

10. 11. 5

SBORNÍK

ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

*Veterinární
medicina*

9

ROČNÍK XXIX – PRAHA, ZÁŘÍ 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 Vladimír Chládek, MVDr Eduard Zach, MVDr František Nižňanský,
člen korespondent SAV MVDr Jiří Boháč, Antonín Cicvárek, MVDr Antonín
Klauz, prof. MVDr Richard Harnach, MVDr Jaroslav Dražan, prof. Dr Karel
Šobra*

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

Sborník ČSAZV, řada Veterinární medicína, vychází měsíčně. Uveřejňuje výsledky vědecko-výzkumných prací a kritické přehledy o pokroku zemědělské vědy z oboru veterinární medicíny. Hlavní redaktor Frant. Němec. 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 Франц Немец. 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 Frant. Němec. 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-02693

Klinika a patologická morfologie enzootické hepatitidy koní (*Lebergehirnkrankheit, Encéphalose hépatique*)

(Sdělení II.*)

Клиника и патологическая морфология энзоотического гепатита лошадей

Clinical Picture and Pathological Morphology of Equine Enzootic Hepatitis

Klinik und pathologische Morphologie der enzootischen Hepatitis der Pferde

MVDr Karel BLAŽEK

Státní vědecký veterinární ústav v Praze,
ředitel MVDr Antonín Klauz.

Došlo dne 26. V. 1956

Úvod

V posledních letech se v našich zemích značně rozšířila hepatitida koní, o níž bylo již několikrát referováno (3, 4, 9). Touto prací navazujeme na naše dvě předběžná sdělení, která doplňujeme novými poznatky klinickými a zejména patologicko-anatomickými. Sdělení je výslednicí klinického vyšetření 56 případů, 25 kompletních pitev a makroskopického posouzení a histologického vyšetření 11 vzorků orgánů uhynulých či poražených koní, které nám byly zaslány obvodními veterinárními lékaři.

A. Přehled literárních údajů

Při studiu literatury nacházíme zmínky nebo obsáhlejší sdělení, ve kterých jsou popisovány případy onemocnění u koní, které po stránce klinické i pathomorfologické zcela odpovídají nebo se podobají případům, které jsme měli příležitost pozorovat.

Tak ze starších sdělení možno uvést jeden případ Morelův, 1900 (7) provázených poruchami lokomoce, kdy při pitvě našel zvětšená a tuhá játra. Brocheriou, 1905 (7) a Numans, 1914 (7) popisují ikterus a nervové poruchy, avšak pitevní nález je uveden neurčitě a omezuje se na popis těžkého ikteru a nález hypertrofických „muškátových“ jater, anebo uvádí zvětšení jater a zvýšení jejich konsistence. Wester a Beyens, 1920 (7) pozorovali u koní bezhorečnaté onemocnění, provázené ikterem a nervovými poruchami, prý po požití plesnivého sena. Stenius, 1935 (7) popisuje ve Finsku dvě enzootie hepatocerebrálních poruch u koní a onemocnění označuje jako encefalomyelitidu. V nekroptickém nálezů uvádí hyperaemii a oedem mozku, akutní

*) Viz Sborník Vet. med. č. 3. r. 1956 str. 157.

degenerativní hepatitidu, nekrobiosu ostrůvků Langerhansových v pankreatu a degenerativní změny točitých kanálků ledvin. K u c e l, 1938 (6) v Jugoslavii pozoroval sporadické případy onemocnění koní, vyznačující se ikterem a klinickými příznaky Bornaské nákazy. Pitevní nález však odpovídal obrazu akutní žluté atrofie jater, zatím co na mozku nebyly nalezeny změny, svědčící pro encefalitidu. Také jiní autoři [B e r n h a r d t, D o b b e r s t e i n, K r a g e, M ó c s y, C o h r s (1, 2)] popisují případy hepatodystrofie, končící v 70—80 % smrtelně a onemocnění nazývají „Lebergehirnkrankheit“. D o b b e r s t e i n zjistil kromě nálezu na játrech neuronofagii a ztrátu tigroidní substance nervových buněk mozku. R o b i n, 1945 (7) diskutuje o nálezu neuronofagie a uvádí, že se tato může vyskytnout jako příznak senility i u koní klinicky zdravých. T h i é r y, a S a l o m o n, 1944 (8) uveřejnili několik případů encefalomyelitidy koní, které podle popisu histologických nálezů na játrech a podle přiložených kreseb jaterních změn odpovídají případům námi pozorovaným. Autoři uvádějí, že biologické pokusy na laboratorních zvířatech byly bezvýsledné. Další badatelé [S c h r o e d e r, 1892, T h e i l e r, 1918, K a l k u s a spol., 1925 (7)] popisují pod různými názvy onemocnění, které se s hlediska klinického podobá našim případům, avšak liší se do jisté míry nálezy anatomickými. Originální práce těchto autorů nejsou nám dostupny, takže nemůžeme jejich nálezy objektivně srovnávat s onemocněním koní, vyskytujícím se u nás. My jsme popsali chorobu koní, provázenou ikterem a v četných, zvláště letálně končících případech, provázenou poruchami nervových funkcí, při které pitevní obraz poukazoval na konstatní poškození jater. Nazvali jsme ji proto enzootickou hepatitidou, ačkoli dnes již ztratila ráz enzootie. Tímto problémem se dále zabývá S o v a, Z e n d u l k a a Č e r n ý (9); N e u m a n, P i s k a č a H r ú š k a (9) provádějí rozbor biochemických změn při jaterní dystrofii u koní nemocných a rozbírají nálezy u koní, použitých k přenosu. Otázka etiologie onemocnění, popsaného v uvedených pramenech, nebyla dosud vyřešena. R o b i n (7) studoval množství pramenů a uvádí, že hypotéza o infekční povaze onemocnění může být vyloučena, neboť četná bakteriologická šetření a pokusy o přenos zůstaly bezvýsledné. Většina autorů zastává hypotézu intoxikace, avšak liší se v názoru na její původ. Tak jsou pokládány za příčinu nemoci různé druhy starčku, jetel, lupina, vikev setá, plíseň kropidláková. Dále to jsou *Crotalaria sagittalis* a *Amsinckia intermedia*, které jsou uváděny v souvislost s tímto onemocněním. V našem sdělení (3, 4) jsme zamítli leptospirosu a alimentární intoxikaci jako příčinu onemocnění a uvedli jsme určitý pozitivní výsledek při pokusu o přenos na koně. N e u m a n a spol. (9) přiklání se na základě biochemických studií u pokusných koní k názoru, že jde o chorobu infekční. S o v a (9) vylučuje jako etiologickou příčinu popisovaného onemocnění kontaktní jedy insekticidní, popisuje negativní přenos na koně, králíky a bílé myšky, považuje za nepravděpodobné, že by chorobu způsobovaly plísně nebo toxiny anaerobů a nevylučuje případný toxický vliv silenky a kokotice. Z e n d u l k a a Č e r n ý (9) uvádějí, že se jim zdařilo vyvolat onemocnění u králíků, intracerebrálně infikovaných suspensí mozku jednoho uhynulého koně, a označují onemocnění jako infekční encefalomyelitidu ruského typu.

B. Klinický obraz enzootické hepatitidy

a) Typický průběh e. h.

Onemocnění začíná zpravidla náhle, bez výrazných předzvěstí. Někdy však majitel zvířete v anamnése uvádí, že na koni pozoroval již několik dní před prvními příznaky nemoci větší malátnost, snazší unavitelnost v práci, případně

mírné nechutenství. Těmito příznakům není však většinou přikládána větší závažnost. Prvním, skutečně nápadným příznakem bývá náhlé odmítnutí krmiva nebo vybíravost. Často se dostavuje polydipsie nebo perversní chuť. Moč je žlutohnědá; trus odchází v menších porcích a je sušší, než má být. Na počátku onemocnění je znatelné ikterické zbarvení spojivek, bělma očního a sliznice tlamy. Ikterus se v průběhu nemoci zesiluje. Někdy nabývá špinavě pomerančové barvy. Zvýšená teplota až horečka je konstatována často, v některých případech však probíhá onemocnění bez horečky nebo se teplota udržuje na subfebrilní výši. Zhruba se dá říci, že onemocnění, probíhající prudce a končící letálně, je většinou bezhorečnaté, zatím co febrilní stavy v počátku onemocnění jsou prognosticky příznivější. Peristaltika střevní je zleněna až úplně sistována. Současně s těmito příznaky se dostavuje malátnost, somnolence až úplná otupělost a pohybová i statická ataxie. Onemocnění trvá týden, čtrnáct dní i tři neděle a po této době nastává uzdravení. Ikterické zbarvení sliznic přetrvává ještě nějaký čas po odeznění ostatních klinických symptomů. Rekonvalescence bývá dlouhá. Recidiva se vyskytuje zřídka.

A b o r t i v n í f o r m y ztrácejí hodně na výraznosti projevů. Setkáme se s nimi tam, kde onemocnění proběhlo již u více kusů bouřlivě. Tehdy se objeví zcela krátkodobé nechutenství, efemérní mírný vzestup teploty, třeba jen na horní hranici normy, ikterický nádech spojivek a někdy krátce trvající kašel bez lokálního nálezu na dychadlech. Biochemické vyšetření prokáže i zde změny, svědčící pro poškození jaterní tkáně.

P e r a k u t n í p r ů b ě h nemoci je vždy provázen těžkými příznaky, takže k exitu dochází mnohdy již během 24—48 hodin. Někdy dojde teprve po týdnu k náhlému zvratu a k exitu. V takových případech nabývá ikterus rubínové barvy, peristaltika střevní je úplně sistována a dostavují se příznaky poruchy centrálního i vegetativního nervstva: kůň opírá hlavu o žlab, naráží jí na překážky, při chůzi jde toporně, ze široka a zůstává stát v nepřírozeném postoji s hluboko svěšenou hlavou. Nastává rigidita extensorů končetin a zvýšení svalstva. Kůň upadá do komatu, v němž hyne. Jindy se dostaví excitace ve formě nutkavých pohybů kupředu, provázená citovým obluzením a silným pocením. Záchvaty trvají několik minut až půl hodiny a jsou zpravidla příčinou rychlého utracení koně, neboť nemocný ohrožuje v tomto stavu vážně svoje okolí.

V následující stati poněkud rozvineme některé symptomy v popise uvedené. **T e p l o t a** má mnohdy ráz horečky krátkodobé a poměrně rychle lytický klesá. Jindy klesá k normě jen velmi zvolna. Opětný vzestup teploty v době, kdy se stav již téměř upravil, je nutno považovat za ukaz prognosticky nepříznivý. *Febris continua* bývá pozorována poměrně často; někdy s krátkodobými remisemi. Subfebrilní stavy provázejí rychlý letální průběh.

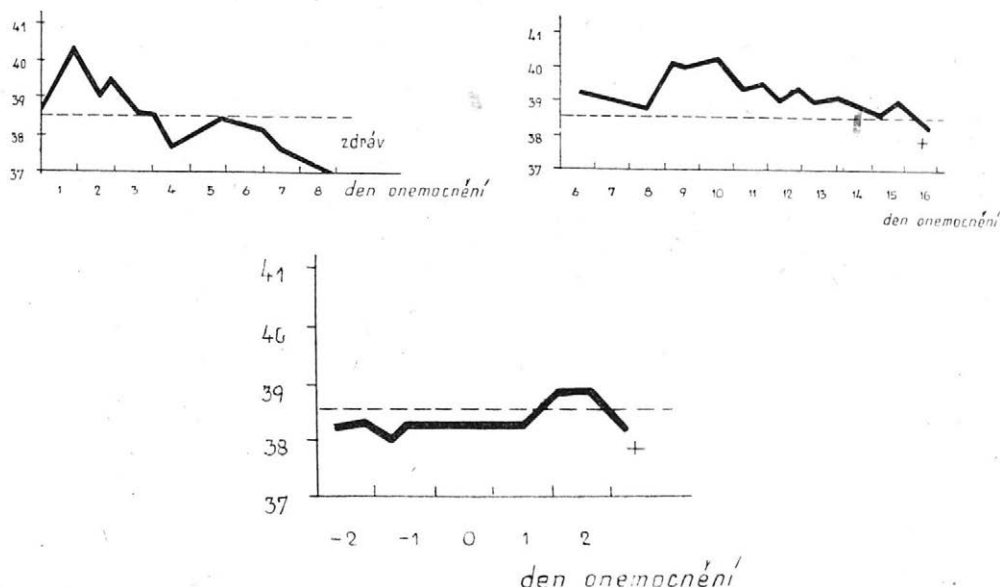
M o č p ř i v ý š e t ř e n í na žlučová barviva je zpravidla pozitivní, někdy však bývá i negativní. V sedimentu se nacházejí četné hyalinní a granulované válce, v případech akutní žluté atrofie jater krystály leucinu, jevící se jako lesklé žlutavé koule se znatelným koncentrickým vrstvením a radiárním žiháním. Nález leucinu v sedimentu moče upozorňuje na závažnost choroby.

K r e v n í o b r a z v červené složce není v akutní atace většinou podstatně změněn. Při bouřlivém průběhu, kdy nastal zvrat ke žluté atrofii jater, vyvíjí se polycytemie s výraznou anisocytosou (11,000.000—12,300.000 v jednom *cmm*).

Počet bílých krvinek je zpravidla v akutní fázi zvýšen (15.000—18.000). U rekonvalescentů se může vyvinout lehká anemie s více či méně výraznou lymfocytosou. Pozoruhodné je nápadné zpomalení sedimentace v akutní fázi nemoci a téměř její zastavení v případech se žlutou atrofií. Cenným vyšetřením pro diagnosu i prognosu onemocnění je zjištění obsahu bilirubinu v krevním seru.

Hladina bilirubinu se zvyšuje velmi značně (přes 10 mg % i více) a její kolísání je dobrým indikátorem ústupu žloutenky a restituce jaterního parenchymu. Již v době prvního projevu nemoci (odmítnutí krmiva) je obsah bilirubinu zvýšen proti normě, takže lze předpokládat, že jaterní proces probíhal již dříve, aniž

Typy teplotních křivek



kůň projevil nějaké smyslově zjistitelné příznaky. Ikterus se stává výrazným, jakmile obsah bilirubinu v krevním seru překročí 3 mg %. Jaterní testy, prováděné podle metodiky, zavedené v humánní medicíně, jsou u koní nepoužitelné, jak jsme uvedli v našem předběžném sdělení (4).

Příznaky se strany nervového systému (sommolence, ataxie, snížení citlivosti, delirantní stavy) je nutno považovat za reakci CNS a vegetativního nervstva na insuficienci jater, tedy za projevy druhotné a nikoli za výraz primární laese CNS. To ostatně vyplývá z nálezů pathomorfologických.

Рис. 1. Больная лошадь за 24 часа до смерти. Апатия высшей степени, ригидность мускулатуры конечностей

Figure 1 — Ill horse 24 hours before death. Marked apathy, rigidity of the musculature of the extremities.

Abb. 1. Krankes Pferd 24 Stunden vor dem Exitus. Hochgradige Apathie, Rigidität (Muskelstarre) der Extremitätenmuskulatur.

Рис. 2. Больная лошадь. Тетаническое напряжение экстензоров конечностей, задние ноги широко расставлены

Figure 2 — Ill horse. Tetanic extensor spasm of the extremities, hind legs in straddled position.

Abb. 2. Krankes Pferd. Tetanische Spannung der Extensoren, bodenweite Stellung der Hintergliedmassen.

Рис. 4. Гистологический срез печени. Острый паренхиматозный гепатит. Круглоклеточный инфильтрат диффузионно по доле печени, очаговое накопление клеток

Figure 4 — Histological section of liver. Acute parenchymatous hepatitis. Diffuse round-cell infiltration throughout hepatic acini, nodular cellular accumulations.

Abb. 4. Histologischer Schnitt der Leber. Akute parenchymatöse Hepatitis. Rundzelleninfiltrat diffus längs des Acinus, herdförmige Zellenhäufung.



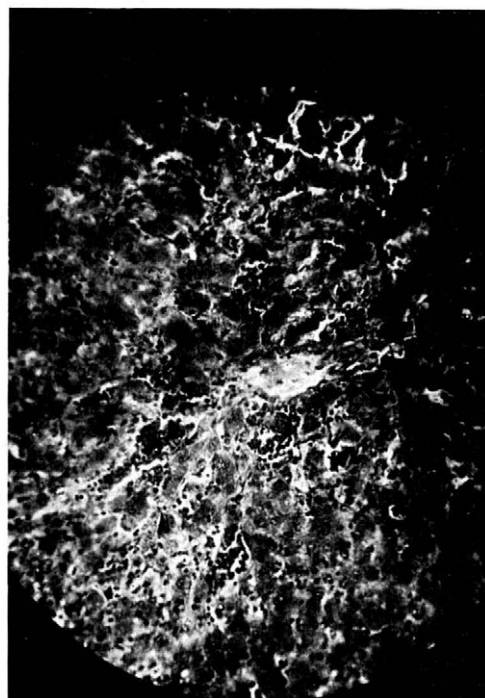
Obr. č. 1. Nemocný kůň 24 hodiny před uhynutím. Apatie vysokého stupně, rigidita svalstva končetin.



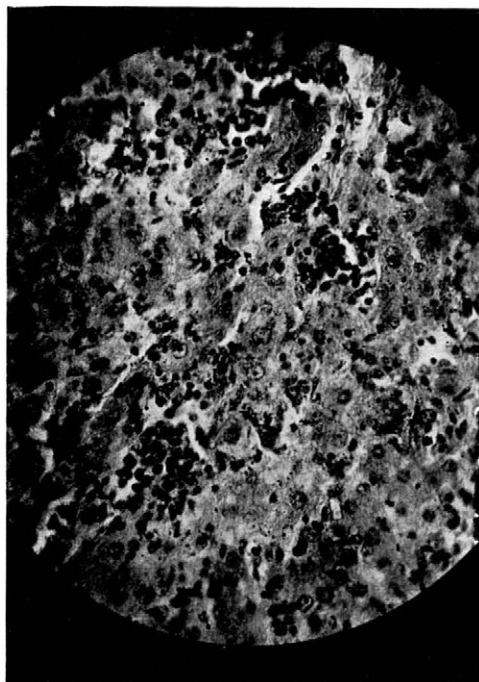
Obr. č. 2. Nemocný kůň. Tetanické napětí extensorů končetin, rozkročený postoj zadních nohou.



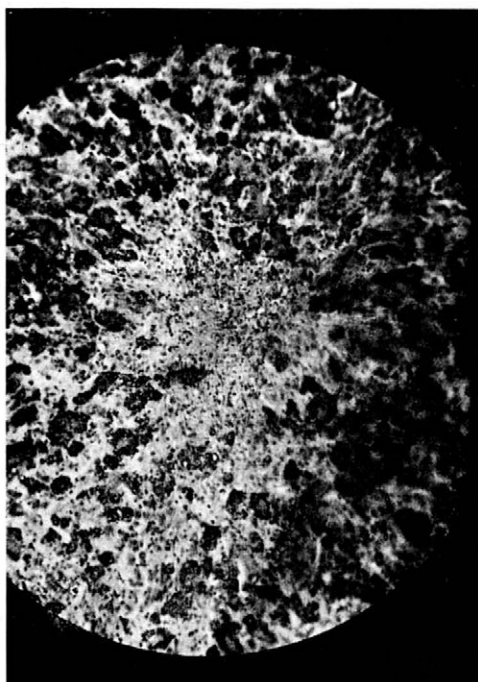
Obr. č. 3. Kůň opírá hřbet nosu o zeď.
Рис. 3 Лошадь опирается носом о стену
Figure 3 — Horse resting muzzle on wall.
Abb. 3. Das Pferd stützt sich mit dem Nasenrücken an die Wand.



Obr. č. 4. Histologický řez játry. Akutní parenchymatosní hepatitis. Kulatobuněčný infiltrát difusně rozhozen po acinu, ložiskové nahloučení buněk.



Obr. č. 5. Detail z obrazu č. 4. Mononukleární charakter infiltrátu výrazný. Jaterní buňky mají zachovanou strukturu



Obr. č. 6. Histologický řez játry. Centrální nekrosa vyzařuje k periferii acinu. Skupiny buněk s hojným pigmentem.



Obr. č. 7. Histologický řez játry. Žlutá atrofie jater. Na snímku zachycen portobiliární prostor s. hojnou buněčnou infiltrací, ostatní část acinu nekrotická.



Obr. č. 8. Detail z obrazu č. 7. V pojivové kostře stíny odumřelých buněk. Struktura jaterní tkáně není již vůbec zřetelná.

b) Komplikace v průběhu e. h.

Odchyly od typického průběhu e. h. jsou známy, i když bývají pozorovány méně často. Tehdy se vyvíjejí symptomy se strany CNS pouze ve formě somnolence a pohybové ataxie, nechutenství trvá anebo se chůť střídavě zlepšuje a zhoršuje. Ikteru neubývá na intenzitě a po čase může dojít k jasně vyjádřenému hemolytickému syndromu. V krevním obraze klesá počet erytrocytů, stoupají však relativní i absolutní hodnoty buněk bílé řady. V krevních nátěrech se vyskytnou polychromofilní normoblasty. Pozoruje se hemoglobinemie a hemoglobinurie. Úprava tohoto stavu je zjevem řídkým a proto několik dní trvající hemolytický syndrom je prognosticky nepříznivým úkazem. K uhynutí dochází v důsledku jaterní insuficience, způsobené těžkými změnami na játrech (subakutní hepatodystrofie, přecházející ve fibrosu). Pozorovali jsme i případ, kdy došlo k úpravě zdravotního stavu, avšak po několika dalších dnech nastal náhlý zvrat a kůň musel být poražen pro vážné příznaky jaterní dystrofie.

c) Celkový pohled na výskyt enzootické hepatitidy

O výsledcích šetření v terénu podali jsme zprávu v předchozím sdělení (4). V podrobnostech odkazujeme na ně. Statistické zhodnocení morbidit podlé stáří mění se s větším počtem pozorovaných případů v tom smyslu, že onemocnění převážně koně starší desíti let. Choroba dosahuje největšího rozsahu v pozdním létě a na podzim, zatím co v zimě a na jaře jsou pozorovány jen ojedinělé a většinou benigní případy onemocnění. Jestliže se v obci nebo usedlosti vyskytne více případů, probíhají zpravidla první případy bouřlivě a končí letálně, kdežto při doznívání vlny bývá průběh mírnější a končí uzdravením.

Рис. 5. Деталь рис. 4. Мононуклеарный характер инфильтрата явно выражен. Структура печеночных клеток сохранена

Figure 5 — Detail from fig 4. The mononuclear character of the infiltrate is marked. Structure of hepatic cells is preserved.

Abb. 5. Ein Detail der Abb. 4. Der mononukleare Charakter des Infiltrats ist ausgeprägt. Die Struktur der Leberzellen ist erhalten.

Рис. 7. Гистологическое сечение печени. Желтая атрофия печени. На фотографии отмечено портобилиарное пространство с богатой клеточной инфильтрацией, остальная часть доли некротическая

Figure 7 — Histological section of liver. Yellow atrophy of the liver. The picture shows portobiliar space with abundant cellular infiltration, the remainder of the hepatic acini necrotic.

Abb. 7. Histologischer Schnitt der Leber. Gelbe Leberatrophie. Die Aufnahme zeigt den portobiliaren Raum mit reichlicher Zelleninfiltration, der übrige Teil des Acinus ist nekrotisch.

Рис. 6. Гистологическое сечение печени. Центральные некрозы излучаются к периферии доли. Группы клеток с богатым пигментом

Figure 6 — Histological section of liver. Central necrosis radiating to periphery of acini. Groups of cells with abundant pigment.

Abb. 6. Histologischer Schnitt der Leber. Die Zentrale Nekrose strahlt zur Peripherie des Acinus aus. Pigmentreiche Zellengruppen.

Рис. 8. Деталь рис. № 7. В соединительном скелете тени отмерших клеток. Структуру печеночной ткани уже нельзя различить

Figure 8 — Detail from fig. 7. Within the connective tissue framework shadows of dead cells. The structure of the hepatic tissue is completely disorganized.

Abb. 8. Detail der Abb. 7. Im Bindegewebe Schatten abgestorbener Zellen. Die Struktur des Lebergewebes ist ganz undeutlich.

Pitevní nálezy při enzootické hepatitidě s letálním koncem jsou, až na odchylky u případů komplikovaných, uniformní, neboť k exitu dochází většinou při vzniku akutní hepatodystrofie. Z pitevních a histologických nálezů na orgánech nemocných koní, kteří byli poraženi dříve, než se mohla vyvinout žlutá atrofie jater, jsme si mohli učinit představu o změnách, které předcházely totální nekroze jaterní tkáně. Je třeba zdůraznit, že pitva padlých kusů má být provedena co nejdříve po smrti, aby nedošlo k nežádoucí autolyse, které rychle podléhají v těchto případech zvláště játra (biliární autolýsa). Histologické vyšetření je nutno provést vždy, neboť pouhý makroskopický nález velmi často nedovede zachytit pravou podstatu změn.

Na povrchu těla bývají u kadaverů exkoriace i hlubší kožní rány, zvláště v oblasti nadočnicových oblouků, nosního hřbetu, případně i na jiných vyvýšených částech těla.

Sliznice dutiny tlamy, hrdla a spojivky jsou iktericky zbarveny, a to žlutě, oranžově až rubínově červeně. Výrazné je ikterické zbarvení podkoží. Někdy bývá *herpes labialis*, pysky a jazyk jeví stopy po zranění zuby.

Plíce a horní cesty dýchací jsou většinou bez pathologických změn. V případech provázených hemorhagickou diathesou, je sliznice průdušnice a průdušek poseta plošnými krevními výrony. Srdeční sval je iktericky zbarven

Рис. 9. Гистологическое сечение печенью. Тотальный некроз ткани. Диффузионно разбросанный рыхлый инфильтрат. Многочисленные ложные каналки

Figure 9 — Histological section of the liver. Complete tissue necrosis. Diffuse scattered sparse infiltrate. Numerous false canaliculi.

Abb. 9. Histologischer Schnitt der Leber. Totale Gewebenekrose. Diffus verteiltes schütteres Infiltrat. Zahlreiche Pseudokanalchen.

Рис. 10. Деталь рис. № 9 — значительно увеличенная. Видно строение ложных каналков. Диффузионный редкий круглоклеточный инфильтрат

Figure 10 — Detail from fig. 9. in greater magnification. Structure of false canaliculi is apparent. Diffuse sparse round-cell infiltrate.

Abb. 10. Ein Detail der Abb. 9. bei stärkerer Vergrößerung. Die Bildung von Pseudokanalchen ist ausgeprägt. Diffuses schütteres Rundzelleninfiltrat.

Рис. 11. Гистологическое сечение печенью. 16-ый день после начала заболевания. Нерегулярное распределение печеночных клеток; симплазмы и увеличение количества фибропластов между пучками клеток представляют собой признак регенерации

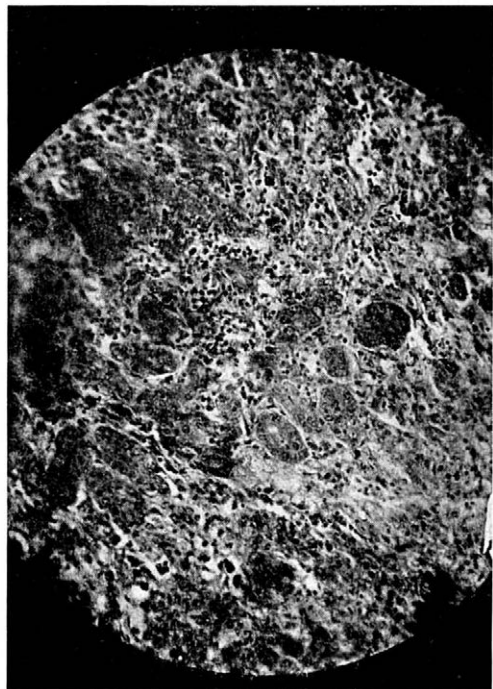
Figure 11 — Histological section of liver, 16th day after onset of disease. Irregular distribution of hepatic cells; symplasmata and multiplication of fibroblasts between groups of cells as a sign of beginning regeneration.

Abb. 11. Histologischer Schnitt der Leber. 16. Tag nach Krankheitsbeginn. Unregelmäßige Anordnung der Leberzellen: Symplasmata und Vermehrung von Fibroplasten zwischen den Zellenbündeln als Zeichen beginnender Reparation.

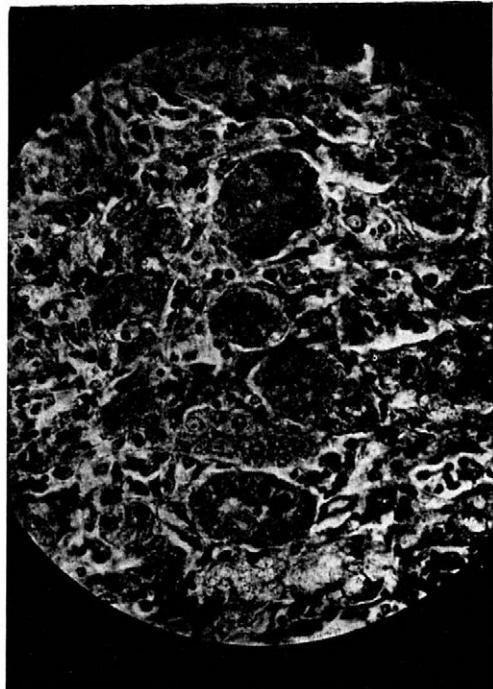
Рис. 12. Гистологическое сечение печенью. Постнекротическое язвообразование. 22-ой день после начала заболевания. Резкие полосы ткани с рыхлой клеточной инфильтрацией, закрывающей нерегулярные группы печеночных клеток, из которых многие наполнены пигментом

Figure 12 — Histological section of liver. Postnecrotic fibrosis, 22d day after onset of disease. Coarse fibrous strands and sparse cellular infiltrates surround irregular groups of hepatic cells of which many are filled with pigment.

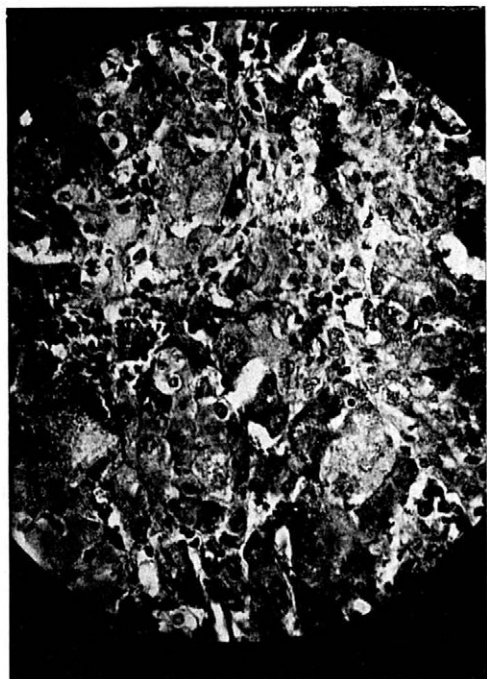
Abb. 12. Histologischer Schnitt der Leber. Postnecrotische Narbenbildung am 22. Tage nach Krankheitsbeginn. Grobe Bindegewebsstreifen mit schütterer Zelleninfiltration umschließen unregelmäßige Gruppen von Leberzellen, von denen manche mit Pigment überladen sind.



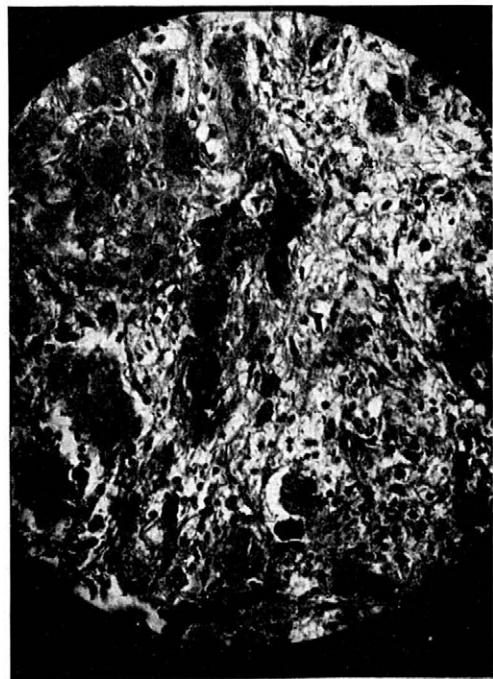
Obr. č. 9. Histologický řez játry. Totální nekrosa tkáně. Difusně rozhozený řídký infiltrát. Četné pakanálky.



Obr. č. 10. Detail z obrazu č. 9 při větším zvětšení. Stavba pakanálků je zřetelná. Difusní řídký kulatobuněčný infiltrát.



