z výtěrů nebo drť plic z nemocných selat, byl vždy neúspěšný. Po adaptaci viru na chorioalantois prováděli jsme po prvé již z třetí embryonální pasáže pokus o další přenos na myšky. Z infikované skupiny jedna uhynula, ale nálezy na plicích ostatních myšek byly minimální. Ani další pasáže na myškách nepřinesly přesvědčující výsledky. Další pokus přenosu na myšky jsme provedli ze šesté embryonální pasáže. Čtvrtý den po nasální aplikaci u všech myšek se objevila drobná ložiska, roztroušená po celé ploše plíce, často splývající v rozsáhlé hepatizované celky. V tomto makroskopicky od chřipky odlišném nálezu nebyla zjištěna bakteriální kontaminace. Pozdější opakování ukázalo, že počínaje šestou embryonální pasáží možno kdy-

koli infikovat 10% suspensí chorioalantoid myšky. Histologické nálezy na plicích myšek takto infikovaných nejsou nikterak ustálené a jsou závislé na intenzitě vdechování nasálně podaného inokula i rychlosti průběhu. Projevy onemocnění u myšek jsou individuálně odlišné povahy a našli jsme i jedince ve stejné myší linii velmi vnímavé, hynoucí 48 hodin po infekci, a jiné s minimálním makroskopickým nálezem, hynoucí až po 140 a více hodinách. Snad i inaparentně probíhající spontánní virová myší pneumonie v chovu zdánlivě zdravém nám působí určité potíže v žádoucí reprodukovatelnosti tohoto onemocnění na myškách. Nejčastějším nálezem histologicky zjišťovaným je katarální bronchopneumonie s haemorrhagickou složkou, jindy zase pneumonie bez bronchitické složky. I zde je patrné, že přenos viru VK (pneumonie) je také dosud úsekem ne dosti zpracováván.

Abychom získali hyperimunní serum z myšek k serologickému srovnání viru VK (pneumonie) a viru VL (influenza), očkovali jsme intraperitoneálně myšky dávkou 0,5 ml 10% suspense chorioalantoidních membrán s bohatým nálezem fokusů. Myšky během 3–6 dnů hynuly za příznaků úplné steatosy jater a haemorrhagické indurace sleziny. Častým nálezem byl rovněž haemorrhagický zánět střev. Získat touto cestou hyperimunní serum očkováním živým virem se nám nezdařilo, ale zato jsme zjistili neobyčejně vysoký obsah viru ve slezině, kteréžto skutečnosti jsme použili k získání antigenu pro reakci vazby komplementu.

Přenos na zlaté křečky. Stejnou suspensi jako myškám podali jsme nasálně a zároveň intraperitoneálně zlatým křečkům. O vlastnostech hyperimunního sera takto získaného promluvíme dále. Nález na plicích byl minimální a histologicky bylo zjištěno, že jde o katarální bronchopneumonii nepatrného rozsahu.

Příbuznost viru VK (pneumonie) a chřipky prasat VL byla pro nás jednou z nejdůležitějších otázek. V dubnu 1955 odesílala výkrmna K., odkud pocházel náš virus VK, na pražské jatky 50 kusů prasat; náš kmen VK byl právě v desáté embryonální pasáži a chřipkový kmen VL ve čtrnácté embryonální pasáži. Ač chřipkový kmen VL nebyl podle silného kolísání aglutinačního titru ještě ustálen — jeho úplná adaptace na alantoidní vak s ustálením titru začíná až od 25 embryonální pasáže — přece bylo již možno použít ho jako antigenu k vazbě komplementu.

Oba antigeny chřipky VL i nového viru VK byly připraveny obdobně, běžnou technikou, užívanou pro přípravu antigenů k serologické diagnostice chřipky. Uvedeme jen nejstručnější data. Oba viry byly očkovány do alantoidního vaku a po 48 hodinách odčerpány alantoidní tekutiny a vypreparovány celé chorioalantoidní blány, které byly dále zpracovány na antigeny. Purifikaci provádíme zmrazením a dlouhodobou centrifugací. Stejným způsobem byly připraveny kontrolní antigeny z embryí, očkováných stejnou dávkou fyziologického roztoku. Kromě těchto tří antigenů z chorioalantois použili jsme také jako antigeny všech tří odčerpaných alantoidních tekutin, takže reakce byla prováděna současně se 6 antigeny, z nichž dva byly kontrolní. Komplement byl velmi přesně vytitrován v přítomnosti antigenů a do reakce byly použity dvě MHD. Schema pokusu bylo obvyklé, jakého se užívá při diagnostice chřipky, a není třeba je uvádět. Později, když jsme z tohoto pokusu měli již zjištěna kompletně pozitivní a negativní sera, upravili jsme ředění antigenů podle titru na dvě antigenní jednotky. Z počátku vždy druhý den jsme celý pokus za stejných podmínek opakovali; dosažené výsledky byly opět stejné. Kdykoliv jsme měnili antigen, vždy jsme jeho účinný titrovali na známých pozitivních a negativních serech, jež byla přechovávána zmrzlá.

Výsledky šetření z prvních asi tří set krevních sér můžeme zhodnotiti takto: Vysloveně nespecifických reakcí, t. j. těch případů, kdy sera reagovala

i s kontrolními antigeny, připravenými z embryí očkovanych jen fyziologickým roztokem, je něco více než 5 %. Ser, jež vykazovala autoreakci, bylo ani ne 0,5 %. Když jsme použili k serologické diagnostice pneumonie myších slezin i při vysokém ředění, kterého je možno v tomto případě použít, stouply nespecifické výsledky na 10–12 %. Toto poměrně vysoké číslo nespecifických výsledků sice nepřekvapuje u antigenů připravených z myších orgánů, ale je jisto, že pracováním přípravy antigenu bude možno procento nespecifických výsledků snížit.

Ale i tak tento pokus přesvědčivě prokázal, že jsou sera, která reagují jen s antigenem VL-chřipka, a sera, reagující jen s antigenem VK-pneumonie. Ale jsou také sera, která reagují s oběma antigeny, a to i v různém stupni. Číselné vyjádření našich výsledků kolísá podle původu prasat a je jisto, že udává s přesností nám dosud neznámou stupeň přemožení chovů. Ohodnocení a aplikace těchto výsledků nepatří již do naší práce.

Pro zajímavost jen uvádíme, že jsme měli skupiny, kde negativních ser bylo až 86 %, ale i skupiny, kde pozitivně reagovalo až 38 % ser. Stejně zajímavý je poměr skupin reagujících jen s antigenem chřipka a jen s antigenem pneumonie. Tak na př. jedna skupina měla 4 % pozitivních ser s antigenem chřipka a 30 % pozitivních s antigenem pneumonie. Jiná skupina měla 24 % pozitivních ser s antigenem chřipka, 10 % pozitivních s antigenem pneumonie. Počet ser, která reagovala s obojím antigenem, kolísal od 1,7 % až do 15,2 %.

Podotkli bychom jenom, že u poražených prasat byly plicní nálezy na jatkách hodnoceny doc. Pokorným a že naše serologické výsledky téměř souhlasí s pitevními nálezy.

Výsledkem této části našich pokusů je zjištění, že diferenciální diagnostika „chřipky“ a „pneumonie“ je serologicky vazbou komplementu možná, rozdíly jsou zcela distinktní a nabyli jsme přesvědčení, že tyto dva kmeny virů, získané stejným způsobem — výtěry nosní dutiny — a kultivačně úplně odlišně se chovající, ať jde o aglutinaci červených krvinek nebo projevy množení se viru na kuřecím embryu, nejsou příbuzné.

Je známo, že látky komplement vázající a látky virus neutralisující nemusí být totožné. Virusneutralizační test, ať na kuřecích embryích či na jiných pokusných zvířatech, je vždy pracovně náročný a co do spotřeby pokusných zvířat nákladný. Nebylo nám proto možno přezkoušet jednotlivá sera ve virusneutralizačním pokuse na oba dva antigeny a dokázat tak současně kromě rozdílnosti obou virů také specifický vztah mezi virem VK-pneumonie, pěstovaným dosud na chorioalantoidních membránách, a vyšetřovanými sery nemocných prasat. K neutralizačnímu testu jsme proto použili směsi dvanácti různých ser, která reagovala pozitivně s antigenem VK, a dále směsi ser, která s tímž antigenem reagovala negativně. Test byl proveden proti suspensi chorioalantoidních membrán, která byla ředěna od 10^{-1} až do 10^{-5} . Sera byla filtrována přes Seitzovy filtry EK a inaktivována 30' při 56°C . Pracováno bylo se skupinami po 4 embryích, současně očkovány kontroly viru i obou směsí ser.

Výsledek pokusu byl tento:

LD 50% použitého viru VK E-10 bylo	2.10-3,26 $\pm$ 0,03
Neutralizační index ser pozitivně reagujících byl	1819,7
Neutralizační index ser negativně reagujících byl	6,77

Výsledek je tedy zcela průkazný. Jedinou závadou tohoto pokusu je, že bylo pracováno se směsí ser. Nemůžeme tedy říci, zda ve všech případech látky komplement vázající jsou totožné s látkami virus neutralisujícími. Další zajímavé pozorování jsme učinili při preparaci chorioalantoid z tohoto pokusu. Když po 132 hodinách byly u přeživších embryí kontrolně preparovány chorio-

alantoidní membrány, zjistili jsme k svému překvapení, že počet fokusů, pokud lze ho vůbec odhadnout při ředění 10^{-5} , není nikterak snížen a že embrya přes velký nález jsou normálně pohyblivá, nedusící se. Pokládáme proto za nejvýš pravděpodobné, že směs pozitivně reagujících ser s vysokým neutralizačním indexem oslabuje zřejmě pathogenitu, ale nikoliv vitalitu viru.

Souběžně s tímto pokusem, kdy jsme očkovali další pasáž ze suspense použité do neutralizačního pokusu, bylo z pokusných důvodů přidáno 2000 j. penicilinu a 5000 j. streptomycinu na 1 ml této suspense. Vitalita ani pathogenita viru nebyla touto vysokou dávkou antibiotik nikterak oslabena a odolnost tohoto viru na antibiotika byla znovu ověřena. Zajímavá skutečnost, že sera s vysokým neutralizačním indexem oslabilá jen pathogenitu, nikoliv však vitalitu viru, by vysvětlovala mnohé dosavadní rozpory jak klinické, tak i imunologické, jež nacházíme zejména v pracích Bettse a spol.

Když jsme zjistili tento vysoký neutralizační index ser z jatek, byli jsme přesvědčení, že získání hyperimunního sera jednak myšího, jednak ze zlatých křečků, nebude obtížné. Přenos viru VL-chřipka i viru VK-pneumonie na plíce zlatých křečků byl celkem neúspěšný. Nálezy na plicích po nasátním podání opravdu velkých dávek obou virů byly minimální. Nebyla tudíž naděje na získání homologního sera a antigenu ze zlatých křečků. U bílých myšek přenos obou virů na plíce byl snadný, stejně jako získání hyperimunního sera proti viru VL-chřipka. Myšky ip očkované virem VK-pneumonie, jak jsme již uvedli, rychle hynuly. Od očkování formolisovaným či jinak oslabeným virem jsme upustili z důvodů, které uvedeme níže a jež vyplývají z neobyčejně pomalého nástupu tvorby protilátek u viru VK-pneumonie. Zkřížený pokus s hyperimunními sery vazbou komplementu jsme nemohli provést, poněvadž v jednom ani v druhém případě jsme nemohli dosáhnout homologních ser a antigenů. Proto jsme byli nuceni upravit průkaz příbuznosti nebo nepříbuznosti obou virů tak, že hyperimunních křečcích ser použijeme k neutralizačnímu testu s oběma viry. Dvě skupiny zlatých křečků byly imunisovány nasátně a zároveň velkými dávkami intraperitoneálně. Imunisace trvala tři týdny a tři týdny po poslední intraperitoneální injekci byla zvířata kardiální punkcí vykrváčena. Současně s nimi byla odebrána sera křečkům neimunisovaným. Některá z těchto odebraných ser bylo nutno vysycovat před použitím k Hirstovu inhibičnímu testu kuřecími krvinkami. Inhibice haemaglutinace ukázala vysoký titr protilátek proti kmenu VL-chřipka 1 : 2040. Hyperimunní serum, získané očkováním viru VK-pneumonie, nebránilo aglutinaci. Měli jsme tudíž zjištěno, že imunisační křečků virem VL-chřipka jsme získali hyperimunní serum dobré kvality. O účinnosti hyperimunního sera anti VK-pneumonie jsme se mohli přesvědčit jen virusneutralizačním pokusem na embryích, který jsme chtěli provést zkříženě s oběma antigeny a oběma sery. O jakosti sera anti VL-chřipka jsme byli přibližně informováni inhibičním testem. O účinnosti hyperimunního sera VK jsme měli určité pochybnosti vzhledem k tomu, že zejména anglosaská literatura uvádí nedostatečnou tvorbu protilátek při onemocnění virovou pneumonií.