Obr. č. 11. Histologický řez játry. 16. den po začátku nemoci. Nepravidelné uspořádání jaterních buněk; symplasmata a zmnožení fibroplastů mezi svazky buněk známkou reparaace.



Obr. č. 12. Histologický řez játry. Post-nekrotické jizvení. 22. den po začátku nemoci. Hrubé pruhy vaziva s řídkou buněčnou infiltrací uzavírají nepravidelné skupiny jaterních buněk, z nichž mnohé jsou nabitý pigmentem.

a křehčí. Při hemorhagické diathese jsou výrazné krevní výrony různého typu na epikardu i endokardu převážně v levé komoře.

S l e z i n a, ve většině případů nezvětšená a bez pathologických odchylek, jeví ojediněle hyperemický tumor. U protrahovaných případů, které se zcela nezotavují ani po třech měsících, lze nalézt folikulární hyperplasií bílé pulpy.

J á t r a jsou nejnapadněji změněným orgánem. Při parenchymatosní hepatitidě jsou zvětšená nebo i nezvětšená, svou vahou se podstatně neodchylují od normy, jejich barva je červenohnědá s výrazným ikterickým nádechem (žlutým až zelenavým). Při vzniku t. zv. akutní žluté atrofie se objem jater zmenšuje (váha 3—4 kg), pouzdro se vrásní. Játra jsou chabá, hnědožlutě zbarvená. Na řezu je patrné pestré větvení nebo je struktura zcela setřena a tkáň nabývá vzhledu jílu. Jindy vidíme již pouhým okem pojivovou kostru jater, která kolabuje v důsledku ztráty vlastního žláзовého parenchymu. Místy jsou patrné regenerační uzly, lišící se svým svěžím červenohnědým zbarvením od rozpadlé okolní tkáně. Konsistence jater je měkká, místy však nápadně tuhá (vymizel parenchym, zůstalo vazivo). Takto změněná játra barví fixační tekutinu zeleně a po fixaci mají konsistenci gumy. Méně často najdeme játra výrazně zvětšená (8—10 kg), oblých okrajů, hnědozeleně zbarvená, zvýšeného turgoru a velmi tuhé konsistence. Povrch jater je v těchto případech jemně hrbolatý nebo i hladký. Na řezu je patrné zmnožení vaziva a silná imbišice tkáně žlučovým barvivem. Tento náález je obvyklý při déle trvajícím onemocnění, provázeném hemolytickým syndromem.

N a l e d v i n á c h jsou patrné již při pitvě podstatné změny: prosáknutí tkáně, jílově žlutá barva a velmi křehká konsistence charakterisují vzhled ledviny při akutním a letálně končícím průběhu. Tehdy je i na řezu nápadně žlutě zbarvení kory, zvýraznění klubiček a při hemoglobinurii růžové zbarvení moče v pánvičce. Při subakutní hepatodystrofii, která přechází ve fibrosu, nejsou ledviny podstatně změněny.

M o č o v ý m ě c h ý ř není změněn. Jen při hemorhagické diathese je jeho sliznice poseta drobnými i většími krváceninami.

Změny na **z a ž í v a c í m t r a k t u** jsou důsledkem déle trvající atonie. Žaludek je většinou rozšířený, naplněný sušším obsahem, k němuž jeho stěny těsně přiléhají. Jestliže byla podávána při léčbě barevná léčiva, je možno při pitvě konstatovat pravidelné vrstvení, neodpovídající době uplynulé od podání určitého léku. Poukazuje to na porušení žaludeční dynamiky. V pylorické části bývá sliznice žaludku hyperemická. Střeva většinou nejeví podstatných odchylek; se zánětem se setkáváme jen zcela vzácně. Při hemorhagické diathese jsou na sliznici všech úseků střeva petechie, ojediněle v tenkém střevě krev. V jednom případě, kdy onemocnění bylo provázeno hemolytickým syndromem a končilo 16. den letálně (přechod ve floridní fibrosu), pozorovali jsme nápadný oedem sliznice slepého střeva, takže slizniční řasy tvořily huspeninovitou hmotu. Trus je formován do skybal, při perorálním podávání glukosy bývá kašovitý.

C h r u p a v k y a s v a l s t v o bývají při silném ikteru iktericky zbarveny. Při hemorhagické diathese jsou pravidlem rozsáhlé ekchymosy na retroperitoneálním tuku.

M o z e k je často překrvený, jinak však nelze na něm pozorovat makroskopické změny. **M í c h a** také není pathologicky změněna.

V následující stati podrobněji rozebereme histologický náález na orgánech, které jsou nejčastěji změněny. Předně popíšeme změny na játrech, neboť tyto jsou konstantní a může jich být využito pro stanovení diagnózy. Pro přehlednost rozdělíme nálezy na játrech do několika skupin, i když toto schematické rozdělení nevyhovuje zcela, neboť mezi jednotlivými skupinami jsou četné přechody.

1. **Akutní parenchymatosní hepatitis.** Struktura jaterní tkáně není podstatně narušena. Pouze intertrabekulární kapiláry jsou rozšířeny, takže do jisté míry roztlačují jaterní trámce a jsou vyplněny serosní, slabě eosinově se přibarvující substancí a četnými buněčnými elementy, převážně lymfocytárního typu s příměsí plasmatických elementů a ojedinělými polynukleáry. Infiltrát je místy řídký, místy však dochází k jeho nakupení, takže porušuje pravidelný průběh trabekul. Nejvyšší intensity nabývá buněčný infiltrát v portobiliárních prostorech, odkud někdy vyzařuje ještě daleko na obvod acinu. I zde je převážně mononukleární. Na jaterních buňkách nenalézáme kromě ložiskové vakuolizace plasmatu podstatné poškození. Popsané změny se poměrně dobře upravují, jestliže nedošlo ke komplikacím, takže nastává morfologicky dokonalá nebo téměř dokonalá restituce.

2. **Akutní hepatitis, provázená pokročilejšími regresivními změnami.** Jaterní tkáň, jejíž struktura je více či méně porušena, je prohozena řídkým buněčným infiltrátem (převážně lymfo- a plasmocelulárním), jenž je bohatý v periportálních prostorech. V okolí centrální veny dochází k totální nekrose jaterních buněk. Nekrotické okrsky jsou někde přísně omezeny na centrální část acinu, jinde však vyzařují nepravidelně k periferii, nebo zaujímají acinus téměř celý. V nekrotických ložiscích je intersticiální kostra zvýrazněna a dochází k její kolagenizaci. Místy jsou zbytky buněčných těl ve formě tukových kapek. Ložiskově dojde i k záplavě erytrocyty, které jsou natěsnány do rozšířených intertrabekulárních kapilár. Jaterní buňky na přechodu nekrosy v dosud poměrně zchovalou tkáň jsou silně lipoidně degenerovány; buňky na periferii acinu si zachovávají svou stavbu, avšak i ony jeví stopy drobnovakuolární degenerace. Průběh jaterních trámců je silně narušen.

Jestliže nekrosa zůstane omezena na menší části acinů, může dojít k reparaci jednak regenerativními pochody se strany parenchymu, jednak se strany mesenchymu. Popsané změny jsou vždy provázeny vážnějšími symptomy nervovými. Postihne-li nekrosa, i když jen sektorová, většinu jaterní tkáně, dojde k smrti.

3. **Akutní žlutá (červená, šedá) atrofie jater.** Struktura jaterní tkáně je hrubě rozrušena, takže v četných případech lze jen stěží poznat charakteristické rysy jaterní stavby. Jaterní trámce jsou dissociovány, vzájemně roztlačeny a mají nepravidelný průběh. Ze svazu se uvolňují jednotlivé buňky nebo menší skupiny buněk, které jsou obklopeny rozpadlou tkání. Rozpad postihuje převážnou část acinu a mnohdy je difusní, takže rozdělení na jednotlivé aciny lze spíše tušit než skutečně rozeznat, a to podle dosud výrazné buněčné infiltrace v trigonech portobiliárních a ostrovů zchovalých buněk v nejbližším okolí portálních větví. Buněčný infiltrát je difusně rozhozen po celé tkáni a pozůstává většinou z plasmatických elementů a histiocytů. V zonách, kde žlázo parenchym propadl odúmrti, zbývají jen stěny intertrabekulárních kapilár, vazivově zesílené a jen místy podpírané atrofovanými zbytky jaterních trámců, nebo obkružující bezjaderné stíny buněčných těl. Někdy jsou kapiláry silně rozšířeny v důsledku zániku trabekulárního systému a jsou naplněny erytrocyty. Jinde se vyprazdňují a kolabují, takže vzniká obraz t. zv. šedé atrofie. Při déle trvající dystrofii množí se v dystrofických okrscích jemná kolagenní vlákna, tvořící mřížku, v níž jsou uzavřena torza degenerovaných jaterních buněk. Vedle masivního rozpadu setkáme se s dravou snahou po reparaci, vycházející ze zbytků jaterního parenchymu. Regenerační uzly sestávají z buněk, které se dělí mitoticky. Buňky leží svými stěnami těsně u sebe jako u adenomu. Žlučové kapiláry jsou silně injikovány. Skupiny buněk na okraji regenerátů nebo skupiny, izolované jako ostrůvky nekrotickou tkání, atrofují nebo jeví stopy oxyfilní degene-

race. Regenerace se dále projevuje tvorbou četných vícejaderných symplasmat. Na hranici nekros najdeme mnohdy velmi četné pakanálky, složené z objemných buněk se světlým jádrem. Tyto buňky, lišící se od buněk výstelky žlučových, seskupují se tak, že připomínají příčný průřez žlučového. Zdá se, že pakanálky jsou zbytky atrofovaných a svým průběhem zvrhlých jaterních trámčů.

Vývin této těžké hepatodystrofie je za života jedince provázen komatosními nebo naopak delirantními stavy, takže onemocnění končí v krátké době smrti.

4. *Postnekrotická fibrosa*. Histologické změny na játrech u případů, popsaných v druhém odstavci klinické části a v pitevních nálezech jaterních jako subakutní hepatodystrofie, jsou tyto: Jaterní struktura je těžce rozrušena. Jsou zde okrsky, kde takřka úplně vymizel jaterní parenchym, a to úseky uložené centrálně i rozhozené v různých částech acinu. V těchto místech se setkáváme jen s ojedinělými ostrůvky jaterních buněk, většinou již beze stop degenerativních pochodů a s četnými fibroplasty. Dochází zde k proliferaci mladého pojiva, které vytváří četná kolagenní vlákna. Stěny intertrabekulárních kapilár jsou vyztuženy kolagenním vazivem a v okolí centrálních ven se táhnou mnohdy hrubé pruhy vaziva. Pruhy obkružují ostrůvky zbylých buněk, třepí se na jemnější vlákna, tvoří síťovinu a vyznačují k periférii acinu. V četných okrscích spojují se navzájem pruhy vaziva od sousedních centrálních ven. Mnohde není acinosní struktura v důsledku multifokálního zmnožení vaziva vůbec patrna. Pojivo je dosud hodně buněčné. V řezech najdeme hojnost rezavěhnědého pigmentu, většinou fagocytovaného makrofágy a buňkami RES. Na okraji reparujících se nekros mohou být vytvořeny pakanálky, v okolí pak dochází k čilé regeneraci ze strany parenchymu. Buňky regeneračních uzlů jsou malé, těsně k sobě naléhají, tvoří charakteristickou trámčinu. Mají malá, elipsovitá jádra nebo jádra nepravidelná, se sytou chromatinovou kresbou. Lze sledovat přímé zaškrcování jader bez mitotických obrazců. Mnohojaderná symplasmata nejsou ani při tomto způsobu reparace vzácným zjevem. Žlučové kapiláry jsou rozšířeny a vyplněny žlučovými odlitky, v jaterních buňkách zrnka a hrudky zeleného žlučového pigmentu, který mnohé buňky téměř zcela vyplňuje. Jaterní tkáň je difusně prohozena poměrně řídkým buněčným infiltrátem, aniž dochází k jeho výraznějšímu ložiskovému nakupení. Souhrnně dá se označit popsaný nález jako aktivní postnekrotické jizvení (nestabilisovaná fibrosa).

5. *Morfologické změny jater po překonané hepatitidě*. Zhodnocení způsobu a dokonalosti restituce jaterní tkáně po překonané hepatitidě s hlediska morfologického nelze dosud s konečnou platností uzavřít, neboť pozorovací doba je příliš krátká, než aby mohl být sebrán materiál v postačujícím množství.

V histologickém obraze ledvin převládají v případech akutní žluté atrofie jater těžké degenerativní změny ve smyslu lipidní degenerace buněk točitých i přímých kanálků. V luminu sběracích kanálků jsou četné hyalinní a granulované válce i hrudky žlučového barviva. Nedojde-li k těžšímu poškození jater, nejsou ani ledviny výrazně změněny.

Pankreas, který jsme histologicky vyšetřovali v několika případech krátce po smrti, nejevil ve své stavbě odchylek od normy.

Při histologickém vyšetření mozku zjišťujeme v případech těžké jaterní dystrofie reaktivní změny na stěnách cév a někdy známky degenerace některých gangliových buněk. Všeobecně je možno konstatovat silnou náplň cév krví a v různém stupni vyjádřenou adventiciální reakci. Kolem gangliových buněk kory velkého mozku seskupují se ve větší míře satelitní buňky, takže nález odpovídá t. zv. satelitose až neuronofagii. Některé gangliové buňky úplně mizí a jsou nahrazeny shlukem gliových buněk. V gangliových buňkách pontu a pro-

dloužené míchy jsou zjišťovány sudanpositivní látky, které jsou však normálním nálezem i u koní zdravých. Histologický nález na ostatních orgánech odpovídá většinou nálezu makroskopickému.

Poznámky k pathogenese e. h.

Z morfologických nálezů výše uvedených můžeme uzavírat, že poškození jaterní tkáně nastává primárně nějakou hepatotropní noxou a změny na ostatních orgánech jsou následky jaterní nedostatečnosti. Játra jeví různý stupeň poškození od akutní parenchymatosní hepatitidy až po difusní nekrosu. Při subakutní hepatodystrofii dochází k reparativním pochodům ve formě regenerace žlázového parenchymu a postnekrotického jizvení. Nové sekreční jednotky s centrálními venami na periferii jsou často výslednicí těchto pochodů.

Klinické příznaky choroby, zvláště pak syndrom nervový, můžeme snadno zdůvodnit na základě zjištěných morfologických změn, uvědomíme-li si důležitou úlohu jater v přeměně látek. Při těžkém poškození jater nastává autointoxikace organismu produkty výměny látkové, dále intoxikace toxiny ze zažívacího traktu a konečně snad může dojít k hypoglykemii, která je zaviněna sníženou schopností nebo neschopností jater ukládat glykogen. Těžkým poškozením jaterního parenchymu je konečně narušena i zpětná tvorba glykogenu z kyseliny mléčné, vznikající v kosterní svalovině. Následná rigidita svalstva končetin a trismus připomíná pak příznaky tetanové. Je třeba poznamenat, že v případech prudkého klinického průběhu onemocnění zdají se být morfologické změny staršího data, nežli by odpovídalo délce klinického onemocnění.

Rozprava

Literární údaje o jaterní dystrofii koní jsou poměrně časté. Práce se však téměř nikdy nezabývají hlouběji pathologickou histologií a zaznamenávají pouze nálezy akutní hepatodystrofie (akutní žluté atrofie jater). V tomto našem sdělení jsme provedli rozbor histologických nálezů, zjišťovaných při enzootickém ikteru u koní. Stanovili jsme, že žlutá atrofie jater je pouze jedním stadiem jaterních změn, a to stadiem, které je při pitvách zjišťováno nejčastěji. Na rozdíl od prací, citovaných v literárním přehledu, zachytili jsme při histologii jater výrazné zánětlivé změny bez podstatných regresivních pochodů. Z toho soudíme, že zánětlivé změny jater jsou primární (proto *hepatitis*), regresivní pochody sekundární.

S hlediska anatomického nejedná se v případech enzootického ikteru koní o encefalitidu, jak uvádějí Z e n d u l k a - Č e r n ý a N o v ý. Možnost nahodilé současné infekce virem encefalomyelitidy koní však nelze v popisovaném případě vyloučit. Jiné práce našich autorů [D o m a n s k ý, Š o b r a (10)] popisují pouze zjišťované případy a srovnávají je s jinými, klinicky podobnými chorobami a autoři v nich nezaujímají určité stanovisko v otázce jaterní dystrofie koní. Nejnověji publikují R o s s i a K o l o c h i n e - E r b e r o v á, 1956 (11) práci o leptospirose koní a uvádějí klinické symptomy, jimiž se onemocnění v mnohém podobá hepatidě, námi popisované. V práci však chybí pitevní nálezy uhynulých koní, takže popisované případy nemůžeme srovnat s našimi.

Je třeba zdůraznit, že podrobné postmortální vyšetření je nutné pro diferenciální diagnostiku, neboť mnohé procesy, po stránce morfologické rozdílné, probíhají za podobných, klinicky těžko rozlišitelných příznaků. V klinické

diagnostice orgánových změn je v těchto případech téměř nepostradatelné biochemické, případně biotické vyšetření.

Naše sdělení podává morfologickou charakteristiku enzootického ikteru koní, označuje toto onemocnění jako hepatitidu a podává nástin pathogenesy onemocnění. Stanovení morfologického obrazu choroby je přínosem pro vysvětlení klinických symptomů a má význam pro zavedení vhodné léčby.

Z á v ě r

V práci je podána klinická a zejména morfologická charakteristika enzootického ikteru (hepatitidy koní). Popsané onemocnění nelze s hlediska morfologického zařadit do skupiny encefalomyelitid. Poškození jaterní tkáně je konstantní a primární. Žlutá atrofie je jedním ze stadií jaterních změn, neboť lze sledovat přechod od zánětu přes různé stupně nekrosy až po postnekrotické jizvení. K výrazné fibrose, ještě však nestabilisované, dochází poměrně brzy, po 16 a 22 dnech klinického průběhu.

Klinické symptomy se strany CNS jsou sekundární a jsou způsobeny funkční insuficiencí jater.

Literatura

1. Bernhardt: Akute gelbe Leberathrophie des Pferdes. (Tierärztl. Rdsch, 1928, č. 18.) — 2. Bernhardt: Zeitschr. f. Inf. Krank., parasit. Krank. u. Hyg., 1929, sv. 33. — 3. Blažek K.: Veterinářství, 1955, č. 9. — 4. Blažek K.: Sborník ČSAZV, Veter. medicina. 1956, č. 3. — 5. Blažek K. - Zícha B.: K biochemickému obrazu enzootické hepatitidy koní. (Přípraveno k publikaci.) — 6. Kucel J.: Jugoslovenski veterinarski glasnik, 1939, č. 12. — 7. Robin V.: Rec. de Méd. Vét., 1945, sv. CXXI, č. 2. — 8. Thiéry J. P. - Salomon L.: Bul. de Acad. Vét. de France, 1944, sv. XVII. — 9. Veterinářství, 1956, č. 1. — 10. Veterinářství, 1955, č. 12. — 11. Rec. de Méd. Vét., 1956, sv. CXXXII, č. 1. — 12. Vetërinarija, 1947, č. 5.

Клиника и патологическая морфология энзоотического гепатита лошадей

В работе приводится клиническая и главным образом морфологическая характеристика энзоотической желтухи (гепатит лошадей). Описанное заболевание с морфологической точки зрения нельзя отнести к группе энцефаломиелитных заболеваний. Повреждение печеночной ткани является постоянным и первичным. Желтая атрофия печени является одной из стадий изменения печени, т. к. нельзя проследить переход от воспаления через различные ступени некроза до постнекротического язвообразования. Однако выраженный фиброз, еще не вполне стабилизированный, наступает сравнительно скоро, после 16—22 дней клинического процесса.

Клинические симптомы со стороны центральной нервной системы являются вторичными и вызваны недостаточной деятельностью печени.

Clinical Picture and Pathological Morphology of Equine Enzootic Hepatitis

This article presents the clinical and especially the morphological characters of enzootic icterus (equine hepatitis). From the morphological standpoint the disease described cannot be included within the group of encephalomyelitides. Damage to

liver tissues is constant and primary. Yellow liver atrophy is one of the stages of liver changes, for one may follow their progression from inflammation through various degrees of necrosis to postnecrotic scarring. Marked fibrosis occurs relatively early, though unstabilized, 16 to 22 days after clinical manifestation.

The clinical symptoms of the CNS are secondary and are caused by functional liver insufficiency.

Klinik und pathologische Morphologie der enzootischen Hepatitis der Pferde

Die Arbeit enthält die klinische und besonders die morphologische Charakteristik des enzootischen Ikterus (Pferdehepatitis). Die geschilderte Krankheit kann vom morphologischen Standpunkt nicht in die Gruppe der Enzephalomyelitiden eingereiht werden. Die Beschädigung des Lebergewebes ist konstant und primär. Die gelbe Leberatrophie ist nur eines der Stadien der Leberveränderungen, denn es kann der Übergang von der Entzündung über die verschiedenen Nekrosengrade bis zur postnecrotischen Narbenbildung verfolgt werden. Eine prägnante, jedoch bisweilen nicht stabilisierte Fibrose entsteht verhältnismäßig bald, u. zw. nach 16 bis 22 Tagen des klinischen Verlaufes.

Die klinischen Symptome seitens des zentralen Nervensystems sind sekundär und werden durch die funktionelle Leberinsuffizienz verursacht.

Příspěvek k biochemickému obrazu experimentální infekce Weilovy choroby u psů

I. sdělení

Сообщение о биохимической картине экспериментальной инфекции болезни
Вейля у собак

Contribution Toward the Biochemical Picture of Experimental Infection of Weil's
Disease in Dogs

Ein Beitrag zum biochemischen Bild einer experimentellen Infektion der Weil'schen
Krankheit bei Hunden

MVDr LEHKÝ F., MVDr ZÍCHA B., Praha

Došlo dne 23. VI. 1956

Úvod

Leptospirozy psů jako mnohé antropozoonozy představují nebezpečná onemocnění, která podle klinického průběhu a původce můžeme dělit na anikterické a ikterické. Leptospirozy anikterické jsou působeny *L. canicoulou* a známy pod názvem psí tyfus či Stuttgartská nemoc psů, doprovázené klinickým obrazem poškození hlavně ledvin. Druhá skupina leptospiros psů je vyvolána *L. icterohaemorrhagiae*, která — i když se vyskytuje u psů vzácněji — u nich jako u člověka vyvolává těžké onemocnění provázené ikterem, zvaná *Weilova choroba*, končící hlavně u mladých psů smrtelně.

Poněvadž u obou těchto chorob dochází během onemocnění k vylučování leptospir močí či jinými exkrety nebo sekrety, může se pes stát na dlouhou dobu vylučovatelem živých virulentních leptospir. Je zde proto nebezpečí infekce pro nejbližší okolí jednak pro lidi (ošetřovatele, majitele a příslušníky jejich rodin) a jednak pro jiná zvířata.

Práce mnoha autorů ukázaly, že leptospirozy jsou rozšířené mezi psy služebními, hlídacími i luxusními. Tak Pokorný a Hruška (15) vyšetřili v roce 1951—53 1222 psů z různých míst ČSR. Serologicky vyšetřili z nich 1211, z kteréhožto počtu vykazovalo 22,5 % pozitivní titr s kmeny leptospir (*L. canicola* 16 %, *L. icterohaemorr.* 4,2 % a *L. grippotyphosa* 2,3 %).

Zureck (24) uvádí, že vyšetřil serologicky v roce 1950—51 2743 krevních vzorků psů, z nichž 37,9 % bylo pozitivních a v roce 1951—52 1444 krevních vzorků psů, z nichž vykazovalo pozitivní titr 22,1 %.

Freudiger (6) ve své práci o leptospirosách pařížských psů sděluje, že v době od května do července 1953 bylo na polyklinice interní kliniky veterinární školy v Alfortu vyšetřeno 1205 psů, z nichž 27 bylo jako podezřelých vyšetřeno též serologicky aglutinací-lysí a pozitivní titr vykazovalo 12 psů, což odpovídá asi 1 % předvedených psů.

D y m o w s k a, K o z t o w s k a, V l o d e k (5) zjistili pozitivní reakci na leptospiry u 55 % vyšetřovaných varšavských psů.

Přesto, že v poslední době je věnována leptospirosám velká pozornost lékaři, veterináři i zoology, jako nebezpečným antropozoonosám, nemůžeme ještě říci, že jejich studium bylo zakončeno, že znalosti o jejich klinice byly zvládnuty všemi praktiky humánními či veterinárními a že zvláště jejich diagnostika byla standardisována.

Většina odborných pracovišť v ČSR opírá se při diagnostice o serologickou reakci aglutinace-lyse, ačkoliv i u nás někteří autoři používají reakce vazby komplementu u leptospiros lidí [J í r o v e c, Š t o l c o v á (12)].

D y m o w s k a et al. (5) prováděli vyšetření u domácích zvířat na leptospirosu oběma uvedenými metodami.

F ü h n e r (8) uvádí, že reakce vazby komplementu u leptospiros je po technické stránce provedení nejpoužitelnější. Aglutinace-lyse používá autor jenom jako kontrolu a k přesnému rozlišení kmenů, vykazují-li dva antigeny stejný titr či při průkazu protilátek u dávno překonaných leptospiros, neboť aglutinující protilátky se udržují v krvi déle než látky komplement-fixační.

Otázka diagnostiky leptospiros byla ve dnech 2.—4. listopadu 1955 předmětem jednání sjezdu L'Organisation Mondiale de la Santé v Amsterdamě. Sjezd nedoporučuje zatím používat pro obtíže přípravy standardního antigenu komplement-fixační reakci pro běžnou diagnostiku (26).

Práce většiny zahraničních autorů se opírají o metodu aglutinace-lyse, i když někteří autoři ukázali na četné rozdílné výsledky při použití různých kmenů leptospir.

W a g e n e r (21) udává na příklad při vyšetření 22 pozitivních ser aglutinací-lysí *L. canicoulou* kmenem Z ü r i c h a kmenem U t r e c h t podstatné rozdíly, při čemž některá sera reagovala s kmenem Z ü r i c h 1 : 1000 až 1 : 6000 a s kmenem U t r e c h t byla negativní.

S c h u l z e (19) se snažil urychlit včasnou diagnosu leptospiros u psů. Svou metodu založil na přímém průkazu leptospir v krvi vyšetřovaných zvířat. Výsledky, kterých dosáhl — stejně jako i někteří jeho předchůdci — vyplývají patrně z omylů, kterých se dopustil při mikroskopickém vyšetření [S c h o e n h e r r (18)].

Opomeneme-li i rozdílné výsledky, kterých je často dosaženo při vyšetřování téhož materiálu více pracovišti, pozastavovali se někteří autoři nad vysokým procentem pozitivních výsledků při hromadném vyšetření některých zvířat, a to zvláště koní. Tak na př. Z w i e r z, D u r l a k o w a a S o b o l e w s k a (25) zjistili 87,8 % vyšetřených koní s pozitivními titry, při čemž vyslovili domněnku, že nespecifické reakce ovlivnily výši titru koňského sera.

V poslední době S c h e b i t z a D e d i é (17) prokázali, že různými nespecifickými zásahy jako operací, diagnostickou injekcí nebo nespecifickými onemocněními (záněty kloubů a pod.) lze ovlivnit výši titru protilátek proti leptospirosám u koní.

Domníváme se proto, že otázka specifičnosti stávajících serologických metod průkazu leptospiros by měla být předmětem dalšího studia.

Většina prací o leptospirosách řeší otázku tohoto onemocnění s hlediska klinického či serologického. Poměrně málo údajů najdeme v literatuře o biochemii pathologicko-fysiologických procesů při leptospirosách. Proto jsme se v této práci zaměřili na sledování humorálních změn serových bílkovin u Weilovy choroby psů za současného srovnání s klinickým obrazem nemoci a výsledky serologického vyšetření.

Biochemické vyšetření leptospirosních případů u lidí a zvířat nemá početnějších literárních záznamů. Tak uvádí L i b o w i t z (13) pozitivní kefalín-

cholesterolový test a změnu A/G. Heringman (10) zjistil pozitivní kefalín-cholesterolový test a pozitivní zkoušku s galaktosou a kyselinou hippurovou. V některých pozorovaných případech byly serové bílkoviny a thymolový test normální, ale byla zvýšena alkalická fosfatasa. Cailey (4) popisuje případ Weilovy choroby a funkční zkoušky jater. Ačkoliv ikterus je obvyklým obrazem této choroby, není mnoho záznamů o jaterních testech. Autor proto popisuje případ infekčního ikteru s hlediska biochemických změn a doufá, že tím stimuluje lékaře, aby věnovali větší pozornost této chorobě po stránce biochemie pathologicko-fysiologických procesů při leptospirosách. Jím sledovaný případ vykázal následující změny:

Den	Titř	Alkalická fosfatasa	Thymol	Takata-Ara	Bilirubin v moči
20. 4.	1 : 1000	10,7	1,5	neg.	pos.
29. 4.	1 : 10000	16,4	1,0	neg.	pos.
5. 5.	1 : 3000	12,8	1,0	neg.	pos.

Jak poznamenává Gsell (9) je sedimentace u leptospirosních infekcí zvýšena a dosahuje v prvních dnech infekce značných hodnot. Po poklesu horečky během prvního a druhého týdne se vrací obvykle k normálu, nenastanou-li komplikace.

Serová bílkovina je podstatně snížena jenom u těžkých, především ikterických případů. Herlich (11) zjistil elektroforetickou analysou snížení albuminu třetí den po infekci — pokles normální hodnoty z 59 % na 40 %. Současně zaznamenal zvýšení alfa- a beta-globulinu desátý den po infekci.

Sposity a Nava (20) sledovali hodnoty bílkovin u těžkého, ikterického a uremického případu. Jejich výsledky jsou uvedeny v tabulce.

	7. den	15. den	33. den
Celková bílkovina	5,8	5,64	6,57
Albumin	2,2	1,79	2,85
Globulin	3,6	3,92	3,72
Alfa-globulin	1,12	1,1	1,86
Beta-globulin	1,31	1,2	1,09
Gama-globulin	1,17	1,62	1,57
Bilirubin	22,2	15,5	3,1

Wuhrmanna a Wunderly (22) se zmiňují o zkrácené Weltmannově reakci, pozitivní Takatově reakci a velmi výrazné reakci se síranem kademnatým.

O metabolismu leptospir nejsme blíže informováni. Rosenfeld a Meridian (16) zjistili ve své práci, že serum obsahuje nebílkovinný růstový faktor, který není identický s kyselinou nikotinovou, jejím amidem, riboflavinem, Vitaminem B₁ a C. Tento růstový faktor je thermolabilní a nepodařilo se jej nahraditi.

Chang (3) se domnívá, že leptospiry žijí z bílkovin a aminokyselin.

Z klinického hlediska lze rozdělit leptospirosní infekci na formu ikterickou a anikterickou. Ikterus se objevuje 3.—5. den po infekci, někdy až v druhém týdnu. Může dosáhnouti značných hodnot 20 až 30 mg %. Játra jsou s počátku lehce zvětšena a citlivá na dotek. Funkční zkoušky poukazují na difusní po-

škození jaterního parenchymu a nejsou přirozeně specifické. Vzdor těžkému iktu a předpokládané poruše jater končí celá řada infekcí bez následků. I u letálního průběhu nejsou většinou poruchy jaterního parenchymu tak výrazné a nejsou vlastní příčinou smrti.

Materiál a metodika

V práci jsme sledovali některé biochemické reakce v seru psů, infikovaných *L. icterohaemorrhagiae* - kmen Nový Dvůr.*)

K pokusům bylo použito 22 psů různého stáří. Zvířata nejevila před experimentální infekcí známek klinického onemocnění. Serologické vyšetření jejich ser (aglutinací-lysí) na leptospiry bylo negativní.

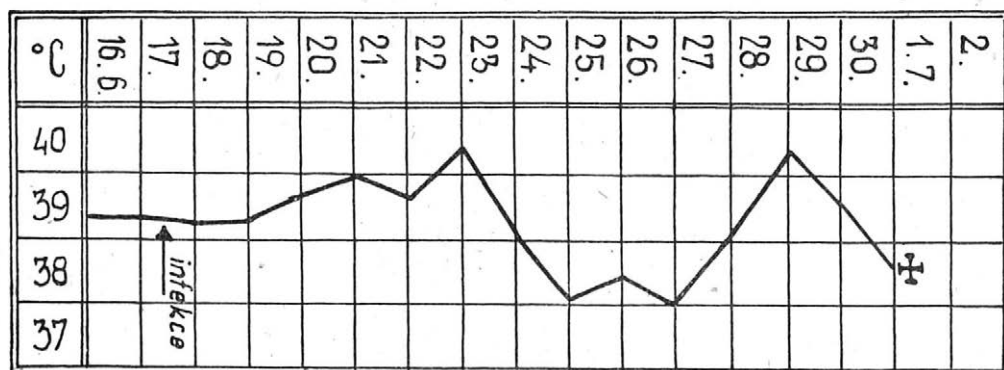
Pathogenní kmen *L. icterohaemorrhagiae* byl udržován na morčatech a křečcích. Psi byli infikováni emulsi jater a ledvin z uhynulých morčat či křečků jednorázovou dávkou intraperitoneálně (emulze orgánů ve fyziologickém roztoku v poměru 1 : 9). Během pokusu byl sledován klinický obraz zvířat a serologicky zjišťován titr protilátek aglutinací-lysí.

Diskoloidita serových bílkovin byla sledována koagulační reakcí Weltmanovou a zákalovou reakcí se síranem kademnatým, jichž bylo ve veterinární medicíně s úspěchem použito pro klinickou potřebu Freudigerem (7).

Tabulka 1.

Číslo	Dat.	Albu- min	Alfa	Beta	Gama	Wltm.	Cd	Bil.	Brdič.	Tepl.	Titr	Den
246	17. 6.	43,1	20,6	24,2	12,2	7	6	neg.	32	39,4	neg.	1
248	20. 6.	43,5	24,6	21,5	9,8	8	6	neg.	35	39,9	neg.	4
253	22. 6.	41,3	28,6	23,6	9,6	6	5	pos.	35	40,2	neg.	6
263	25. 6.	38,6	27,4	22,6	11,7	6	6	3,8	35	38,2	1 : 100	9
266	26. 6.	42,0	27,4	20,5	10,1	7	6	4,2	35	38,2	1 : 100	10
257	27. 6.	34,0	27,0	23,0	12,9	—	6	4,5	37	38,8	1 : 100	11
265	28. 6.	32,6	28,8	25,2	13,9	6	6	3,6	31	40,2	1 : 100	12
262	29. 6.	33,2	28,0	25,5	13,4	—	6	2,4	37	39,6	1 : 100	13

Wltm — Weltmannova reakce, Cd — kadmium sulfátová reakce, jako pozitivní je považován zákal na 4 kapky, Bil — bilirubin v mg %, Brdič — polarografická reakce podle Brdičky v mm.



*) Patogenní kmen *L. icterohaemorrhagiae* - Nový Dvůr laskavě poskytl prof. Dr. V. Jelínek z Veterinární fakulty VŠZ v Brně.

Weltmannova reakce u normálních psů má hodnotu 8–9, t. j. 0,175–0,14 prom. CaCl_2 , kadmiová reakce je negativní.

Hodnoty mukoproteinu byly sledovány polarografickou filtrátovou reakcí podle Brdický, jak ji uvádí Březina a Zuman (2). (Citlivost reduktoru 1 : 300, výška reservoáru rtuti 100 cm.)

Bílkovinná spektra byla sledována elektroforetickou metodou na filtračním papíře. Bylo pracováno ve vlhké komoře s horizontálně upnutými papírovými proužky. Použitý papír Whatman č. 1, veronal-acetátový ústoj pH 8,6, iontová síla 0,06, svorkové napětí 250 V, doba dělení 6 hodin. Detekce bílkoviny byla provedena bromfenolovou modří, spektrum bylo převedeno na žlutou barvu kyselinou citronovou, jak uvádí Oppelt (14). Bílkovinná spektra byla vyhodnocena pomocí fotonky s maximální citlivostí na modré světlo. Grafický záznam byl proveden registračním miliampermetrem a relativní procento jednotlivých frakcí bylo stanoveno vázkovou integrací (27).

Část pokusná

U psů starších 6 měsíců se nepodařilo experimentální infekcí vyvolat klinické onemocnění. Titr protilátek vykazoval pouze nepatrné zvýšení. Experimentální infekce se zdařila pouze na psech mladších 6 měsíců. Někteří psi i pod tuto věkovou hranici na infekci serologicky ani klinicky nereagovali a byli proto z pokusu vyřazeni (celkem 6 psů, t. j. 27 %).

Podle klinických příznaků nemoci a výsledků serologického vyšetření rozdělili jsme pokusná zvířata do tří skupin:

1. Akutní forma ikterická končící letálně v septikemické fázi.
2. Forma ikterická s fází septikemickou, kterou zvíře přežívá a s následnou fází orgánového poškození.
3. Forma anikterická benigní.

Akutní forma ikterická končící letálně v septikemické fázi

Touto formou onemocnělo 5 psů, t. j. 22,5 %. Vybrali jsme pokusného psa č. 366 (tmavý, černožlutý, německý ovčák, 4 měsíce starý). Titr protilátek před pokusem negativní. Infikován 17. 6. 2 ml suspence z morčete 314 K (3) — ND. Biochemický nález v seru krevním je uveden na tabulce č. 1.

Jak je patrné z přiložené tabulky, má teplotní křivka dvoufázový průběh a sice 6. a 12. den po experimentální infekci vykazuje maxima. Serologický titr během celého pokusu vykazuje toliko nepatrné zvýšení 1 : 100. Hodnoty mukoproteinu nejsou podstatně změněny. 6. den po infekci se zvyšuje bilirubin v seru a dosahuje maxima 11. den (4,4 mg %).

Weltmannova reakce se střídavě posunuje mírně doleva — zkrácený pás až na 6 zkumavku. Kadmiová reakce je během celého pokusu negativní. Bílkovinná spektra a jejich grafický záznam jsou uvedeny na obrázku č. 1 a 2. Ve spektru je pozorovatelný pokles albuminu z původní hodnoty 43,1 % na 33,2 %, asi o 25 % původní hodnoty.

Hodnoty alfa-globulinu se zvyšují paralelně se snížením albuminu. V hodnotách beta a gama globulinů není signifikantních změn. Pes uhynul 13. den po infekci. Pitvou bylo zjištěno: Kůže a viditelné sliznice ikterické, podkoží ikterické s drobnými haemorrhagiemi, na plicích haemorrhagické infarkty, játra zduřelá, křehké konsistence, na peritoneu drobné krváceniny, haemorrhagický zánět žaludku a střev. V játrech a ledvinách zjištěny mikroskopicky v zástínu leptospiry.

Jednalo se tedy o akutní septikemickou formu leptospirosní infekce. Změny v bílkovinném spektru potvrzují tento akutní stav. Biochemickým vyšetřením nebyl zjištěn obraz poškození jater. Souhlasně s Gsellem (9) nelze považovati poruchu jater v akutním stadiu za příčinu exitu. Průběh infekce byl

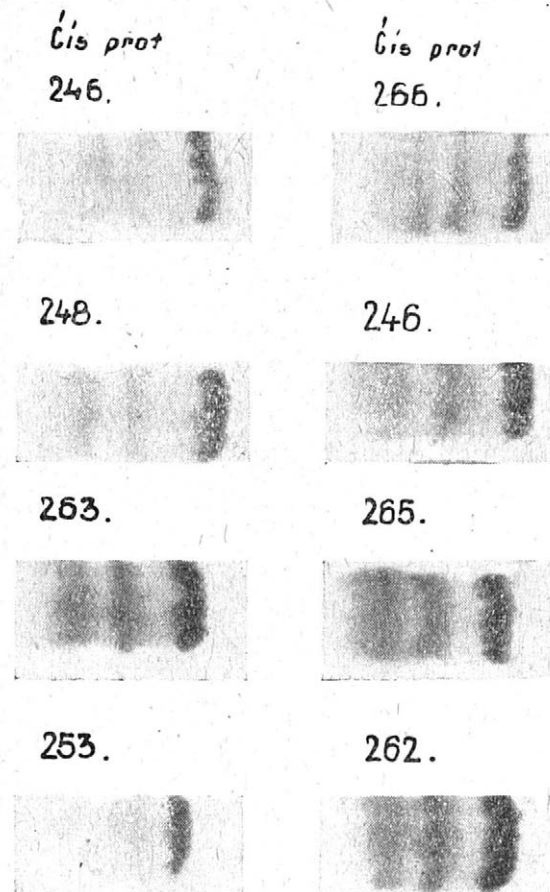
příliš rychlý, než aby jej organismus dovedl překonat tvorbou protilátek, jak ukazují nízké hodnoty agglutinační.

Stupeň onemocnění včetně prognosy nelze tudíž v tomto případě podle biochemického nálezu odhadnouti.

Forma ikterická s fází septikemickou

kteřou zvíře přežívá a s následnou fází orgánového poškození.

Touto formou onemocněli z 22 infikovaných psů 3 psi (13,6 %). Příkladem je pokusný pes č. 313, světlý, šedožlutý německý ovčák, 4 měs. starý. Byl infikován 27. 5. 1955 1,5 ml emulze z uhynulého morčete čís. 310-K-W ND. Také u tohoto případu byl zaznamenán dvoufázový průběh teplotní křivky s maximem 4. a 11. dne po infekci (40,6° C a 40,4° C). Serologický titr se významně zvyšuje od 11. dne a dosahuje maxima titru 1:12.800 39. den po infekci. Na této hodnotě zůstává až do 59. dne a potom se pomalu snižuje.



Obr. 1. Bílkovinná spektra pokusného psa čís. 366. Akutní forma ikterická končící letálně v septikemické fázi.

Рис. 1. Спектр белков подопытной собаки № 366. В результате острой желтушной формы собака погибает в септицемической фазе. Illus. 1 — Protein spectrum of experimental dog no. 366. Acute icteric form ending lethally in the septicemic phase.

Abb. 1. Eiweißspektren des Versuchshundes Nr. 366. Akute ikterische Form, die in der septikämischen Phase letal endigte.

Výsledek biochemického vyšetření je uveden v tabulce čís. 2. Jak je z tabulky zřejmo, objevuje se ikterus 6. den po infekci a trval 24 dní. Dosahuje maximální hodnoty 11. dne, a to 9,7 mg %. Weltmannova koagulační reakce se zkracuje až na 5. zkumavku. Zákalová reakce kadmiová je již 9. den po infekci pozitivní.

Bílkovinná spektra a grafický záznam jsou uvedeny na obrázku čís. 3 a 4. Již 6. den po infekci klesá silně albumin a zvyšují se podstatně alfa globuliny a gama globuliny. 20. až 25. den po infekci se obraz bílkovinného spektra vrací k normálnějším hodnotám. Hodnoty albuminu stoupají. Gama globuliny zůstávají trvale zvýšené.

V pozdějším stadiu pokusu se klinický stav zvířete horší. Poslední odběr krve *ante finem* vykazuje snížení albuminu na 29,4 z původních 57,7 % a silné zvýšení gama globulinů. Weltmannova reakce je posunuta vpravo a kadmiová reakce je zřetelně pozitivní. Humorální obraz poukazuje na difusní poškození jaterního parenchymu. Pitvou bylo zjištěno: výživný stav zvířete velmi špatný, sliznice špinavě zarudlé, plíce několik emfysematických ložisek, játra jeví známky degenerativních změn, ledviny zvětšené, četné krváceniny v koře a dřeni. Histologický nález jater: ja-

Obr. 2. Grafický záznam
bílkovinného spektra po-
kusného psa čís. 366.

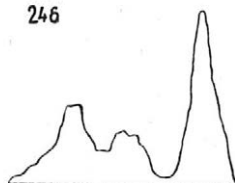
Рис. 2. Графическое изо-
бражение спектра бел-
ков подопытной собаки
№ 366

Illus. 2 — Graphic pre-
sentation of protein
spectrum of dog no. 366.

Abb. 2. Graphische Dar-
stellung des Eiweiß-
spektrums des Ver-
suchshundes Nr. 366.

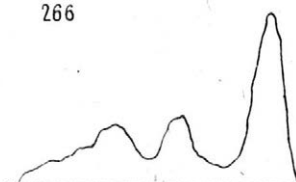
Čís. prot.

246

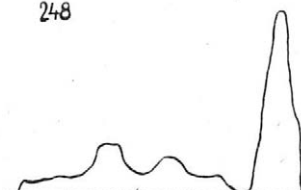


Čís. prot.

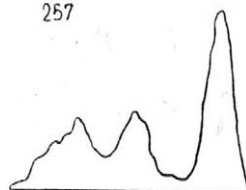
266



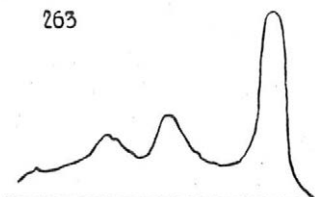
248



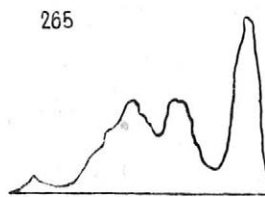
257



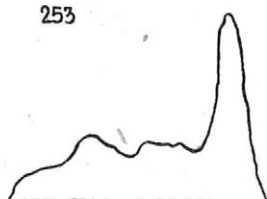
263



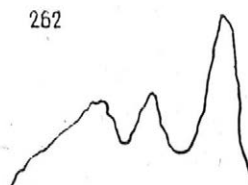
265



253



262



terní buňky vakuolisované, trámčina není vyznačena, plasma se nebarví. Histo-
logický obraz připomíná glykogenolosu.

Hodnoty biochemického vyšetření zaznamenaly sice v prvních dnech in-
fekce akutně zánětlivý stav, nebylo však možno plynule jimi sledovat přechod

Číslo	Dat.	Albumin	Alfa	Beta	Gama	Wltm.	Cd	Bil.	Tepl.	Tit.	Den
217	27. 5.	57,7	21,0	17,1	3,9	8	neg.	neg.	39,4	neg.	1
232	1. 6.	27,4	33,5	26,0	12,9	5	neg.	pos.	39,2	neg.	6
234	4. 6.	31,8	31,7	18,3	18,3	6	pos.	4,4	38,5	1 : 100	9
223	6. 6.	36,2	27,1	24,0	12,7	6	pos.	9,7	40,2	1 : 400	11
237	15. 6.	42,3	21,4	20,0	16,4	7	neg.	6,2	39,2	1 : 1600	20
250	20. 6.	43,2	18,4	12,1	14,0	8	neg.	4,3	39,0	1 : 3200	25
259	27. 6.	36,8	24,9	21,5	17,2	6	pos.	0,5	39,0	1 : 6400	32
268	4. 7.	37,5	23,7	38,9		6	neg.	neg.	39,1	1 : 12800	39
386	25. 7.	35,8	34,0	25,6	14,6	6	neg.	neg.	38,8	1 : 12800	59
292	1. 8.	45,5	19,4	35,2		7	pos.	neg.	38,6	1 : 6400	66
300	8. 8.	39,0	23,3	22,6	15,1	5	pos.	neg.	39,8	1 : 6400	73
305	16. 8.	38,0	21,6	24,4	15,8	5	neg.	neg.	40,2	1 : 1600	81
323	15. 9.	29,4	23,6	22,7	24,9	9	pos.	neg.	36,7	1 : 400	111

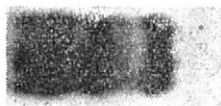
septikemické formy ve fázi orgánového poškození. Souhlasně s přechodným zlepšením klinického stavu (20.—25. den) lze postihnouti v biochemickém nálezu střídavý zvrat k normálnějším hodnotám.

Teprve poslední vyšetření krevního sera poukazuje na orgánovou poruchu jater a podle biochemického nálezu lze potvrditi nepříznivou prognosu uvedeného případu.

Čís. prot.
217.



232.



234.



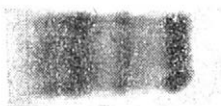
223.



Čís. prot.
237.



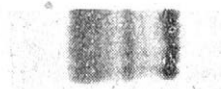
259



300.



323.



Forma anikterická benign

Touto formou onemocnělo 8 psů, t. j. 36 % pokusných psů. Příkladem je pokusný pes č. 315, černohnědý, německý ovčák, stáří 6 měsíců. Infikován 22. 2. 1955-4 ml emulze jater a ledvin uhynulého křečka čís. 205 K-F-ND.

U pokusného psa nebyly výrazné klinické změny. Teplotní křivka má dvoufázový průběh s maximem 5. a 9. dne po infekci 41,2° C a 41,0° C). Titr protilátek v krvi se zvyšuje 16. dne na 1:1000. 25. dne stoupá na 1:3200 a dosahuje maxima 43. dne 1:6400. Během celého pozorovaného období nebyl zjištěn bilirubin v seru. Biochemické vyšetření případu je uvedeno v tabulce č. 3.

Weltmannova koagulační reakce vykazuje zřetelné snížení z hodnoty 9 na 6. Kadmiová reakce byla negativní. Klinické změny nebyly pozorovány. Bílkovinná spektra jsou uvedena na obrázku č. 5 a 6.

Serové albuminy u tohoto případu klesají z hodnoty 43,0 % na 29,9 % prakticky paralelně se zvýšením alfa a gama globulinů. V pozdějším stadiu se hodnoty albuminu zvýšily. Přehledněji jsou grafické záznamy zpracovány na

Obr. 3. Bílkovinná spektra pokusného psa čís. 313. Forma ikterická s fází septikemickou, vykazující orgánové poškození.

Рис. 3. Спектр белков подопытной собаки № 313. Желтушная форма с септицемической фазой, обнаруживающая повреждение органов

Illus. 3 — Protein spectrum of experimental dog no. 313. Icteric form in septicemic phase, showing damage to organs of the body.

Abb. 3. Eiweißspektren des Versuchshundes Nr. 313. Ikterische Form mit einer septikämischen Phase, die eine Organbeschädigung aufweist.

Teplotní křivka psa čís. 313.

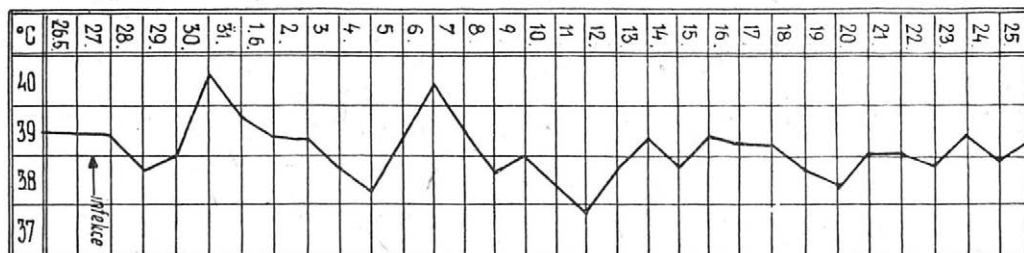
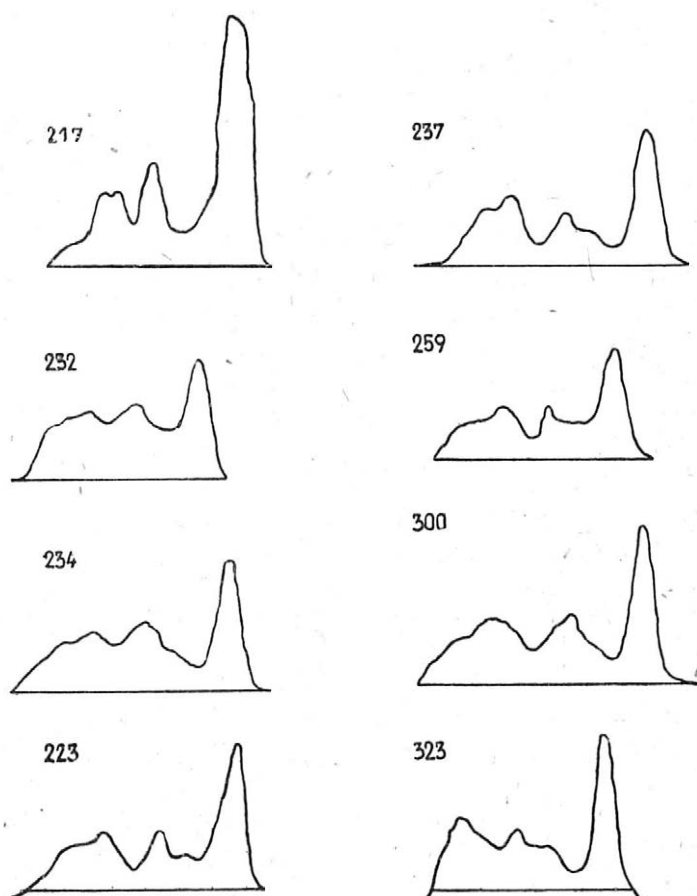


Рис. 4. Графическое изо-
бражение спектра бел-
ков подопытной собаки
№ 313

Illus. 4 — Graphic pre-
sentation of protein
spectrum of dog no. 313.

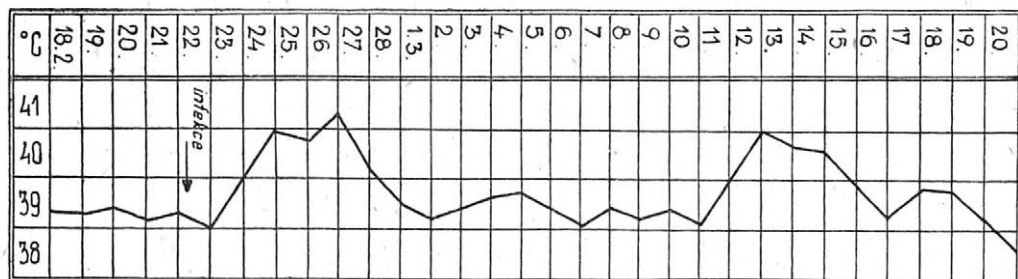
Abb. 4. Graphische Dar-
stellung des Eiweiß-
spektrums des Ver-
suchshundes Nr. 313.



obrázku č. 7. Z tohoto obrázku lze sledovat intensitu zvýšení alfa globulinů. Elevace gama globulinů je signifikantní a odpovídá elevaci titru protilátek až na odběr čís. 201.

Podle humorálního obrazu probíhá tedy i tato anikterická forma infekce jako akutní zánětlivý stav, charakterisovaný snížením albuminu a zvýšením alfa globulinu. Pes byl později utracen a histologické vyšetření jater nevykázalo podstatné změny. Rovněž tato slezina a mozek byly bez hrubších změn. U led-

Číslo	Dat.	Albumin	Alfa	Beta	Gama	Wltm.	Cd	Bil.	Tepl.	Titř	Den
78	23. 2.	43,0	25,8	25,0	8,2	9	neg.	neg.	40,0	neg.	1
84	25. 2.	47,7	26,9	16,9	8,3	9	neg.	neg.	41,0	neg.	3
108	12. 3.	45,0	25,4	19,9	9,9	6	neg.	neg.	41,0	1 : 1000	19
117	18. 3.	37,0	30,0	21,8	11,2	6	neg.	neg.	39,8	1 : 3200	25
123	21. 3.	39,2	22,8	22,0	15,9	8	neg.	neg.	41,0	1 : 3200	29
146	4. 4.	33,0	22,9	25,2	18,9	6	—	neg.	38,6	1 : 6400	43
159	15. 4.	31,6	27,2	26,8	14,2	6	neg.	neg.	39,2	1 : 3200	54
201	19. 5.	29,5	26,4	20,0	23,9	4	neg.	neg.	39,6	1 : 1600	88
225	6. 6.	37,9	24,9	18,5	18,8	6	pos.	neg.	39,0	1 : 800	105
239	30. 6.	41,6	22,3	22,0	14,0	7	neg.	neg.	38,8	1 : 800	130



viny bylo zjištěno v četných glomerulech dosti značné množství jader, kterýžto nález spadá patrně do rámce akutní difusní glomerulomefritidy.

Biochemickým vyšetřením byla tehdy zjištěna toliko nevýrazná snížení hodnoty albuminů a nepatrná zvýšení alfa globulinů během nástupu infekce. Nelze podle biochemického nálezu objektivně posoudit stupeň akutního průběhu experimentální infekce, která v tomto případě byla podle klinického nálezu málo výrazná.

Hodnoty gama globulinů se zvyšovaly a klesaly paralelně s titrem protilátek v krvi.

Upravující se hodnoty albuminu a gama globulinů v průběhu pokusu nepoukazovaly na případné orgánové poškození a potvrzují při této formě leptospirosy dobrou prognosu stanovenou klinickým vyšetřením.

Rozprava

V práci jsme sledovali humorální změny v serových bílkovinách psů pokusně infikovaných *L. icterohaemorrhagiae*. Řešili jsme tak nepatrnou část komplexního úkolu, jako je pathofysiologie leptospiros. Leptospirosní infekce mají úzký primární vztah k játrům a jsou v humánní medicíně spolu s virovou hepatidou považovány za specifické iktery. Zaměřili jsme proto biochemická vyšetření především na poškození jater. Z technických důvodů jsme neprováděli vyšetření funkční činnosti ledvin. V biochemickém obrazu hepatorenální poruchy, jak uvádí W u h r m a n n (22), převažuje kromě toho složka hepatická a zastírá složky renální.

Souhlasně s literaturou se nepodařilo experimentální infekcí vyvolat onemocnění u psů starších 6 měsíců. Srovnáme-li bílkovinná spektra štěňat a dospělých psů, je nejzřetelnější rozdíl v procentuálním rozsahu gama globulinů. V naší pokusné řadě onemocněli psi pod 12 % gama globulinů.

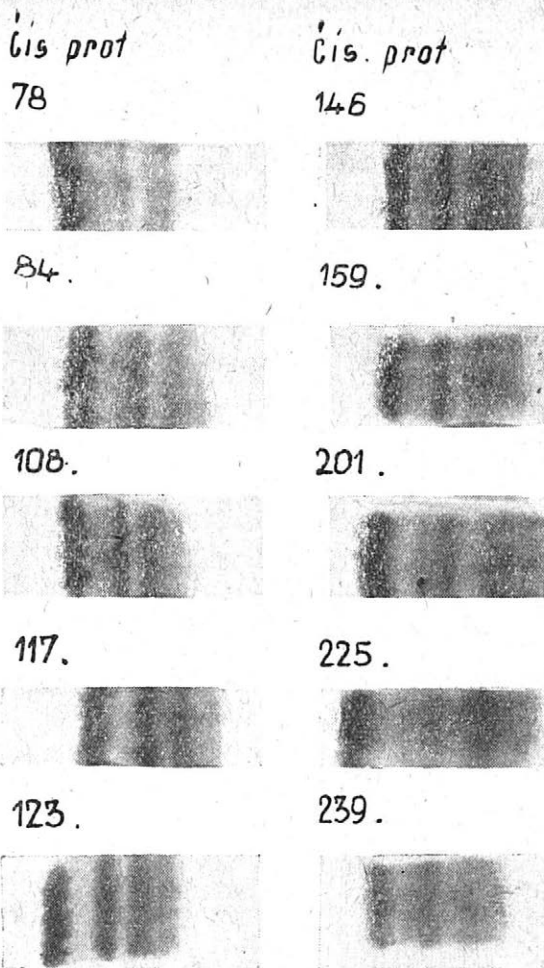
U klinicky a serologicky reagujících psů jsme ve všech případech zjistili biochemickou metodou humorální změny. Základem vyhodnocení byl pro nás biochemický normál u psů, který vypracoval na 90 psech jeden z nás (23).

U akutní ikerické formy, končící letálně, není tak výrazných humorálních změn. Pozorujeme signifikantní pokles albuminu a paralelní elevaci alfa globulinů. Biochemický obraz poukazuje na akutní zánětlivý stav exudativního nebo nekrotického charakteru. Chybí známky difusního poškození jater a proto souhlasíme s G s e l l e m (9), že nelze považovat poruchu jater za primární příčinu exitu. Průběh infekce byl příliš rychlý, takže se nevyvinuly postihnutele orgánové změny.

U ikterické formy, kterou zvířata přežívají, jsou změny v serových bílkovinách mnohem výraznější. Weltmannova reakce se již v prvních dnech pokusu silně zkracuje a alfa globuliny silně zvyšují na úkor albuminů. Biochemický náález odpovídá typu akutního zánetu. Po přelomu maximální hodnoty bilirubinu začíná silně stoupat serologický titr protilátek a rovněž klinický stav zvířete se lepší. Biochemický náález v bílkovinném spektru se vrací k normálnější hodnotám. V pozdějším stadiu pokusu se klinický stav psa zhoršuje a poslední nálezy poukazují na difusní poškození jaterní funkce.

U anikterické formy je změna celkového klinického stavu málo výrazná. Na rozdíl od leptospiros ikterických, končících v krátké době letálně, uplatňuje se u této formy fáze orgánového poškození, a to hlavně jater a ledvin. Podle literárních údajů jsou však játra většinou poškozena v menším stupni, než jak by se dalo očekávat. Jak uvádí Gsell (str. 91) jsou orgánové změny v průběhu anikterických leptospiros u lidí a pokusných zvířat rychle reparabilní po překonání akutního stadia infekce. Histologicky nacházíme uvolněná jádra poškozených jaterních buněk a jenom ojediněle nekrosy jaterního parenchymu. O Stertag popsal několik případů serosních zánetů jater provázených serosně — haemorrhagickou exsudací a proliferací kapilár endothelií, jakož i degenerativní změny od parenchymatosní degenerace, glykogenolysy, tukové infiltrace až po nekrosu. Hort popisuje žlutou atrofii jater.

U naší pokusné řady psů jsme nezjistili těžká poškození jater. Uvedený případ psa čis. 315 lze zařadit do skupiny s parenchymatosní degenerací jater. Biochemicky zjišťujeme na začátku infekce zvýšení alfa globulinů na úkor albuminů. Gama globuliny se zvyšují paralelně se stoupajícím serologickým titrem (kromě výrazné humorální změny u odběru čis. 201). 88. den po infekci pozorujeme znovu výraznou humorální změnu, Weltmannova reakce se zkracuje na +4 a při tom gama globuliny stoupají, ačkoliv serologický titr již klesá. Je tedy gama frakce zřejmě heterogenní a lze ji považovat za sumaci normálních imunitních a pravděpodobně i paraproteinických složek, které nelze metodou papírové elektroforesy oddělit. V závěru pokusu se biochemický obraz vrací



Obr. 5. Bílkovinná spektra pokusného psa čis. 315. Forma anikterická benigní.

Рис. 5. Спектр белков подопытной собаки № 315. Доброкачественная безжелтушная форма

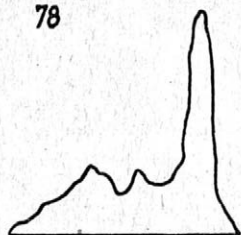
Illus. 5 — Protein spectrum of experimental dog no. 315. Nonicteric benign form.

Abb. 5. Eiweisspektren des Versuchshundes Nr. 315. Anikterische benigne Form.

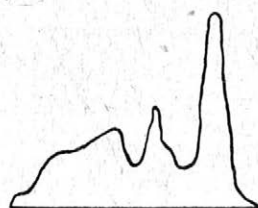
čís. prot.

čís. prot.

78

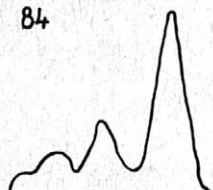


14b



Obr. 6. Grafický záznam bílkovinného spektra pokusného psa čís. 315.

84



159

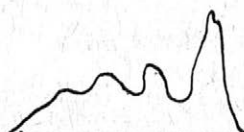
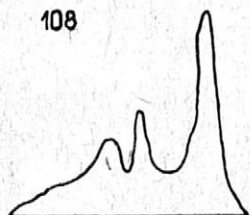
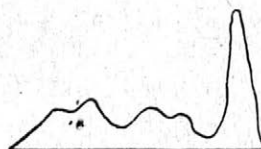


Рис. 6. Графическое изображение спектра белков подопытной собаки № 315

108

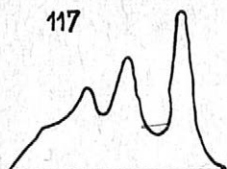


201

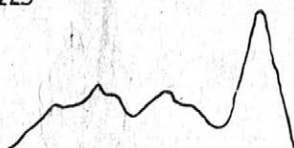


Illus. 6 — Graphic presentation of protein spectrum of dog no. 315.

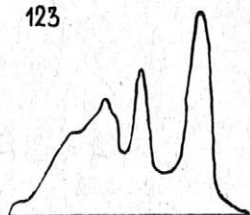
117



225



123



239

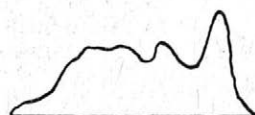


Abb. 6. Graphische Darstellung des Eiweißspektrums des Versuchshundes Nr. 315.

k normálu až na poněkud zvýšené gama globuliny. Histologickým vyšetřením jater nebyly zjištěny podstatné změny.

Přihlédneme-li k novější literatuře, zjišťují někteří autoři (25, 17) zvýšené titry protilátek po různých nespecifických zákrocích. Genese gama globulinů je v úzkém vztahu RES. Domníváme se proto, že nebude tak velkého rozdílu mezi imunitním a normálním gama globuliny.