Virusneutralizační test jsme provedli na embryích a pokus jsme hodnotili v době, kdy 60 % embryí z kontrolní skupiny bylo již uhynulých. Výsledek uvádíme jen stručně:

Serum anti VL-chřipka zabránilo pomnožení viru VL-chřipka, ale hyperimunní serum anti VK-pneumonie se neprojevovalo žádným způsobem v útlumu pomnožení chřipkového viru. Naopak hyperimunní serum anti VK-pneumonie projevilo jen slabý tlumivý účín na růst viru VK. Tedy užití sera anti VL-chřipka se projevilo jako velmi účinné, serum anti VK-pneumonie jako málo účinné. Z pokusu je zřejmo, že nástup tvorby protilátek u zlatých křečků přes mohutnou imunisaci je pozdní a jejich rozvoj velmi pomalý. Rozhodně obvyklá

lhůta tří týdnů po skončení imunisace je nedostatečná a slabá vnímavost a vysoká odolnost zlatých křečků proti tomuto onemocnění jistě byla také rozhodujícím činitelem. Naproti tomu tvorba protilátek proti viru VL-chřipka je taková, jak jsme očekávali. Tento serumneutralizační pokus jsme opakovali se sery křečků, u nichž další imunisaci jsme se pokusili zvýšit obsah protilátek. K určitému zlepšení kvality sera skutečně došlo. Vyhodnocení tohoto opakovaného pokusu bylo:

LD 50 % viru VK 27'embr. pasáže bylo $10^{4.6}$.

Neutralizační index sera anti VK-pneumonie byl 186,3

zatím co NI sera anti VL-chřipka proti témuž viru byl 16,6

Výsledek dokazuje jasně rozdílnost obou virů a i při poměrně nízkém neutralizačním účinku je rozdíl signifikantní. Stejně tak zkřížený pokus ukázal, že velmi účinné hyperimunní serum anti VL-chřipka netlumí ani v nejmenším růst VK-pneumonie. Končíme tento úsek naší práce zjištěním, že není prokazatelný vztah ve smyslu příbuznosti mezi virem VL-chřipka a virem VK-pneumonie.

Přenos na selata

K ověření etiologických vztahů viru námi pěstovaného k bronchopneumonii prasat bylo nutno přenést infekci na selata, jež byla vybrána od malochovatele z nezamořeného prostředí. Dovezená selata vážila 16 a 18 kg. byla vyšetřena doc. Pokorným a v laboratoři byly provedeny roentgenové snímky plic. Teplota, měřená týden před infekcí, se pohybovala v mezích normy. Obě zvířata byla velmi čilá a dychtivě žrala. Infekce byla provedena doc. Pokorným jednak intratracheálně, jednak intranasálně. K infekci bylo použito viru VK-pneumonie patnácté embryonální pasáže, a to 10 % suspence chorioalantoidních membrán v celkové dávce 8 ml na 1 zvíře. Před infekcí byla oběma zvířatům odebrána krev a krevní sera uschována při -30°C .

Průběh infekce byl sledován roentgenologicky, jakož i pravidelným klinickým vyšetřováním. Tato pozorování budou jistě zhodnocena na jiném místě, podotýkáme jen, že průběh umělé infekce souhlasil se zprávami z literatury, pokud příliš krátká pozorovací doba 5 týdnů dovoluje vůbec nějaké klinické závěry.

S našeho stánoviska důležité bylo virologické a serologické vyšetření před infekcí a po infekci.

Při prohlídce po poražení bylo zjištěno veterinářem na jatkách, že plíce jeví známky chronického zánětu a srůsty. Z plic obou selat jsme se ihned pokusili o zpětnou izolaci viru. Byla provedena způsobem již vpředu popsáním, t. j. seškrabáním vnitřních částí trachey i bronchů, částmi plicní tkáně a drtí uzlin. Drť těchto tkání v koncentraci asi 20 %, samozřejmě po odstředění všech pevných částí, jsme očkovali jak do amnionového, tak i alantoidního vaku, ale i na chorioalantois. V první pasáži na chorioalantois jsme zjišťovali pruhovité zákaly a v místě dopadu inokula chorioalantois byla bělavá, zánětlivě podrážděná, silně ztlustělá. Žádná z odčerpaných alantoidních nebo amnionových tekutin neaglutinovala kuřecí krvinky; vzorky odebrané a přezkoušené na bakteriální sterilitu ukázaly, že inokulum je prostě bakteriální infekce. V druhé pasáži očkovali jsme amnionové tekutiny na chorioalantois. V této druhé pasáži se objevily náznaky fokusů jen ve dvou případech, a to tam, kde bylo dáno větší množství inokula. Změny na chorioalantois v první i druhé pasáži byly přece jen proti dřívějšímu poněkud výraznější, z čehož snad lze usoudit, že pasážovaný virus podržel přece jen určitou schopnost adaptace na chorioalantoidní membránu. Potvrdilo se znovu naše pozorování, že obsah viru v plicní tkáni je

minimální a že readaptace na kuřecí embryo je jen velmi povlnná. Teprve 29. července, tedy téměř měsíc po započetí kultivačních prací, ve čtvrté embryonální pasáži se objevila na chorioalantoidních membránách řada zcela charakteristicky vytvořených fokusů. Je třeba uvést, že na plochu 1 cm² připadalo nejvýše 12 uzlíků, tedy i zde obsah viru ve čtvrté embryonální pasáži je opravdu minimální. Tento znovu vykultivovaný virus měl všechny vlastnosti shodné s kmenem původně selatům očkovaným. Specifická tohoto nálezu byla potvrzena teprve provedením serumneutralizačního indexu, jenž byl proveden se sery od selat odebranými před začátkem pokusu a při jeho skončení. Krevní sera, uchovávaná až dosud při -30° C, byla připravena obvyklým způsobem, filtrována přes Seitzovy filtry EK, inaktivována a k zajištění specifity nálezu bylo použito viru přímé linie sedmnácté embryonální pasáže (infekce byla provedena virem patnácté embryonální pasáže). Virusneutralizační index ukázal jednak, že LD 50 % pro kuřecí embryo je již ustálena a v tomto pokuse byla 10^{4.5}. Neutralizační index sera před infekcí byl 18,2, tedy negativní. Neutralizační index sera po infekci byl 112,2, tedy větší než 50 a svědčil pro přírůstek specifických virusneutralisujících látek.

Zde vidíme nápadnou obdobu v pomalém růstu protilátek tak, jak jsme ji popsali u zlatých křečků. V obou případech byla sera odebrána 5 a 6 týdnů po začátku imunisace a vzestup protilátek v obou případech byl stejně pomalý, zatím co protilátky proti chřipkovému antigenu se tvořily rychle a v množství prakticky 20krát účinnějším. Ale u selat byl vzestup protilátek přece jen patrnější než u zlatých křečků, kteří jsou vůči viru VK-pneumonie opravdu refrakterní.

Většina těchto pokusů, ať virusneutralizačních či kultivačních, byla opakována, tak na př. z amnionové tekutiny z první pasáže, očkované drtí plic pokusných selat, byl znovu později vykultivován virus stejných vlastností a tím první výsledky potvrzeny.

Shrnujeme: Ačkoliv obsah protilátek v hyperimunním seru křečků proti viru VK-pneumonie je malý, přece virusneutralizační index je větší než 50, tudíž pozitivní, a přítomnost specifických protilátek je tím prokázána. Hyperimunní serum anti Liblice (VL-chřipka), ač velmi účinné, žádným způsobem neovlivňuje růst viru VK-pneumonie a dokonce v pokuse, který jsme provedli 28. 11. 1955, chovalo se toto serum přes svůj vysoký inhibiční efekt jak co do zábrany pomnožení viru, tak i haemaglutinace jako normální křeččí serum. V těchto opakovaných pokusech různorodost viru VK-pneumonie a VL-chřipky byla jasně prokázána. Pomalý nástup tvorby protilátek, slabý vzestup jejich titru u uměle infikovaných selat i u mnohonásobně imunizovaných křečků je nápadný. V zdánlivém rozporu s tím je vysoký virusneutralizační index ser prasat, jimž byla krev odebrána při porážce na jatkách. Uvážíme-li však vleklý průběh onemocnění, trvalou přítomnost viru v organismu, hlavně v mizných uzlinách plicních, které snad virus trvale přechovávají, tedy povlnný přírůstek protilátek je pochopitelný a prase teprve po dosažení žírné váhy obsahuje poměrně značné množství protilátek tak, jak nám je udává neutralizační index.

Přesto ovšem, srovnáváme-li v těchto serech neutralizační index proti viru VK-pneumonie a proti chřipkovým virům, vidíme, že obsah protilátek je poměrně nízký. Je řada jiných virových onemocnění, kde neutralizační index dosahuje hodnoty dvakrát až třikrát větší.

Dne 15. listopadu 1955 bylo dovezeno z hospodářství L. uhynulé sele. Z pitevního nálezu vyjímáme, že peribronchiální uzliny byly značně zvětšené. Výstelka trachey kyprá, pokrytá začervenalým hlenem s lehkou příměsí krve.

I v tomto případě jsme provedli kultivaci zejména výstelky a uzlin. Na chorioalantoidních membránách po 4 dnech nebyl nálezní nijak charakteristický, ale vnitřní stěny amnionových obalů byly místy nápadně ztlustělé, zhrublé a zdrsňělé a při malém zvětšení bylo patrno, že tato zdrsňělá místa jsou pokryta drobnými verukosními útvary, o nichž jsme se zmínili již vpředu.

Amnionové blány byly vypreparovány, rozdrčeny a naočkovány na chorioalantoidní membrány v dávkách od 6 do 1 kapky. Po čtyřdenní inkubaci byly chorioalantoidní blány preparovány a tam, kde bylo očkováno 6 kapek, byly nalezeny 4 velké fokusy, na ostatních ojediněle 1–2 fokusy, morfologicky podobné, jak jsme je zjišťovali při prvních pasážích viru VK-pneumonie. V další pasáži došlo k pomnožení viru obvyklým způsobem na chorioalantois. Identifikaci tohoto kmene a kmene VK jsme provedli při serologickém vyšetřování 85 ser, dodaných z pražských jatek a pocházejících vesměs od prasat, přivezených z výkrmny Kamenice. Tato sera byla vyšetřena s antigenem VK-pneumonie a zároveň s antigenem, připraveným z nově získaného kmene, který označujeme L-III, vše v jediném pokuse. Shoda v negativních i pozitivních reakcích s antigenem původním byla naprostá, s výjimkou dvou ser, z nichž jedno reagovalo silněji s antigenem VK, druhé silněji s antigenem L-III.

Další identifikace tohoto kmene byla provedena virusneutralizačním pokusem, kde pozitivně ve vazbě komplementu reagující sera a sera reagující negativně byla použita proti kmenu L-III, který t. č. jsme kultivovali v šesté embryonální pasáži.

Virusneutralizační pokus s těmito sery dal tento výsledek:

LD 50 % užitého viru L-III v 6. embr. pasáži bylo	10-3,75
neutralizační index ser s negativní reakcí ve vazbě komplementu byl	32,4
neutralizační index ser s pozitivní reakcí ve vazbě komplementu byl	562,3

Při hodnocení tohoto pokusu vidíme již nápadnou shodu v LD 50 % prvních pasáží viru VK-pneumonie. Výsledek u ser s negativní reakcí je ve skupině výsledků pochybných. Naproti tomu výsledek u ser s pozitivní reakcí ukazuje jasně výsledek pozitivní s indexem větším než 50. Je patrno, že ve skupině pozitivních ser mohou být sera s malým neutralizačním indexem, který hodnotu proti neutralizačnímu pokusu s virem VK snížil. Je ostatně samozřejmé, a tento pokus to potvrzuje, že sera pozitivní ve vazbě komplementu nemusí chovat látku virus neutralisující. Identitu obou kmenů pokládáme tím za prokázanou.

Rozprava

Literatura o virové pneumonii prasat (VPP) uvádí, že hlavní projev této nemoci je opožděné dosažení jatečné váhy. Úbytek na váze, způsobený chorobou, může být ve srovnání se zdravými zvířaty až 25 %.

Průběh choroby je vleklý, klinické projevy nejsou nijak nápadně vyznačeny. Oslabení odolnosti, ke kterému dochází již v začátcích nemoci, činí jedince vnímavým k druhotné infekci.

Vysoká infekciosita choroby je příčinou jejího značného rozšíření a sumací úbytků na váze, které virová pneumonie zavinuje, vznikají ztráty národohospodářsky významné. Experimentální důkaz této choroby se provádí na velkých skupinách prasat pokusných a kontrolních a projeví se průkazně v pokuse trvajícím 200 i více dnů.

Pokus podobného rozsahu není v našich pracovních podmínkách proveditelný, a proto nemůžeme ověřit správnost našeho předpokladu o izolaci agens

virové pneumonie prasat. Pokud s kmeny námi izolovanými a kultivovanými nebude proveden pokus v průkazném měřítku, výsledek naší práce musí být vždy označován jen jako nejvyšší pravděpodobný, i vzhledem k testům, jež jsme provedli.

I pokus, který jsme provedli na dvou selatech, je průkazný jen pokud jde o zpětné vypěstování viru, jímž selata byla infikována. Není však průkazný, pokud jde o důkaz, že chorobné změny na plicích sjetat po námi provedené infekci byly skutečně charakteristické pro virovou pneumonii prasat.

Avšak virologické i serologické testy, opakovaně námi provedené se sery prasat z jatek, prokazují jasně, stejně jako izolace druhého kmene L-III úplně identických vlastností s kmenem VK, účast obou virů, námi zachycených a nyní pěstovaných na kuřecích embryích při onemocnění dýchacích cest prasat.

Z á v ě r

Naše laboratorní výsledky prokazují přítomnost dalšího etiologického činitele účastníciho se na onemocnění dýchacích cest prasat. Podle virologických i serologických zkoušek účast tohoto viru při onemocnění dýchacích cest prasat je nepochybná.

Virus námi nově zachycený je kultivačně i serologicky odlišný od viru chřipky, jak četnými a opakovanými pokusy prokazujeme.

Neuvádíme sice v tomto předběžném sdělení ani klinické ani histologické charakteristiky onemocnění, označovaného v literatuře jako „virová pneumonie prasat“, ani neporovnáváme s nálezy na pokusných zvířatech, na něž jsme naše viry po pomnožení na kuřecím embryu přenesli; ale přesto se domníváme, že část naší práce, kterou předkládáme, dovoluje nám předpokládat s největší pravděpodobností a se všemi výhradami, jež si naše dosud provedené pokusy vynucují, že dva kmeny virů, které mají naše laboratorní označení VK a L-III, jsou etiologickým agens virové pneumonie prasat.