V práci byla dále potvrzena skutečnost, že jedno a totéž infekční agens vyvolá v některých případech ikterickou, v jiných anikterickou formu onemocnění. Genesí parenchymatosního ikteru se zabýval Baumgärtel (1), který roz-

Obr. 7. Pes čís. 315. Přehled grafických záznamů bílkovinných spekter a jejich relativních hodnot v procentech, ve srovnání s hodnotami titrů protilátek v krvi.

Рис. 7. Собака № 315. Обзор графических изображений спектров белков и их относительных величин в процентах по сравнению с величинами титров антител в крови

Illus. 7 — Dog no. 315. Summary of graphic presentations of protein spectrums and their relative values in percentages, compared with values of titrates of antibodies in the blood.

Abb. 7. Hund Nr. 315. Übersicht graphischer Darstellungen von Eiweißspektren und ihrer relativen Prozentwerte, im Vergleich mit den Titerwerten der Antikörper im Blut.

Číslo proti- kolu	Pes čís. : 315. Bílkovinné spektra	Titr	Albumin A	Globuliny			
				α_1	α_2	β	γ
239		1:800	41,6	6,1	16,2	22,0	14,0
225		1:800	37,9	8,5	16,4	18,5	18,8
201		1:1600	29,5		26,4	20,0	23,9
159		1:3200	31,6		27,2	26,8	14,2
146		1:6400	33,0	4,9	18,0	25,2	18,9
123		1:3200	39,2		22,8	22,0	15,9
117		1:3200	37,0		30,0	21,8	11,2
108		1:1000	45,0		25,4	19,5	9,9
84		neg.	47,7		26,9	16,9	8,3
78		neg.	43,0	7,0	15,8	25,0	8,2

lišuje toxické vlivy působící na játra. Vliv glykogenotoxický, vyvolávající ikterus, a vliv plasmatoxický, anikterický, který se objevuje u většiny infekčních toxických onemocnění. Bylo zjištěno, že bilirubin prostupuje semipermeabilní blánou za přidání glukosy. Podle Baumgärtela glykogenotoxický vliv způsobuje glykogenolysu v jaterní buňce a uvolněná glukosa umožňuje prostupování bilirubinu jaterní buňkou a vede k bilirubinemii. Vzniká tuková infiltrace jater a následná nekrosa jaterních buněk. Vliv plasmatoxický nezpůsobuje snížení depotního glykogenu v jaterní buňce a nevede k bilirubinemii. U tak specifického onemocnění jater, jako je infekční ikterus, který probíhá v ikterické i anikterické formě, lze uvažovati o sumaci obou vlivů. Tím se objevují nová hlediska uplatnitelná v terapii ikteru.

Z á v ě r

Biochemickou metodikou byly sledovány změny serových bílkovin u psů experimentálně infikovaných *L. icterohaemorrhagiae* i za současné klinické a serologické kontroly a srovnáno, do jaké míry lze biochemické reakce využít ke stanovení diagnózy a prognózy leptospirosy psů.

U psů s hodnotou gama globulinu nad 12 % se nepodařilo vyvolat klinické onemocnění.

Pokusná infekce se projevila ve třech formách:

1. Akutní ikterická forma končí letálně v septikemické fázi. Serologický titr protilátek v krvi nepatrně zvýšen, biochemický nález nepoukazuje na difusní poškození jater.

2. Ikterická forma se septikemickou fází a s následnou fází orgánového poškození. Serologický titr protilátek signifikantně zvýšen. Biochemický nález poukazuje na difusní poškození jater.

3. Anikterická forma benigní. Serologický titr protilátek signifikantně zvýšen. Zvýšení hodnot gama globulinů odpovídá zvýšenému serologickému titru.

Podle dosažených výsledků lze použití biochemické metodiky k upřesnění diagnosy či prognosy leptospiros psů, speciálně případů s orgánovými poruchami.

Souhlasně se zkušenostmi získanými v humánní medicíně nelze používat biochemického vyšetření izolovaně od vyšetření klinického a serologického, neboť tato zůstávají hlavním diagnostickým i prognostickým kritériem.

Za technickou spolupráci děkujeme D. Strakové a J. Živnůstkové.

Literatura

1. Baumgärtel, Z. klin. Med. 3/4365, 1949. — 2. Březina - Zuman, Polarografie v lékařství 1952. — 3. Chang, J. Clin. Invest. 25, 752, 1946. — 4. Caley, Brit. Med. J. II. 1386, 1949. — 5. Dymawska-Koztowska-Wlodek, Przegl. Epidem. 7, 2, 1953. — 6. Freudiger, Recueil de Med. Vet. 5, 1955. — 7. Freudiger, Schw. Arch. f. Tierheilkunde 96, 469, 1954. — 8. Fühner, Zentralblatt f. Bakt. 1/2, 157, 1951. — 9. Gsell, Leptospirosen 1952. — 10. Heringmann, New England J. Med. 237, 471, 1947. — 11. Herrlich, Med. Wochenschrift 548, 1948. — 12. Jírovec - Štolcová - Sutorinsová, Schw. Z. f. Pathol. u. Bakter. X 1, 1947. — 13. Libowitz, Amer. J. Med. 8, 314, 1950. — 14. Opplt, ČLČ 23, 473, 1953. — 15. Pokorný - Hruška, Čs. parasitologie I 1954. — 16. Rosenfeld, Meridian, J. Bact. 42, 165, 1941. — 17. Schebitz - Dedié, Zentralblatt f. Vet. Med. II 6, 1955. — 18. Schoenherr, Z. f. Immunitätsfor. u. exper. Ther. 111, 1, 1954. — 19. Schulze, Monatshefte f. Vet. Med. 15, 1951. — 20. Spodis - Nava, Prog. Med. 6, 477, 1950. — 21. Wagener, Monatshefte f. Vet. Med. 1, 1951. — 22. Wuhrman - Wunderly, Die Bluteiweißkörper des Menschen, Basel 1952. — 23. Zícha, Veterinárský časopis SAV 1956 v tisku. — 24. Zureck, Tierärztliche Umschau 13, 14, 1952. — 25. Zwierz - Durlakowa - Sobolewska, Pol. Tyg. lek. 8, 48, 1953. — 26. Recueil de Méd. Vét. 1956, čís. 1, str. 74. — 27. Zícha, Kalousová, Sobotka, Marčan: Vojenské zdravotnické listy, v tisku.

Сообщение о биохимической картине экспериментальной инфекции болезни Вейля у собак

Путем биохимического метода производились наблюдения за изменениями белков сыворотки у собак, экспериментально инфицированных *L. ikterohaemorrhagiae*, при одновременном осуществлении клинического и серологического контроля и проведении сравнения, в какой мере возможно использовать биохимическую реакцию для диагноза и прогноза лептоспироза у собак.

У собак, имеющих свыше 12% гамма глобулина, не удалось вызвать клинического заболевания.

Экспериментальная инфекция проявлялась в трех формах:

1. Острая желтушная форма, заканчивающаяся септицемической фазой. Серологический титр антител в крови незначительно повышен, биохимическое исследование не обнаруживает диффузного повреждения печени.

2. Желтушная форма с септицемической фазой и с последующей фазой повреждения органов. Серологический титр антител явно повышен. Биохимическое исследование указывает на диффузное повреждение печени.

3. Доброкачественная безжелтушная форма. Серологический титр антител повышен. Повышение количества гамма глобулина соответствует повышенному серологическому титру.

На основании полученных результатов возможно применять биохимическую методику для уточнения диагноза или прогноза лептоспироза у собак, в особенности для случаев, когда возникает повреждение органов.

На основании опыта, полученного в результате медицинской практики с людьми, нельзя применять биохимическое исследование изолированно от исследования клинического и серологического, так как они остаются главными критериями для диагноза и прогноза.

Contribution Toward the Biochemical Picture of Experimental Infection of Weil's Disease in Dogs

Changes in the serum proteins of dogs were observed by the biochemical method of experimental *L. icterohaemorrhagiae* infection and with simultaneous clinical and serological controls. A comparison was made to what extent the biochemical reaction may be used for establishing diagnosis and prognosis of leptospirosis of dogs.

Dogs having a gamma-globulin level of over 12 % could not be made ill clinically. The experimental infection appeared in three forms:

1. Acute icteric form ending lethally in the septicemic phase. The serological titrate of anti-bodies in the blood was slightly increased; biochemical findings did not show any diffuse damage to the liver.

2. Icteric form with the septicemic phase and a consequent phase of damage to the organs. A serological titrate of the anti-bodies is significantly increased. Biochemical findings show a diffuse damage to the liver.

3. Non-icteric benign form. Serological titrate of the antibodies significantly increased. Increase in gamma globulin level corresponds to the higher serological titrate.

According to the results achieved one may use the biochemical method to render more precise the diagnosis or prognosis of leptospirosis of dogs, especially in cases of disturbance to organs of the body.

In accordance with experiences gained in human medicine, one may not use the biochemical examination in isolation from the clinical and serological examination, for these latter remain the chief criterion in diagnosis and prognosis.

Ein Beitrag zum biochemischen Bild einer experimentellen Infektion der Weil'schen Krankheit bei Hunden

Die biochemischen Veränderungen der Serumeiweißstoffe bei versuchsweise durch *L. icterohaemorrhagiae* infizierten Hunden werden mittels eines biochemischen Arbeitsverfahrens unter gleichzeitiger klinischer und serologischer Kontrolle verfolgt.

Dabei wurde verglichen, inwiefern die biochemische Reaktion zur Feststellung der Diagnose und Prognose der Leptospirosen bei Hunden ausgenützt werden kann. Bei Hunden, die einen Gammaglobulinwert von mehr als 12% aufwiesen, gelang es nicht, die klinische Erkrankung hervorzurufen.

Die versuchsweise hervorgerufene Infektion erschien in drei Formen:

1. Akute ikterische Form, die in der septikämischen Phase letal endigte. Der serologische Titer der Antikörper im Blut war leicht erhöht, der biochemische Befund wies nicht auf eine diffuse Leberbeschädigung hin.

2. Ikterische Form mit einer septikämischen Phase und einer darauffolgenden Phase der Organbeschädigung. Der serologische Titer der Antikörper bedeutend erhöht. Der biochemische Befund weist auf eine diffuse Leberbeschädigung hin.

3. Anikterische benigne Form. Der serologische Titer der Antikörper bedeutend erhöht. Die Erhöhung der Gammaglobulinwerte entspricht dem erhöhten serologischen Titer.

Laut erreichter Ergebnisse kann das biochemische Arbeitsverfahren zur Feststellung genauer Diagnose oder Prognose, besonders der mit Organstörungen verbundenen Leptospirose bei Hunden, angewendet werden.

Übereinstimmend mit den in der Humanmedizin gewonnenen Erfahrungen, kann die biochemische Untersuchung nicht separat von der klinischen und serologischen Untersuchung angewendet werden, denn die letzten bedeuten das wichtigste diagnostische und prognostische Kriterium.

Porovnávacie štúdium základných vlastností novoizolovaných kmeňov vírusu chrípky ošípaných z roku 1955 s vlastnosťami kmeňov z roku 1954

Сравнительное изучение основных свойств вновь изолированных штаммов вируса гриппа свиней в 1955 году со свойствами штаммов 1954 года

Comparative Studies of the Fundamental Characteristics of Newly Isolated Species of Virus of Hog Cholera in 1955, with Characteristics of Species in 1954

Elne vergleichende Studie der Grundeigenschaften neuisolierter Virusstämmе der Schweinegrippe vom Jahre 1955 mit Eigenschaften der Stämme vom 1954

MVDr Michal VASIL' — prom. vet. lek. Július PAČENOVSKÝ
Z Ústavu pre mikrobiológiu a imunológiu Vet. fakulty VŠP v Košiciach,
prednosta Doc. MVDr Augustín Sokol

Došlo dne 18. IV. 1956

Úvod

Chrípkovému ochoreniu sa venuje vo výskume pozornosť už viac ako dve desaťročia a napriek dosiahnutým pozoruhodným výsledkom, chrípková enzootia dodnes spôsobuje v chovoch ošípaných početné ztráty. Táto okolnosť len zdôrazňuje potrebu sústavného prevádzania a neustáleho spresňovania rutínnej virologickej diagnostiky ako najdôležitejšieho predpokladu pre depistáž a úspešné tlenie tejto nákazy odchovu.

Je nesporné, že jednou z popredných úloh vo výskume chrípky je a naďalej ostáva izolácia terenných kmeňov chrípkového vírusu tak v epizootickom ako aj v mimoepizootickom období a poznanie ich základných vlastností. Ďalšou dôležitou otázkou je štúdium perzistencie vírusu v mimoepizootickom období ako aj ciest uvoľňovania, vylučovania a prenášania vírusu z jedného zvierata na druhé, respektíve v kolektívnych odchovniach z oddelenia do oddelenia.

Nie menej dôležitým je aj poznanie typov a variability chrípkového vírusu vplyvom rozličných podmienok vonkajšieho prostredia, čo nakoniec v dlhodobom procese pasážovania na ošípaných nezbytné musí viesť k zmene antigennej štruktúry a k vytvoreniu novej varianty. Pre túto skutočnosť svedčí celý rad prác z humánnej literatúry tak našich, ako aj zahraničných autorov.

Taktiež je potrebné systematicky uskutočňovať serologický prieskum na zamorenosť jednotlivých kolektívnych chovov chrípkovou infekciou a prehľbovať naše poznatky o infekčnom a epizootickom procese pri enzootickej bronchopneumonii.

Kým u ľudskej influenzy sú vyššie uvedené problémy rozpracované a pomerne objasnené, vo veterinárnej medicíne sme zatiaľ na začiatku riešenia nadhodenej tematiky.

Chrípkovým enzootiám budeme môcť dôkladnejšie predchádzať len po získaní širších vedomostí o biologii vírusu chrípky ošipaných, čo nerozlučne je spojené so štúdiom základných vlastností izolovaných kmeňov a ich vzájomným porovnaním.

Kriteriom pri posudzovaní vlastností novoizolovaných kmeňov podľa B l a š k o v i č a (1955) sú tie vlastnosti chrípkového vírusu, ktoré sa dajú dobre kontrolovať a ktoré ukazujú na veľkú adaptačnú schopnosť tohto vírusu. Patria sem tieto vlastnosti: rýchlosť adaptácie na kuracie embrya, vzťah ku erytrocytom vtačím, morčacím, kvalita vytvorených protilátok a vzájomné vzťahy imunného séra vyrobeného pomocou novoizolovaného kmeňa ku kmeňom štandardným, patogenita pre biele myšky a rýchlosť s akou sa táto po pasážach získava a konečne toxicita kmeňov spolu s niektorými vlastnosťami fyzikálne-chemickými. Podľa uvedených kritérií porovnávame základné vlastnosti novoizolovaných kmeňov chrípkového vírusu kvantitatívne, respektíve aj kvalitatívne.

V predošlej práci (1954) sme poukázali na literárne údaje týkajúce sa izolácie vírusu chrípky ošipaných v ČSR. Súčasne sme referovali o izolácii prvých troch kmeňov vírusu chrípky ošipaných na Slovensku a popísali ich základné vlastnosti.

V rámci sústavnej virologickej diagnostiky nášho ústavu sme zachytili v roku 1955 ďalšie tri kmene vírusu chrípky ošipaných, preštudovali ich základné vlastnosti a tieto porovnali s vlastnosťami kmeňov chrípkového vírusu izolovaných v roku 1954 ako aj s kmeňom S h o p e. O výsledku tohto štúdia podávame nasledujúcu zprávu.

Vlastná práca

A) Materiál a metodika izolácie vírusu

K izolačným pokusom sme používali vzorky pľúcneho chrípkou zmieneného tkaniva pravidelne zasielaného na virologické vyšetrenie tunajšiemu ústavu terennými veterinármi, ŠVVÚ v Košiciach ako aj materiál nami odobratý v zamorených chovoch z uhynulých chrípkových ciciakov a odstávčiat. Materiál vo väčšine prípadoch sme zpracovali ihneď alebo do zpracovania konzervovali pri teplote -40°C .

Homogenizovaním v turmixe sme pripravili 10% emulziu z pľúcneho tkaniva vo fyziologickom roztoku. Po centrifugácii pri 3000 obr./min. po dobu 15 minút sme použili k očkovaniu supernatant. Po pridaní antibiotík (penicilín, streptomycín) k takto úpravenému materiálu sme prevádzali izolačnú procedúru chrípkového vírusu priamou inokuláciou do alantoidného vaku 10–11denných kuracích embryí. Výhody tejto zjednodušenej metodiky spočívajú v nasledujúcom:

a) odpadá starý, nákladný a hodne namáhavý izolačný proces najprv na bielych myškách a až potom na kuracích embryách,

b) diagnostika prípadu sa urýchlí,

c) technika očkovania do alantoidného vaku je jednoduchšia ako očkovací spôsob do amniového vaku, bežne používaný v humánnej virológii.

Po kontrole životnosti kuracieho embrya presvietením vajíčka v ovoskope, sme označili rozlohu vzduchovej bubliny a polohu embrya. Označené miesta dezinfikovali sme jodovou tintúrou a opáleným bodcom zhotovili v škorábke otvory na týchto označených miestach. Potom sme inokulovali 0,2 ml materiálu otvorom v mieste polohy embrya a otvory v škorábke zalepili parafínom. Pre jeden materiál sme používali 4–5 kuracích zárodkov.

Po uplynutí 48—72hodinovej inkubácii pri 37° C sme odsali z každého vajíčka cez široký otvor vo vzduchovej bubline alantoickú a amnióvu tekutinu a použili k hemaglutinačnej reakcii (HR) na dôkaz pomnoženia vírusu.

Touto metódou sa nám podarilo izolovať z troch chovov ďalšie kmene chrípkového vírusu, ktoré označujeme „Grajciar“, „Markušovce“, „Bidovce“.

B) Metodika prípravy imunných sér

Imunné séra pre vykonanie skríženej hemaglutinačne — inhibičnej reakcie na dôkaz príbuznosti antigénnej štruktúry novoizolovaných kmeňov sme vyrobili na bielych myškách. Do jednotlivých skupín zaradili sme po 10—10 dospelých zvierat. Myši sme imunizovali intraperitoneálne živým vírusom chrípky ošípaných príslušného kmeňa pomnoženého v alantoickej tekutine v dávke 1 ml vírusového materiálu predtým zriedeného fyziologickým roztokom v pomere 1 : 10. Za 7 dní po prvej dávke sme inokulovali opätovne intraperitoneálne každej myške po 0,5 ml nezriedeného živého vírusu príslušného kmeňa.

Myši sme vykrvácali za 21 dní po poslednej dávke antigénu. Získané kmeňové imunné sérum bolo inaktivované 30 minút pri 56 C a vysýtené kuracími erytrocytami.

C) Metodika prevedenia HIR

Hemaglutinačne-inhibičnú reakciu sme prevádzali metódou podľa Hirsta v Salkovej modifikácii za príslušných kontrol. Postup pri tejto reakcii je v tom, že obvykle sa mieša stejné kvantum séra stupňovane zriedeného s konštantným množstvom erytrocytov a vírusu. Tam, kde je vírus blokovaný špecifickými protilátkami nedochádza ku vzniku vírus-erytrocytového komplexu a erytrocyty ako indikátor pozitívnej reakcii sedimentujú na najnižšom bode dna skúmavky v podobe ostre ohraničeného knoflíčku. Po nahunutí stojanku so skúmkavkami krvinky v takom prípade sa roztekajú.

D) Zhodnotenie epizootologických pomerov v odchovniach

Anamnestické údaje a epizootologická situácia u všetkých troch chovov, z ktorých sme izolovali kmene chrípkového vírusu až na malé výnimky sa zhodovali. Vo sprievodných prípadoch sa žiadalo o zistenie príčiny sústavného hynutia ciciakov a odstavčiat, ktoré spôsobovalo denné ztráty 1—2—3 kusy. Najväčšie ztráty sa vyskytovali v zimných a jarných mesiacoch. Klinické príznaky a patologicko-anatomické zmeny svedčili pre charakteristický obraz enzootickej bronchopneumonie. Bakteriologickým vyšetrením sme zistili iba banálnu mikroflóru ako *E. coli*, stafylokoky, ojedinelé streptokoky a pasteurelly. Zatiaľ čo v chove „Markušovce“ bolo pomerne ťažko izolovať vírus, z chovu „Bidovce“ a obzvlášť z chovu „Grajciar“ sa nám izolácia vírusu podarila jednoduchšie. Dokonca v chove „Grajciar“ sme izolovali vírus z dvoch zásielok materiálu. Usudzujeme, že chrípková enzootia v chovoch „Grajciar“ a „Bidovce“ prebiehla práve v akútnom štádiu, kým v chove „Markušovce“ v čase nášho prieskumu bola v štádiu chronickom. Svedčia o tom chronické procesy na pľúcach pitvaných ciciakov a odstavčiat ako aj spracovanie väčšieho počtu prípadov kým sa nám podarilo izolovať vírus aj z tohto chovu.

Po stránke zoohygienickej išlo vo všetkých chovoch o závady v ustájení prasníc a ciciakov. Dôkladnejšie mali sme možnosť prešetriť zoohygienické pomery v chove „Grajciar“. Prasnice a ciciaky sú ustájené v matečníku vybudovanom nevhodnou adaptáciou výkrmne. Vlastná maštal je dlhá asi 70 metrov bez priečok. Koterce sú zhotovené z rezanej gulatiny, takže prasatá majú mož-

nosť na seba dýchať a tak kvapienkovou cestou ľahko šíriť chrípkovú nákazu. Vetranie je nedostatočne riešené pomocou dvoch výparníkov. Teplota v matečníku počas zimného ustájenie veľmi kolísala. Vzduch bol vlhký a pary sa zrážali na povale porastenej plesňami. Subjektívny pocit v matečníku je vlhko a chladno.

Pochopiteľne, že takého podmienky ustájenia tak na prasnice ako aj na ciciaky pôsobia nepriaznivo a vedú k vzniku katarov horných ciest dýchacích a udržiavaniu sa chrípkovej infekcie v chove.

V matečníku bolo pozorované aj veľké množstvo potkanov, z ktorých pľúc dr. Rosócha a dr. Neubert zo Zoohygienického ústavu izolovali a identifikovali vírus chrípky ošipaných.

Zdravotný stav ustájených zvierat v odchovni bol veľmi špatný. Ošipané vo väčšine prípadov kašľali. Prasnice rodili veľmi slabé prasatá, ktoré po dvoch až troch týždňoch života začali pokašliavať a vo veku 4–5 týždňov vo väčšine prípadov hynuli.

Štúdium základných vlastností kmeňov vírusu chrípky ošipaných izolovaných v roku 1955

A) Hemaglutinačná aktivnosť a infekciozita pre kuracie embryo

Hemaglutinačnú aktivnosť novoizolovaných kmeňov sme študovali stanovením hemaglutinačného titru (HT) infekčnej alantoickej a amniovej tekutiny pričom sme použili tak kuracie ako aj morčacie erytrocyty.

Schopnosť adaptácie izolovaných kmeňov na kuracie embryo sme si overili v 9. embryonálnej pasáži aj určením ich ID_{50} pre kuracie embryo. Pre jedné titračné riedenie boli použité 4 kuracie zárodky.

Kmeň „Grajciar“ v prvej pasáži kuracím embryom nejavil hemaglutinačnú aktivnosť; v druhej pasáži však alantoická tekutina dávala HT 1 : 1024, ktorý sa v ďalších pasážach skoro konštantne udržiaval na rovnakej výške. ID_{50} pre kuracie embryo u tohto kmeňa v 9. embryonálnej pasáži bola 10^{-6} .

Kmeň „Markušovce“ na rozdiel od kmeňa „Grajciar“ sa manifestoval svojím HT až v tretej pasáži kuracím embryom, pričom aglutinoval červené krvinky v zriedení 1 : 1024. ID_{50} pre kuracie embryo taktiež v 9. embryonálnej pasáži bola u neho $10^{-5,6}$.

Konečne 3. novoizolovaný kmeň „Bidovce“ aglutinoval kuracie erytrocyty až v tretej pasáži, a to do zriedenia 1 : 512. Jeho ID_{50} pre kuracie embryo v 9. embryonálnej pasáži bola $10^{-5,8}$.

Pri týchto kmeňoch chrípkového vírusu sme nepozorovali „0“ fázu popísanú často pri izolácii kmeňov vírusu humánnej chrípky.

B) Patogenné vlastnosti pre bielu myš

Patogenitu pre bielu myš sme študovali intranasálnou infekciou novoizolovaných kmeňov vírusu chrípky ošipaných pomnožených v alantoicko-amniovej tekutine. Vírus sme aplikovali skupine pozostávajúcej zo 4–4 myšiek v eterovej narkóze.

Už v prvých pasážach vyvinuli sa v pľúcnej tkáni ojedinelé bronchopneumonické ložiska, ktoré v ďalších pasážach nadobudli na výraznosti a početnosti. V tretej pasáži všetky tri kmene usmrcovali celú skupinu myšiek medzi 4.–6. dňom po infekcii. Podľa toho novoizolované kmene sa pre bielu myš ukázali pomerne vysoko patogennými.

C) Toxické vlastnosti

Toxické vlastnosti novoizolovaných kmeňov preštudovali sme pri intracerebrálnej a intravenózne infekcii bielych myší. Zostavili sme skupinu pozostávajúcu zo 4—4 myšky pre každý kmeň osobitne tak pre intracerebrálnu ako aj pre intravenóznú aplikáciu. Myšky sme sledovali v 10dňovej pozorovacej dobe.

Ani jeden z novoizolovaných kmeňov chrípky ošipaných nebol toxický pre biele myšky, hoci všetky kmene pri intranasálnej aplikácii mali pomerne vysoký patogenný efekt.

D) Štúdium antigenných vlastností novoizolovaných kmeňov

Prípadné rozdiely v antigénnej štruktúre novoizolovaných kmeňov sme študovali skríženou hemaglutinačne-inhibičnou reakciou za použitia kmeňových protichrípkových imunných myšiach sér. Výsledky reakcie uvádzame v tabuľke č. 1.

Tab. 1. Štúdium rozdielnosti v antigénnej štruktúre novoizolovaných kmeňov vírusu chrípky ošipaných.

Таблица 1. Изучение распределения в антигенной структуре вновь изолированных штаммов вируса гриппа свиней

Table 1 — Study of division in antigenic structure of newly isolated species of hog cholera virus.

Tab. 1. Studium der Verteilung der antigenen Struktur neuisolierter Virusstämme der Schweinegrippe.

Sérum \ Virus	Markušovce	Grajciar	Bidovce
Markušovce	1 : 256	1 : 32	1 : 128
Grajciar	1 : 64	1 : 512	1 : 64
Bidovce	1 : 32	1 : 64	1 : 128
Normálne myšie	Ø	Ø	Ø

Z tabuľky č. 1 je vidieť, že všetky izolované kmene dávali najvyššie hemaglutinačne-inhibičné titry s identickým kmeňovým sérom, keďže s cudzími kmeňovými sérami titer bol o 1—3 riedenia nižší. Celkove však môžeme povedať, že všetky tieto tri novoizolované kmene nejavili medzi sebou navzájom zásadných antigenných rozdielov aj keď hemaglutinačne-inhibičné titry sa v jednotlivých prípadoch líšili o jednu až tri skúmanky.

Časť serologická

Aby sme si vytvorili celkový obraz o chrípkovej premorenosti v chovoch, v ktorých virologicky sme chrípkovú nákazu potvrdili a aby sme zistili akú úlohu môžu mať prasnice v chrípkovom enzootickom procese, previedli sme v chove „Grajciar“ informatívne serologické vyšetrenie krvných sér prasníc pomocou

Tab. 2. Výsledky HIT v krvných sérach prasníc v chove „Grajciar“.

Таблица 2. Результаты HIT в сыворотке крови свиной в свиноводческом хозяйстве «Грайциар»

Table 2 — HIT results in blood sera of sows in "Grajciar" herd.

Tab. 2. Ergebnisse der HIT (Haemagglutinations-Inhibitionsteste) in den Blutseren der Mutterschweine in der „Grajciar“-Zucht.

Číslo séra	K m e ň		Číslo séra	K m e ň	
	Grajciar	18—23		Grajciar	18—23
1	1 : 128	1 : 256	11	1 : 128	1 : 128
2	1 : 128	1 : 64	12	Ø	Ø
3	1 : 128	1 : 256	13	1 : 512	1 : 256
4	Ø	Ø	14	1 : 64	1 : 128±
5	Ø	Ø	15	1 : 256	1 : 512±
6	1 : 64	1 : 128±	16	Ø	Ø
7	Ø	Ø	17	1 : 32	1 : 32
8	1 : 64±	1 : 128	18	1 : 32	1 : 64
9	1 : 32	1 : 128	19	1 : 64	1 : 64
10	1 : 64	1 : 64			

reakcie hemaglutinačne-inhibičnej. Celkove bolo vyšetrených 19 krvných vzorok odobratých od prasníc. Ako antigény k HIR sme použili kmeň izolovaný z tohto chovu ako aj kmeň „18—23“ zachytený z potkanov taktiež v tomto chove. Výsledky uvádzame v tab. č. 2.

Ako je z tabuľky č. 2 vidieť serologicky pozitívne reagovalo 73,6 % vyšetovaných krvných sér prasníc s obidvoma užitými antigénmi. Hemaglutinačne-inhibičné titry s kmeňom „18—23“ boli všeobecne vyššie ako s kmeňom „Grajciar“. Niektoré séra však dávali iba nízke titry 1 : 32, respektíve 1 : 64, čo pri jednorázovom vyšetrení je problematicky hodnotiť aj keď kontrolné reakcie boli spoľahlivé.

Toto informatívne serologické vyšetrenie poukazuje na vysokú premorenosť samotných prasníc chrípkovou nákazou, ktoré podľa toho nesporne musia hrať úlohu pri šírení tejto choroby odchovu.

Porovnávacie štúdium základných vlastností kmeňov vírusu chrípky ošípaných izolovaných v roku 1955 s vlastnosťami kmeňov izolovaných v roku 1954

Porovnaním základných vlastností kmeňov vírusu chrípky ošípaných izolovaných v roku 1955 s kmeňmi z roku 1954 chceli sme overiť príbuznosť týchto kmeňov pochádzajúcich z rôznych chovov Slovenska a izolovaných v časovom odstupe jedného roku.

Predmetné kmene vo svojich hemaglutinačných vlastnostiach sa zhodujú tak voči kuracím ako aj morčacím erytrocytom, ktoré aglutinovali do rovnako vysokých titrov. Podľa toho sme ich neizolovali v tzv. „0“ fáze popisovanej v ľudskej medicíne, ktorá však podľa posledných správ tiež nie je pravidlom ani pre čerstvo izolované kmene ľudskej chrípky.

Patogenné vlastnosti pre bielu myš u kmeňov z roku 1955 sú výraznejšie ako u kmeňov izolovaných v roku 1954. Súdime podľa toho, že novoizolované kmene už v tretej pasáži zabíjali celú skupinu pokusných myší medzi 4.—6. dňom, keďže kmene z r. 1954 až v 6. pasáži v tých istých časových intervaloch.

Novoizolované kmene chrípkového vírusu sa líšili do určitej miery adaptáciou na kuracích embryách. Zatiaľ čo kmene „Š a c a“ a „K a l i n o v o“ izolované v roku 1954 sa vyznačovali veľkou adaptačnou schopnosťou na kultivačné prostredie kuracieho embrya, kmene „Markušovce“ a „Bidovce“ izolované v roku 1955 sa manifestovali svojím hemaglutinačným titrom až v tretej pasáži. Kmeň „Grajciar“ svojou adaptačnou schopnosťou sa zhodoval s kmeňom „Chvojnic a“ z roku 1954, ktorý už v druhej pasáži kuracím embryom javil hemaglutinačnú aktivnosť. ID₅₀ pre kuracie embryo u kmeňov z roku 1955 zisťovaná v 9. embryonálnej pasáži ukazuje, že tieto kmene sa v ďalších pasážach rovnako dobre adaptovali na kuracie embryá, keďže mali skoro rovnú infekciozitu pre kuracie zárodky. Našiel ID₅₀ pre kuracie embryo pri štúdiu základných vlastností u kmeňov z roku 1954 sme nezisťovali, takže nemôžeme naše nové kmene aj po tejto stránke porovnať. Napriek tomu predpokladáme, že hemaglutinačná aktivnosť je pomerne dobrým ukazovateľom adaptácie vírusu chrípky ošipaných na kultivačné prostredie aj keď sme si vedomí toho, že HT nie je v priamom pomere s IT.

Tab. 3. Komparatívne štúdium rozdielnosti v antigénnej štruktúre kmeňov vírusu chrípky ošipaných izolovaných v roku 1954 a 1955.

Таблица 3. Сравнительное изучение различия антигенной структуры штаммов вируса гриппа свиней, изолированных в 1954 и 1955 гг.

Table 3 — Comparative study of differences in antigenic structure of hog cholera viruses isolated in 1954 and 1955.

Tab. 3. Eine vergleichende Studie der Verschiedenheit der antigenen Struktur von den in den Jahren 1954 und 1955 isolierten Virusstämmen der Schweinegrippe.

Sérum \ Virus	Markušovce	Grajciar	Bidovce	Šaca	Kalinovo	Chvojnic a	Shope
Markušovce	1 : 256	1 : 32	1 : 128	1 : 32	1 : 128	1 : 128	1 : 128
Grajciar	1 : 64	1 : 512	1 : 64	1 : 64	1 : 32	1 : 32	1 : 32
Bidovce	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 128	1 : 128	1 : 32	1 : 64
Šaca	1 : 64	1 : 32	1 : 256	1 : 256	1 : 32	1 : 64	1 : 128
Kalinovo	1 : 128	1 : 256	1 : 32	1 : 128	1 : 512	1 : 128	1 : 64
Chvojnic a	1 : 32	1 : 128	1 : 64	1 : 128	1 : 64	1 : 512	1 : 64
Shope	1 : 128	1 : 64	1 : 256	1 : 128	1 : 128	1 : 64	1 : 256
Normálne myšie	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø

Taktiež v toxických vlastnostiach medzi týmito kmeňmi sme nezistili rozdielov, keďže všetky naše kmene sa ukázali pri intravenózne a intracerebrálnej infekcii bielych myšiek netoxickými.

V antigenných vlastnostiach študovaných pomocou skríženej hemaglutinačne-inhibičnej reakcie sme nezistili medzi týmito kmeňmi navzájom ako aj u kmeňa „Shope” tiež zásadných rozdielov, ktoré by poukazovali na serologicky odlišiteľnú variantu, respektíve typ. Výsledky komparatívneho štúdia rozdielnosti v antigénnej štruktúre u všetkých našich kmeňov ako aj kmeňa „Shope” uvádzame v tabuľke č. 3.

Z tabuľky č. 3 je vidieť, že všetky kmene pri zkríženej hemaglutinačne-inhibičnej reakcii reagovali so všetkými sérami, až na normálne myšie sérum, ktoré nedávalo hemaglutinačne-inhibičný titer ani s jedným kmeňom. Nezistili sme teda ani jedno imunné kmeňové sérum, ktoré by nejavilo zábranu hemaglutinácie. Z výsledku porovnania je zrejmé, že hemaglutinačne-inhibičné titry boli najvyššie s identickými imunnými serami, zatiaľ čo s ostatnými imunnými serami, titry sa líšili o 1 až 3 skúmavky.

Na základe nášho porovnávacieho štúdia berúc v úvahu pri komparatívnom hodnotení tie vlastnosti chrípkového vírusu, ktoré podľa Blaškoviča sa dajú dobre kontrolovať (hemaglutinačná aktivnosť, patogenita pre bielu myšku, toxické vlastnosti a vzťah imunného séra novoizolovaných kmeňov ku kmeňu štandardnému) môžeme konštatovať, že tak kmene vírusu chrípky ošípaných izolované v roku 1954 ako aj kmene izolované v roku 1955 sú si svojimi základnými vlastnosťami dosť podobné a nevykazujú zásadných rozdielov ani v antigénnej štruktúre preukázateľných hemaglutinačne-inhibičnou reakciou, tak medzi sebou navzájom ako aj ku kmeňu „Shope”.

Súhrn

1. Izolovali sme v troch prípadoch ďalšie kmene vírusu chrípky ošípaných na Slovensku metódou priamej inokulácie do alantoického vaku 10dňových kuracích embryí. Tieto kmene označujeme: „Markušovce”, „Grajciar”, „Bidovce”.

2. Vírus „Grajciar” sa prejavil svojím HT už v druhej, kdežto kmene „Markušovce” a „Bidovce” až v tretej pasáži kuracím embryom.

3. Rozobrali sme epizootologickú situáciu v zainteresovaných chovoch.

4. Poukázali sme na vysokú chrípkovú premorenosť prasníc v chove „Grajciar”, keďže u 73,6 % vyšetovaných krvných sér odobratých od prasníc sme zistili pomocou hemaglutinačne-inhibičnej reakcie za použitia kmeňa izolovaného z toho istého chovu ako aj kmeňa „18—23” zachyteného z potkanov taktiež v tomto chove, špecifické chrípkové protilátky.

5. Preštudovali sme základné vlastnosti novoizolovaných kmeňov a porovnali so základnými vlastnosťami kmeňov vírusu chrípky ošípaných izolovaných v roku 1954.

6. Na základe porovnávacieho štúdia môžeme konštatovať, že tak kmene vírusu chrípky ošípaných izolovaných v roku 1955 ako aj kmene izolované v roku 1954 sú si svojimi základnými vlastnosťami podobné a nevykazujú medzi sebou navzájom ako aj ku kmeňu „Shope” zásadných rozdielov v antigénnej štruktúre, ktoré by poukazovali na serologicky odlišiteľnú variantu.

1. Blaškovič: Biológia chrípkového vírusu. Biológia 1/1955. — 2. Čupík - Müller - Pokorný: Chřipka vepřů jako jedna z možných příčin hynutí selat. Veterinářství 9/1952. — 3. Harnach - Hubík - Chvátal: Isolace virů chřipky vepřů v CSR. Čas. čs. vet. 13/1950. — 4. Hubík: Isolace a studie domácích kmenů chřipky vepřů. Dis. práce na VŠV - Brno, 1950. — 5. Libíková - Blaškovič: O vlastnostiach viru chřipky typu „B“ izolovaného na Slovensku z epidémie v roku 1949. — 6. Tůmová - Pečenka - Brtka: Isolace virů chřipky v mimoepidemickém období. Čs. hygiena, epid. mikrob. 5/1953. — 7. Vasil - Neubert - Tirčo: Izolácia vírusu chrípky ošípaných na Slovensku a štúdium ich základných vlastností. Veterinářství, 8/1954.

Сравнительное изучение основных свойств вновь изолированных штаммов вируса гриппа свиней в 1955 году со свойствами штаммов 1954 года

1. Нам удалось в трех случаях произвести изоляцию дальнейших штаммов вируса гриппа у свиней в Словакии путем метода прямой инокуляции в аллантоце десятидневного куриного эмбриона. Эти штаммы были обозначены: «Маркушовце», «Грайциар», «Бидовце».

2. Вирус «Грайциар» проявил себя своим НТ уже во втором прохождении куриным эмбрионом, в то время как штаммы «Мардушовце», и «Бидовце» только в третьем прохождении куриным эмбрионом.

3. Нами был произведен эпизоотологический анализ положения в заинтересованных свиноводческих хозяйствах.

4. Мы обратили внимание на значительную заболеваемость свиней гриппом в свиноводском хозяйстве «Грайциар», где у 73,6 % исследованных сывороток крови, взятых у свиноматок, были установлены специфические антитела гриппа при помощи применения гемагглютинационно-ингибиционной реакции, используя изолированный штамм из этого свиноводства, а также штамма «18-23», полученного от крыс-пасюков из свиноводов этого свиноводства.

5. Мы изучили основные свойства вновь изолированных штаммов и произвели сравнение с основными свойствами штамма вируса гриппа свиней, изолированного в 1954 году.

6. На основании сравнительного изучения можно констатировать, что как штамм вируса гриппа свиней, изолированный в 1955 году, так и штаммы изолированные в 1954 году, имеют аналогичные основные свойства и взаимно между собой, а также и по отношению к штамму «Shope» не обнаруживают основных различий в антигенной структуре, которые свидетельствовали бы о наличии особого серологического варианта.

Comparative Studies of the Fundamental Characteristics of Newly Isolated Species of Virus of Hog Cholera in 1955, with Characteristics of Species in 1954

1. In three cases we isolated further species of hog cholera virus in Slovakia by direct inoculation of chicken embryo into the allantoic pouch once daily for ten days. These species are named: "Markušovice", "Grajciar", "Bidovce".

2. The virus "Grajciar" appeared with its HT with the second application of chicken embryo, while the Markušovice and Bidovce appeared with the third.

3. We analyzed the epizootological situation in the herds concerned.

4. We found high cholera rate in sows of herd with the "Grajciar" virus, where we found antibodies specific to hog cholera, by means of haemagglutination inhibitions reactions, using the virus isolated from this herd, such as the "18-23" virus obtained from brown rats from the sheds of this herd.

5. We studied the fundamental characteristics of the newly isolated species and compared them with the fundamental characteristics of species of hog cholera isolated in 1954.

6. On the basis of comparative studies we may state that both the hog cholera virus isolated in 1955 and the one isolated in 1954 are similar in their basic characteristics and exhibit no basic differences from the "Shope" species in the antigenic structure which would point to a distinct serological variant.

Eine vergleichende Studie der Grundeigenschaften neuisolierter Virusstämme der Schweinegrippe vom Jahre 1955 mit Eigenschaften der Stämme vom 1954

1. In drei Fällen isolierten wir weitere Virusstämme der Schweinegrippe in der Slowakei mittels direkter Inokulierung in den alantoischen Beutel zehntägiger Hühnerembryonen. Diese Stämme sind mit den Namen „Markušovce“, „Grajciar“, „Bidovce“ bezeichnet worden.

2. Der Virus „Grajciar“ äußerte sich durch sein HT (Haemagglutininierungstest) bereits in der zweiten Passage, wogegen der Stamm „Markušovce“ und „Bidovce“ erst in der dritten Passage durch das Hühnerembryo.

3. Es wurde die epizootologische Situation in den interessierten Züchten analysiert.

4. Wir wiesen auf die hohe Verseuchung durch Grippe der Mutterschweine in der Zucht „Grajciar“ hin, wo bei 73,6 % untersuchter, den Mutterschweinen entnommenen Blutsera, mittels Haemagglutinations-Inhibitionsreaktion unter Anwendung eines aus dieser Zucht isolierten Stammes, wie z. B. des von Wanderratten gewonnenen Stammes „18-23“ aus diesem Zuchtstall, spezifische Grippen - Antikörper festgestellt wurden.

5. Die Grundeigenschaften neuisolierter Stämme wurden studiert und mit den Grundeigenschaften der 1954 isolierten Schweinegrippeviren verglichen.

6. Auf Grund eines Vergleichsstudiums kann festgestellt werden, daß sowohl der im Jahre 1955 isolierte Schweinegrippenvirus, als auch der 1954 isolierte in den Grundeigenschaften ähnlich ist und gegenseitig in der antigenen Struktur gegenüber dem Stamm „Shope“ keine grundsätzlichen Unterschiede, die eine serologisch abweichende Variante bedeuten würde, aufwiesen.

Toxoplasmosa psa — příspěvek k serologické diagnostice

Токсоплазмоз у собак — пособие к серологической диагностике

Toxoplasmosis in Dogs — a Contribution to Serological Diagnosis

Die Toxoplasmosose des Hundes — Beitrag zur serologischen Diagnose.

MVDr Miroslav POTOČEK, Praha

Došlo dne 13. VII. 1956

Úvod

Toxoplasmosa je parazitární onemocnění, které postihuje téměř všechny druhy zvířat a je přenosné na člověka. Tomuto infekčnímu onemocnění je věnována v poslední době velká pozornost na celém světě jak v medicíně humánní, tak i veterinární, o čemž svědčí řada publikací a monografií. Vzhledem k ostatní světové literatuře je naše veterinární literatura chudá na zmínky o této zoonose. Tato práce se pokouší přiblížit problematiku toxoplasmosy a upozornit na nebezpečí, které vyplývá z nedostatečné znalosti a diagnostiky tohoto onemocnění. Zejména veterinární lékaři, kteří jsou více zainteresováni v klinice malých zvířat by měli toxoplasmose věnovati zvýšenou pozornost jak s hlediska vlastní léčby a prevence, tak i možnosti nakažení lidí, neboť zejména pes je uváděn mezi hlavními reservoáry a šířiteli tohoto onemocnění. Řešení problematiky toxoplasmosy psů je úzce spojeno s řešením klinického komplexu psinky.

Předem nutno předeslati, že toxoplasmosa je jak ve veterinární medicíně, tak i humánní medicíně jednou z nejméně vyřešených infekčních chorob. Důležitost zvýšeného výzkumu je opodstatněna s několika hledisek.

Vyřešení diagnostiky toxoplasmosy, její léčby a prevence by bylo také přínosem k objasnění t. zv. klinického komplexu psinky, pod kterýmžto pojmem se skrývá řada infekčních chorob [klasická psinka, tlapková nemoc (*Hard pad disease*), *Hepatitis canis contagiosa*, salmonellosa, pasteurellosa, leptospiroza, toxoplasmosa], jejichž klinický průběh, zvláště akutní formy, je velmi podobný. Diagnostika některých těchto chorob jest již vyřešena, a tak vyřešení diagnostiky toxoplasmosy by vneslo do tohoto širokého komplexu chorob psů další možnost jednotlivá onemocnění přesně diagnostikovat a specifikovat.

Dalším důvodem zvýšeného výzkumu, který nabývá v dnešní době mimořádného významu, je řešení toxoplasmosy s hlediska výzkumu zoonos, které se stávají problémem nesmírně aktuálním a které jsou v posledních letech jak ve veterinární, tak i humánní medicíně předmětem zvýšeného výzkumu. Jak ukazují výsledky různých prací, je toxoplasmosa na světě mnohem rozšířenější než se předpokládalo. Druhov a specialisace na hostitele je u toxoplasmat tak minimální jako dosud u žádného známého parazitického prvoka a jde snad o nejrozšířenější druh parazita vůbec (7). Jest domněnka, že toxoplasmosa může býti ohniskovou infekcí z přírodních reservoárů (13).

Dílčí poznatky o toxoplasmosi značně pokročily, nicméně však příčiny neobyčejného rozšíření toxoplasmosy u teplokrevných ssavců a u člověka nejsou dosud zcela objasněny (7) a problém toxoplasmosy není ukončen ani epidemiologicky ani diagnosticky, jakož i terapeuticky. P a t o č k a (13) mluví doslova o tom, že na záhadách toxoplasmosy nutno intenzivně pracovat, neboť skutečný význam toxoplasmosy pro pathogenesu lidských chorob se ve světle nových výzkumů teprve v nejnovější době stává jasným. Nutno zdůraznit, že v epidemiologii toxoplasmosy jest přisuzována velká důležitost psům, kteří mohou různým způsobem infikovat jak další zvířata tak i lidi (17).

Dalším důvodem vyřešení diagnostiky toxoplasmosy ve veterinární medicíně je ochrana zdraví člověka, která je samozřejmě jedním z nejpřednějších úkolů. Průběh toxoplasmosy u psa je v mnohém shodný s jinými nemocemi psa na člověka nepřenosnými (psinka) a pochopitelně chybné určení klinické diagnózy může vést k tomu, že s nemocným zvířetem je zacházeno jako s nebezpečným s hlediska přenesení nákazy na člověka.

Literární přehled

• Toxoplasma je ve veterinární medicíně známa již téměř 50 let a podle mnohých názorů patří mezi jednu z nejrozšířenějších zoonos mezi zvířaty domácimi i divoce žijícími. F a n k h a u s e r (3) uvádí 24 druhů zvířat, u nichž byla toxoplasma zjištěna, W i l d f ü h r (17), H a v l í k (cit. podle 7) a jiní autoři uvádějí další druhy. Vzhledem k velmi nízké druhové specializaci toxoplasmat lze předpokládat, že toxoplasmosou mohou onemocněti prakticky všechny druhy zvířat. Toxoplasma byla popsána také u plazů a ryb. Ssavčí toxoplasma se však na studenokrevné nikomu nepodařilo přenést, ač byly konány četné pokusy. Jde buď o druhy odlišné nebo o nezvratnou adaptaci na hostitele (7).

Původce onemocnění, nitrobuněčný parazit toxoplasma, byl po prvé objeven L a v e r a n e m v r. 1900, N i c o l l e a M a n c e a u x zjistili v roce 1908 *Toxoplasma Gondii* u afrického hlodavce *Ctenodactylus Gondii*. M e l l o v r. 1910 popsal první případ toxoplasmosy u psa. Přesto však ve veterinární medicíně hrála toxoplasma do nedávné doby podřadnou úlohu. S přibývajícím významem, kterou získala toxoplasma v humánní medicíně, obnovil se znovu zájem o toto parazitární onemocnění i v medicíně veterinární.

V humánní medicíně diagnostikoval první případ lidské toxoplasmosy v roce 1923 J a n k ů, v r. 1927 objevil T o r r è s v mozku kojence podobné útvary jako Janků. V r. 1937 popsal toxoplasmosu u kojence W o l f a C o w e n. Vlastní rok poznání lidské toxoplasmosy je r. 1939, kdy W o l f, C o w e n a P a i g e isolovali z tkáně kojence *Toxoplasma Gondii* a provedli další pasáž na laboratorních zvířatech. O t t o (10) předpokládá, že pozdní zjištění toxoplasmosy u lidí jest zdůvodněno tím, že původně toxoplasmat byla pro člověka nepathogenní a teprve později symbiosou s jinými zvířaty a člověka se staly pro člověka pathogenní.

Dříve se označoval původce toxoplasmosy podle druhu organismu, ze kterého byl izolován, toxoplasma bylo vždy popisováno jako samostatný druh a neslo druhový název podle hostitele: *T. cuniculi*, *canis*, *avium*, *columbae*, *hominis*. Později se však ukázalo, že na př. *T. canis* je infekční pro ptáky a naopak ptačími toxoplasmaty lze infikovat ssavce a že jde o parazity s identickými morfologickými, biologickými a imunologickými vlastnostmi. Když byla zjištěna serologická a imunobiologická totožnost zvířecích i lidských kmenů (R u c h m a n n, J o h a n s m a n n — cit. podle 17), bylo určeno jednotné po-

jmenování původce toxoplasmózy u všech pathogenních toxoplasmových kmenů — *Toxoplasma Gondii*. Určité rozdíly v patogenitě kmenů jsou, tyto rozdíly však jsou kvantitativní (17). S hlediska serologického jeví se všechny kmeny toxoplasmové identické, při vyhodnocení titru jsou však určité kvantitativní rozdíly. Homologní kmeny dávají titry nejvyšší (10).

Toxoplasma Gondii je obligátní intracelulární parazit délky 4–9 μ , šířky 2–4 μ . V barevných preparátech a vazivech jsou paraziti menší, jelikož se fixováním scvrkávají. Někdy vidíme velké formy, které snad vznikají v závislosti na imunním stavu hostitele. Tvar v typické formě je pŕlměsíčitý, rohlíčkovitý. Tento tvar, který nacházíme na př. v peritoneálním exudátu infikovaných myši, se může měnit, tak nacházíme v peritoneálním exudátu téže myšky parazity zaoblenější, které mimo jiné se špatněji barví, spolu s toxoplasmaty v typické formě rohlíčkové.

Vedle těchto extracelulárních větších forem nacházíme ve tkáních toxoplasmata více zaoblenější a menší, málokdy v typické formě.

Toxoplasma se množí výhradně v živých buňkách. Otázka průniku do buněk má pro vysvětlení pathogenese obzvláštní význam. Zdá se, že toxoplasma má vlastní aktivní pohyb. Holz popisuje rotační pohyb a na elektronových optických snímcích svalové fibrily jakožto pohybové organely. M a n w e l l a D r o b e c k popisují u parazitů vývrtkový průnik parazita do buňky, který trvá 30 minut. J í r o v e c, J í r a a L u d v í k pozorovali ve vlastních elektronových snímcích svazek kyjovitých fibril, které vystupují z vrcholu kužele na konci těl toxoplasmat a domnívají se, že tyto fibrily jsou vlastními organelami pohybu, jejichž pomocí pronikají toxoplasmata do buňky (7).

Noví paraziti mohou buňku opustit a napadati nové buňky — akutní stadium nemoci — nebo mohou v buňce zůstat a dále se dělit. V tom případě jsou paraziti stále menší. Buňka může být toxoplasmaty tak přeplněna, že ztrácí svůj vlastní charakter a v mikrofotografii nelze rozeznat její obrysy. S přibývajícím imunitou je rozmnožování toxoplasmat brzděno, při čemž vznikají toxoplasmové shluky, tak řečené pseudocysty s velkým množstvím malých parazitů. Tyto latentní infekce, při kterých průkaz parazitů histologicky je často velmi nesnadný, jsou často prokazatelné jen serologicky (16). Z dosud neznámých příčin (oslabení organismu, stoupnutí virulence) může dojít k prasknutí pseudocysty a uvolnění parazitů. Podle výzkumu F r e n k e l a (cit. podle 4) pseudocysty nebo též t. zv. terminální kolonie představují silně basofilní inaktivní formy, které jsou obklopeny silnou argyrofilní membranou a nejrůdnka též impregnované vápnem, zatím co aktivní formy — toxoplasmové kolonie, které mohou obsahovat až 100 parazitů a jejichž funkci označuje jako „multiplikativní formu“ — jsou podobné cystám s jemnou membranou.

Argyrofilní vzdorná membrana pseudocysty chrání parazity před účinkem serových protilátek. Pseudocysta jako terminální kolonie je konečná fáze buněčného parazitismu, ve které přežívají paraziti velmi dlouhou dobu, ne-li celý život hostitele při asymptomatickém průběhu infekce, takže jde vlastně o nosičství, které se vyzradí pozitivními seroreakcemi, případně až při histologickém vyšetření nebo přenosem suspense tkání na vnímavé zvíře (7). Je prokázáno, že protilátky v těle napadeného organismu se vytváří během 10–14 dnů po infekci. Vytvoření protilátek nemusí však mít vždy za následek zneškodnění toxoplasmat a je domněnka, že mladí paraziti jsou protilátkami zneškodněni, kdežto starší odolávají (10).

Na umělých půdách není možno toxoplasmata pěstovat. Udržují se na zvířatech, po nejvíce na bílé myšce, dále pak na kuřecích embryích, jakož i na tkáňových kulturách.

Odolnost parazita při pokojové a vyšší teplotě je poměrně malá. Po vy-

sušení materiálu, v němž je parazit (ascites, výkaly), dochází během několika hodin ke zničení toxoplasmat.

Pro lidi jsou nejdůležitějším zdrojem infekce beze sporu domácí a divoce žijící zvířata. Příkladem, kdy došlo prokazatelně k nakažení lidí od zvířat, je ve světové literatuře mnoho. Tak Wetsphal a Knüttgen zjistili latentní toxoplasmosu u ošetřovatele, který byl pokousán psem (17). Franka a Horst (cit. podle 17) uvádí, že 50 % pacientů, onemocněvších získanou toxoplasmosou, přišlo do styku s nemocnými infikovanými zvířaty:

Šíření a udržování infekce v přírodních podmínkách se děje:

1. přenosem kontaminovanými sekrety a exkrety,
2. přenosem perorálním,
3. přenosem kapénkovou infekcí,
4. přenosem krví ssajícími ektoparasity.

Sekrety a exkrekty z infikovaného organismu se mohou paraziti vylučovati do zevního prostředí močí, stolicí, hlenem nasofaryngeálním a bronchiálním, sputem i sekretem vaginálním a konjunktiválním.

Důležitým vektorem jsou ptáci, kteří svými výkaly mohou infekci zanáseti do vzdálených míst, což jistě také přispívá ke kosmopolitickému rozšíření toxoplasmosy bez geografických omezení.

Při přenosu perorálním dochází k infekci zvířat většinou požitím infikované potravy, kadaverů nebo krve ssajících ektoparasitů, kteří se infikují ssáním krve akutně nemocného zvířete při parasitaemii. Toxoplasmata zůstávají v těle ektoparasitů několik hodin virulentní a jich požitím se mohou infikovat další zvířata (17). Aktivní přenos bodnutím nakaženého členovce byl dlouhou dobu vylučován, jelikož se ho nepodařilo experimentálně dokázat. Nejnověji se podařil též aktivní přenos toxoplasmosy klíštětem a vši při ssání na laboratorních zvířatech — Woke a spol., 1954 (cit. podle 7). Podle pokusů Schmidtkého (cit. podle 17) jsou toxoplasmata při perorální infekci ničena žaludečními a střevními šťávami a infekce je možná jen při poranění sliznice ústní.

Vznik a průběh infekce je závislý na vnitřních a vnějších okolnostech, na stavu napadeného organismu, na způsobu infekce, na množství a virulenci samotného parazita a podle toho může onemocnění probíhat akutně nebo subakutně, chronicky či latentně. Jírovec (7) vyjadřuje závislost průběhu infekce na množství vniklých parazitů tak, že latentní infekce vzniká při vniknutí malého množství parazitů, akutní nebo subakutní vzniká při vniknutí velkého množství parazitů a jestliže tato fáze neskončila letálně, přechází v chronickou nebo latentní. Při malé subinfekční dávce parazitů se vyvine imunita dříve než se toxoplasmata pomnoží na letální dávku a tak je akutní infekce zdolána. Postupná tvorba protilátek umožňuje vývin subakutního stadia toxoplasmosy. Průběh toxoplasmosy závisí také na hostiteli, u zvířete málo vnímavého (krysa, pes, opice) vzniká toxoplasmosa chronická, avšak chronická infekce se může vyvinouti i u vnímavého zvířete (7). Průběh infekce však v nemalé míře závisí na způsobu infekce, neboť podle našich pokusů u psa po inokulaci i. v. nebo i. p. vzniká toxoplasmosa akutní s letálním koncem. V literatuře je rovněž uváděno dosti případů akutní infekce u psa s letálním průběhem — Flir (4), Fankhauser (3) a jiní.

Toxoplasmosa u psa

Podle literárních údajů je toxoplasmosa daleko rozšířenější než doposud bylo udáváno. Otten a spol. (12) uvádějí, že všechny klinické psinky, zejména ve vyšším stáří, nutno posuzovat jako vysoce podezřelé z toxoplasmosy.

Akutní stadium u psa se zejména vyznačuje nervovými příznaky a chronickými průjmy (12). Rovněž Bindrich (1) uvádí, že při infekčních onemocnění CNS nutno zvláště jmenovati toxoplasmosu, která staršími autory byla dříve popisována jako psinka. Vedle celkových příznaků, jako horečka, gastrointestinální poruchy, rhinitis, pneumonie, stojí v popředí zájmu nervové příznaky jako ataxie, poruchy vědomí, epileptické záchvaty. Immisch (6) v přehledu hannoverské kliniky malých zvířat v r. 1951—53 uvádí, že ze psů, léčených na infekční choroby, bylo 81,3 % psinka, 13 % leptospiroza, 3,3 % *Hard pad disease*, 0,9 % toxoplasmosa, 0,9 % *hepatitis canis contagiosa*. Konstatuje, že v posledních letech ubývá výskyt psinky a leptospirosy. Otten, Wetsphal, Kahaja (12) vyšetřovali 84 psů Sabin-Feldmannovým testem, z toho reagovalo pozitivně v titru 1 : 25—1 : 800 30 psů, t. j. 28 %. Z 35 psů zdravých nebo nemocných nikoliv toxoplasmosou vykazovalo 7 pozitivní výsledky Sabin-Feldmannova testu, t. j. 20 %. Ve zvláštní skupině 26 psů nemocných „nervovou psinkou“ bylo 13 pozitivních, t. j. 50 %. Z 15 psů trpících chronickým neutěšitelným průjmem bylo 7 pozitivních.

Pokud jde o klinické příznaky spontánně onemocnělých psů uvádí Flir (4) při pozorování vlastního případu, že v popředí stojí nejdříve gastrické symptomy s úplnou inapetencí a neutěšitelným zvracením, k tomu přistupuje stupňující se dyspnoe a poruchy centrálního nervového systému, ataktická chůze a poruchy koordinace. Teplota 40,4° C šestý den, uhynutí nastalo osmý den.

Fankhauser (3) na základě 12 vlastních autopsicky potvrzených případů popisuje toxoplasmosu u psů, jež může probíhati formou viscerální nebo cerebrální, případně obě formy onemocnění mohou probíhati současně.

Viscerální forma se projevuje klinicky horečkou 39°—40° C, ztrátou chuti, chronickým často krvavým průjmem, ikterem. Později nastává pneumonie s kašlem. Na začátku onemocnění může být tonsillitis, případně exanthem. Ve 3 případech pozoroval hyperkeratosu tlapek, která je často uváděna jako specifický příznak tlapkové nemoci (*Hard pad disease*).

Cerebrální forma se projevuje velmi rozmanitými příznaky meningoencefalitickými. Je zjišťována apathie, ztrnulý ataktický pohyb, manéžové pohyby, anisokorie a nehybnost zornic, psychické změny jako snaha po uniknutí, kousavost, neklid, částečné nebo úplné obrny, poruchy sfinkterů (retence nebo inkontinence), třes jednotlivých částí nebo celého těla, myoklonie končetin a obličejů, epileptické záchvaty, ataxie, mydriase, výhřez třetího víčka, nastříknutí konjunktiválních cév, ztrnulé držení hlavy. Fankhauser zdůrazňuje, že zjišťované klinické symptomy jsou shodné s příznaky meningoencefalitid jiné etiologie, které jsou často shrnovány jako psinkové encefalitidy.

Z uvedeného je jasno, že stanovení klinické diagnózy toxoplasmosy je velmi obtížné a může být přesně určeno jen při pozitivním nálezů parazitů. Nutno však dodat, že nález parazitů je mnohdy také velmi obtížný. Carstensen (2) uvádí, že vysoké procento serologicky pozitivních případů (až 60 %) je v protikladu s řídkým průkazem parazitů (0,16 %) v r. 1945—53 pitvaných psů v Hannoveru. Podstata tohoto rozdílu může být v tom, že buď serologické reakce nejsou dostatečně specifické nebo že při latentních infekcích dosud neznáme sídlo toxoplasmat. Výzkum dosud neznámého vývojového cyklu parazita může snad tuto otázku osvětliti. U 7 klinicky podezřelých psů z toxoplasmosy, pozitivních jak Sabin-Feldmannovým testem, tak i vazbou komplementu, nemohla být toxoplasmata v orgánech histologicky prokázána.

Velkou pomoc při stanovení klinické diagnózy přináší diagnostické a serologické reakce — Frenkelův kožní test, Sabin-Feldmannův test (SFT) a vazba komplementu (VK), které ostatní serologické reakce zatlačily do pozadí. Tyto reakce jsou založeny na tom, že překonaná toxoplasmosa vy-

volá tvorbu protilátek serologicky prokazatelných a zanechává dlouhotrvající imunitu.

Podle Hallmanna (5) kožní test podle Frenkela nedovoluje kvantitativní vyhodnocení a osvědčil se v klinice jako orientační zkouška. Frenkelův test, zavedený do diagnostiky Frenkelem r. 1948, souhlasí podle Petrovického (15) s neutralizačním testem a vazbou komplementu zhruba na 90 %, se Sabin-Feldmannovým testem na 92 %. Diferenciálně diagnostická cena těchto testů je značně zmenšována u dospělých, neboť čím starší ročníky, tím více pozitivních nálezů.

Neiditch uvádí určitou nespecifičnost kožního testu podle Frenkela, zatím co Tilling a Mohr potvrzují souhlasné výsledky se serologickými reakcemi (cit. podle 17). Wildföhr (17) na základě zkušeností s jinými kožními testy doporučuje při jednotlivých případech zásadně prováděti serologické reakce a kožní test omeziti na hromadná vyšetřování za účelem zjištění promoření.

Pokud jde o serologické reakce SFT a VK, většina autorů se shoduje v tom, že výsledky obou reakcí jsou shodné (Westphal, Bleier, Kabelitz, Siebert — cit. podle 17). Hallmann (5) uvádí, že je nutno bráti v úvahu to, že obě reakce jsou založeny na rozdílných imunologických postupech a z toho důvodu nejsou jejich výsledky vždy shodné a navzájem se doplňují. Pokud jde o serologickou povahu protilátek, zjišťovaných jednak SFT, jednak VK, nejsou názory jednotné. Hogan na př. připouští existenci dvou druhově rozdílných protilátek, naproti tomu Winsser a Makstenieks mluví o identitě protilátek (cit. podle 17).