Za význačnou vlastnost tohoto viru pokládáme špatnou antigenní účinnost in vivo; nástup tvorby protilátek je pomalý a jejich titr zůstává dlouho nízký.

Další zcela charakteristickou vlastností je schopnost virusneutralizačních látek, obsažených v seru prasat, oslabit patogenitu viru bez snížení jeho životnosti. Virus vlivem tohoto sera stává se apathogenním, aniž by jeho vitalita a invazivnost v nejmenším utrpěly. Tato skutečnost by mohla být využita k preventivní ochraně.

• Přesnost, s jakou naše serologické zkoušky stanoví rozšíření této nemoci v chovech, ukáže teprve spolupráce s odborníky v terénu.

Oba kmeny viru i podrobné údaje, v této práci neuvedené, jsou výzkumným laboratorům u nás k dispozici.

L i t e r a t u r a

1. Pullar E. M. (1948) Austr. Vet. J., 24, 320 (1949b). Ibid. 25, 53; (1949a) Brit. Vet. J. 105, 437 (cit. Gulrajani, Beveridge J. Comp. Path. 1951, Vol. 61, 118). — 2. Gulrajani T. S., Beveridge W. I. B.: Studies on Respiratory Diseases of Pigs: IV. Transmission of Infectious Pneumonia and its Differentiation from Swine Influenza.

J. Comp. Path. 1951, Vol. 61, 118. — 3. Hjärre, Dinter, Bakos: Vergleichende Untersuchung über eine influenzähnliche Schweinekrankheit in Schweden und Shopes Schweineinfluenza. Nord. Vet. Med. 1952, 4, 1025-1045. — 4. Palyusik: Untersuchungen über die Aetiologie der enzoot. Ferkel-pneumonie. Acta Vet. Acad. Scient. Hungariae, III., 1. 63-73, 1953. — 5. Dinter: Weitere Untersuchungen über die enzootische Virus-pneumonie der Schweine. Proceedings, Part. I., XV. Nord. Vet. Congr. Stockholm 1953. — 6. Beveridge W. I. B., Betts A. O.: Virus Pneumonia of Pigs, Proceedings Part. I., Stockholm 1953 (Nord. Vet. Congr.). — 7. Alan O. Betts, W. I. B. Beveridge: Virus Pneumonia of Pigs: The Effect of the Disease upon Growth and Efficiency of Food Utilisation, The Vet. Rec. 65, 515, 1953. — 8. A. O. Betts, P. Whittlestone, W. I. B. Beveridge: Investigations on the Control of Virus Pneumonia of Pigs (V. P. P.) in the Field. The Vet. Record, 1955, 685. — 9. R. S. Barber, R. Braude, K. G. Mitchell, Alan O. Betts: The Eradication of Virus Pneumonia from a Herd of Large White Pigs at a Research Station. The Vet. Record, 1955, 690. — 10. A. O. Betts, P. Whittlestone, W. I. B. Beveridge, J. H. Taylor, R. C. Campbell: Virus Pneumonia in Pigs — The Vet. Record, Sept. 1955, 661. — 11. Stig Börnfors, Nils Lannek: Therapeutic Trials in Enzootic Pneumonia in Pigs. Nord. Vet. Med. 1955; 7, 15-31.

Изоляция вируса пневмонии свиней и попытка доказать его этиологическую связь с этой болезнью

Результаты наших лабораторных исследований доказывают наличие дальнейшего этиологического фактора, принимающего участие в заболевании дыхательных путей свиней. Согласно вирусологическим и серологическим испытаниям участие этого вируса в заболевании дыхательных путей свиней является бесспорным.

Вновь изолированный нами вирус в процессе культивации и в серологическом отношении отличается от вируса гриппа, что было доказано многими повторными опытами.

В этом предварительном сообщении не приводятся, однако, ни клиническая, ни гистологическая характеристика заболевания, описанного в литературе как «вирусная пневмония свиней». В этом сообщении не приводятся также и сравнения с признаками, установленными на опытных животных, на которые после размножения на куриных зародышах был перенесен наш вирус. Несмотря на это мы полагаем, что предлагаемая нами часть работы дает нам возможность предполагать с полной вероятностью и со всеми оговорками, которые мы вынуждены сделать на основании проведенных до сих пор опытов, что два штамма вирусов, означенные при наших лабораторных исследованиях как VK и L-III, являются этиологическим фактором вирусной пневмонии свиней.

Характерным свойством этого вируса мы считаем плохое антогенное действие *in vivo*; начало образования антител протекает медленно и их титр долго остается низким.

Дальнейшим, весьма типичным свойством, является свойство нейтрализующих вирус веществ, заключенных в сыворотке свиней, ослаблять патогенность вируса без снижения его жизнеспособности. Под влиянием этой сыворотки вирус становится апатогенным, причем его витальные и инвазионные способности совершенно не снижаются. Это явление могло бы быть использовано для проведения профилактической защиты.

Точность, с которой наши серологические испытания устанавливают распространение этой болезни в стадах, нам укажет только сотрудничество со специалистами в полевых условиях.

Isolation of the Pneumonia Virus of Pigs and an Attempt to Demonstrate Its Etiological Relation with the Disease

Our laboratory results demonstrate the presence of a further etiological factor in the disease of the respiratory tract of pigs. According to virological and serological tests the presence of this virus in diseases of the respiratory tract of pigs is indubitable.

The virus which we have isolated is different in cultivation and serologically from the influenza virus, as we show by numerous and repeated experiments.

In this preliminary report I shall not mention either the clinical or the histological characteristics of the disease called "virus pneumonia of pigs", nor do we compare it with findings made on test animals in whom the virus was spread after multiplication in chicken embryo; we believe nevertheless that the part of our work which we present permits us to suppose, with the greatest of probability and with all the reservations which tests made to date force us to make, that the two strains of virus called VK and L-III in our laboratory are the etiological agent of virus pneumonia of pigs.

We consider as a characteristic property of this virus its low antigenic activity in vivo; the beginning in formation of antibodies is slow and their titre remains low for a long time.

A further quite characteristic property is the capacity of virus-neutralizing antibodies in the serum of pigs to weaken the pathogenesis of the virus without lowering its vitality. As an effect of this serum the virus becomes apathogenic without losing its vitality and invasibility in the least. This fact could be utilized in connection with preventive measures.

The precision with which our serological tests will establish the spreading of this disease among farm animals will be shown only after co-operation with experts in the field.

Isolierung des Pneumonie-Virus bei Schweinen und der Versuch, seinen etiologischen Zusammenhang mit dieser Krankheit nachzuweisen

Die in unseren Laboratorien erzielten Ergebnisse weisen klar das Bestehen eines weiteren etiologischen Faktors nach, der an der Erkrankung der Atmungsorgane bei Schweinen seinen Anteil hat. Nach den virologischen und serologischen Prüfungen steht die Ingerenz dieses Virus an der Erkrankung der Atmungsorgane außer Zweifel.

Der von uns isolierte Virus unterscheidet sich züchtungsgemäß und serologisch vom Grippevirus, wie unsere zahlreichen und wiederholten Versuche beweisen.

Ich führe zwar in diesem Vorbericht weder die klinischen, noch die histologischen charakteristischen Kennzeichen der Erkrankung an, die in der Literatur als „Viruspneumonie bei Schweinen“ bezeichnet wird, und vergleiche diese auch nicht mit den Befunden an Versuchstieren, auf die wir unsere Viren nach ihrer Vermehrung auf einem Hühnembryo übertragen haben, nichtsdestoweniger sind wir jedoch überzeugt, daß ein Teil der hier vorgelegten Arbeit mit aller Wahrscheinlichkeit und bei allem derzeit noch gebotenen Vorbehalte den Schluß zuläßt, daß die zwei Virusstämme, welche die Laboratoriumsbezeichnung VK und L-III tragen, ein etiologisches Agens der Viruspneumonie bei Schweinen vorstellen.

Als eine bedeutsame Eigenschaft dieses Virus erachten wir seine schlechte antigenische Wirksamkeit in vivo; die Bildung der Antikörper vollzieht sich langsam und ihr Titer bleibt lange Zeit niedrig.

Eine weitere charakteristische Eigenschaft erblicken wir in der Fähigkeit der

virusneutralisierenden, im Serum der Schweine enthaltenen Antikörper, die Pathogenität des Virus schwächen zu können, ohne dabei seine Vitalität zu beeinträchtigen. Der Virus wird unter dem Einfluß dieses Serums apathogen, ohne daß dadurch seine Vitalität und Invasionsfähigkeit im geringsten leidet. Diese Tatsache könnte für preventive Schutzmaßnahmen entsprechend ausgenützt werden.

Mit welcher Genauigkeit unsere serologischen Versuche die Verbreitung dieser Krankheit in den Schweineherden zu bestimmen vermögen, wird erst unsere weitere Zusammenarbeit mit Fachleuten im Terrain erweisen.

Pathologicko-histologické změny při experimentálně vyvolaném *Morbus Aujeszký* u laboratorních zvířat

Патолого-гистологические изменения при экспериментально вызванной болезни
Ауески у лабораторных животных

Pathologisch-histologische Veränderungen bei experimentell hervorgerufenem
Morbus Aujeszký an Laboratoriums-Tieren

Gerhard SPITZER

Ústav pro pathologickou anatomii a histologii veterinární fakulty v Brně,
přednosta dopisující člen ČSAZV prof. dr. Jelínek

Došlo 5. I. 1956



Všeobecný úvod

V poslední době, kdy se u nás velmi značně zvýšil dovoz masa z různých evropských i zámořských států, zvýšilo se i nebezpečí zavlečení rozmanitých infekčních chorob, které by byly s to ohrozit chovy našich domácích i divoce žijících zvířat.

Zde právě připadá velmi důležitý úkol naší veterinární službě — zkoumat nákazovou situaci v krajích, odkud maso dovážíme, zintenzivnit prohlídku masa na vstupních místech do naší republiky a v neposlední řadě též neustále zdokonalovat naše diagnostické a vyšetřovací metody, aby tím byl uchráněn náš stát před velkými národohospodářskými ztrátami.

Jednou z nemocí, která by mohla nebezpečně ohrozit naše domácí zvířectvo, je Aujeszkého nemoc; tato práce má být příspěvkem ke zdokonalování našich — doposud značně nespolehlivých — diagnostických metod k zjišťování této choroby.

Speciální úvod

Aujeszkého nemoc je akutní infekční onemocnění ssavců, probíhající za všeobecných příznaků horečky, respektive jako zánět mozku a míchy, s typickými poruchami nervovými, zvláště silným svěděním. Výzkum virových chorob u domácích zvířat v posledních letech ukázal, že tato Aujeszkého choroba je poměrně více rozšířena, než se původně předpokládalo (H e y n e n).

Tuto nemoc objevil r. 1902 jakožto samostatné onemocnění maďarský badatel Aujeszký. V dalších letech pak následovali jiní autoři, kteří popisovali tuto nemoc u různých zvířat. Tak na př. r. 1904 popsal M a r e k tuto nemoc u koček, B a l a s r. 1907 u potkanů, r. 1909 L a z a r W e i s s po prvé u pra-

sat, 1910 Hutyr a u skotu a pod. Co se týče teritoriálního rozšíření této choroby, možno říci, že se vyskytuje na celém světě. V Evropě byla spousta badatelů, kteří v různých státech toto onemocnění zjistili a popsali. Pacevič a Isabolinski zjistili tuto chorobu na Sibiři, Aujeszky, Marek, Szabó, Balás v Maďarsku, Bass, Michalka, Götze, Heynen v Německu, Rossi, Colin, Remlinger, Bailly ve Francii, Shope v USA a mnoho jiných autorů.

Tato choroba bývá označována různě: Aujeszky sám, jako objevitel této nemoci, nazval ji pseudovzteklinou, protože celkový její obraz se mu v mnohém jevil podobným vzteklině a poněvadž původcem jejím je rovněž virus. Postupem doby a po dalších výzkumech objevila se ještě řada dalších označení, z nichž se dnes užívá kromě původního názvu „pseudovzteklina“, infekční bulbární paralýza, pseudorabies a pseudolyssa a morbus Aujeszky. V posledních letech se však převážně začalo používat názvu „*Morbus Aujeszky*“, Aujeszského nemoc. Zdůvodnění tohoto názvu bylo několik a chtěl bych zde uvést názor Gerlachův a Schweinburgův. Tito dva autoři odůvodňují označování tohoto onemocnění jako *Morbus Aujeszky* takto:

Označení jako pseudovzteklina, pseudolyssa nepovažují za výhodné proto, že toto onemocnění etiologicky vůbec se vzteklinou nesouvisí a protože významu pseudolyssa se používá také k označení jiných nemocí, jako na příkl. *pseudolyssa - hysterica* u lidí. Rovněž odmítají název infekční bulbární paralýza, poněvadž chorobný proces jednak se neomezuje jen na prodlouženou míchu, a jednak proto, že řada jiných virových onemocnění, probíhajících za obdobných klinických příznaků, by mohla být nazvána stejně.

O výskytu této nemoci by se dalo všeobecně říci, že se vyskytuje jak sporadicky, tak v hromadné formě. Propuknutí nákazy s enzootickým charakterem lze nejčastěji pozorovat v chovech prasat, kde často již během týdne onemocní převážná většina zvířat. Avšak i u prasat se nákaza zpravidla omezuje na jeden chov a šíření nákazy z chovu na chov, jako je tomu u moru vepřů, nebylo možno pozorovat.