SFT je pozitivní dříve, již několik dnů p. i. a také delší dobu než VK, která je pozitivní později, teprve po 2—4 týdnech, ale je také rychleji negativní (17, 5). Pravděpodobně z toho důvodu Westphal soudí, že aktivní případy infekce ukazuje lépe VK než SFT a využívá tohoto serologického vztahu mezi VK a SFT k diagnostickému účelu. Současné stoupnutí obou titrů svědčí pro akutní toxoplasmosu, při čemž na začátku onemocnění může býti ještě VK negativní. Po proběhlém onemocnění je zjišťován vedle negativního nebo slabého titru VK ještě pozitivní SFT s mírným titrem (cit. podle 17). Bindrich (1) uvádí, že v poslední době SFT v diagnostice toxoplasmosy se zdá býti vytlačován vazbou komplementu. Gard (cit. podle 10) uvádí, že pro klinické účely je nejvhodnější VK s toxoplasminem nebo infikovanými chorio-allantoidními blanami, Otten a spol. (12) uvádí, že SFT má své uplatnění při klinické diferenciální diagnóze, neboť při serologickém sledování případů toxoplasmosy u psů delší dobu (3 měsíce) zůstávají hodnoty titru v mezích přípustných chyb přibližně ve stejných hodnotách.

Specifičnost serologických reakcí u VK není ještě rozřešena. Hallmann (5) přisuzuje VK větší specifičnost než SFT. Westphal (cit. podle 17) však poukazuje na to, že VK je s toxoplasmovým antigenem pozitivní i při infekcích *Trypanosoma cruzi* a *Trypanosoma lewisi*.

Sabin-Feldmannův test byl dříve posuzován jako specifický. Později však mu byla připisována jen jistá specifičnost, neboť byly pozorovány nespecifické reakce při jiných onemocněních. Výsledek reakce SFT nutno hodnotiti spolu s klinickým obrazem, nálezem parazitů, případně jejich vylučování exkrety, v likvoru, krvi, případně histologickým nálezem.

Michalzik (cit. podle 10) shledal, že SFT je pozitivní při nemocech, způsobených Flagellaly (*Trichomonas vaginalis*), Mühlpfordt, Mohr, Hein, Wildföhr (cit. podle 17) zjistili pozitivnost SFT při Sarkosporidiose, tuberkulóze (při které zjištěny titry až 1 : 800), takže o jednoznačnosti speci-

fičnosti SFT je nyní pochybováno a je názor, že u SFT jde o skupinovou reakci pro různá protozoární onemocnění.

SFT je reakce složitá, vyžaduje značných zkušeností, poměrně drahá. Nelze též nepřihlídnout k tomu, že při provádění SFT jsou metodické těžkosti, které serologický výsledek mohou klamně utvářeti. Rozhodující roli má použitá methylenová modř, jejíž rozdílná barvicí schopnost, jakož i doba potřebná k obarvení má velký vliv na barvitelnost toxoplasmat a podmiňuje výši titru (10, 5). Různá barvitelnost methylenové modři je způsobena rozdílnou kolloidální strukturou barviv (16).

U reakce SFT jde v podstatě o narušení barvitelnosti toxoplasmat methylenovou modří za přítomnosti protilátek. Ředění sera, při kterém ještě 50 % toxoplasmat zůstává neobarveno, představuje titr protilátek. K tomuto zjevu dochází tím, že protilátky, jakož i normální serové bílkoviny, přilnou na živého parazita. V důsledku tohoto kolloidálního navrstvení na povrch parazita dochází ke změně poměrů v elektrickém náboji, čímž je snížena propustnost barviva povrchem parazita (17).

Pro praktické provádění SFT je důležité, že v odebrané krvi neutralisující protilátky v krátkém čase mizí. Proto je třeba na vyšetření zasílati serum inaktivované při 56° C, ve kterém protilátky se delší dobu udrží (17). Jestliže při provádění SFT jsou určité metodické těžkosti, vlastní hodnocení výsledků reakce vyžaduje značných zkušeností a rozdíly v hodnocení reakce jsou velké. Hranice titrů hodnocených jako reakce pozitivní kolísají od 1 : 12 do 1 : 128. Tak Westphal (cit. podle 10, 17) hodnotí pozitivní reakci při titru 1 : 25 až 1 : 50, Winsser a Makstenieks 1 : 100, Sabin 1 : 80—1 : 128. Otto (10) uzavírá, že jen vysoké titry a pak také stoupnutí či klesání titru může býti průkazné pro serologickou diagnosu toxoplasmosy. Zejména při terénním průzkumu mohou nízké titry, hodnocené jako pozitivní, dáti nesprávný obraz o promoření toxoplasmosou. Serologické výsledky při chronických a latentních infekcích lze těžko hodnotiti, jelikož slabě pozitivní výsledky přichází někdy i u zdravých.

Pokud jde o hodnocení nižších titrů, zda jsou specifické či nespecifické, nejsou názory jednotné. Někteří autoři je hodnotí jako výraz latentní infekce, jiní je hodnotí jako reakce nespecifické. Nověji Keller a Vivell (cit. podle 17) jsou pro specifické hodnocení nízkých titrů a svůj názor zdůvodňují shodností těchto výsledků s výsledky toxoplasminového kožního testu. Wildföhr (cit. podle 17) je rovněž pro hodnocení nízkých titrů na základě toho, že pokus na zvířeti je i v těchto případech pozitivní. Rovněž uvádí, že pokus na zvířeti může býti pozitivní i při negativním serologickém výsledku, což vysvětluje tím, že jde buď o případy, při nichž nebyly protilátky ještě vytvořeny, nebo že titr protilátek již klesl. Uvádí, že po odeznění akutního stadia nemoci klesá titr na nízké hodnoty až k negativnosti během několika měsíců. Z těchto důvodů nutno počítati i s hodnocením nízkých reakcí, přesto však i ve specifickém hodnocení nízkých titrů musí býti jisté omezení. Hallmann (5) rovněž doporučuje opatrné hodnocení nízkých titrů.

Wildföhr (17) uvádí, že výše zjišťovaných titrů u VK je o 1—2 stupně nižší než při SFT. Petrovický (14) však uvádí případ pacientky, u které SFT byl pozitivní 1 : 5, kdežto VK 1 : 50 a o pět dnů později dokonce 1 : 100 a Frenkelův test byl jasně pozitivní i ve zředění 1 : 100, při čemž VK i Frenkelův kožní test byly provedeny originálním antigenem Westphalovým.

Z uvedených literárních údajů je patrné, že názory na hodnocení serologických reakcí VK a SFT, jakož i hodnocení Frenkelova kožního testu nejsou jednotné. V poslední době však VK jest dávána některými autory přednost před prováděním SFT, snad vzhledem k dosti značné nespecifičnosti SFT a také

vzhledem k určitým metodickým potížím, které jsou při provádění SFT. U VK nutno vzít v úvahu nejen snadné provádění, které není tak ovlivňováno jednotlivými složkami zúčastněnými v reakci, ale i jednoznačné odečítání výsledku reakce a hodnocení výsledku, které není ovlivněno subjektivním hodnocením posuzujících.

V každém případě by bylo však správné při serologickém vyšetřování jednotlivých případů podezřelých z toxoplasmózy používatí obou serologických metod, VK i SFT, případně ještě též za kontroly kožního testu, jednak za účelem omezení diagnostických chyb, ale také vzhledem k tomu, že výsledků obou reakcí současně prováděných lze podle Wetsphala využít k diagnostickým účelům klinickým. Nutno si však uvědomiti, že u serologických reakcí jde jen o nepřímý průkaz infekce, o pomoc při klinickém vyšetření. Stanovení serologické diagnózy nemůže nahraditi klinickou diagnózu s přímým průkazem parazita.

Část experimentální

Na základě literárních údajů o serologické diagnostice toxoplasmózy jsme se rozhodli použítí a propracovati reakci vazby komplementu k serologické diagnostice toxoplasmózy u psů. Jelikož jsme neměli příležitost sledovat klinický případ spontánní toxoplasmózy u psa, museli jsme se spokojiti s literárními údaji o shodnosti průběhu toxoplasmózy u psa, spontánní a experimentálně vyvolané. Carstensen (2) uvádí, že na základě pozorování průběhu spontánní toxoplasmózy a experimentálních infekcí nevyvolávaly experimentální infekce žádných klinických nebo morfologických rozdílů proti spontánnímu onemocnění, takže experimentální toxoplasmóza je vhodná přispět k výzkumu spontánní toxoplasmózy u psa.

Pracovali jsme s kmenem *Toxoplasma Gondii*, který nám laskavě poskytli Dr Jíra.

1. Udržování kmene *Toxoplasma Gondii*

Kmen *Toxoplasma Gondii* udržujeme soustavnými pasážemi na bílých myškách. U myšek vzniká generalisovaná akutní toxoplasmóza se smrtelným koncem 3.—5. den po p. i. Přeočkování materiálu je prováděno 3. a 4. den. Infikovaná myška je utracena, sterilně odebrán peritoneální exudát, ze kterého je zhotoven preparát a obarven methylenovou modří. Mikroskopicky je kontrolován na přítomnost toxoplasmat a zda není bakteriálně znečištěn. Z jedné myšky možno získat 0,2 ml—1,00 ml exudátu. Pak je exudát zředěn sterilním fyziologickým roztokem v poměru 1 : 10 a provedena další pasáž i. p. inokulací 0,2 ml zředěného peritoneálního exudátu. Během pasážování nebyly zjištěny změny v infekciostě pasážovaného kmene.

2. Kultivace *Toxoplasma Gondii* na kuřecích embryích

Kmen *Toxoplasma* jsme adaptovali na kuřecí embrya za tím účelem, aby mohl býti připraven antigen pro vazbu komplementu z chorio-allantoidních blan infikovaných kuřecích embryí. Kmen na kuřecích embryích udržujeme souběžně s pasážemi na myškách.

Jelikož peritoneální exudát pro kultivaci na kuřecích embryích musí být bakteriálně sterilní, ověřili jsme si, zda penicilin a streptomycin i ve vyšších koncentracích in vitro nepůsobí nepříznivě na životnost toxoplasmat. Na 1 ml zředěného peritoneálního exudátu bylo přidáváno 100 až 1.000 jednotek penicilinu a totéž množství streptomycinu. Takto antibiotiky preparovaný exudát

byl po 1 hodině stání při pokojové teplotě inokulován i. p. myškám. Exudát byl plně infekční pro myšky. Tím bylo ověřeno, že tato antibiotika nepůsobí ani ve vyšší koncentraci škodlivě na *Toxoplasma Gondii*.

Kultivace a adaptace kmene byla prováděna tak, že peritoneálním exudátem byla infikována 7—12denní kuřecí embrya na chorio-allantoidní blánu a otevírána 2.—5. den p. i. Výsledky ukázaly, že nejvhodnější pro infikování jsou jedenáctidenní embrya a pro odebrání chorio-allantoidních blan je nejvhodnější 4. den. Infekce kuřecích embryí toxoplasmaty se projevují, jako silné laese na chorio-allantoidních blanách s vytvořením se přesně ohraničených bělošedých fokusů, které při větším pomnožení toxoplasmat splývají. V důsledku infekce embrya 4.—5. den hynou.

Embryonální pasáže *Toxoplasma Gondii* jsou běžně prováděny tak, že čtvrtý den po infekci jsou infikovaná vejce otevřena, vyjmuty chorio-allantoidní blány a odsáta allantoidní tekutina. Z každého choria je část odstřižnuta za účelem provedení kontroly na bakteriální sterilitu. Choria jsou pak rozetřena se sterilním pískem a přidáním 0,5 ml allantoidní tekutiny na 1 chorio-allantoidní blánu je připravena suspence, která je krátce odstředěna při 1.000 obrátkách za min. za účelem sedimentace písku. Při vyšších obrátkách a delším centrifugování by byla toxoplasmata stržena do sedimentu. Po odstředění je supernatant odsát, na 1 ml suspence je přidáno 1.000 jednotek penicilinu a 1.000 jednotek streptomycinu. Suspence s antibiotiky je ponechána 1 hodinu při pokojové teplotě a pak je provedena další embryonální pasáž naočkováním 0,2 ml suspence na chorio-allantoidní blánu 11denních embryí. Roztěry chorio-allantoidních blan jsou mikroskopicky kontrolovány na přítomnost toxoplasmat. Při embryonálních pasážích je zjišťována infekciosita chorií pokusem na myškách, které jsou infikovány i. p. 0,2 ml suspence chorií, kterou jsou infikována další embrya. Bylo provedeno 86 embryonálních pasáží, aniž by byla zaznamenána změna infekciosity kmene pasážovaného na kuřecích embryích pro myšky. Změny, které jsou zjišťovány na chorio-allantoidních blanách, jsou specifické pro infekci toxoplasmosou.

3. Pokusná infekce psů

Za účelem zjištění infekciosity pasážovaného kmene *Toxoplasma Gondii* pro psy, jakož i ke zjištění klinického průběhu toxoplasmosy, byly provedeny pokusné infekce psů různého stáří, pohlaví a ras. Infekce byly provedeny peritoneálním exudátem infikovaných myšek subkutánně, intraperitoneálně, intravenózně a per os zkrmením infikovaných myšek.

Celkem bylo infikováno 22 psů:

- sct.: 9 psů — 1 uhynul,
4 onemocněli za klinických příznaků: inapetence, zvracení, conjunctivitis, horečky,
4 klinicky neonemocněli,
- i. v.: 6 psů — u všech proběhla infekce letálně za klinických příznaků: inapetence, conjunctivitis, rhinitis, průjem někdy krvavý, apatie, horečka,
- i. p.: 3 psi — u všech proběhla infekce letálně za těchto klinických příznaků jako po i. v. infekci,
- p. os.: 4 psi — 1 uhynul za klinických příznaků: inapetence, průjem, apatie, horečka,
1 onemocněl lehce pouze za klinických příznaků: conj. cath.,
2 klinicky neonemocněli.

Ze 17 onemocnělých psů se u 15 projevila infekce formou viscerální, u 2 psů formou viscerální s mírnými příznaky formy cerebrální.

Inkubační doba byla 3—8 dnů. K uhynutí došlo během 4—18 dnů.

Zpětný průkaz infekce byl proveden infikováním myšek orgány uhynulých infikovaných psů. Ve všech případech byla infekce pokusem na myškách potvrzena.

Rovněž histologicky byla prokázána toxoplasmata v orgánech.

Pitvou bylo zjištěno:

Plicе: edem plic, pod pleurou petechie a šedožluté uzlíky, které jsou i v hloubce parenchymu, intersticiální pneumonie.

Srdce: dilatace pravého srdce, degenerace srdečního svalu.

Játra: zduřelá, křehké konsistence, mosaiková, četné nekrotické uzlíky velikosti špendlíkové hlavičky, *hepatitis parenchymatosa*.

Slezina: tumor *lienitis hyperemicus*, četná nekrotická ložiska velikosti špendlíkové hlavičky.

Ledviny: *nefritis interstitialis*.

Mesenteriální mizní uzliny: zduřelé, na řezu šedobílé s četnými krváceninami, struktura setřená.

Žaludek a střeva: sliznice edematosně zduřelá, difusně zarudlá, *gastroenteritis catharalis*.

Mozek: petechie na mozkku, jakož i na klenbě lebky.

4. Metodika vazby komplementu

Přesto, že metodika vazby komplementu je známa, metodické potíže při provádění vazby komplementu nejsou celkem žádné a výsledky VK jsou snadno a jednoznačně odečitelné, je třeba zachovávat jistých pravidel. Abychom se pokud možno vyvarovali chyb, které mohou nastat, ať už při vlastním provádění nebo použitím nevhodných ingredientů ve VK, je třeba zejména pečlivého provedení předpokusů, ve kterých jsou ověřeny jednotlivé složky VK. Vzhledem k uvedenému popíši poněkud podrobněji metodiku námi prováděné VK.

a) Komplement

Kvalita komplementu hraje význačnou roli při VK. Komplement získáme ze zdravých, předtím k žádným jiným pokusům nepoužitých morčat — samců, o váze minimálně 400 g. Morčata před odběrem krve jsou hojně krmena zeleným krmivem. Krev odebráme srdeční punkcí vždy z více morčat najednou. Krev je odebrána před krmením a zachycena do sterilních centrifugačních zkumavek, které jsou ihned vloženy do ledničky (2—4° C), kde jsou ponechány přes noc. Druhý den krevní koláč je opatrně odloupen od stěny zkumavky a krev je odstředována 10 minut při 1.000 obrátkách. Pak sérum odssajeme a všechna sera smícháme. Sera částečně haemolytická jsou vyřazena. Smíchané serum ještě jednou odstředíme, aby neobsahovalo červené krvinky. Smícháním sera získáme na delší dobu větší množství stejně kvalitního komplementu. Získaný komplement ponecháme před použitím ještě aspoň 2 dny v lednici při —40° C. Pak je komplement rozplněn do ampulek po 1—2 ml, ampulky zataveny a uloženy opět při —40° C k dalšímu použití. Při rozplnění je provedena první titrace komplementu.

Jestliže se zpracovává komplement ihned po odebrání krve bez předběžného ponechání v lednici, získáme komplement méně kvalitní. V nutném případě při použití takto čerstvě získaného komplementu musíme při titraci komplementu (určení pracovní dávky) postupovati velmi opatrně a počítati s tím, že při provádění VK dojde ke klesnutí titru komplementu.

Ke konservování komplementu jsou používány chemické prostředky, vysušení komplementu nebo zmrazení. Přesto, že s lyofylisovaným komplemen-

Přehled průběhu infekce některých pokusně infikovaných psů

Pes. č.	Datum infekce	Datum uhynutí	Způsob infekce	Materiál	Klinický průběh
2	29. 3.	9. 4.	sct. 0,5 ml	exudát myšek	4. 4. — conjunctivitis, zvracení 5. 4. — až do uhynutí úplná inapetence teplota: 1. — 9. 4. — 39,5° — 40,5 °C
4	12. 8.	—	sct. 0,5 ml	exudát myšek	18.—22. 8. — mírná inapetence 29. 8. — zvracení 30. 8.—4. 9. — inapetence, conj. teplota: 18.—22. 8. — 39° — 39,9 °C 29. 8.—6. 9. — 39,6° — 40,8 °C od 7. 9. bez klinických příznaků
6	27. 8.	1. 9.	i. v. 0,5 ml	játra slezina myšky	30. 8. — průjem teplota: 29. 8.—1. 9. — 39,6°—40,5 °C
25	11. 6.	19. 6.	i. v. 0,5 ml	exudát myšek	13.—15. 6. — inapetence 16.—19. 6. — úplná inapetence 14.—19. 6. — krvavý průjem teplota: 14.—19. 6. — 39,7°—40,6 °C
10	24. 11.	1. 12.	i. p. 0,5 ml	exudát myšek	28. 11.—1. 12. — průjem, inapetence, conjunctivitis teplota: 27. 11.—1. 12. — 39,6°—40,7 °C
19	1. 5.	25. 5.	p. os	infekce myška	18.—19. 5. — mírná inapetence 20.—25. 5. — úplná inapetence, průjem 22.—25. 5. — apatie, tetanie teplota: 14.—24. 5. — 39,0°—40,4 °C
20	11. 5.	—	p. os	inf. myška	25. 5.—10. 6. — střídavá inapetence teplota: 16.—22. 5. — 39,4°—40,6 °C

tem jsou dobré výsledky, používáme konservaci komplementu zmražením, což se nám dobře osvědčilo. Zmražený komplement, rozplněný do zatavených ampulek, uchová si svou hodnotu i 8 měsíců bez podstatného snížení titru. Lze

si tak udělati dostatečnou zásobu hodnotného komplementu pro zimní měsíce, kdy kvalita komplementu je horší v důsledku nedostatku zeleného krmení. Předpokládá to ovšem mít k dispozici ledničku s chlazením na nízké teploty, používanou běžně v nepřetržitém provozu pro jiné účely, neboť uchovávání komplementu na suchém ledu by bylo dosti nákladné.

Určení pracovní dávky komplementu:

Pracovní dávku komplementu určíme v předpokusech v přítomnosti jednotlivých složek VK — antigenů a ser. Pracovní dávka je množství (ředění) komplementu, které ještě způsobí úplnou haemolysu za přítomnosti jednotlivých ingredientů, které budou použity v hlavním pokusu VK. V hlavním pokusu pak používáme 4 ředění komplementu — 1, 1,5, 2, 3 dávky základní vytitrované pracovní dávky komplementu.

b) Haemolytické králičí serum (amboceptor):

Používáme běžně vyráběného sera s titrem nejméně 1 : 4.000. Pro VK pak používáme čtyřnásobné množství, tudíž na př. ředění 1 : 1.000. Chyby způsobené haemolytickým serem prakticky nepřichází v úvahu. K přípravě ředění sera nepoužíváme však menší množství než 0,1 ml, jelikož použití menšího množství by mohlo vzhledem k malému množství sera vésti k chybě při odměřování. Tato menší chyba by při samotné VK neměla vliv na výsledek, ale při srovnávání výsledků s případným pozdějším druhým vyšetřením téhož sera by se mohla projevit v kombinaci s možnou chybou v přípravě ředění komplementu.

c) Beranní krvinky:

Beranní krvinky musí být získány ze zvířete zdravého, ne anemického v důsledku častých odběrů, s normálním obsahem haemoglobinu. Krev je odebrána z *vena jugularis* do sterilní Erlenmayerovy baňky se skleněnými kuličkami a pomalým, ne příliš silným třepáním jest defibrinována. Defibrinovaná krev je přefiltrována přes sterilní gázu, centrifugována 10 minut při 2.000 obrátkách a získané krvinky jsou pak tak dlouho propírány s fyziologickým roztokem, až tento po odstředění zůstává nezbarven. Proprané krvinky nutno zkontrolovat, zda spontánně nehaemolysují, případně zda u nich není zvýšena resistance proti haemolyse. V obou zjištěných případech nutno krvinky vyřaditi. Takto získané krvinky používáme 3—6 dnů.

Haemolytický systém:

Haemolytický systém připravujeme smícháním stejného dílu 3% suspense beranních krvinek s haemolytickým serem. Před přidáním do VK směs sensibilisujeme 30 minut při normální pokojové teplotě.

d) Antigen:

Je všeobecně známo, že výsledek VK je velmi závislý na vhodnosti a jakosti použitého antigenu. Jako antigen při VK na toxoplasmosu je používán peritoneální exudát z myšek, infikovaných toxoplasmaty, a antigen připravený z chorio-allantoidních blan infikovaných kuřecích embryí. K přípravě antigenu jsme použili jednak běžně pasážovaného kmene *Toxoplasma* na kuřecích embryích, jednak přímého naočkování exudátu infikovaných myšek na kuřecí embrya. Čtvrtý den po naočkování jsou vejce otevřena, CHA odebrána a promývána několikrát ve fyziologickém roztoku až tento zůstane úplně čistý. Pak jsou CHA dobře rozetřena s rozdrčeným sklem a na každé chorio přidáno 0,5 ml 0,3 % fenolovaného fyziologického roztoku. Rozetřená choria jsou pak uložena na 7 dní do lednice při 2—4° C. Po 7 dnech je suspense odstředěna 15 mi-

nut při 2.000 obrátkách a získané množství antigenu je rozděleno na 2 stejné části. Polovina je ponechána dalších 7 dnů v lednici při 2–4° C, druhá polovina je pak po pět dnů 5krát zmrazována na –40° C a rozmrazována. Po pátém rozmrazení je antigen odstředěn 15 minut při 2.000 obrátkách. Tímto způsobem získáme 2 druhy antigenu. První, který nebyl zmrazován, je čirý a má nažloutlou barvu, druhý, vymrazovaný, je úplně čirý a téměř bezbarvý.

Pak následuje vytitrování antigenů. Většinou antigeny nemají antikomplementární účinek. Jestliže je zjištěn i mírný antikomplementární účinek antigenu v ředění 1 : 10, je vyřazen. Vlastní vytitrování antigenu provádíme se známým hyperimunním serem za účelem zjištění nejvhodnějšího ředění antigenu, za které pokládáme to nejvyšší ředění antigenu, které ještě s hyperimunním serem v ředění 1 : 100 dává jasně pozitivní reakci. Toto nejvhodnější zjištěné ředění antigenu kontrolujeme ještě se zaručeně negativním serem, se kterým antigen nesmí dáti nespecifickou reakci. Používání nízkých ředění antigenu se pokud možno vyvarujeme, abychom omezili na nejmenší míru nespecifické reakce. Stává se totiž, že spojením sera a antigenu je někdy zvyšován vliv na nespecifickou zábranu haemolysy.

Tab. 1. Vyhodnocení antigenu Tx vymrazovaného a nevymrazovaného.

Komplement		1 : 10	1 : 15	1 : 20	1 : 30
Hyperimunní serum Tx ředění 1 : 100					
Antigen Tx nevymrazovaný	1 : 10	++++	++++	++++	++++
	1 : 20	—	+++	++++	++++
	1 : 40	—	—	++++	++++
	1 : 60	—	—	++	++++
	1 : 80	—	—	—	+++
	1 : 100	—	—	—	++
Antigen Tx vymrazovaný	1 : 10	—	++++	++++	++++
	1 : 20	—	+	+++	++++
	1 : 40	—	—	++	++++
	1 : 60	—	—	—	+++
	1 : 80	—	—	—	++
	1 : 100	—	—	—	+

Vyhodnocení:

Pro VK lze použít antigen nevymrazovaný v ředění 1 : 20–1 : 40, antigen vymrazovaný v ředění 1 : 10.

Negativní antigen ke kontrole je připravován z chorií neinfikovaných kuřecích embryí tímto způsobem jako antigen toxoplasmový.

e) Hyperimunní serum:

K získání hyperimunního sera jsme použili 2 psů, kteří při pokusné infekci neonemocněli letálně (pes čís. 1 a 3, infikovaní subkutánně peritoneálním exudátem infikovaných myšek). Jeden měsíc po provedené pokusné infekci byl každý pes doimunisován pěti stoupajícími dávkami peritoneálního exudátu myšek v intervalu 2 dnů:

1. den — 0,5 ml perit. exudátu i. v.
3. den — 1,0 ml perit. exudátu i. v.
5. den — 1,5 ml perit. exudátu i. v.
7. den — 2,0 ml perit. exudátu i. v.
9. den — 3,0 ml perit. exudátu i. v.

Po sedmi dnech od poslední inokulace byla odebrána krev a získané serum inaktivováno 30 minut při 56° C. Hyperimunní serum je vytitrováno za účelem zjištění nejvyššího zjistitelného titru, rozplněno do ampulek po 1 ml a uloženo do lednice při -40° C bez jakýchkoliv konzervačních přísad.

Tab. 2. Vyhodnocení hyperimunního sera psů čís. 1 a 3.

Komplement		1 : 10	1 : 15	1 : 20	1 : 30
Antigen Tx nevymražený ředění 1 : 20					
Hyperimunní serum psa č. 1	1 : 100	+++	++++	++++	++++
	1 : 200	—	+++	++++	++++
	1 : 400	—	—	++++	++++
	1 : 800	—	—	++	++++
	1 : 1600	—	—	—	+++
	1 : 3200	—	—	—	+
Hyperimunní serum psa č. 3	1 : 100	—	+++	++++	++++
	1 : 200	—	+	++++	++++
	1 : 400	—	—	++	++++
	1 : 800	—	—	+	+++
	1 : 1600	—	—	—	+
	1 : 3200	—	—	—	—

Vyhodnocení:

Hyperimunní serum psa čís. 1 má titr 1 : 1600, psa čís. 3 1 : 800.

f) Vyšetřované serum:

Serum na vyšetření připravíme tak, že krev po odběru necháme 30 minut stát při pokojové teplotě a po odloupení krevního koláče odstředíme. Získané serum inaktivujeme 30 minut při 56° C, uložíme do ledničky a druhý den pak vyšetřujeme. Jestliže serum nevyšetřujeme následující den, uchováme serum až do vyšetření zmražené. Jestliže vyšetřujeme krev psa několikrát za účelem zjištění stoupnutí či klesnutí titru při pokusných infekcích, uchovávané vyšetřované sera jednotlivých krevních odběrů zmražená při -40° C a po skončení pokusu provádíme vyšetření všech ser ještě jednou v jedné vazbě.

g) Provádění vlastní vazby komplementu — hlavního pokusu

Vazbu komplementu provádíme v modifikaci dlouhodobého spojování za chladu místo krátkodobé vazby. Tato metoda je citlivější a umožní nám lepší vyhodnocení vyšetřovaného sera. Jest sice zdoluhavější, výsledek je zpožděn o 24 hodiny, ale je přesnější a citlivější.

Je samozřejmé, že jestliže vyhodnocujeme serum pacienta po prvé metodou ledničkovou, musíme i vyšetření druhého vzorku, odebraného třeba za týden, vyhodnocovat toutéž metodou. Jinak bychom dospěli k nesprávným výsledkům, pokud se týká zvýšení či snížení titru při průběhu onemocnění.

Vazba komplementu za účelem kvantitativního vyšetření se provádí:

1. odstupňováním pracovních dávek komplementu ve vazbě komplementu,
2. odstupňováním dávek vyšetřovaného sera — ředění sera.

My používáme při vyšetřování metody VK, která je kombinací obou dvou způsobů, což nám zajišťuje využití výhod obou metod. Komplement používáme v dávkách 1, 1,5, 2 a 3násobného množství pracovní dávky komplementu. Vyšetřované serum ředíme 1 : 10, 1 : 20, 1 : 50, při zjištění pozitivnosti i v ředění 1 : 50 provádíme pak další vyšší ředění.

Jednotlivé složky vazby plníme po 0,2 ml, takže celkový objem je 1 ml. Při plnění je třeba dodržovat přesnou dávku, neboť při nepřesném plnění tak malého množství by výsledky byly skresleny. Komplement přidáváme ke směsi antigenu a vyšetřovaného sera pokud možno rychle, jelikož tím dochází nejlépe k vazbě komplementu. Ponechání antigenu se serem delší čas může při vyšší teplotě snížit schopnost vazby komplementu.

V hlavním pokusu, i přes správně provedené předpokusy, nutno mít tyto kontroly:

1. kontrolu antigenů na antikomplementární účinek,
2. kontrolu antigenů s negativním serem,
3. kontrolu antigenů s pozitivním serem,
4. kontrolu vyšetřovaného sera na antikomplementární účinek,
5. kontrolu vyšetřovaného sera s negativním antigenem,
6. kontrolu pozitivního sera na antikomplementární účinek,
7. kontrolu negativního sera na antikomplementární účinek,
8. kontrolu komplementu,
9. kontrolu haemolytického systému.

Pokud kontroly v hlavním pokusu správně proběhly, nejsou uváděny.

Po naplnění VK je vazba uložena přes noc do ledničky (2–4° C), t. j. na 18–24 hodiny. Druhý den před naplněním haemolytického systému jsou zkumavky dány na 10 minut do termostatu při 37° C. Po přidání haemolytického systému je vazba vložena na 30 minut do vodní lázně při 41° C a pak je výsledek odečítán. Předpokladem pro hodnocení vazby je správné proběhnutí všech kontrol.

Haemolysu hodnotíme:

- ++++ — úplná zábrana haemolysy, krvinky jsou v dolní polovině zkumavky a z velké části sedimentovány, tekutina v horní polovině čirá, bez jakéhokoli náznaku zbarvení haemoglobinem.
- +++ — silná zábrana haemolysy, avšak tekutina v horní polovině zkumavky nad sedimentujícími krvinkami vykazuje již červenožluté zbarvení.
- ++ — ještě dosti bohatý sediment, avšak tekutina je již zbarvená proběhlou haemolysí, po protřepání zkumavky rozeznáváme kontury černého šrafovaní papíru položeného za zkumavkou — možno říci, že nastává průhlednost tekutiny, ovšem v nepatrné míře.

- + — ještě určitý menší sediment krvinek, tekutina, ve zkumavce není čistě laková, nýbrž matnější, po protřepání zkumavky je dobře průhledná.

Hodnocení výsledků reakce:

Positivní výsledek — jestliže v ředění sera 1 : 10 nastala úplná zábrana haemolysy aspoň ve zkumavkách s 1 a 1,5 dávkou komplementu (1 dávka komplementu $^{+++}$, 1,5 dávky komplementu aspoň $^{+++}$) a v následujícím vyšším zředění sera je reakce na $^{+++}$ až $^{++}$.

Dubiosní výsledek — jestliže v ředění sera 1 : 10 nastala ve zkumavce s 1 dávkou komplementu zábrana haemolysy na $^{+++}$, s 1,5 dávkou komplementu na $^{++}$ a ve vyšším ředění sera je reakce negativní.

Negativní výsledek — jestliže v ředění sera 1 : 10 nastala ve zkumavce s 1 dávkou komplementu úplná haemolysa nebo zábrana haemolysy na $^{++}$.

Někdy se stane, že v některé kontrole vyšetřovaného sera dojde buď k částečnému nebo úplnému útlumu haemolysy, což nasvědčuje přítomnosti látek ve vyšetřovaném seru, které nespecificky zabraňují haemolyse. Odstupňovaná řada dávek komplementu nám i v tomto případě umožní hodnocení výsledků, neboť vyšší spotřeba komplementu u vyšetřovaného sera s antigenem vzhledem ke kontrolám nám umožňuje souditi na přítomnost specifických protilátek. Na eliminaci atikomplementárního účinku je spotřebována určitá část komplementu a zbytek komplementu pak může působiti ve vlastní specifické vazbě komplementu a umožní nám, s přihlédnutím ke kontrolám, vazbu vyhodnotiti.