O výskytu Aujeszského choroby v ČSR máme zprávu ve Zvěrolékařských obzorech z roku 1938. Weidlich zde uvádí, že v dubnu r. 1938 onemocněli psi v okrese komárenském za příznaků, svědčících pro Aujeszského chorobu. Očkováním mozku ze zaslané hlavy psa na pokusná zvířata byla tato choroba po prvé bezpečně zjištěna v ČSR r. 1938 a nikoli teprve r. 1954, jak se někteří autoři mylně domnívají.

Etiologie

Původcem choroby je virus, který se z počátku nachází v místě infekce, v krvi a v moči, a v dalších stádiích onemocnění též v centrálním nervovém systému. Ve slinách se virus objeví jen výjimečně. Sliny jsou však infekční ve zvýšené míře tehdy, obsahují-li příměsi plicních hlenů. Dále je virus obsažen ve výtoku nosním.

Virus je poměrně odolný proti nepříznivým vlivům prostředí. Po zasnění podřazuje si virulenci za příznivých podmínek až po dobu jednoho měsíce a rovněž hnilobě vzdoruje po několik dní. Naproti tomu teplota 100° C a desinfekce 1% louhem sodným nebo draselným jej ihned zničí.

Způsob přirozené infekce není ještě celkem objasněn. Virus se dostává do hloubky tkání ranami v kůži, po případech z dutiny hltanové. Není však ještě zcela jasná otázka způsobu zavlečení a rozvlečení nákazy. Je však pravdě nejpodobnější, že hlavním činitelem při rozvlekání nákazy jsou potkani.

Mluví pro to skutečnost, že hromadné hynutí potkanů, jehož příčinou byla epizootie Aujeszkeho nemoci, mělo za následek vypuknutí místních enzootií mezi domácími ssavci. Otázka, jakým způsobem se přenáší choroba z nemocných zvířat na zvířata zdravá, není rovněž ještě jednotně vyřešena. Lze předpokládat, že zvířata se nejčastěji infikují cestou alimentární, což je nejlépe možné u masožravců (psi a kočky se nakazí při chytání potkanů nebo po zkrmování masa nutně odporazených prasat, onemocnělých Aujeszkeho nemocí). Masožravci pak šíří nákazu dále močí a krví (H u t y r a, M a r e k).

Dále zjistil S h o p e, že u nemocných prasat je v určitém stadiu nemoci (těsně před uhynutím, kdy se u nich vyvinul oedem plic) virus vylučován nosním sekretem, a míní, že u prasat představuje dutina nosní vstupní bránu a místo vylučování infekce. Podařilo se mu totiž přenést nemoc pomocí nosního sekretu prasete na kůži králíka. Autor pokládá stejný přenos s prasat na skot za možný.

Experimentální infekce

Kromě na vnímavá domácí zvířata lze nákazu přenést uměle na králíky, morčata, potkany, domácí a polní myši, ježky a šakaly. U pokusných zvířat se projevuje velmi charakteristická schopnost viru vyvolat silné svědění v místě infekce, hlavně po subkutanní a intramuskulární injekci. Nakažená zvířata si začínají za několik dní po naočkování stále zuřivěji lízat, třít a škrábat místo infekce a někdy je tento svědivý pocit tak silný, že si dokonce zuby a drápy roztrhají svalstvo až na kost.

Po krátkém vzrušení se u naočkových pokusných zvířat vyvíjí celková slabost, paresa a nakonec paralysa končetin a smrt.

Podle A n d r e j e v a je nejlepším materiálem k nakažení pokusných zvířat filtrát z plic nebo ze sleziny onemocnělého zvířete. Není-li možno provést filtraci, může být použito i obyčejné suspense z tkáně prodloužené míchy nebo ze sleziny ve fyziologickém roztoku neb destilované vodě. Méně vhodným a méně spolehlivým materiálem je krev a moč nemocných zvířat. Rovněž zkrmováním viru se podaří nakazit psy, kočky, potkany a myši. Tato zvířata — hlayně hlodavci — mají, jak již bylo výše uvedeno, velikou úlohu v epizootologii choroby, neboť jsou roznašeči infekce.

Pathogenese — vnímavost

Virus Aujeszkeho choroby se rozšiřuje především v místě infekce, a to v podkoži a v podslizničním vazivu, avšak již v inkubační době vniká do krve, kde se rychle množí. U prasat se chorobný proces omezuje nejčastěji jen na přechodnou viraemii bez zvláštních organických změn.

Je však pravděpodobné, že tato forma onemocnění se vyskytuje i u ostatních druhů zvířat, což však ještě není dokázáno. K počáteční viraemii se pak přidružuje alterace cév a zánět centrální nervové soustavy. Tento zánět nervové soustavy vyvolává vysokou hyperaesthesii kůže, projevující se nesnesitelným svěděním. Tato vysoká přecitlivělost kůže se pravděpodobně rozšiřuje na celý povrch kůže. Zvířata si pak třou neb dokonce hryžou buďto jakékoliv místo povrchu kůže, anebo, jestliže došlo k infekci poraněním kůže, ohryzávají především okolí vstupu infekce, poněvadž kůže v tomto místě je ve zvýšené míře citlivá v souvislosti se zánětem okolních tkání.

Později pak převládají příznaky zánětu mozku a míchy a tyto příznaky jsou tím zřetelnější, čím déle zůstane zvíře na živu. Dojde-li onemocnění do tohoto stadia, zjistíme, že virus se nalézá z největší části v centrálním nervovém systé-

mu, zatím co z krve téměř vymizel. Jestliže se průběh choroby prodlouží, setkáváme se hlavně u prasat se změnami v dýchacím a zažívacím aparátu, navažujícími na nervové příznaky. Dodnes však není definitivně vyřešeno, zda tyto změny vznikají přímým účinkem viru, aneb zda mají jiný původ.

Rovněž otázka tropismu viru není ještě úplně vyjasněna. U všech druhů zvířat napadal virus především nervový systém. Přitom však není vysloveně neurotropní, neboť u některých zvířat vyvolává specifické změny i mimo centrální nervový systém, jako na př. u králíka, u kterého nacházíme inkluse ve všech možných orgánech a buňkách.

V této souvislosti je nutno uvést pokusy, které konal W. Hurst v otázce tropismu viru a způsobu jeho šíření v organismu zvířat. Tento autor zjistil, že virus není čistě neurotropní, neboť může v buňkách různého embryonálního původu vyvolat jaderné inkluse. Dále zde srovnává rozšiřování viru Aujeszského nemoci s čistě neurotropními druhy virů (poliomyelitis, rabies, bornaská choroba). K svým pokusům použil autor dvou kmenů virů Aujeszského choroby: t. zv. Iowa-kmen a t. zv. Aujeszky-kmen. Z jeho pokusů vyplynulo toto:

Virus Aujeszského nemoci se po intramuskulární, intrakutánní a subkutánní injekci dostává do centrálního nervového systému podél periferních nervů, i když koluje v krvi. Rovněž centrifugální šíření z infikované centrální nervové soustavy podél nervů bylo zjištěno. Po naočkování do mozku šíří se virus obráceným směrem podél osových válců nervů. Kmen Aujeszky přechází rychleji do krve než kmen Iowa; zdá se však, že tento kmen po několika pasážích zvířetem se chová stejně jako prvně jmenovaný. Po intravenózní injekci (při čemž jsou účinné i malé dávky) opouští virus velmi rychle krev a v různých orgánech vznikají četná ohniska infekce. Pak dochází vzestupem viru podél periferních nervů k infekci centrální nervové soustavy, při čemž příznaky onemocnění jsou různé podle toho, zda virus napadne dříve míchu hřbetní nebo prodlouženou míchu. Nelze tvrdit, že virus přímo pronikne haemo-encephalickou bariérou. Vpraví-li se virus subkutánně do místa, které bylo zbaveno nervů, dovoluje mu jeho schopnost vnikání do krevního oběhu vytvořit ohniska infekce v různých orgánech a po jisté době, kterou můžeme předem určit, podobá se průběh infekce úplně té, která nastala po intravenózní aplikaci viru. Virus Aujeszského nemoci je pantropní, t. j. atakuje buňky různého embryonálního původu.

Proti výše uvedenému názoru Hurstovu však stojí poznatky M a n n i n g e r a a M a r c i s e, kteří zjistili, že virus Aujeszského nemoci se nejdříve pomnoží v krvi a pak cestou krevní — tedy ne podél nervových vláken — se dostává do centrální nervové soustavy. Nejde tudíž podle nich o septineurii, ale o septicaemii! Virus však v důsledku své neurotropní vlastnosti se usadí v centrální nervové soustavě a pomnožuje se zde i po odeznění septicaemie.

Z těchto dvou protichůdných názorů vyplývá tedy, že otázka šíření se viru v organismu a otázka jeho tropismu není ještě definitivně vyřešena a bude vyžadovat ještě řadu dalších prací a pokusů.

Aujeszského nemoci může onemocnět mnoho zvířat. Za přirozených podmínek onemocní psi, kočky, skot, ovce, kozy a prasata, zatím co koně a jednokopýtníci vůbec onemocní velmi zřídka. Z divoce žijících zvířat byla tato nemoc zjištěna enzoooticky H u t y r o u a B a l á s e m u potkanů a řada jiných autorů pozorovala toto onemocnění u lišek, jezevců a divokých prasat.

Člověk je pro toto onemocnění prakticky nevnímavý; vyskytly se jen řídké případy laboratorních infekcí, které probíhaly jen jako velmi lehký místní proces. Kromě uvedených zvířat zdařilo se umělé přenesení choroby ještě na velkou řadu hlavně pokusných zvířat, jako je králík, morče, domácí a polní myš, ježek a slepice.



Obr. 1. Morbus Aujeszky u stříbrné lišky (foto Procházka).

Рис. 1. Болезнь Ауески у серебряной лисицы

Abb. 1. Von Morbus Aujeszky befallener Silberfuchs. (Photo Procházka)



Obr. 2. Morbus Aujeszky u stříbrné lišky (foto Procházka).

Рис. 2. Болезнь Ауески у серебряной лисицы

Abb. 2. Von Morbus Aujeszky befallener Silberfuchs. (Photo Procházka)

Klinický obraz

U domácích zvířat se objevují první klinické příznaky onemocnění Aujeského nemoci po inkubační době, která trvá průměrně 3 až 6 dnů. U laboratorních a pokusných zvířat jsou inkubační doby rozdílnější.

U myši trvá 1 až 2 dny, u morčat a králíků 1 až 3 dny, u koček a psů 3 až 4 dny, u selat 3 až 6 dnů, u slepic 6 až 8 dní.

Klinický obraz nemoci je u laboratorních zvířat rozličný podle způsobu infekce:

Po intracerebrální infekci způsobuje virus vždy meningoencephalitidu; po podkožní, intramuskulární, intraokulární a perorální aplikaci svědivou formu. Výjimky činí v tomto směru jen selata, u nichž jakýkoliv způsob infekce vyvolává paralytické příznaky.

Průběh uměle vyvolané nemoci trvá u myši, morčat a králíků 2 až 6 hodin, u psů, koček, selat a drůbeže 1 až 3 dny. Procento uhynutí činí u myši, morčat, králíků, psů a koček 100 %, u ssajících selat 75 %, u kuřat 25 % (M i c h a l k a).

Vlastní klinické symptomy Aujeského nemoci nelze popsat souhrnně. Obraz nemoci ukazuje sice všeobecně příznaky celkové poruchy nervového aparátu, avšak příznaky se liší podle druhu zvířete.

Pes a kočka

U psů a koček (a obdobně též u koně) začíná onemocnění malátností, nechutenstvím a projevy bojácnosti a strachu. Pak se dostávají rozmanité příznaky neklidu a bolesti, projevujících se sténáním, kňučením, pobíháním a pod. Ve většině případů můžeme pozorovat jako příznačný symptom tohoto onemocnění trvalé a silné svědění, projevující se hlavně v místě infekce, anebo



Obr. 3. Morbus Aujeszky u stříbrné lišky (foto Procházka).

Рис. 3. Болезнь Ауески у серебряной лисицы

Abb. 3. Von Morbus Aujeszky befallener Silberfuchs. (Photo Procházka)

po celém těle. Nemocná zvířata si tato svědivá místa nejprve olizují, pak se stou-
pající intenzitou svědivých pocitů si tato místa škrábou, až ohryzávají. Včetných
případech dochází ke změnám na pupille, chvění svalů, křečím a jiným nervovým
příznakům. Jako předzvěst blízké smrti se objevují stížené dýchání, zrychlená
srdeční činnost a tělesná vyčerpanost. Zvýšení tělesné teploty se obvykle nezjistí,
je však pravděpodobné, že výše uvedeným příznakům předchází horečnatý stav.
Na rozdíl od vztekliny zvířata neútočí na člověka. Rovněž nedochází k ochrnu-
tí dolních čelistí, zato však velmi brzy dochází k ochrnutí hrtanu a hltanu, které
se projevuje nemožností polykání a hojným slinotokem.

Průběh nemoci je velmi rychlý a k uhynutí dojde za 1 až 3 dny (H a r -
n a c h), resp. za 24 až 36 hodin (H u t y r a - M a r e k).

S k o t

U skotu se jako první příznaky onemocnění objevují křeče svalstva na
hlavě a krku, později se zesiluje pocit svědivosti hlavně na mulci a různých
místech hlavy nebo na končetinách. To nutí zvíře k neustálému lízání, drbání
i kousání, čímž vznikají olysalá, krvácející a zánětlivá místa na kůži a do-
konce někdy i rány. Často se dostaví pocení, projevy vzrušení, skřipání zubů,
později klonické křeče a v mnohých případech tympanie. Může také ochrnout
jícen, zvířata leží a rychle se vyčerpávají. U zvířat ponechaných volně ve stáji
nebo venku vidíme často, že zaujímají sedací polohu, jako na př. pes v dů-
sledku svědivých pocitů v krajině řiti a ochodu. Nemoc končí smrtí během
dvou, maximálně tří dnů.

P r a s a t a

U prasat může nemoc probíhat v lehké formě za příznaků jen několika-
denního celkového horečnatého onemocnění, které bývá provázeno nechuten-
stvím, někdy též zvracením. Jen asi 3 až 5 % případů končí smrtí, ostatní
končí uzdravením onemocnělých zvířat (H a r n a c h). Jindy nemoc probíhá
v těžké formě jako akutní zánět mozku a míchy provázený vzrušením prasete,
hrabáním nohama, skřipáním zubů, později s klonickými křečemi, nucenými po-
hyby a konečně příznaky ochrnutí. Tato těžká choroba končí smrtí za 4 až 8
dnů. Pocit svědění, který je typický pro Aujeszského nemoc u ostatních druhů
zvířat, není u prasat charakteristickým příznakem a vyskytuje se zřídka. Mohlo
by proto snadno dojít k záměně Aujeszského choroby s jinými chorobami,
hlavně s infekční obrnou vepřů.

O v c e

U ovcí probíhá Aujeszského nemoc zcela obdobně jako u skotu, avšak
ještě rychleji. Smrt nastává pravidelně již během 24 hodin. Tento rychlý prů-
běh Aujeszského choroby u ovcí je rovněž důležitým diferenciálním diagnostic-
kým znakem k jejímu rozlišení od chorob s podobným klinickým průběhem
a symptomy, jako na př. looping ill, coenurosa a pod.

L a b o r a t o r n í z v í ř a t a

Co se týče otázky klinického obrazu a průběhu onemocnění Aujeszského
chorobou u laboratorních zvířat, lze jej demonstrovat na průběhu onemocnění
u králíka, který je pro tuto nemoc nejlepším diagnostickým zvířetem. Průběh
onemocnění a jednotlivé formy průběhu popsali R e m l i n g e r a B a i l l y.
Tito autoři rozlišují následující formy průběhu:

1. E n c e p h a l i t i c k á nebo pseudoherpetická forma. Zvířata onemoc-
nějí za příznaků rostoucího neklidu a podráždění, které se stupňuje až k běs-
nění. Uhynou pak často náhle, po několika hodinách. V některých případech

předchází smrti paralytické stadium. Někdy se též zvířata, která onemocněla typickým způsobem, uzdravila a pak byly v několika případech po 1 až 3 týdenních intervalech zpozorovány recidivy.

2. Meningeální forma.

Jeví se podrážděním, které je často doprovázeno skřípáním zubů. Zvíře cítí bolest a projevuje ji sténáním. Nastanou křeče svalstva, opisthotonus, škuřavé pohyby končetin. Také při tomto průběhu onemocnění se zvířata občas uzdraví.

3. Paralytická forma.

Jeví se ochrnutím, počínajícím od zadních končetin. Tato forma končí zpravidla smrtí zvířete.

4. Pruriginosní forma.

Je charakterisována silným pocitem svědění, objevujícím se buď v místě infekce nebo i na jiných místech těla, po případech na větších partiích těla. Zvířata si svědivá místa nejdříve olizují, později se škrábou, kousají a třou o různé předměty. Často dochází k rozsáhlým poraněním. Současně s tím vzniká silné podráždění.

5. Rapidně probíhající forma.

Zde dochází u zdánlivě zdravých zvířat k náhlému uhynutí. Určitým způsobem charakteristické je uhynutí přes noc, které je pravděpodobně způsobováno zasažením životně důležitých center v prodloužené míše.

Inkubace u králíka ve všech pěti formách při intrakutánní, subkutánní neb intramuskulární injekci se pohybuje v rozmezí od 15 do 20 hodin, někdy až do několika dnů. Průměrná inkubační doba se však při průměrném množství virů pohybuje v rozmezí jednoho a půl až dvou dní.

Pathologicko-anatomické změny

Pathologicko-anatomické změny u Aujeszkeho nemoci mohou být velmi rozmanité. Především nalézáme změny na kůži (kromě prasat), a to hlavně v bolestivých místech. Kožní změny se projevují zježenou srstí, zánětlivými reakcemi, ztrátami substance, občas se objevují i nekrosy kůže a podkoží, které však je v těchto místech nejčastěji infiltrováno serosním neb haemorrhagickým exsudátem.

U krmných vepřů často nacházíme hyperemii a serosní infiltraci, zvředovatění neb difteroidní nálepy na sliznici příklopky. V mandlích se vyskytují nekrotická ložiska, při čemž v místě odloučených nekrotických mas vznikají kráterovité prohlubeniny s rozežranými okraji. Jindy bývají v mandlích difusní hnisavá ložiska velikosti špendlíkové hlavičky. Často zjišťujeme serosní, neb — což bývá ve většině případů — serosně haemorrhagickou rhinitis a zánět dutiny čelistní. Dále bývá postižen hltan, hrtan a někdy i trachea pod obrazem kruposních membrán a zvředovatění (Višeljenskij).

U ovcí a prasat lze často prokázat oedem plic se značným množstvím zpěněné tekutiny v horních cestách dýchacích (Hutyrá - Marek). Namodralé plice na vzduchu červenají (okysličování haemoglobinu). Zánětlivé příznaky v plicích (t. j. především gangrenosní pneumonie) se šíří u prasat jen při zánětu hltanu, který praedisponuje k zahlcení plic krmivem. Intersticiální tkáň je serosně infiltrována a více méně rozšířena. Obraz plicních změn u prasat je jinak podobný jako při haemorrhagické septicaemii, ale bipolární tyčinky chybí; jestliže je někdy najdeme, mají teprve druhotný význam.

Bachor skotu bývá naplněn plyny a sliznice slezu je hyperemická nebo je prostoupena difusními krevními výrony.

Ve střevěch zjišťujeme u prasat hyperemii s paprskovitým rozvětvením cév, prosvěčujících někdy přes sliznici tenkého a tlustého střeva. Jindy na sliznici tenkých střev se objevuje difusní krvácení jako při moru. U skotu jsou podobné změny nejen v tenkých střevěch, ale i v slepém střevě, při čemž sliznice střev bývá pokryta hlenem a lumen střeva bývá vyplněno plyny. Při delším průběhu nemoci u prasat je stěna střev následkem pasivní hyperemie dvakrát až třikrát zesílena a červenofialově zbarvena. Výstupem krve do střevního lumina je celý obsah střev čokoládově zbarven. V některých případech se objevují též haemorrhagické záněty tenkých střev. Někdy pozorujeme na povrchu sliznice tenké, někdy i silnější fibrinósní membrány. V tlustých střevěch pasivní hyperemie schází, ale Peyerovy plaky vystupují ostře svou červenou barvou a povrchovými fibrinósními neb kruposními nálepy (exsudace neb povrchová nekrosa). Mízní uzliny, slezina a játra jsou většinou beze změn. Ledviny — zvláště u mláďat — jeví často difusní krvácení. Močový měchýř prasat bývá přeplněn močí a vpadává do dutiny břišní. V moči nacházíme značné množství bílkovin a cukru.

Na plenách mozku a míchy najdeme silně nasťiklé cévy. Mozek jeví často otok a v bočních lalocích bývá značné množství sérovní tekutiny.

V některých ojedinělých případech lze v parenchymatósniých orgánech a ve skeletárním svalstvu dokázat mírné degenerativní změny (Hutyra - Marek).

Pathohistologie

Lokalisací viru v centrálním nervovém systému jsou vyvolány příznaky, které makroskopicky často nejsou zjevné. Histologicky odpovídají obrazu akutní encephalomyelitis a záleží (podle B o e c k e r a), 1. v degeneraci až úplném rozpadu napadených neuronů,

2. v zánětlivé reakci podpůrné tkáně, cévního systému a částečně též měkkých plen mozgových a míšních.

Obraz poškození bývá různý. Celkový stav centrální nervové soustavy závisí na tom, v jakém stadiu onemocnění zvířata uhynulá. Obzvláště zánětlivé změny jsou tím výraznější, čím déle nemoc trvala.

I když tedy Aujeszkeho nemoc probíhá za vysloveně nervových příznaků, zjistil B o r y, který první studoval pathohistologii této nemoci, v mozku uměle nakaženého králíka jen degenerativní změny v nervových buňkách, které obvykle se vyskytují při toxických onemocněních mozku. Rovněž tak L i n k prokázal z většího počtu uměle infikovaných králíků jen v jednom případě perivaskulární nahromadění lymfocytů v centrálním nervovém systému, zatím co degenerativní změny v nervových buňkách scházely úplně.

Výzkumy H u r s t o v y s centrální nervovou soustavou různých druhů zvířat, která infikoval virem Aujeszkeho nemoci, resp. virem t. zv. maditch, ukázaly, že veškeré histologické změny, které se jen někdy daly prokázat — nejsou pro Aujeszkeho chorobu typické a že se jeví podobně jako histologické nálezy, které učinili F r ä n k e l a F o l g e r při onemocnění skotu. Podle H u r s t a reaguje nervová soustava různě jak podle druhu zvířete, tak podle způsobu infekce. Tak nacházíme těžké degenerativní změny u králíků a morčat jen v těch oddílech nervové soustavy (při subkutánní infekci v příslušných spinálních gangliích a segmentech), které jsou nejdříve virem napadeny, zatím co u opic a skotu se degenerace nervových buněk snad vyskytují roztroušeně. Rovněž i stupeň sekundárních zánětlivých reakcí je rozdílný podle druhu zvířat. Nejmarkantnější snad je u prasat, při čemž zde silně převažuje infiltrace mesenchymálních oddílů centrální nervové soustavy lymfocyty, eosinofilními leukocyty a jinými zánětlivými buněčnými elementy, jakož i circumskriptní

i difusní zmnožení gliových buněk nad velmi slabou degenerací nervových buněk. Dále byly zjištěny v centrálním nervovém systému u různých druhů zvířat kapilární krváceniny, jejichž vznik lze vysvětlit změnami v cévním systému, které prokázal Link u uměle nakažených králíků a které jevíly nápadnou podobu s degenerativními a proliferativními pochody u moru vepřů.

V pathohistologii zůstává celkem nedořešena otázka buněčných inklusí a granul, objevujících se v nervové soustavě u zvířat onemocnělých Aujeszského chorobou. Gerlach a Kress o této otázce referují takto:

Granula, která roku 1928 objevili Gerlach a Krauss v nervové soustavě zvířat infikovaných Aujeszského nemocí a *poliomyelitis anterior acuta* (opice, ovce, psi, kočky, králíci), barvitelná metodou podle Heidenhaina a v. Krogha, nejsou pro tato onemocnění specifická. Vyskytují se fyziologicky vně i uvnitř gangliových buněk u různých druhů zvířat i u člověka. Podle srovnávacích studií lze je snad označit jako produkty opotřebování lipoidního charakteru (*Lipofuscin Lubarsch*). Jejich množství a rozdělení je velmi rozmanité. Často se zdá, že chybějí úplně nebo jsou přítomny jen ojediněle anebo pak vystupují uvnitř buněk seřazené v hromádkách, resp. obklopují pláštovitě v hustých skupinkách některé gangliové buňky z vnějšku. Tato v nervové tkáni uložená tělíska budí dojem více nebo méně hustého prachu. Pomocí acidofilních barviv se tato granula buďto nebarví vůbec nebo jen výjimečně a velmi slabě. Tuková reakce vůči Sudanu III. a šarlach R je převážně negativní.

Infekce Aujeszského nemocí a poliomyelitidou u pokusných zvířat má snad přece vliv na objevení se těchto granul, poněvadž u těchto onemocnění bývají přítomná ve zvlášť velikém množství. Snad zde má určitou důležitost poškození nervových buněk neurotropním virem, poněvadž nervové buňky se snad aktivně účastní při tvorbě granul.

Obdobné nálezy v otázce buněčných inklusí u Aujeszského nemoci učinil Hurst, který je prý zjistil v jádrech buněk centrální nervové soustavy ectodermálního i mesenchymálního původu u mnohých druhů zvířat s výjimkou prasete. Rovněž Nicolic našel v nervových buňkách králíka útvary podobné Negriho tělískům, které se však barvily stejnoměrně a nejevily vnitřní strukturu, zatím co jiní autoři nedokázali u žádných zvířat ani v jádrech, ani v protoplasmě buněčné inkluse.

V otázce pathohistologie Aujeszského choroby pracoval také Sályi, který histologicky zkoumal mozky prasat, uhynulých anebo nutně poražených po onemocnění Aujeszského chorobou, a mozky uměle nakažených králíků. V mozku prasat zjistil silnou infiltraci měkkých plen mozkových lymfocyty a mononukleary. Z dalších pathologických změn nalezl infiltrace adventitie malých cév v mozkové substanci, které se skládaly především z lymfocytů, mononukleárů a eosinofilů, které někdy jevíly regresivní změny. Endotheliální buňky malých cév jevíly někdy mírné zduření, při čemž jejich jádro pak zasahovalo hluboko do lumina cévy, které bylo téměř vždy naplněno erythrocyty. Nápadné bylo zmnožení gliových buněk, jevící se buď difusní infiltrací nebo místním nahromaděním buněk, lokalizovaným zčásti kolem cév a zčásti nezávisle na nich. Dále zjistil autor neuronophagii v menším rozsahu, mírnou lymfocytární infiltraci mesenchymálních oddílů mozku a krváceniny ve větším počtu.

Nálezy na nervové tkáni králíků uměle infikovaných Aujeszského nemocí souhlasily vcelku s nálezy u prasat s tím rozdílem, že po subkutánní infekci nebyly zjištěny v centrální nervové soustavě žádné zánětlivé změny.