Tab. 3. Vyhodnocení sera s částečným antikomplementárním účinkem.

Komplement ředění	1 : 10	1 : 15	1 : 20	1 : 30	1 : 10	1 : 15	1 : 20	1 : 30
Antigen	Positivní Tx				negativní			
Vyšetřované serum č. 21								
ředění 1 : 10	—	—	+++	++++	—	—	—	++
1 : 20	—	—	++	++++	—	—	—	+
1 : 50	—	—	—	—	—	—	—	—

Vyhodnocení:

Serum lze hodnotiti jako pozitivní, ačkoliv v ředění sera 1 : 10 v kontrole s 1 dávkou komplementu je znatelný antikomplementární účinek vyšetřovaného sera.

Tab. 4. Vyhodnocení sera s blokujícími protilátkami

Komplement ředění	1 : 10	1 : 15	1 : 20	1 : 30	1 : 10	1 : 15	1 : 20	1 : 30
Antigen	positivní Tx				negativní			
Vyšetřované serum č. 89								
ředění 1 : 10	—	—	—	—	—	—	—	—
ředění 1 : 50	—	+	+++	++++	—	—	—	++

Při vyšetřování ser jsme se též setkali se zjevem, že vyšetřované serum bylo v ředění 1 : 10 negativní a ve vyšším ředění bylo pozitivní. Příčina tohoto t. zv. zonového fenomenu tkví pravděpodobně v přítomnosti blokujících protilátek nacházejících se ve vyšetřovaném seru a jejichž účinnost je vyšším ředěním odstraněna. Nutno proto vždy vyšetřovat neznámé serum v ředění 1 : 10—1 : 50.

Tak, jako nutno počítati u nízkých ředění s nespecifickými reakcemi — pozitivní reakce s negativními sery — nutno také počítati s tím, že pozitivní serum může být v důsledku přítomnosti blokujících protilátek v nižších ředěních negativní.

Při provádění a hodnocení vazby třeba též počítati s tím, že spojením antigenu a sera se případná antikomplementární složka, která u jednotlivých ingredientů může být nepatrná, ještě zvýší.

5. Serologická sledování infikovaných psů

Pokusně infikované psy jsme sledovali pravidelným vyšetřováním krevního sera za účelem zjištění, kdy a v jaké míře vznikají protilátky zjiitelné vazbou komplementu, na základě čehož by bylo možno infekci serologicky prokázati. Před infekcí a pak pravidelně v 7denních intervalech po infekci byla psům odebrána krev za účelem vyšetření vazbou komplementu.

Uvádím příklad serologického sledování psa č. 15, 16 a 19.
Pes č. 15 — 8. 5. infikován 0,5 ml exudátu set.

Klinicky: 13.—18. 5. — *conjunctivitis cath.*

Teplota: 11.—14. 5. — 39,7°—40,4° C.

Od 19. 5. bez jakýchkoliv klinických příznaků.

Tab. 5. Vyhodnocení sera psa č. 15.

Komplement ředění	1 : 10 1 : 15 1 : 20 1 : 30	1 : 10 1 : 15 1 : 20 1 : 30
Antigen	pozitivní Tx	negativní
Serum z 8. 5. 1 : 10	— — — +++	— — — +
1 : 20	— — — ++	— — — +
1 : 50	— — — —	— — — —
15. 5. 1 : 10	— — — ++ +++++	— — — +
1 : 20	— — — +++++	— — — +
1 : 50	— — — +	— — — —
22. 5. 1 : 10	— — — +++++ +++++	— — — +
1 : 20	— — — ++ +++++	— — — —
1 : 50	— — — ++	— — — —
4. 6. 1 : 10	++ +++++ +++++ +++++	— — — ++
1 : 20	— ++ +++++ +++++	— — — +
1 : 50	— — ++ +++++	— — — —
15. 6. 1 : 10	++++ +++++ +++++ +++++	— — — ++
1 : 20	— +++++ +++++ +++++	— — — +
1 : 50	— — ++ +++++	— — — —

Vyhodnocení:

- Serum z 8. 5. — negativní. V ředění 1 : 10 vzhledem ke kontrolám lze hodnotiti reakci na ⁺⁺ (jde o nespecifický částečný útlum haemolysy).
- Serum z 15. 5. — pozitivní. Reakce VK zaznamenává již vytvoření specifických protilátek, jež jsou zjistitelné v ředění 1 : 20.
- Serum z 22. 5. — pozitivní. Provedení VK se čtyřmi odstupňovanými dávkami komplementu nám umožňuje zhodnotiti další kvantitativní stoupnutí protilátek, i když v ředění 1 : 50 nelze hodnotit reakci ještě jako pozitivní.
- Serum ze 4. 6. — pozitivní. Další stoupnutí protilátek, které jsou prokazatelné v ředění 1 : 50.
- Serum z 15. 6. — pozitivní 1 : 50. Z reakce však lze zjistit další kvantitativní stoupnutí protilátek proti seru z 4. 6.

Pes č. 16 — 8. 5. infikován 0,5 ml exudátu sct.

4. 6. po druhé infikován 0,5 ml exudátu i. v.

Klinicky: 11.—17. 5. — *conjunctivitis cath.*

12.—14. 5. — mírná inapetence.

Teplota: 10.—14. 5. — 39,6°—39,9° C.

Tab. 6. Vyhodnocení sera psa č. 16.

Komplement ředění	1 : 10	1 : 15	1 : 20	1 : 30	1 : 10	1 : 15	1 : 20	1 : 30
Antigen	pozitivní Tx				negativní			
Serum z 8. 5.	1 : 10	—	—	—	—	—	—	—
	1 : 20	—	—	—	—	—	—	—
	1 : 50	—	—	—	—	—	—	—
15. 5.	1 : 10	—	—	—	+	—	—	—
	1 : 20	—	—	—	—	—	—	—
	1 : 50	—	—	—	—	—	—	—
22. 5.	1 : 10	—	—	+	+++	—	—	+
	1 : 20	—	—	—	++	—	—	—
	1 : 50	—	—	—	—	—	—	—
29. 5.	1 : 10	—	—	++	++++	—	—	+
	1 : 20	—	—	—	++++	—	—	—
	1 : 50	—	—	—	—	—	—	—
4. 6.	1 : 10	—	—	++	++++	—	—	—
	1 : 20	—	—	—	++++	—	—	—
	1 : 50	—	—	—	+	—	—	—
15. 6.	1 : 10	—	++	++++	+++	—	—	—
	1 : 20	—	—	++++	++++	—	—	—
	1 : 50	—	—	—	++++	—	—	—

Vyhodnocení:

- Serum z 8. 5. — negativní.
 15. 5. — negativní.
 22. 5. — dubiosní.
 29. 5. — pozitivní. Jelikož v ředění 1 : 20 ve zkumavce s 1 dávkou komplementu jde o úplnou zábranu haemolysy, lze vzhledem k negativním kontrolám výsledek hodnotit pozitivně.
 4. 6. — pozitivní.
 15. 6. — pozitivní. Po druhé infekci nastalo silnější stoupnutí protilátek, serum je pozitivní v ředění 1 : 50.

Pes č. 19 — 11. 5. infikován myškou per os. ;

Klinicky: v tabulce přehledu infekce některých pokusně infikovaných psů.

Tab. 7. Vyhodnocení sera psa č. 19.

Komplement ředění	1 : 10 1 : 15 1 : 20 1 : 30	1 : 10 1 : 15 1 : 20 1 : 30
Antigen	pozitivní Tx	negativní
Serum z 11. 5. 1 : 10	— — — +++	— — — ++
1 : 20	— — — +	— — — +
1 : 50	— — — —	— — — —
18. 5. 1 : 10	— — — ++++++	— — — ++
1 : 20	— — — + +++	— — — +
1 : 50	— — — — +	— — — —

Vyhodnocení:

- Serum z 11. 5. — negativní.
 18. 5. — negativní. Vzhledem k vyšetření sera z 11. 5. je sice patrný jistý vzestup protilátek v ředění 1 : 10 i 1 : 20, který však vzhledem k antikomplementárnímu účinku v kontrole s 1 dávkou komplementu nelze správně vyhodnotiti. Serum bychom mohli označiti nejvýše jako podezřelé vzhledem k biologickým výchylkám, které při serologických reakcích jsou.

Celkem bylo serologicky po infekci sledováno 10 psů.

Infekce byla prokázána u

- 2 psů za 1 týden p. i.
 2 psů 2 týdny p. i.
 2 psů za 3 týdny p. i.
 1 psa za 4 týdny p. i.

Serologicky nebyla infekce prokázána u 3 psů, z nichž 2 uhynuli během 14 dnů, takže serologické vyšetření mohlo býti provedeno jen po 1 týdnu.

U třetího psa nebyla vazba komplementu pozitivní ani po 6 týdnech po infekci.

V souvislosti se zjišťováním použitelnosti VK k diagnostice toxoplasmózy u psa bylo vyšetřeno také 67 krevních vzorků z terénu jak psů zdravých, tak i nemocných. Ve 3 případech byla reakce pozitivní, t. j. 4,5 % psů, a v 7 případech, t. j. 10,5 %, byla reakce dubiosní.

Souhrn výsledků

Účelem naší práce bylo ověřiti možnost použití vazby komplementu k diagnostice toxoplasmózy psů. Za tím účelem byl udržován kmen *Toxoplasma Gondii* na myškách a provedena kultivace toxoplasmat na kuřecích embryích, na nichž lze kmen udržeti bez ztráty pathogenity. Infekce se projevuje jako silné laese na chorio-allantoidních blanách s vytvořením se přesně ohraničených fokusů.

Byla ověřena pathogenita pasážovaného kmene pro psy. Po infekci intravenósní a intraperitoneální byl průběh infekce u psů letální s exitem během 4–18 dnů. Inkubační doba byla 3–8 dnů. Na průběh infekce měl vliv způsob inokulace infekčního materiálu. V popředí klinických příznaků byly gastrointestinální symptomy s úplnou inapetencí, průjmý, zvracením a vysokou horečkou. Pouze u dvou psů byly zaznamenány mírné nervové příznaky apatie a tetanie. Průběh infekce probíhal za podobných příznaků jako psinka.

Specifický průkaz infekce byl proveden zpětnou infekcí myšek orgány uhybnulých psů. Toxoplasmata v orgánech psů byla rovněž prokázána mikroskopicky (otiskový preparát ze sleziny, průkaz toxoplasmat v peritoneálním exudátu psů) a histologicky.

Podrobně popsána metodika námi prováděné vazby komplementu. Positivnost vazby komplementu nastupovala za 1–4 týdny po inokulaci infekčního materiálu. U jednoho psa nebylo možno vazbou komplementu zjistit specifické protilátky ani za 6 týdnů po infekci. Je samozřejmé, že reakce organismu na infekci tvorbou protilátek je individuální, ale celkem naše výsledky souhlasí s literárními údaji, že vazbou komplementu lze zjistit infekci po 2–4 týdnech, a jak jsme prokázali v některých případech, i dříve. Kromě akutních případů infekce, které končí letálně do 7 dnů, tyto předběžné výsledky ukazují, že vazba komplementu může býti platnou pomocí ke stanovení správné klinické diagnózy.

Výsledek reakce hodnotíme již v ředění 1 : 10, nutno však hodnotiti opatrně vzhledem k nespecifickým reakcím, které v nízkých ředěních přichází. Dále je třeba vyšetřovati serum i ve vyšším ředění 1 : 20 a 1 : 50, abychom omezili možnost chyb v důsledku t. zv. „zonového fenomenu“. Vazbu komplementu jsme prováděli metodou dlouhodobého spojování se čtyřmi odstupňovanými dávkami komplementu, což nám umožňuje lepší kvantitativní hodnocení výsledku reakce. Antigen pro vazbu komplementu byl zhotoven z chorio-allantoidních blan kuřecích embryí infikovaných toxoplasmaty.

Při vyšetření 67 psů z terénu bylo serologicky 4,5 % psů pozitivních a 10,5 % podezřelých.

Tyto získané poznatky nutno však ještě ověřiti na větším počtu pokusně infikovaných psů, jakož i vyšetřením většího množství psů z terénu jak zdravých, tak nemocných, zejména při onemocnění psinkových a nervových. Takto ověřená vazba komplementu bude jistě cenným přínosem k řešení chorob psů klinického komplexu psinky.

Byly popsány případy experimentálně vyvolané toxoplasmosy u psa, které po intravenosní a intraperitoneální inokulaci měly letální průběh. Průběh infekce byl sledován serologicky vazbou komplementu. Antigen byl zhotoven z infikovaných chorio-allantoidních blan kuřecích embryí. U pokusně infikovaných psů byla infekce serologicky prokázána za 1–4 týdny po infikování.

Literatura

1. Bindrich, H.: Über die Ätiologie der nervösen Erkrankungen des Hundes. Monatshefte für Vet.-Med., 10, 2, 32, 1955. — 2. Carstensen, H.: Ein Beitrag zur Toxoplasmose beim Hund. Diss. vet. med., Hannover 1954 - Schweizer. Archiv für Tierheilkunde, 1957, 4, 180-181. — 3. Fankhauser: Toxoplasmose-Enzephalitis beim Hunde. Schweizer Archiv für Neurologie und Psychiatrie, 1952, 1/2, 391-397. — 4. Flir, K.: Akute Toxoplasmose beim Hund. Monatshefte für Vet.-Med., 1954, 9, 197-202. — 5. Hallmann, L.: Bakteriologie u. Serologie, Stuttgart, Thieme 1955. — 6. Immisch, E.: Statistische Erhebungen über infektiöse Erkrankungen des Hundes. Diss. vet. med., Hannover 1954. - Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 1956, 4, 180. — 7. Jírovec, O. - Jíra, J.: Pokus o výklad epidemiologie a pathogenese toxoplasmosy. Čas. lék. českých, 1955, 9, 213-223. — 8. Otten, E. - Piekarski, G. - Westphal, A.: Die Bedeutung der Toxoplasmose für die Veterinärmedizin. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 1951, 34, 24-26. — 9. Otto, H.: Die Toxoplasmose des Hundes - eine übertragbare Protozoenerkrankung - separát. — 10. Otto, H.: Die menschliche Toxoplasmose. Leipzig, VEB Georg Thieme, 1953. — 11. Otten - Westphal - Henze: Toxoplasmose, Staupe, Leptospirose - Serologische Untersuchungen über getrenntes u. gemeinsames Vorkommen beim Hunde. Tierärztliche Umschau 1952, 153-157/MfVM 1953/3, 60. — 12. Otten, E. - Westphal, A. - Kajaha, E.: Über das Vorkommen von Toxoplasmose beim Hunde. Monatshefte für praktische Tierheilkunde, 1950, 5, 305-308. — 13. Patočka: Anthroponozoonosy. Čas. lék. českých 1955, 44, 1177-1186. — 14. Petrovický, O.: Meningoencephalitis toxoplasmatrica acuta - vyléčená Pyrimethaminem. Čas. lék. českých 1955, 18, 486-490. — 15. Petrovický: Vlastní modifikace Frenkelova kutánního testu na toxoplasmosu na základě alergometrie. Čas. lék. českých. 1955, 34-35, 928-930. — 16. Westphal, A.: Toxoplasmose in Deutschland - separát. — 17. Wildführ, G.: Toxoplasmose, Jena, VEB, Gustav Fischer Verlag 1954.

Токсоплазмоз у собак — пособие к серологической диагностике

Описаны случаи экспериментального токсоплазмоза собак, у которых после интравенозной и интраперитонеальной инокуляции течение болезни принимало летальный характер. Процесс заражения исследовался серологически и путем связывания комплекментов. Антиген был изготовлен из инфицированных хорио-аллантоидных оболочек куриных зародышей. У подопытных зараженных собак инфекция была доказана серологически через 1–4 недели после инокуляции.

Toxoplasmosis in Dogs — a Contribution to Serological Diagnosis

Description of some cases of experimental toxoplasmosis in dog with lethal course after intravenous and intraperitoneal inoculation. The course of infection was controlled serologically by complement fixation tests. The antigen was prepared from infected chorio-allantoidal membranes of chicken embryos. The infection was ascertained serologically in experimentally infected dogs after 1–4 weeks after inoculation.

Es werden die experimentellen Toxoplasmosefälle beim Hund beschrieben, welche nach intravenösen und intraperitonealen Inoculation den letalen Verlauf hatten. Der Verlauf der Infektion wurde serologisch durch Komplementbindungsreaktion kontrolliert. Antigen wurde aus infizierten Chorioallantoismembranen der Hühnerembryonen verfertigt. Die Infektion konnte beim experimentell infizierten Hunden serologisch in 1—4 Wochen nach der Infektion nachgewiesen werden.

Účinnost některých rostlin na škrkavky *in vitro*

Pracováno s podporou ministerstva zemědělství

Действие некоторых растений на аскариды *in vitro*.

Effect of Some Plants on Roundworms *in vitro*

Die Wirksamkeit einiger Pflanzen auf die Schweineaskariden *in vitro*

Doktor vet. věd prof. Dr. J. LEBDUŠKA, Dr. J. ŠIMŮNEK, Dr. V. BÁLEK,
Dr. J. HAKOŠ

Z katedry farmakologie veterinární fakulty VŠZ v Brně.

Došlo dne 12. VI. 1956.

I. Úvod a všeobecná část

Ztráty způsobované askaridosou prasat, která je jedním z nejčastěji se vyskytujících parazitárních onemocnění, jsou značné a podstatně ovlivňují v negativním směru výrobu vepřového masa. Ve své dřívější práci (Lebduška, Šimůnek, Marek, 19) shromáždili jsme z nám dostupného písemnictví konkrétní údaje o škodách způsobovaných askaridosou prasat. Z novějšího písemnictví se tímto problémem zabývá Spindler (31).

Pokud jde o terapii askaridosy prasat je u nás možné použití z dostupných prostředků fluorid sodný (NaF) v dávce 0,1 g pro kg živé váhy. Při použití tohoto preparátu dochází někdy k vrhnutí, čímž se snižuje účinnost prováděné léčby, kromě toho je pro svou toxicitu méně často používán, než by se dalo očekávat u tak účinného preparátu. Rovněž i nepřilíš vhodné balení v 0,5 g tabletách je překážkou pro jeho hojnější používání, protože při použití ve velkochovech je nutné rozdrtit na jemný prášek veliký počet těchto malých tablet. V poslední době Nosíkem (24) doporučované podávání malých dávek 0,015–0,02 g/kg ž. v. třikrát denně po dobu 4–5 dní rovněž komplikuje po pracovní stránce provedení léčby. Je proto odůvodněná snaha po získání jiného vhodnějšího anthelmintika; touto otázkou se zabývá soustavně celá řada výzkumníků u nás i v cizině.

Na rozdíl od některých oblastí medicíny byly pokroky ve výzkumu anthelmintik do nedávna poměrně pomalé. Převládá směr, při němž byly izolovány anthelminticky účinné látky z drog, jejichž terapeutické použití při helmintozách bylo ve většině známo již lékařům starověku. Pokusy s obměnou chemické struktury takovýchto sloučenin, jejichž složení bylo poznáno, neměly vcelku úspěch. Teprve v novější době přinesla některá syntetická léčiva podstatné pokroky v anthelmintické léčbě. U anthelmintik však není dosud jasný vztah mezi chemickou strukturou látek či jejich fyzikálními vlastnostmi a jejich anthelmintických působením. Mnoho nevysvětleného zůstává i v otázce, jakými cestami

a jakým způsobem anthelmintika na červy působí. Rovněž nedovedeme vysvětlit ten zjev, že určitý lék působí na též druh červů u jednoho druhu zvířat dobře, u jiného selhává.

Proto se vedle výzkumu nových chemických preparátů věnuje velická pozornost i rostlinám, mimo jiné i těm, které obsahují silice, a to i takovým rostlinám, které byly dříve používány v lidovém lékařství a od jejichž používání se během doby upustilo. Domníváme se, že právě ve veterinární medicíně je nutné prozkoumat, zda by bylo možné účinně bojovat proti helmintosám zvířat velmi jednoduchým, prakticky snadno proveditelným způsobem, totiž zkrmováním rostlin anthelminticky účinných, které by se mohly pěstovat přímo v krmných směskách. O tento způsob má zájem i naše zemědělská praxe, a jeho zkoumání jeví se účelným z několika důvodů:

D o g e l (7) pojednává o způsobech, jimiž se hostitel zbavuje parazitů a uvádí doslovně toto: „Desinfekčně působí na střevní parazity nejenom úplné hladovění hostitele, nýbrž i jeho přechod na některé druhy potravy. Tak u některých stepních hlodavců, na př. syslů, je spojeno zbavení se parazitů před zimním spánkem s tím, že v druhé polovině léta přecházejí zvířata k požívání pelyňku, který má desinfekční působnost. Stejnou úlohu má podle D u b i n i n a požívání divoké cibule sibiřským svištěm. O l i g e r připisuje vypuzování kokcií a některých tasemnic u jeřábka v zimě přechodu hostitele k zimní výživě smolnatými jehnědami olše a břízy.“ Na tyto údaje nás upozornil D y k, který je cituje ve své učební pomůcce (8).

Souhlasně s těmito údaji soudí K a b e l í k (písemné sdělení), že divoká zvířata pravděpodobně udržují parazitární invase na subklinickém stupni výživy tím, že vyhledávají určité rostliny. Možnost tlumení invase soustavným přívodem vhodné látky byla zjištěna a je v praxi uplatněna u fenothiazinu podávaného v malých dávkách po dlouhou dobu. Tlumí se tak kladení vajíček i vývoj larev parazitů, tím se omezuje invase, a to nejen červů v zažívadlech, nýbrž i v plicích (O z e r s k a j a, 26, Š u l c a B o j e v, 32, D i m o c k, 6, P r i c e, H a r d y, 27 a jiní). Naše výzkumy s rostlinami zaměříme i v obdobném směru.

Vedle toho sledovali jsme tímto výzkumem také možnost event. získání anthelminticky účinných součástí z rostlin u nás rostoucích jako suroviny pro výrobu anthelmintických preparátů. Také otázka aklimatisace cizích rostlin (z nichž se získávají anthelminticky účinné součásti, které je nutno dovážet) vyplynula z našich výsledků s domácím druhem merlíku vonného i z prací sovětských, bulharských a jiných autorů, které citujeme dále.

Studiu anthelmintické účinnosti různých rostlin se na našem pracovišti věnujeme v rámci výzkumu anthelmintik již po delší dobu. První pokusy *in vitro* byly prováděny již v r. 1951—52 (L e b e d a, 20). Studium shodných otázek se zabývají i jiná pracoviště. Z nich zde připomínáme práci L j a š e n k a (21), ve které sleduje obsah silice v anthelmintické varietě merlíku vonného vypěstovaného v různých místech SSSR, práci bulharských pracovníků (P r o d a n o v a spol., 28), kteří získali anthelminticky účinnou silici u nich rostoucího *Chenopodium botrys*. D a f e r t a Č a p e s i u s (cit. podle 22) zjišťovali obsah silice v merlíku vonném rostoucím v Evropě a konstatují, že obsahem askaridolu se tato silice vyrovnává silici získávané z anthelmintické odrůdy rostoucí v Americe. V o d r á ž k a (34) ověřoval anthelmintický účinek *Oleum tanacetii* v pokusech *in vitro*. V Japonsku byla věnována soustavná dlouholetá pozornost aklimatisaci rostliny *Artemisia maritima* jakožto suroviny pro získání santoninu (Z a h n, 37). V SSSR se věnuje výzkumu rostlin a jejich látek dokonce řada speciálních vědecko-výzkumných ústavů. Vedle studia možnosti použití rostlinných preparátů proti nejrůznějším chorobám byly zatím zkoumány i anthelmin-

tické účinky skupiny 8 rostlin. Účinnost byla přezkušována ve formě působení různých extraktů rostlin na *Ascaris suis in vitro*. Největší askaricidní účinnost měly extrakty z *Tanacetum vulgare*, *Linula purpurea*, *Inula helenium* a z listu eukalyptu (*Eukalyptus cinerea*). Slabší účinek vykazovaly preparáty ze *San-guisorba officinalis*, *Cichorium intybus* a *Thymus vulgaris* (K o h l m ü n z e r, 17).

Vzhledem k poměrně velikému počtu rostlin, u nichž jsme hodlali zkoumat antiaskaridní účinek a vzhledem ke značným nákladům a časovému zatížení, které by si vyžádalo jejich přezkoušení na zvířatech, rozhodli jsme se pro pokusy *in vitro* s tím, že teprve *in vitro* účinné rostliny přezkoušíme na zvířatech. K tomuto řešení jsme z uvedených důvodů museli přikročit, přestože je známo, že látka *in vivo* účinná nemusí být účinná *in vitro* a naopak.

Z O e l k e r s e (25) lze k tomu citovat tyto příklady: „Santonin, který dlouho platil za nejúčinnější prostředek proti škrkavkám a roupům, je *in vitro* pro červy prakticky nejedovatý. Další příklad, že pokus *in vitro* může vésti k nesprávným výsledkům, je nález L a m s o n a a W a r d o v é na izolovaných škrkavkách, že z různých derivátů resorcinu alkylovaných v poloze 4 je optimum účinku u alkylů s 5, 6 a 7 atomy uhlíku. Avšak v pokusech Eichholtze na zvířatech nebyl optimálně účinný *hexylresorcin*, nýbrž *in vitro* neúčinný *tridecylresorcin*. Při tom ovšem může mít úlohu i špatná rozpustnost látky ve vodě.” — Potud citát z O e l k e r s e. Jiné příklady tohoto druhu uvádí E r h a r d t (10). Nelze tedy vylučovat možnost, že látka *in vitro* účinná bude neúčinná *in vivo* a naopak. Je však také známo, že většina účinných antiaskaridních prostředků působí na škrkavky rovněž *in vitro*. Ze všeho, co jsme právě uvedli, vyplývá závěr, že i rostliny v našich pokusech *in vitro* neúčinné by bylo záhodno v budoucnu přezkoušet u zvířat. Vzhledem k nákladnosti takových pokusů a menší pravděpodobnosti kladných výsledků není nám možno věnovat se tomuto výzkumu již nyní.

V této práci referujeme o výsledcích pokusů *in vitro*, které jsme provedli s těmito rostlinami:

Z druhu *Chenopodium*, který se nám jevil slibným, protože z jedné jeho zahraniční variety (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminticum* Gray) je vyráběna velmi účinná a k nám dovážena merlíková silice (*Oleum chenopodii anthelmintici*) obsahující anthelminticky účinnou látku askaridol, který je podle M o r i t z e (22) obsažen v silici rostlin druhu *Chenopodium*.

Chenopodium ambrosioides L. (merlík vonný). Obsahuje silici, jejíž obsah je různý podle krajů výskytu této rostliny (W e h m e r, 36, M ü l l e r, 23).

Chenopodium bonus henricus L. (merlík všedobr). Obsahuje saponiny (W e h m e r, 36). Používal se v terapii ran (D i e l s, 5).

Chenopodium polyspermum L. (merlík mnohosemenný) a *Chenopodium album* L. (merlík bílý). V dostupném písemnictví jsme nenalezli zmínky, že by se jich používalo k terapeutickým účelům.

Z rostlin používaných hlavně dříve jako lidových prostředků a event. v písemnictví již hodnocených co do anthelmintického účinku v užším nebo širším rozsahu jsme zařadili do pokusů:

Daucus carota L. (mrkev). Používá se často jako anthelmintikum v lidovém lékařství u lidí i zvířat, event. jako podpurný prostředek pro vypuzování červů. Obecně je předpokládána účinnost proti škrkavkám a roupům (M ü l l e r, 23, D i e l s, 5). O e l k e r s (25) však uvádí, že ani při dlouhodobém podávání syrové mrkve dětem nedochází k úplnému vypuzení všech roupů. F r ö h n e r (11) uvádí, že po výlučném krmení mrkví uhynuly bílé myši následkem ochrnutí a upozorňujeme dále na případy otravy u koní. Také D i e l s (5) varuje před používáním mrkve ve velikých množstvích.

Hypericum perforatum L. (třezalka tečkovaná). Obsahuje silice (W e h m e r, 36, M ü l l e r, 23) a byla podle K r e i t m a i r a (18) zkoušena i při terapii helmintos. Podle J a r e t z k é h o (15) dosáhl D a n i e l dobrých výsledků u dětí i u dospělých při askaridose použitím extraktů z této rostliny. Používání třezalky tečkované se však nevžilo a není patrné, zda příčinou toho byla příliš malá účinnost nebo jedovatost rostliny, o níž se zmiňují na př. B a ž e n o v (2), G u s y n i n (12), F r ö h n e r (11), H a z s l i n s k ý (13) a jiní, třebaž o velikosti dávek působících toxicky není údajů.

Artemisia vulgaris L. (pelyněk černobýl). Je to rostlina téhož druhu jako je *Artemisia cina* L., z níž se získává santonin. Obsahuje silice (B l a ž e k, 3). Podle D e s c h i e n s e (4) byly v pokusech *in vitro* zjištěny účinky na larvy některých červů.

Chrysanthemum (Tanacetum) balsamita L. (kopretina mařilist). W e h m e r (36) uvádí o této rostlině, že byla dříve používána jako *Herba balsamitae tanacetii* pro vermifugní účinek v lékařství.

Chrysanthemum (Tanacetum) vulgare L. Bernh. (kopretina vratič). Je to známé lidové anthelmintikum (M o r i t z, 22). Infusum připravené z květů používá se podle K a v i n y (16) jako vermifugní prostředek. Anthelmintické vlastnosti vratiče jsou známy již po mnoho století. D e s c h i e n s (4) zjistil, že odvar z vratiče hubí larvy některých červů. C r o h y (cit. podle 25) shledal v r. 1928, že výtažky jsou účinné *in vitro* a také u lidí a zvířat. Také O e l k e r s (25) zjistil v pokusech *in vitro*, že *Ol. tanacetii* ochrnuje vepřové škrkavky a působí silně na larvy některých červů. Z domácích autorů ověřoval antiaskaridní účinek *Oleum tanacetii* *in vitro* V o d r á ž k a (34) a zjistil typický účinek vermifugní. H o f m a n n (14) uvádí *Oleum tanacetii* jako prostředek antiaskaridní. Podle J a r e t z k é h o (15) se používá květů této rostliny nejen proti škrkavkám, ale i proti roupům. Upozorňuje však, že silice je velmi toxická a že dávky anthelminticky účinné mohou vyvolat často příznaky otravy. V toxikologické literatuře byly popsány otravy vratičem u skotu (G u s y n i n, 12, F r ö h n e r, 11). W a n k m ü l l e r (35) konstatuje, že *Tanacetum vulgare* je součástí několika desítek anthelmintických preparátů.

Z rostlin, které obsahují látky (silice, saponiny), o nichž by bylo možno předpokládat, že by mohly působit na škrkavky, jsme přezkoušeli:

Buddleia Davidi L. (Komule Davidova). Je to keř, který obsahuje v květech a listech aetherický olej (W e h m e r, 36).

Nepeta tuberosa L. (šanta). Je příbuzná rostlině *Nepeta cataria* L., která obsahuje silice (B l a ž e k, 3, M o r i t z, 22). Podle M o r i t z e obsahuje silice rostlin druhu *Nepeta menthol*.

Solidago virgaurea L. (celík zlatobýl). V listech obsahuje silice a saponiny (W e h n e r, 36, B l a ž e k, 3, G u s y n i n, 12, Z e m l i n s k i j, 38, M o r i t z, 22, M ü l l e r, 23). Experimentálními pracemi bylo zjištěno, že tato rostlina se svou toxicitou velmi podobá *Seneciu* (G u s y n i n, 12 — účinek na játra).

Monarda didyma L. (monarda dvoumocná). Podle W e h m e r a (36) obsahuje aetherický olej; dříve byl udáván obsah carvacrolu a thymolu.

Folium juglandis (list ořešáku). Obsahuje aetherický olej a alkaloidy (W e h m e r, 36).

O výsledcích pokusů s rostlinami s podzemními částmi, které by byly k dispozici i mimo běžnou vegetační dobu (česnek, křen, cibule) jsme referovali již dříve (L e b d u š k a a spol., 19). V této práci se zmiňujeme ještě o účincích mrkve.

Za užitečné připomínky k této práci, které jsme v ní uplatnili, děkujeme D y k o v i (9).