Nakonec došel autor k poznatku, že zánět mozku, vznikající při Aujeszského nemocí, se kvalitativně shoduje s encephalitidou u moru vepřů, že však dosahuje všeobecně těžších forem.

Vlastní práce

Výchozí výzkumný materiál tvořily dvě lišky, spontánně onemocnělé a uhynulé za klasických klinických příznaků Aujeszkeho choroby, pocházející z SLH v B. Z materiálu z těchto uhynulých lišek byli infikováni králíci, kteří po uhynutí byli vyšetřeni makroskopicky, a orgány, t. j. mozek, játra, plíce a ledviny byly podrobeny histologickému vyšetření.

Zvířata byla infikována suspensí mozku, obsahující virulentní virus Aujeszkeho nemoci. Virulentní látka byla zvířatům vstřikována v 10% suspensi, a to nejčastěji nitro svalově neb podkožně, po případě nitrokožně neb intracerebrálně.

Vlastní práce záležela v makroskopickém popisu pathologicko-anatomických změn a v zjišťování histologických změn v jednotlivých orgánech. Histologické preparáty byly zhotoveny v histologické laboratoři pathologického ústavu. Histologické řezy, připravené na zmrazovacím mikrotomu, byly obarveny třemi způsoby:

1. Haemalaun — eosinem
2. Metodou Van Giesonovou
3. Sudanem III.

Celkem bylo podrobena vyšetření 17 případů, a to 16 králíků a 1 potkan. Histologicky bylo vyšetřováno:

1. Části mozku, a to vždy prodloužená mícha, *pons Varroli*, velký mozek a po případě část Ammonova rohu.
2. Játra.
3. Plíce.
4. Ledviny.

Uvádím výsledky makroskopického i mikroskopického vyšetřování jednotlivých případů.

Jednotlivé protokoly

Protokol č. 1 (čís. 1176)

Králík čís. 739, infikován intracerebrálně.

a) Pathologicko-anatomický nález.

Na kůži hlavy ztráta srsti na ploše velikosti dětské dlaně. Na tomto místě je kůže hyperemická, dvě podélné trhliny, jdoucí až do podkoží. V podkoží jsou hnisavá ložiska, celé podkoží v rozsahu změn je haemorrhagicky infiltrováno.

Ze změn na orgánech byly zjištěny hlavně haemorrhagické infarkty v plicích. Dilatace srdečního svalu, hlavně pravého srdce. Játra překrvená, křehká, silná kokcidiosa jater.

Bakteriologicky zjištěn *Staphylococcus pyogenes albus* ve slezině a ojedinele v plicích.

b) Pathologicko-histologický nález.

Mozek: Hlavní změny zjištěny v plenách mozkových, hlavně na basi mozku. Pleny jsou infiltrovány buněčnými elementy, převážně lymfocyty. V nervové substantii počínající degenerativní změny nervových buněk a ojedinele roztroušené lymfocyty. Cévy naplněné krvinkami, v mozečku na přechodu bílé hmoty v šedou roztroušeně zmnožená gliová tkáň.

Ledviny: Počínající degenerativní změny na přechodu korové části v dřevnou s buněčnou infiltrací. Ztráta barvitelnosti jater. Homogenisace parenchymu, odchlípnutí buněk od základní membrány. Ostatní orgány nebyly vyšetřovány.

Králík č. 735 infikován intramuskulárně a intracerebrálně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

V místě vpichu na pravé zadní končetině ztráta srsti, v kůži ztráty substance se zánětlivými reakcemi, srst v okolí změn slepená v chuchvalce.

Z orgánových změn zjištěná hyperemie jater, počínající parenchymatosní degenerace jater se silnou kokcidiosou jater. Tumor sleziny.

Bakteriologický nález: *Staphylococcus pyogenes albus* a *bacterium coli* ve slezině.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Pleny mozkové jeví zánětlivě buněčnou infiltraci se značným zesílením pleny. Buněčný výpotek je převážně hnisavého charakteru. Masy síťiva fibrinu vyplňují subdurální prostor. Zánětlivý proces postupuje podél krevních cév do hlubších částí prodloužené míchy.

Játra: Rozšíření sinů kapilár jaterních s oedematosním prosáknutím, čímž dochází k oddálení trámčů jaterních. Vlastní acinosní struktura a stavba trámčů jaterních je zachována. Kolem žlučodů a v portobiliárních prostorech značná buněčná, hlavně lymfocytární, infiltrace. Submukosa žlučodů je lymfocytárně infiltrována. (Tyto zánětlivé buněčné reakce nutno přičíst na vrub kokcidiose).

Plíce: Bez patologického nálezu.

Protokol č. 3 (1178)

Králík č. 726, infikován intramuskulárně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

V okolí místa vpichu na pravé zadní končetině kožní změny: Ztráta srsti velikosti asi 25 hal. V jeho středu trhlina asi 1 cm dlouhá, jdoucí až do podkoží. Kůže a podkoží v místě injekce haemorrhagicky prosáklé. Flegmonosní zánět svalstva pravé zadní končetiny.

Z orgánových změn hlavní změny v plicích, kde se nacházejí jednak haemorrhagické infarkty a jednak bronchopneumonická ložiska. V souvislosti s tím zjištěna serosní pleuritis.

Bakteriologický nález:

Bacterium coli v plicích.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Pleny mozkové jsou oedematosně prosáklé a jsou infiltrovány buněčnými elementy — hlavně lymfocyty ve zcela slabém stupni. V nervových buňkách, hlavně v motorických jádrech prodloužené míchy, zjevné degenerativní pochody na nervových buňkách.

Játra: Kolem žlučodů středně silná buněčná infiltrace. Cévy krevní rozšířené a naplněné krví. Trámce jaterní jsou více méně od sebe oddáleny a mezi nimi jsou ojedinělé buněčné infiltráty.

Plíce: Rozšířená lumina cév, které jsou naplněny krví. Lobulární bronchopneumonická ložiska se středně silnou buněčnou infiltrací stěn alveol a vyplnění alveol smíšeným buněčným exsudátem.

Ledviny: Nastříklé krevní cévy, které mají rozšířené lumen. V parenchymu ledvin počínající degenerativní změny.

Protokol č. 4 (1185)

Králík, infikován podkožně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

V místě infekce na zadní pravé končetině prořídla srst, která je slepena v chomáčky. Kůže je překrvená, bez porušení celistvosti.

Orgány jsou celkem málo změněné. Játra jsou poněkud hyperemická. Ve střevech zjištěna koprostase a v důsledku toho circumscripční zánět pobřišnice. Na nervovém systému možno zjistit překrvení a oedem mozkových plen.

b) Pathologicko-histologický náález:

Mozek: Cévy jsou nastříklé, jejich lumen je rozšířený. Pleny mozkové jsou místy slabě, místy středně silně lymfocytárně infiltrované. Na ojedinělých místech v nervové tkáni lze zjistit slabé zmnožení gliové tkáně. V nervové substanci disseminované buněčné infiltrace středního stupně, hlavně lymfocytárního charakteru s ojedinělými leukocyty v oblasti prodloužené míchy.

Plíce: Krevní cévy naplněny krví. Ojedinělé leukocyty v interalveolárních septech.

Játra: Kolem žlučových a v portobiliárních prostorech slabá buněčná infiltrace. Mírná haemosiderosa jater.

Ledviny: V korové vrstvě buněčná infiltrace mírného stupně. Ojedinělá nekrotická ložiska v parenchymu ledvin.

Protokol č. 5 (1206)

Králík č. 733, infikován intramuskulárně.

a) Pathologicko-anatomický náález:

Podkoží, hlavně na hlavě v krajině lebeční, je hyperemické a místy až haemorrhagicky prosáklé. Srst v místě těchto změn je zčuchaná a slepená v chomáčky.

Orgány: V plicích zjištěna ojedinělá bronchopneumonická ložiska, překrvení plic, játra jsou hyperemická a zvětšená, slezina ochablá. V nervovém systému zjištěno mírné překrvení mozkových plen a hyperemie base mozku.

b) Pathologicko-histologický náález:

Mozek: Pleny mozkové oedematosně zesílené a buněčně infiltrované. Infiltrace postupuje podél krevních cév do hloubky nervové tkáně. Zmnožení gliové tkáně na rozhraní bílé a šedé hmoty mozkové. Rozdílný stupeň degenerativních pochodů. Nastříklé krevní cévy.

Játra: Rozšířené krevní cévy, které jsou naplněny krví. Výlevy krevní do prostoru mezi jaterními trávci. Mírná buněčná infiltrace pod pouzdrům jater. Mírná haemosiderosa jater.

Plíce: Disseminovaná bronchopneumonická ložiska s buněčnými infiltracemi. Roztroušené výlevy krevní. Cévy jsou naplněny krví a silně dilatované.

Ledviny: Mírné buněčné infiltrace v kanálkovém systému v dřevové vrstvě.

Protokol č. 6 (1207)

Králík č. 728, infikován intracerebrálně.

a) Pathologicko-anatomický náález:

Kůže v místě infekce jeví slepenou srst, serosně haemorrhagickou infiltraci kůže a podkoží, výlevy krevní v periostu.

Z orgánových změn vynikají drobné krváceniny v plicích, mezižeberních svalech, v brzlíku. V dvanácterníku značné nahromadění hlenu. V epidurálním prostoru rozsáhlé výlevy krevní. Obaly mozkové mírně oedematosně prosáklé se silnou hyperemií.

b) Pathologicko-histologický náález:

Mozek: Obaly mozkové mírně oedematosně prosáklé, s mírnou buněčnou infiltrací a četným výstupem erythrocytů z kapilár krevních. V nervové substanci počínající degenerativní změny nervových buněk. Ložiskově zmnožená gliová tkáň. Středně silná lymfocytární infiltrace nervové tkáně na přechodu bílé hmoty v šedou v mozečku.

Játra: Počínající parenchymatosní degenerace jater. Částečně rozrušená struktura acinů s degenerací a nekrotickými pochody kolem centrální vény. Jaterní trámce mírně od sebe oddálené.

Plíce: Cévy krevní silně dilatované a vyplněné krví. Drobné roztroušené krváceniny, hlavně v okolí cév.

Ledviny: Mírné překrvení a ojedinělé krváceniny, hlavně na přechodu kory v dřeň.

Protokol č. 7 (1208)

Králík č. 709, infikován intramuskulárně a intracerebrálně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Kůže v místě vpichu na levé zadní končetině jeví olysalé místo velikosti 25 hal., ve kterém je kůže serosně infiltrována a bez perforace. Podkoží a svalstvo na témže místě je oedematosní a haemorrhagicky infiltrováno.

Orgánové změny: Drobná ložiska počínající bronchopneumonie s vikarujícím emphysemem. Dilatace a degenerace srdečního svalu. Slezina ochablá, ledviny bledé. Játra mírně zvětšená, překrvená. Silná hyperemie plen mozečku.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Degenerace nervových buněk se ztrátou barvitelnosti jader. Silně nastříklé krevní cévy. Pleny mozkové zachycené jen na mozečku, kde jeví mírnou buněčnou infiltraci. V nervové substanci prodloužené míchy ojediněle disseminované zmnožení gliové tkáně.

Játra: Buněčná infiltrace v periacinosní tkáni a v okolí žlučvodů a cév. Ojedinělá drobná ohraničená nekrotická ložiska.

Plíce: Ojedinělá pneumonická ložiska. Rozšířené krevní cévy, které jsou naplněny krví. Místy vikarující, alveolární emphysem plic.

Ledviny: Počínající degenerativní pochody, hlavně na přechodu dřeně v koru.

Protokol č. 8 (1220)

Králík č. 583, infikován intramuskulárně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Srst v ohbí hleznového kloubu pravé zadní končetiny a podobně i na planární ploše končetiny místy chybí, místy je slepená v chomáče. Kůže silně prokrvena, místy hnisající; je však bez perforace. Podkožní tkáň zarudlá, cévy silně naplněné krví. V podkoží hlavy v místech spojení kosti čelní a kosti nosní absces velikosti fazole. Z orgánových změn zjištěny jen drobné kulovité krváceniny v plicích, játra jeví počínající parenchymatosní degeneraci, slezina je ochablá. Mízní uzliny pravé zadní končetiny zvětšené, s haemorrhagickými infarkty.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Degenerativní změny v nervové substanci se ztrátou barvitelnosti jader nervových buněk. Mírná místní infiltrace mozkových plen, hlavně lymfocytárními buňkami. Silně nastříklé cévy. Ložiskové zmnožení gliové tkáně. Středně silná ložisková lymfocytární infiltrace na přechodu šedé hmoty v bílou hmotu nervovou v mozečku.

Játra: Počínající parenchymatosní degenerace jater se zastřenou strukturou acinů. Mírná lymfocytární infiltrace v okolí žlučvodů.

Plíce: Drobné roztroušené krváceniny, cévy nastříklé.

Ledviny: Krváceniny hlavně v přechodné části mezi korou a dřeně.

Králík č. 738, infikován intramuskulárně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Slabě překrvené podkoží v místě vpichu na levé zadní končetině. Srst na šiji v ploše dlaně sedřená až na zkrvácenou kůži, stejně i srst na levé lopatce a levém předloktí v pruhu šířky asi 3 cm. Mezi prsty levé zadní končetiny chomáč srsti (po škrábání). Kůže bez perforace. Podkoží na krku oedematosně prosáklé, stejně i svalstvo na levé přední končetině.

Orgánové změny: Plicе silně překrvené, s počínající pneumonií. Zmnožení tekutiny v dutině osrdečníku. Játra mírně zduřelá, křehká, světlehnědé barvy.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Cévy silně nastříklé a zcela naplněné krví. Ložiskově zmnožená gliová tkáň, hlavně v úseku Varrolova mostu. Jednotlivě roztroušené lymfocytární infiltrace v nervové substantii.

Plicе: Silně překrvené, roztroušená pneumonická ložiska se zánětlivě buněčnou infiltrací. Cévy naplněné krví a dilatované. Pleura mírně zesílená.

Ledviny: Krváceniny v koře ledvin. Počínající degenerativní změny převážně v tubulární části dřeně. Pouzdro mírně ložiskově zesílené, s buněčnou infiltrací v mírném stupni.

Protokol č. 10 (1278)

Králík č. 701, infikován subkutánně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Podkoží levé zadní končetiny haemorrhagicky infiltrováno. V kůži nekrosy, kryté suchým strupem velikosti halíře. Perimysium a svalstvo v hloubce místa vpichu haemorrhagicky infiltrováno. V krajině krční kůže na ploše velikosti dětské dlaně bez srsti, na několika místech ztráta substance, jdoucí až do podkoží. Kůže silně zarudlá s drobnými krevními výlevy. Mezi prsty levé zadní končetiny chuchvalce splených chlupů. Podkoží krku silně oedematosní, v krajině šíjové haemorrhagicky infiltrované.

Orgánové změny: Silná hyperemie a oedem plic. Parenchymatosní degenerace jater, ochablá slezina, anemické ledviny.

Bakteriologický nález: *Bacterium coli* a Gram + koky v plicích.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Počínající degenerativní pochody v nervové substantii. Roztroušené lymfocytární infiltrace mírného stupně, s ojedinělými leukocyty. Cévy silně naplněny krví. Pleny mozkové nezachycené.

Plicе: Silně překrvené, oedematosní, infiltrované buněčným, zánětlivým výpotkem. Roztroušené výlevy krevní.

Ledviny: Ojedinělé drobné krváceniny a hyperemie korové části ledvin.

Protokol č. 11 (1325)

Králík, infikován podkožně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Makroskopické změny málo výrazné. Zjevná jen všeobecná vyhublost, ztráta tukové tkáně v okolí ledvin a její nahrazení rosolovitou pojívkovou tkání. Překrvení jater.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Roztroušené degenerativní změny v šedé hmotě mozku. Ložiskově zmnožená gliová tkáň, hlavně v prodloužené míše. Pleny mozkové v mírném

stupni infiltrovány lymfocytárními buňkami a infiltrace postupuje částečně podél krevních cév do hloubky nervové tkáně.

Játra: Silná buněčná infiltrace jaterní tkáně, struktura acinů zastřena. Buněčná infiltrace okolí i submukosa žlučových. Cévy jaterní silně naplněné krví.

Plic: Silně nastříklé a dilatované cévy, mírný alveolární emphysem plic.

Ledviny: Počínající parenchymatosní degenerace ledvin. Zastřena struktura parenchymu, hlavně v tubulární části.

Protokol č. 12 (1326)

Králík, infikován podkožně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Místo infekce na pravé zadní končetině vykazuje absces velikosti ořechu, který zasahuje až mezi svalstvo. Okolní kůže je zduřelá a haemorrhagicky infiltrována. Srst na různých místech těla — hlavně však v místě infekce — slepená a místy vytrhaná.

Z orgánových změn byla nápadná silná vyhublost. V celém rozsahu zažívacího traktu příznaky mucinosního kataru střev. Silně vyznačená hyperemie orgánů v celé splachnické oblasti,

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Pleny mozkové slabě infiltrovány lymfocytárním infiltrátem. Cévy naplněny krví. V nervové substanci kulatobuněčná infiltrace ve velmi mírném stupni bez závislosti na průběhu krevních cév. Degenerativní pochody na nervových buňkách, hlavně v jádrech nervů v prodloužené míše. V mozečku na přechodu bílé hmoty v šedou hmotu středně silná lymfocytární infiltrace.

Játra: Silně hyperemická, cévy naplněné krví, struktura jater zastřena v důsledku počínající parenchymatosní degenerace.

Plic: Bez patologického nálezu.

Ledviny: Počínající degenerativní pochody se ztrátou barvitelnosti hlavně buněčných jader, převážně výstelky kanálků. Slabá buněčná infiltrace glomerul.

Protokol č. 13 (1396)

Krysa, infikována intramuskulárně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Místo vpichu oedematosně prosáklé a zduřelé. Ostatní vyšetření pathologicko-anatomické bylo kromě zjištění hyperemie parenchymatosních orgánů a mozkových obalů — negativní.

b) Pathologicko-histologické změny:

Mozek: Pleny mozkové — hlavně na basi prodloužené míchy — jsou ve středně silném stupni infiltrovány buněčným infiltrátem. Krevní kapiláry v prodloužené míše jeví silné naplnění krví. Nervové buňky vykazují místy značné degenerativní změny.

Játra: Difusní kulatobuněčná infiltrace s počínajícími příznaky parenchymatosní degenerace.

Plic: Ojedinelé krevní výlevy a ojedinelá pneumonická ložiska se zánětlivě buněčnou infiltrací.

Ledviny: Ojedinelé krváceniny. Počínající degenerace v korové části s buněčnou infiltrací hlavně v glomerulech.

Protokol č. 14 (1413)

Králík, infikován podkožně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Krváceniny v hýždňovém svalstvu levé zadní končetiny. Na téže končetině ztráta srsti od pánve až po tarsální kloub.

Orgány vesměs překrvené, játra zvětšená, křehčí konsistence, ledviny vykazují ojedinělé drobné krváceniny pod pouzdrem.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Pleny mozkové středně silně infiltrovány lymfocyty. V nervové substanci roztroušená infiltrace lymfocytární, hlavně v okolí cév. V mozečku na přechodu bílé hmoty v šedou hmotu — silná lymfocytární infiltrace. Na basi velkého mozku ojedinělá ložiska zmnožené glie.

Játra: Mírná kulatobuněčná infiltrace, hlavně v okolí žlučovodů a v periacinosní tkáni. Ložiskově náznačná parenchymatosní degenerace jater.

Plíce: Krevní kapiláry zcela naplněny krví. Ojedinělá zánětlivá ložiska s buněčnou infiltrací a krevními výlevy.

Ledviny: Bez pathologického nálezu.

Protokol č. 15 (1455)

Králík, infikován intramuskulárně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Srst na levé zadní končetině zmuchlaná, podkoží zde (t. j. v místě infekce) překrvené, kůže jeví lokální ztrátu substance, je infiltrována a hyperemická.

Orgánové změny: Akutní zduření hrtanu v předních partiích, játra a plíce překrvené, oedem plen mozkových.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Oedematosně prosáklé pleny mozkové s mírnou lymfocytární infiltrací. V nervové substanci velkého mozku ložiskově zmnožení gliové tkáně. V okolí cév lymfocytární infiltrace středně silného stupně. Krevní cévy silně nastříklé.

Játra: Cévy krevní silně naplněné krví a v portobiliárních prostorech silná kulatobuněčná infiltrace. Počáteční stadium parenchymatosní degenerace. Mírná buněčná infiltrace mezi trámčinou jaterní.

Plíce: Cévy silně nastříklé, kolem cév ložiskově buněčné infiltrace.

Ledviny: Ojedinělé krváceniny a degenerativní ložiska.

Protokol č. 16 (1550)

Králík, infikován intramuskulárně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Levá zadní končetina: Na mediální ploše stehna podkoží oedematosně prosáklé se slabým hnisavým výpotkem v perimysiu. Rovněž mezi jednotlivými svaly hnisavý výpotek. Kůže nad uvedenými změnami je zánětlivě infiltrována a jeví několik drobných trhlín, jdoucích až do podkoží. Z orgánových změn jsou nápadná anemická játra, která mají křehkou konsistenci a jeví příznaky parenchymatosní degenerace. Slezina je hyperemická, zvětšená. Srdeční sval je dilatován a jeví příznaky degenerace.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozek: Mozkové pleny místy oedematosně zduřelé a mírně lymfocytárně infiltrované. Počínající degenerativní procesy na nervových buňkách, hlavně ve velkém mozku. Zmnožení gliové tkáně. Slabá lymfocytární infiltrace na přechodu šedé hmoty v bílou hmotu mozku.

Játra: Silná kulatobuněčná infiltrace, hlavně v okolí žlučovodů a krevních cév. Cévy silně naplněné krví. Mírná haemosiderosa jater. Parenchymatosní degenerace jater.

Plíce: Počínající pneumonická ložiska se zánětlivě buněčnou infiltrací.

Ledviny: Počáteční stadium degenerace ledvinného parenchymu.

Králík, infikován intramuskulárně.

a) Pathologicko-anatomický nález:

Kůže na lýtku pravé zadní končetiny jeví nekrotická ložiska velikosti hračku. Srst je slepena v chuchvalce, místy úplně vytržená. V lýtkovém svalstvu nekrotická ložiska s demarkačním lemem.

Orgánové změny: Játرا hyperemická, mírně zvětšená. Plíce silně hyperemické a oedematosně prosáklé. Degenerace a dilatace srdečního svalstva.

b) Pathologicko-histologický nález:

Mozeč: Degenerativní pochody na nervových buňkách. Velmi slabá infiltrace mozkových plen, které jsou ložiskově oedematosně ztlustělé. Roztroušená lymfocytární infiltrace mezi nervovými buňkami a obdobné zmnožení gliové tkáně.

Játرا: Rozšíření sinů kapilár a oddalování jaterních trámčů od sebe. Struktura acinů je však zachována. Středně silná kulatobuněčná infiltrace v periacinósní tkáni.

Plíce: Silné prosáknutí plicní tkáně, se silnou buněčnou infiltrací jako příznaky oedemu plic.

Ledviny: Bez patologického nálezu.

Souhrn

Výsledky vyšetřování těl laboratorních zvířat, uhynulých po experimentální infekci na Aujeszského nemoc, nutno v souhlase s vpředu uvedenými jednotlivými protokoly rozdělit na dvě skupiny, a to — na patologicko-anatomické (makroskopické) změny a na patologicko-histologické (mikroskopické) změny.

a) Pathologicko-anatomické změny.

Při souhrnném hodnocení makroskopických změn nutno poukázat na to, že jediným společně se vyskytujícím příznakem u všech experimentálních zvířat byla více nebo méně výrazná lokální reakce organismu v místě infekce. Tyto změny, které měly různý charakter, od slabé serózní infiltrace kůže a podkoží se ztrátou nebo poškozením srsti až po těžké, haemorrhagické a hnisavé záněty kůže a podkoží s nekrosami (hlavně kůže) a ztrátami substance, vznikají v důsledku silné hyperaesthese celého organismu po proběhlé viraemii, která se zvláště silně projevuje v místě vstupu infekčního agens do těla zvířete.

Ostatní patologicko-anatomické změny v orgánech se vyskytovaly u pokusných zvířat v rozmanitém rozsahu. Nejčastěji byla zjištěna hyperemie parenchymatosních orgánů a počínající parenchymatosní degenerace hlavně v játrech. Tento nález je v určitém rozporu s údaji Markovými, který našel parenchymatosní degeneraci orgánů jen v ojedinělých případech. Tyto degenerativní změny v játrech spolu s občas se vyskytujícími buněčnými infiltracemi, hlavně v okolí žlučovýchodů, bylo by snad správněji přičíst na vrub velmi časté a silné kokcidiose jater u králíků. Nález na ledvinách byl velmi málo výrazný. Občasná anemie, po případech hyperemie a ojedinělé krváceniny byly jediným příznakem na ledvinách. Plíce v několika případech jevíly oedematosní prosáknutí, spojené se silnou hyperemií, a z celkového počtu 17 vyšetřovaných zvířat jevílo 7 případů počínající zánětlivé příznaky v plicích. Žáživací orgány byly alterovány jen ve dvou případech a je velmi problematické, zda tyto změny souvisí přímo s infekcí virem Aujeszského nemoci. Alterace cirkulačního aparátu byla zjištěna téměř vždy, a to hlavně v periferním systému cevním, kdy do-

cházel hlavně k dilataci cév. Srdeční sval v důsledku oběhových poruch jevil dilataci a častou degeneraci.

Shrme-li všechny tyto makroskopické změny, nutno říci, že pitevní nález, t. j. makroskopické změny (nehledíme-li ke změnám na kůži) nejsou absolutně specifické pro Aujeszského nemoc a není možno podle nich stanovit diagnosu. Hlavně při rychlém průběhu nemoci (jak tomu u laboratorních zvířat bývá téměř vždy) nedochází vůbec k makroskopicky zjistitelným změnám v organismu a dokonce bývá velmi těžko stanovit příčinu smrti.

b) Pathologicko-histologické změny.

Při histologickém vyšetřování byla hlavní pozornost věnována nervovému systému. Změny, které byly nalezeny, lze zhruba roztrždit:

1. v degenerativní procesy,
2. v zánětlivé reakce,

což odpovídá výsledkům, ke kterým došli B o r y a B o e c k e r. Degenerace se především projevovaly ztrátou barvitelnosti jader napadených nervových hůnek. Ze zánětlivých reakcí bylo možno pozorovat především dilatace krevních cév se silným nastříknutím cév, různě silnou lymfocytární infiltraci a zmnožení gliové substance. Nutno upozornit na to, že u těch případů onemocnění, které měly velmi rychlý, akutní průběh, byly dominujícím nálezem degenerace nervových elementů. U protrahovanějších případů stály v popředí též zánětlivé příznaky s roztroušenou infiltrací lymfocytů (především v mozečku) s ložiskovým zmnožením gliové tkáně. Šlo tedy v těchto případech o *encephalomyelitis lymfocytaria non purulenta*, jež zachvacuje jak bílou, tak šedou hmotu mozkomíchy. Nejčastějším místem nervové soustavy, které bylo zachváčeno zánětlivými změnami — byly pleny mozkové, z nichž se pak zánětlivý proces šířil podél krevních cév do hloubky nervové tkáně.

Rozhodující vliv na vytvoření patologických změn v nervovém systému má však délka trvání nemoci (jak již bylo výše uvedeno).

Histologický nález v ostatních orgánech byl celkem povšechného charakteru. Játra jevila ve většině případů počáteční příznaky parenchymatosní degenerace, v některých případech byly nalezeny zánětlivé, hlavně lymfocytární infiltrace v okolí žlučových vod. Tyto zánětlivé změny lze však těžko prohlásit za pathognomické pro nemoc Aujeszského, ale spíše jsou důsledkem souběžné kokcidiosy jater (viz patologicko-anatomické změny).

Plíce jevily v několika případech pneumonická ložiska se zánětlivě buněčnou infiltrací alveol a všeobecně bylo možno v plicích pozorovat dilatace kapilár krevních s event. výlevy krevními.

Ledviny byly poměrně málo alterovány a zde pak šlo jen o roztroušené výlevy krevní a o počáteční stadia degenerace ledvinového parenchymu. Vcelku však možno podle dosažených výsledků prohlásit, že všechny histologické změny, zjištěné po experimentální infekci laboratorních zvířat, nejsou pro Aujeszského nemoc specifické a histologické vyšetření samo není tudíž stoprocentně spolehlivým diagnostickým prostředkem pro určení Aujeszského choroby. Všechny histologické změny se podstatně nijak hrubě neliší od změn zjišťovaných při spontánní infekci, kde však vystupují daleko výrazněji obzvláště s hlediska vytváření zánětlivých, perivaskulárních a ložiskovitých buněčných infiltrací.

Otázka buněčných inkluzí a granul v nervovém systému u Aujeszského nemoci, která objevili Gerlach a Kraus, nebyla podrobněji zkoumána. Možno však říci, že ve zkoumaných preparátech, které byly obarveny vpředu uvedenými metodami barvení, nebyly inkluse a granule zjištěny ani v jediném případě.

1. Laboratorní zvířata, která byla experimentálně infikována virem Aujeszkeho nemoci, byla *post mortem* pitvána a zjišťovány změny pathologicko-anatomické. Z mozku, jater, plic a ledvin byly pořízeny histologické preparáty, které po odpovídajícím barvení byly mikroskopicky vyšetřovány.

2. Pathologicko-anatomickou pitvou zjištěné makroskopické změny nejsou (kromě snad lokálních změn v místě infekce) zvlášť výrazné a nejsou nijak specifické pro Aujeszkeho nemoc.

Pathologicko-histologické změny, zjišťované mikroskopickým vyšetřením orgánových preparátů, souhlasí v podstatě s nálezy dřívějších autorů a lze je obecně rozdělit na změny degenerativní a změny zánětlivého charakteru. Při akutním průběhu onemocnění převládají více změny degenerativní, při protrahované formě nemoci více změny zánětlivé. Histologický nález, i když není zdaleka stoprocentní, je přesto velmi cenným diagnostickým prostředkem.

3. Z výše uvedeného vyplývá, že morfologické vyšetření může dát uspokojivé výsledky jen tehdy, je-li spojeno s biologickým pokusem na zvířeti. Je proto nezbytné zavést do diagnostiky Aujeszkeho choroby komplexní způsob práce a spojit výhody klinického pozorování experimentálně nakaženého pokusného zvířete s možnostmi, které nám dává morfologické vyšetřování.

Literatura

Andrejev: Nakažlivé nemoci prasat. — Beller a Biehling: Die Viruskrankheiten der Haus- und Laboratoriumstiere. Lipsko 1950. — Böcker: Handbuch der Viruskrankheiten. Jena 1939. — Gerlach a Kress: O nálezech granul v CNS při pseudolyssa bulbaris infectiosa a experimental. poliomyelitis anterior ac. Archiv f. Tierheilkunde sv. 63. — Gerlach a Schweinburg: Experimentelle Untersuchungen über die Aujeszky'sche Krankheit. Zeitschrift f. Infektionskrankheiten der Haustiere, sv. 48. — Glässer, Hupka, Wetzel: Die Krankheiten des Schweines. Hannover 1950. — Harnach R.: Nakažlivé nemoci hospodářských zvířat. Praha 1953. — Heynen K.: Untersuchungen über den Nachweis u. d. Vorkommen der Pseudowut b. Schweinen in Deutschland. Zeitschrift f. Infektionskrankheiten, sv. 57. — Hurst W.: Studies of pseudorabies. Centralblatt f. allgemeine Pathologie u. patholog. Anatomie, sv. 60 a 61. — Hutýra - Marek: Spezielle Pathologie u. Therapie der Haustiere, sv. 1. Jena 1952. — Koljakov: Veterinarnaja mikrobiologija. Moskva 1952. — Kouba V.: Příklad inf. bulb. paralyse u lišek a myvalů. Veterinářství, roč. 1954, čís. 8. — Manninger a Marcis: Versuche mit d. Erreger der Aujeszky'schen Krankheit. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten, sv. 51. — Manninger - Mocsy: Liečenie vnútorných chorob, sv. 1. Bratislava 1954. — Michalka: Aujeszkeho nemoc. — Nieberle, Cohrs: Lehrbuch d. speziellen pathologischen Anatomie d. Haustiere. — Sályi J.: Beitrag zur Pathohistologie der Aujeszky'schen Krankheit. Archiv f. wissenschaftliche und praktische Tierheilkunde, sv. 69. — Shope R. E.: Modification of the pathogenicity of pseudorabies virus by animal passage. Centralblatt f. allgem. Pathologie, sv. 59. — Stang - Wirth: Tierheilkunde u. Tierzucht. Berlin, Wien 1926. — Višelesskij: Časťnaja epizootologija. Moskva 1948. — Weidlich: Zjištění Aujeszkeho choroby na jižním Slovensku. Zvěrolékařský obzor, roč. 1938.

Патолого-гистологические изменения при экспериментально вызванной болезни Ауески у лабораторных животных

1. Лабораторные животные, которые были искусственно заражены вирусом Ауески, после смерти были анатомизованы и установлены патолого-анатомические изменения. Из мозга, печени, легких и почек были приготовлены гистологические препараты, которые после соответствующей окраски были исследованы микроскопически.

2. Установленные при патолого-анатомическом вскрытии макроскопические изменения (кроме локальных изменений в месте инфекции) неособенно характерны и неспецифичны для болезни Ауески. Патолого-гистологические изменения, установленные микроскопическим исследованием препаратов из органов, по существу совпадают с диагнозами предыдущих авторов и в общем их можно разделить на две группы: изменения дегенеративные и изменения воспалительного характера. При остром течении болезни преобладают изменения дегенеративные, при затяжном — изменения воспалительные. Гистологические признаки, если даже они и не стопроцентно верны, все же являются весьма ценным диагностическим средством.

3. Из приведенного выше вытекает, что морфологическое исследование может дать удовлетворительные результаты только в том случае, если оно соединено с биологическим опытом на животном. Поэтому неизбежно включить в диагностику болезни Ауески комплексный способ работ и соединить выгоды клинического наблюдения экспериментально зараженного животного с возможностями, представляемыми морфологическим исследованием.

Pathologisch-histologische Veränderungen bei experimentell hervorgerufenem Morbus Aujeszky an Laboratoriums-Tieren.

1. Die experimentell mit dem Virus der Aujeszky-Krankheit infizierten Laboratoriums-Tiere wurden *post mortem* seziiert und es wurden pathologisch-anatomische Veränderungen festgestellt. Aus dem Gehirn, der Leber, den Lungen und Nieren wurden histologische Präparate angefertigt, die nach entsprechender Färbung mikroskopisch untersucht wurden.

2. Die auf Grund der pathologisch-anatomischen Sektion ermittelten makroskopischen Veränderungen sind (mit Ausnahme der lokalen Veränderungen an der Infektionsstele) nicht besonders ausdrucksvoll und für die Aujeszky-Krankheit durchaus nicht spezifisch. Die pathologisch-histologischen Veränderungen, die mittels der mikroskopischen Untersuchung der Organpräparate festgestellt wurden, stimmen im wesentlichen mit den früheren Befunden anderer Autoren überein und können allgemein auf Veränderungen generativen und Veränderungen entzündlichen Charakters eingeteilt werden. Beim akuten Verlauf der Erkrankung überwiegen die degenerativen Veränderungen, beim chronischen Verlauf die entzündlichen Veränderungen. Der histologische Befund ist, obwohl er bei weitem nicht 100 % ist, immerhin ein sehr wertvolles diagnostisches Mittel.

3. Aus Vorstehendem geht hervor, daß die morphologische Untersuchung nur dann befriedigende Resultate ergeben wird, wenn sie mit dem biologischen Versuch am Tier verbunden wird. Es ist daher unbedingt erforderlich, bei der Diagnostik der Aujeszky-Krankheit eine komplexe Arbeitsweise anzuwenden und die Vorzüge der klinischen Beobachtung des experimentell infizierten Versuchstieres mit den Möglichkeiten zu verbinden, die uns die morphologische Untersuchung bietet.

- Blažek K.: Příspěvek k enzootické hepatitidě koní
 К вопросу энзоотического гепатита лошадей
 A Contribution to the Enzootic Hepatitis in Horses
 Beitrag zur enzootischen Leberentzündung der Pferde 157
- Koula V.—Veselá O.: Studium účinků chlorovaných uhlovodíků a některých derivátů substituované kyseliny karbaminové proti škrkavce vepřové *Ascaris suum* Goeze in vitro
 Изучение действия хлорированных углеводородов и некоторых дериватов субститутивных карбаминовых кислот против глистов свиней *Ascaris suum* Goeze in vitro
 The Study of Effects of the Chlorated Hydrocarbons and of Some Derivates of the Substituted Carbamine Acid against the Swine Maw-Worm *Ascaris suum* Goeze in vitro
 Das Studium der Wirkungen von chlorierten Kohlenwasserstoffen und einiger Derivaten der substituirten Karbaminsäure gegen den Schweinespulwurm *Ascaris suum* Goeze in vitro 175
- Sokol—Neubert—Tirčo—Vasil': Praktická hodnota niektorých metód koncentrácie vírusu chrípky ošípaných
 Практическое значение некоторых методов концентрации вируса гриппа свиней
 The Practical Value of Some Methods of Concentrating the Swine Fever Virus 189
- Čupík J.: Isolace viru pneumonie prasat a pokus o průkaz jeho etiologické souvislosti s touto chorobou
 Изоляция вируса пневмонии свиней и попытка доказать его этиологическую связь с этой болезнью
 Isolation of the Pneumonia Virus of Pigs and an Attempt to Demonstrate Its Etiological Relation with the Disease
 Isolierung des Pneumonie-Virus bei Schweinen und der Versuch, seinen etiologischen Zusammenhang mit dieser Krankheit nachzuweisen 197
- Spitzer G.: Pathologicko-histologické změny při experimentálně vyvolaném *Morbus Aujezsky* u laboratorních zvířat
 Патолого-гистологические изменения при экспериментально вызванной болезни Ауески у лабораторных животных
 Pathologisch-histologische Veränderungen bei experimentell hervorgerufenem *Morbus Aujezsky* an Laboratoriums-Tieren 211

SAV

Socialistická veda pomáha socialistickej praxi

Prihlaste sa za predplatiteľov časopisov súdružskej

SLOVENSKEJ AKADEMIE VIED

*

NAŠA VEDA

Mesačník, 48 strán s prílohou, cena čísla Kčs 3.—, ročne Kčs 36.—

POLNOHOSPODÁRSTVO

Dvojmesačník, 144 strán, cena čísla Kčs 8.—, ročne Kčs 48.—

LESNÍCKY ČASOPIS

Štvrťročne, 96 strán, cena čísla Kčs 6.—, ročne Kčs 24.—

VETERINÁRSKY ČASOPIS

Dvojmesačník, 80 strán, cena čísla Kčs 5.—, ročne Kčs 30.—

BRATISLAVSKÉ LEKÁRSKE LISTY

Dvojtyždenník, 64 strán, cena čísla Kčs 4.—, ročne Kčs 96.—

SLOV. ODBORNÉ NÁZVOSLOVIE

Mesačník, 32 strán, cena Kčs 2.—, ročne Kčs 24.—

VODOHOSPODÁRSKY ČASOPIS

Štvrťročne, 64 strán, cena Kčs 8.—, ročne Kčs 32.—

EKONOMICKÝ ČASOPIS

Dvojmesačník, 96 strán, cena čísla Kčs 5.—, ročne Kčs 30.—

SLOVENSKÝ NÁRODOPIS

Dvojmesačník, 104 strán, cena čísla Kčs 7.50, ročne Kčs 45.—

GEOGRAFICKÝ ČASOPIS

Štvrťročne, 64 strán, cena čísla Kčs 6.—, ročne Kčs 24.—

STAVEBNÍCKY ČASOPIS

Štvrťročne, 64 strán, cena Kčs 6.—, ročne Kčs 24.—

HISTORICKÝ ČASOPIS

Štvrťročne s 2 prílohami, 144 strán, cena čísla Kčs 9.—, ročne Kčs 36.—

BIOLÓGIA

Mesačník, 64 strán, cena čísla Kčs 5.—, ročne Kčs 60.—

*

SLOVENSKÁ AKADEMIA VIED

vydavateľstvo

Bratislava, Klemensova 27

Vytiskla Mladá fronta, n. p., Praha II, Legerova 22.

Novinová sazba povolená min. spojů výnosem ze dne 28. XII. 1955 j. zn. ÚS/14-2370-1:50803/55.

Dohlédací poštovní úřad Praha 022.