II. Experimentální část

Metodika

Pokusy *in vitro* jsme prováděli na celých škrkavkách (*Ascaris suis*), které byly získávány ve střevárně místních jatek při porážení prasat. Do laboratoře byly dopravovány v termosových lahvích ve fyziologickém roztoku NaCl 35 až 40°C teplém. Ihned po přenesení škrkavek do laboratoře vkládali jsme nepoškozené a pohyblivé škrkavky po třech do kádinek se 100 ml fyziologického roztoku kuchyňské soli zahřátého na 40°C . Na pohlaví použitých škrkavek nebyl při jejich výběru brán zřetel; ve vlastních pokusech nebyla pozorována rozdílná odolnost samečků a samic vůči zkoušeným látkám. Kádinky jsme uložili do termostatu při $38\text{--}40^{\circ}\text{C}$. Zkoumané rostliny jsme použili buď jako šťávu nebo drť (tuto jen u mrkve). Šťávu jsme připravovali tak, že jsme nezdřevnatělé části rostlin pomleli na strojku na mletí masa, takto získanou drť jsme zachycovali do gázu a vymačkali. Drť z mrkve jsme získali postrouháním mrkve na struhátku.

Většinu zkoumaných rostlin jsme získali v brněnských botanických zahradách (university a Vysoké školy zemědělské), a to většinou jen v malém množství. Proto jsme byli nuceni vyzkoušet účinek jejich šťáv na 15 i více škrkavkách v jednom pokuse. Jinak obecně užíváme způsobu, při němž v jednom pokuse se škrkavkami z jednoho sběru zkoušíme každou koncentraci zkoumané látky na třech škrkavkách, a takových pokusů provádíme deset se škrkavkami z deseti různých sběrů. Tím dosahujeme toho, že každá koncentrace každé látky je přezkoušena na škrkavkách pocházejících z nejméně 10 hostitelů. Předpokládáme, že červi z různých hostitelů mohou být různě odolní, vedle ovšem ještě jiných příčin nestejně odolnosti. Tímto způsobem chceme tedy i v pokusech *in vitro* zachytiti co nejvíce z rozdílné citlivosti červů, která má nepochybně značnou úlohu v praxi při léčbě *in vivo*. Snažíme se tedy přizpůsobiti podmínky pokusu *in vitro* poměrům v praxi, kde se mohou vlivem různých podmínek vnějšího prostředí, krmiva i vnitřního prostředí v zažívadlech vyskytnout škrkavky různě odolné proti těmto anthelmintikům. Jak jsme již uvedli, nebylo v této práci možno z technických důvodů dodržet tento postup. Snažili jsme se však přizpůsobit naše pokusy v tom směru, že při sběru škrkavek na jatcích jsme nebrali z jedné střev více než 3 škrkavky.

Šťávy získané shora popsaným způsobem, odměřovali jsme v příslušném množství pipetou a přidávali do kádinek s fyziologickým roztokem v poměru 1 : 50 až 1 : 200. Drť z mrkve jsme odvažovali na vahách a přidávali v poměru 1 : 10 až 1 : 100.

Vedle škrkavek ve zkoumaných roztocích (resp. suspensích) jsme v každé serii pokusů ponechávali minimálně 3 škrkavky v samotném fyziologickém roztoku jako kontrolu. Stejný počet škrkavek jsme v každé serii pokusů vkládali do roztoku NaF 1 : 1000.

Kontroly účinnosti jsme prováděli několikrát denně, vždy však za 24, 48 a 72 hodiny. Při kontrolách jsme sledovali, zda se škrkavky v kádinkách samovolně pohybují. Nehybné škrkavky jsme vyňali ze zkoušených roztoků a pokládali na studenou skleněnou tabuli. Nezačala-li se škrkavka vlivem chladu pohybovat, pokládali jsme ji za uhynulou. Pokusy jsme skončili za 72 hodiny, vzhledem k tomu, že potravní masy projdou zažívadly nejdéle za 3 dny (Vacek, 33, Serebrjakov, 29) a také k tomu, že i v samotném fyziologickém roztoku začínají škrkavky hynout kolem 70. hodiny — jak jsme zjistili v některých dřívějších pokusech, které jsme prováděli (viz na př. Lebeda a spol., 19). V kontrolách pokusů popsaných v této práci nezahynula však do 72. hodiny ze 60 škrkavek ani jediná.

Výsledky pokusů

Výsledky našich pokusů shrnujeme do tabulky 1, ve které jsou zkoušené rostliny a koncentrace seřazeny podle účinnosti do 72 hodin. Na prvním místě uvádíme přehled o hynutí škrkavek vložených pro kontrolu do fyziologického roztoku *NaCl* a na druhém místě přehled o hynutí škrkavek v roztoku *NaF* 1 : 1000, který jsme použili jako standard vzhledem k jeho vysoké účinnosti *in vitro* i *in vivo* pro srovnání s účinkem zkoumaných rostlin.

Tab. 1. Askaricidní účinek zkoušených rostlin *in vitro*.

Rostlina	Koncentrace ve fyziol. roztoku	Počet škrkavek v pok.	Procento škrkavek zahynulých celkem do hodin		
			24	48	72
Fyziologický roztok <i>Na Cl</i>		60	0	0	0
<i>Natrium fluoratum</i>	1 : 1000	60	98,3	100,0	—
<i>Daucus carota</i> , drť	1 : 10	15	20,0	46,7	100,0
<i>Hypericum perforat.</i> šťáva	1 : 50	15	40,0	73,4	86,8
<i>Chenopodium ambros.</i> šťáva	1 : 50	15	33,3	73,3	86,7
<i>Tanacetum balsamit.</i> šťáva	1 : 50	15	26,6	59,9	86,6
<i>Chenopodium ambros.</i> šťáva	1 : 100	30	6,7	70,0	80,0
<i>Hyperic. perforat.</i> šťáva	1 : 100	30	16,7	56,7	76,7
<i>Chenopod. polysperm.</i> šťáva	1 : 100	30	0	13,3	56,6
<i>Tanacetum balsamit.</i> šťáva	1 : 100	30	13,3	29,9	56,5
<i>Chenopod. bon. henric.</i> šťáva	1 : 100	30	0	0	40,0
<i>Tanacet. vulgaris</i> , šťáva	1 : 100	30	3,3	3,3	30,0
<i>Artemisia vulgaris</i> , šťáva	1 : 100	30	3,3	6,6	26,6
<i>Daucus carota</i> , šťáva	1 : 100	30	0	10,0	13,3
<i>Chenopodium album</i> , šťáva	1 : 100	30	0	0	10,0
<i>Monarda didyma</i> , šťáva	1 : 100	30	0	0	10,0
<i>Solidago-virgaurea</i> , šťáva	1 : 100	30	0	0	6,7
<i>Nepeta tuberosa</i> , šťáva	1 : 100	30	0	0	3,3
<i>Buddleia David.</i> , šťáva	1 : 100	30	0	0	3,3
<i>Daucus carota</i> , drť	1 : 25	15	0	0	0
<i>Daucus carota</i> , drť	1 : 50	15	0	0	0
<i>Daucus carota</i> , drť	1 : 100	30	0	0	0
<i>Folium juglandis</i> , šťáva	1 : 100	30	0	0	0
<i>Chenopodium ambros.</i> šťáva	1 : 200	15	0	0	0
<i>Hypericum perforat.</i> šťáva	1 : 200	15	0	0	0
<i>Tanacetum balsamit.</i> šťáva	1 : 200	15	0	0	0

Z tabulky je patrné, že v našich pokusech byla ze zkoušených rostlin a koncentrací nejúčinnější drť z mrkve v poměru 1 : 10 fyziologického roztoku, v níž zahynulo všech 15 škrkavek do 72 hodin. Tak vysoký obsah jsme ovšem nezkoušeli u žádné jiné drogy. Ve zředění 1 : 25, dále pak ve zředěních 1 : 50 a 1 : 100, které jsme zkoušeli u různých jiných rostlin, nezahynula v drti mrkve žádná z celkem 60 škrkavek do 72. hodiny. Askaricidní účinnost šťávy z mrkve v poměru 1 : 100 fyziologického roztoku byla sice o něco lepší než drti, ale celkem velmi slabá (do 72. hod. zahynulo celkem 13,3 % ze 30 škrkavek).

Nejúčinnější ze zkoušených rostlin byly merlík vonný a třezalka tečkovaná. Ve šťávě z těchto rostlin v poměru 1 : 50 fyziologického roztoku zahynulo přes 86 % ze vždy 15 škrkavek, při čemž první škrkavky hynuly mezi 3. a 18. hodinou. V koncentraci šťávy 1 : 100 zahynulo do 72 hodin v merlíku vonném 80 % a v třezalce tečkované 76,7 % ze vždy 30 škrkavek.

Více než 50 % škrkavek zahynulo do 72 hodin i ve šťávě z kopretiny ma-

řilist (v konc. 1 : 50 — 86,69 z 15 škrkavek a v koncentraci 1 : 100 — 56,5 % ze 30 škrkavek) a ve šťávě z merlíku mnohosemenného (v koncentraci 1 : 100 — 56,6 % ze 30 škrkavek).

Ve šťávě z vratiče 1 : 100 fyziologického roztoku zahynulo ze 30 škrkavek jen 30 % do 72. hodin. Dále zahynulo ve zředění šťávy 1 : 100 ze vždy 30 škrkavek do 72 hodin u merlíku všedobru 40 % škrkavek, u pelyňku černobýlu 26,6 %, u monardy dvoumocně a merlíku bílého po 10 %, u zlatobýlu 6,7 %, u šanty a komule po 3,3 % a u listu ořešáku 0 % škrkavek.

Hodnocení výsledků

Na základě popsaných výsledků *in vitro* nechceme činit závěry o antiaskaridní účinnosti zkoumaných rostlin *in vivo* u zvířat. Účelem těchto pokusů bylo, vyhledati méně nákladnou experimentální technikou takové rostliny, které obsahují ve značnější míře askaricidní látky, a s těmito rostlinami pak rozvinouti výzkum na zvířatech, event. i pokusiti se o izolaci účinných látek, resp. o aklimatisaci příbuzných cizích a účinných rostlin.

Naše pokusy ukázaly, že některé naše rostliny působí dosti značně askaricidně, a že zaslouží dalšího výzkumu. To platí především o merlíku vonném a o třezalce tečkované, vedle nich snad i o kopretině mařílist.

Merlík vonný ukázal se v našich pokusech nejúčinnějším ze všech zkoušených rostlin. O jeho užití jako lidového anthelmintika zmiňuje se jen povšechně Müller (23), Moritz (22) a Wehmer (36). Extraktivní části z *Herba chenopodii* (odrůda neudána) jsou obsaženy i v našem veterinárním přípravku *Antascarin*, určeném pro anthelmintickou léčbu u koní (30). Nechceme zde pouhým úsudkem řešiti otázku, zda ve vodném vehikulu tohoto přípravku může být obsaženo tolik účinných látek merlíku, aby se v celkovém působení *Antascarinu* uplatnily. Naše pokusy však ukázaly, že i v odrůdě merlíku u nás běžně rostoucí je obsaženo poměrně dosti askaricidních látek. To vede k myšlence, že i vlastní anthelmintická odrůda (*Chenopodium ambrosioides* L. *varietas anthelminthicum* Gray) mohla by při aklimatisaci u nás zachovati si dosti účinných látek, aby mohla sloužiti výrobě *Oleum chenopodii anthelminthici*. Této možnosti nasvědčují i vpředu citované výsledky Ljašenka (21). Proto zařadíme merlík vonný a event. jeho variety přednostně do našeho dalšího výzkumu. Ostatní domácí druhy merlíku ukázaly účinnost značně slabší.

Třezalka tečkovaná blížila se v našich pokusech účinnosti těsně merlíku vonného. O jejím použití proti červům zmiňují se Kreitmair (18) a Jaretzky (15). Zahrnujeme ji proto rovněž do dalšího výzkumu. U ní je však nutno počítati s určitou komplikací, t. j. s jejím účinkem fotosensibilizačním, který bývá příčinou otrav. Údaje o dávkách vyvolávajících tento zjev však chybí a výzkum bude nutno zaměřiti i k těmto otázkám.

Merlík mnohosemenný ukázal značně slabší účinnost než merlík vonný. Jeho další výzkum mohl by nabýti významu teprve po předchozích rostlinách.

Tanacetum balsamita, kopretina mařílist, měla účinnost asi stejnou jako merlík mnohosemenný. Pozoruhodné je zjištění, že byla značně účinnější než vratič (56,5 % usmrčených proti 30 %). Proto jeví se opodstatněným, abychom se věnovali dalšímu výzkumu rostlin *Tanacetum balsamita*.

Tanacetum vulgare, vratič, je jako anthelmintická droga a zejména silice z této rostliny vysoko hodnocen, a to i experimentálně (viz na př. Oelkers, 25, Bachem, 1). Tím zajímavější je, že v našich pokusech byl

vratič podstatně méně účinný než *Tanacetum balsamita*. Naše výsledky ukazují, že *Tanacetum balsamita* by mohla snad obsahovati větší množství anthelminticky účinných látek. Proto se hodláme věnovati i výzkumu této rostliny. O přísadě extraktivních součástí *Herba tanacetii* do přípravku *Antascarin* platí totéž, co jsme uvedli u merlíku vonného. Nepatrné rozšíření této drogy v léčbě je nepochybně způsobováno její vysokou toxicitou a dráždivým účinkem na zažívací trakt.

M r k v (drť) usmrtila všechny škrkavky do 72 hodin jen při obsahu 1 : 10 fyziologického roztoku; v nižších zředěních (od 1 : 25) červi však nehynuli vůbec. Proto se jeví anthelmintická účinnost mrkve pochybnou a rozhodnouti zde mohou jen přesné pokusy na zvířatech, vycházející z našich právě uvedených výsledků.

Obecně nutno zdůrazniti, že askaricidní účinnost rostlin má poměrně ostrý práh koncentrace, pod kterou účinek mizí. Dokladem toho je, že 3 rostliny v koncentraci 1 : 50 a 1 : 100 silně účinné, byly zcela neúčinné v koncentraci 1 : 200 (*Chenopodium ambrosioides*, *Hypericum perforatum*, *Tanacetum balsamita*). Rovněž u mrkve jsme vpředu poukázali na tento zjev. Z tohoto vyplývá, že i přívod rostlin potravou by musil být dostatečně vysoký. Při tom nutno počítati s tím, že v obsahu žaludku a střev působení bude spíše slabší než v čistém fyziologickém roztoku, a že tedy při dalším výzkumu na zvířatech bude nutno vyjít z vyšších koncentrací v potravě, než které byly v našich pokusech účinné ve fyziologickém roztoku.

III. Závěr

1. Přezkoušeli jsme účinnost šťávy nebo drti 14 rostlin u nás rostoucích na škrkavky prasečí *in vitro*. Šťávy či drti byly ředěny 0,9 % roztokem *NaCl* v poměru 1 : 100, u některých rostlin také 1 : 50, 1 : 200, u mrkve i 1 : 25 a 1 : 10. Každé zředění bylo přezkoušeno většinou na 30 škrkavkách, nejméně na 15 škrkavkách. Celkem jsme upotřebili 585 škrkavek.

2. Kontrolní škrkavky (celkem 60) nehynuly v 0,9 % roztoku *NaCl* do 72 hodin.

3. Jako standardu užívali jsme fluoridu sodného 1 : 1000, který usmrtil všech 60 škrkavek mezi 18. a 27. hodinou.

4. Ve zředění 1 : 100 byly ze zkoušených rostlin nejúčinnější (v závorce je uvedeno procento škrkavek uhynulých vždy ze 30 červů během 72 hodin):

Chenopodium ambrosioides (80 %), *Hypericum perforatum* (76,7 %), *Chenopodium polyspermum* (56,6 %), *Tanacetum balsamita* (56,5 %).

Méně účinné byly tyto rostliny: *Chenopodium bonus henricus* (40 %), *Tanacetum vulgare* (30 %), *Artemisia vulgaris* (26,6 %), *Daucus carota* (13,3 %), *Chenopodium album* (10 %), *Monarda didyma* (10 %), *Solidago virgaurea* (6,7 %), *Nepeta tuberosa* a *Buddleia Davidi* (po 3,3 %), *Folium juglandis* (0 %).

5. Na základě těchto výsledků budeme nejúčinnější rostliny studovati v dalších pokusech *in vivo*.

Literatura

1. Bachem: Dtsch. med. Wschr. 1925, str. 1587, Ztschr. exp. Med. 44, 656, 1952. — Baženov: Veterinarnaja toksikologija, Moskva 1951. — 3. Blažek: Úvod do farmakognosie, Praha 1946. — 4. Deschiens: ref.: Vet. Bullet. 18, 1948. — 5. Diels: Ersatzstoffe aus dem Pflanzenreich, Stuttgart 1918. — 6. Dimock: Vet.

Medicine 44, 99, 1949. — 7. Dogel: Kurs obščej parasitologii, Leningrad 1947. — 8. Dyk: Veterinární parasitologie, část obecná, 1956 (učební pomůcka). — 9. Dyk: Lektorský posudek k této práci, 1956. — 10. Erhardt: Die Pharmazie 3, 49, 1948. — 11. Fröhner: Toxikologie für Tierärzte, Stuttgart 1927. — 12. Gusynin: Toksikologija jadovitych rastěnij, Moskva 1951. — 13. Haszlsinsky: ref.: Jahresber. Vet. Med. 51, 434, 1931. — 14. Hofmann - Held: Die Pharmazie 8, 24, 1953. — 15. Jaretsky - Geith: Die deutschen Heilpflanzen im Bild und Wort, II. Teil, Berlin (rok neudán). — 16. Kavina: Speciální botanika zemědělská III., Praha 1951. — 17. Kohlmünzer: Farmacja Polska 11, 188, 1955. — 18. Kreitmair: Die Pharmazie 5, 556, 1950. — 19. Lebeda: Účinek některých látek na *Ascaris lumbricoides* in vitro. Brno, 1952 - neuveřejněno. — 21. Ljašenko: Aptěčnoje dělo, N° 6, 1952. — 22. Moritz: Einführung in die allgemeine Pharmakognosie, Jena, 1953. — 23. Müller: Moderní lékařský herbář květeny ČSR, Nový Bohumín 1932. — 24. Nosik: Veterinarija, čís. 4, str. 18, 1954. — 25. Oelkers: Pharmakologische Grundlagen der Behandlung von Wurmkrankheiten, Leipzig 1950. — 26. Ozerskaja: Veterinarija, čís. 3, str. 17, 1947. — 27. Price, Hardy: Journ. Amer. Vet. Med. Assoc. 123, 132, 1953. — 28. Prodanov, Delčev, Antonov: Veterinářství 3, 233, 1953. — 29. Serebrjakov: Základy fyziologie hospodářských zvířat, Praha 1951. — 30. Seznam veterinárních přípravků čs. farmaceutického průmyslu 1953-1954, Odb. inf. střed. Praha. — 31. Spindler: Dtsch. tierärztl. Wschr. 59, No 33/34, 1952. — 32. Šulc a Bojev: Veterinarija čís. 9, str. 17, 1948. — 33. Vacek: Srovnávací fyziologie zvířat domácích, Brno 1937. — 34. Vodrážka: Veterinářský časopis 3, 208, 1954. — 35. Wankmüller: ref.: Die Pharmazie 6, 231, 1951. — 36. Wehmer: Die Pflanzenstoffe I.-II., Jena 1931. — 37. Zahn: Die Pharmazie 8, 762, 1953. — 38. Zemlinskij: Lekarstvennyje rastěnija SSSR, Moskva 1951.

Действие некоторых растений на аскариды *in vitro*.

1. Авторы произвели опытное исследование действия сока или размельченной массы 14 растений отечественного происхождения на аскариды у свиней *in vitro*. Сок или размельченная масса растений были разбавлены 0,9 % раствором NaCl в соотношении 1:100, у некоторых растений 1:50, 1:200, у моркови даже 1:25 и 1:10. Каждый раствор был испытан в большинстве случаев на 30 аскаридах, минимально же на 15 аскаридах. Всего было использовано для опыта 585 аскаридов.

2. Контрольные аскариды (всего 60) не погибали в 0,9 % растворе NaCl до 72 часов.

3. В качестве стандарта авторы применяли раствор фтористого натра 1:1000, который умертвил всех 60 аскаридов в течение 18—27 часов.

4. Наиболее эффективное действие испытываемых растений в растворах 1:100 (в скобках указан процент аскаридов, погибших всегда из общего числа 30 червей в течение 72 часов): *Chenopodium ambrosioides* (80 %), *Hypericum perforatum* (76,7 %), *Chenopodium polyspermum* (56,6 %), *Tanacetum balsamita* (56,5 %).

Менее эффективное действие проявили следующие растения: *Chenopodium bonus henricus* (40 %), *Tanacetum vulgare* (30 %), *Artemisia vulgaris* (26,5 %), *Daucus carota* (13,3 %), *Chenopodium album* (10 %), *Monarda didyma* (10 %), *Solidago virgaurea* (6,7 %), *Nepeta tuberosa* и *Buddleia Davidi* (по 3,3 %), *Folium juglandis* (0 %).

5. На основании полученных результатов авторы будут производить дальнейшие опыты *in vitro* с растениями наиболее эффективного действия.

Effect of Some Plants on Roundworms *in vitro*

1. We tested the effect of the juice or crushed matter of 14 plants native to this country on roundworms *in vitro*. The juices or crushed matter were diluted with a 0.9 % solution of NaCl in the ratio of 1:100, for some plants also 1:50, 1:200, for carrots 1:25 and 1:10 as well. Each dilution was tested, for the most part on 30 roundworms, at least on 15. Altogether we used 585 roundworms.

2. The control group of roundworms (about 60) did not die in a 0.9 % solution of NaCl up to 72 hours' time.

3. We used as standard sodium fluoride 1:1000 which killed off all 60 roundworms in 18 to 27 hours.

4. When a dilution of 1 : 100 was used the following plants were found to be the most effective of those tested (in brackets the percentage of roundworms dying out of the group of 30 during 72 hours): *Chenopodium ambrosioides* (80 %), *Hypericum perforatum* (76,7 %), *Chenopodium polyspermum* (56,6 %), *Tanacetum balsamita* (56,5 %).

The following were less effective: *Chenopodium bonus henricus* (40 %), *Tanacetum vulgare* (30 %), *Artemisia vulgaris* (26,6 %), *Daucus carota* (13,3 %), *Chenopodium album* (10 %), *Monarda didyma* (10 %), *Solidago virgaurea* (6,7 %), *Nepeta tuberosa* and *Buddleia Davidi* (each 3,3 %), *Folium juglandis* (0 %).

5. On the basis of these results we shall study the more effective plants in further experiments *in vitro*.

Die Wirksamkeit einiger Pflanzen auf die Schweineaskariden *in vitro*

1. Wir überprüften die Wirksamkeit von 14 einheimischen Pflanzen auf die Schweineaskariden *in vitro*. Der Saft oder der Brei der Pflanzen wurde mit 0,9%iger NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 100, bei einigen Pflanzen auch 1 : 50 und 1 : 200 bei *Daucus carota* auch 1 : 25 und 1 : 10 verdünnt. Die Wirkung jeder Verdünnung wurde meistens an 30 Askariden (mindestens an 15) geprüft.

2. Die Kontrollen (insgesamt 60 Askariden) in der 0,9%igen NaCl-Lösung blieben während der Beobachtungszeit von 72 Stunden lebend.

3. Als Standard wurde Natriumfluorid 1 : 1000 verwendet, das alle 60 Askariden innerhalb von 18—27 Stunden abgetötet hat.

4. Die askarizide Wirksamkeit der Verdünnung 1 : 100 der geprüften Pflanzen war die folgende (in Klammern ist die Prozentzahl der binnen 72 Stunden abgetöteten Spulwürmer von je 30 Askariden angeführt):

Chenopodium ambrosioides (80 %), *Hypericum perforatum* (76,7 %), *Chenopodium polyspermum* (56,6 %), *Tanacetum balsamita* (56,5 %).

Weniger wirksam waren: *Chenopodium bonus henricus* (40 %), *Tanacetum vulgare* (30 %), *Artemisia vulgaris* (26,6 %), *Daucus carota* (13,3 %), *Chenopodium album* (10 %), *Monarda didyma* (10 %), *Solidago virgaurea* (6,7 %), *Nepeta tuberosa* und *Buddleia Davidi* (je 3,3 %), *Folia Juglandis* (0 %).

5. Auf Grund dieser Ergebnisse werden wir die wirksamsten Pflanzen in weiteren Versuchen *in vivo* an Tieren studieren.

Získání anthelminticky účinného *Oleum chenopodii* z některých odrůd merlíku vonného u nás rostoucích

Получение антигельминтного *Oleum chenopodii* из некоторых отечественных пород душистого телекиса

Obtaining Anthelmintically Effective *Oleum Chenopodii* from Some Strains of Goose-foot Growing in Czechoslovakia

Die Gewinnung des anthelmintisch wirksamen *Oleum chenopodii* aus zwei, in der Tschechoslowakischen Republik wachsenden Sorten des Wohlriechenden Gänsefußes

MVDr J. ŠIMŮNEK, doktor vet. věd prof. MVDr J. LEBDUŠKA, Ing. M. CHLÁDEK, RNDr et PhMr V. KOŠOVÁ

Z katedry farmakologie veter. fakulty VŠZ v Brně,
z Výzkumného ústavu travoplní soustavy ČSAZV — odd. léčivých rostlin v Pohořelicích,

z katedry farmakognosie farmaceutické fakulty MU v Brně.

Došlo dne 6. VI. 1956

I. Úvod a všeobecná část

Na katedře farmakologie veterinární fakulty VŠZ byla z podnětu a za vedení prof. Dr. Lebdušky soustavně studována účinnost řady rostlin u nás rostoucích proti vepřovým škrkavkám (*Ascaris suis*). V letech 1951—1954 byly prováděny pokusy *in vitro* za účelem výběru nejúčinnějších rostlin. Druhý rostlin, které se ukázaly zvláště účinnými byly v r. 1954—55 zkoušeny *in vivo* u prasat, jimž byly přidávány do krmiva. Výsledky pokusů *in vitro* byly zčásti publikovány (Lebduška a spol., 22a), zčásti jsou uveřejňovány současně, zároveň s výsledky pokusů se zkrmováním rostlin prasatům. V pokusech *in vitro* působil na škrkavky nejsilněji křen (*Armoracia rusticana*), slaběji merlík vonný (*Chenopodium ambrosioides*), ještě slaběji lidově používaný česnek (*Allium sativum*). Při podávání v krmivu působil však nejsilněji merlík vonný, i když při tomto způsobu podávání a v dávkách námi užitých nedosahovala účinnost stupně pro praxi vyhovujícího. Výzkum však ukázal, že v rostlině u nás vypěstované jsou přítomny účinné látky v množství, které se klinicky zřetelně projevuje.

Tyto výsledky byly přímým podnětem k tomu, abychom u dvou odrůd merlíku u nás vypěstovaných zjistili kvantitativně obsah silic v nati, obsah askari-dolu v obou silicích a jejich účinnosti proti škrkavkám u prasat. Tento výzkum provedli jsme jednak s domácí krajovou odrůdou merlíku vonného (*Chenopodium ambrosioides* L.) u nás běžně pěstovanou, jednak s anthelmintickou odrůdou merlíku vonného (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray). Z této rostliny, pěstované zvláště v Severní Americe, je vyráběna a k nám dovážena velmi účinná merlíkova silice, *Oleum chenopodii anthelminthici*. Náš

výzkum sledoval tedy možnost nahraditi toto hodnotné a dovážené léčivo týmž přípravkem domácího původu.

Botanicky popsali obě známé variety merlíku vonného Pethes (28), Madaus (24), Zemlinskij (45), Ljašenko (23), Berger (5), Dostál (10) a řada dalších autorů. Přehlednou dokumentaci o merlíku vonném podává Schimmel (40, 41). Podmínky pěstování merlíku sleduje pak Ickov (19), Písařík (30), Appl (1), Toyohiko (42), Shapter (37) a Sarajev (35). Hodnocením merlíkové nati a silice, jakož i vlastní metodikou stanovení hlavní účinné látky — askaridolu a jeho chemickým složením se zabývali Wegner (43, 44), Russel (34), Halpern (14), Beckett (2, 3), Preuss (31), Zimmermann (46), Janiczek (20), Heeger-Rosenthal (13), Dafert-Capesius (9), Rojdestwensky (33), Sekera a Rahm (36), Masao-Maruyama (26), Fernandes (11), Knaffl-Lenz a Hofmann (21), Böhme a Emster (7), Kuzněcov (22), Bodendorf (6), Fresenius (12), Petričić (29) a další. Schenk (38, 39) řešil problém výroby syntetického askaridolu. Borkowski (8) sledoval tvorbu silice v merlíku vonném během dne a zjistil, že množství silice kolísá jen nepatrně a proto doba sběru neovlivňuje kvalitu drogy.

Oilum Chenopodii anthelminthici je velmi účinným anthelmintikem působícím na oblé červy, hlavně na škrkavky. Dnes není tento dovážený preparát prakticky dostupný. Přesto, že jsou k dispozici četné další antiaskaridní prostředky, je patrná trvalá snaha získat tento účinný prostředek z domácích zdrojů. Připomínáme zde především pokusy pracovníků bulharské Akademie věd (Prodanov a spol., 32), kteří isolovali antiaskaridně účinnou silici z domácího *Chenopodium botrys* L., a práci Ljašenka (23), který sledoval obsah silice a askaridolu u aklimatisovaného *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray v různých oblastech SSSR.

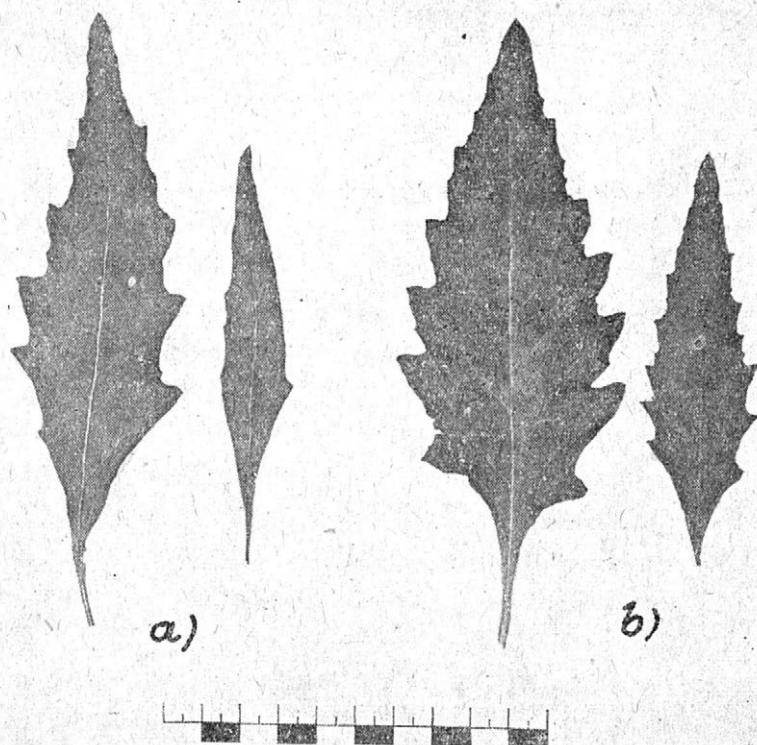
U nás se dosud nevěnovala systematicky pozornost zavedení anthelmintické odrůdy merlíku vonného do našich kultur, ani se nepřikročilo k hodnocení vypěstovaných rostlin. Vzali jsme si proto za úkol zjistit možnosti aklimatisace *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray v našich klimatických podmínkách, posoudit možnost získání anthelminticky účinné silice z krajové odrůdy *Chenopodium ambrosioides* L. a stanovit rozdíl v hodnotě obou těchto rostlin.

II. Experimentální část

1. Botanicko-anatomické hodnocení

Merlík vonný (*Chenopodium ambrosioides* L.), krajová odrůda ČSR, je jednoroční rostlina a množí se semeny. Postranní větve jsou částečně poléhavé, lodyhy se světle anthokyanovými skvrnami, listy podlouhlé, oboustranně zúžené, mírně zubaté, horní nepravidelně zprohýbané. Délka středních a spodních listů kolísala od 120—173 mm (obr. 1a). Listy v části květenství jsou krátké, avšak delší než květní klubička, jež tvoří přetrhávaná květenství (obr. 2). Celá rostlina je pokryta dlouhými trichomy, a to jak krycími, tak žláznatými, které se vyskytují pouze na spodní straně listu a v okolí květů.

Merlík vonný, anthelmintická odrůda (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelm.* Gray), jehož osivo jsme získali z botanické zahrady z Itálie (Ferrara), je rovněž v našich podmínkách jednoroční rostlinou. Od uvedené krajové odrůdy se odlišuje vyšším vzrůstem a postranními vzpřímenými větvemi. Po celé délce lodyh jsou temnější anthokyanové skvrny. Listy jsou hlouběji zubaté a



Obr. 1. a) Listy krajové odrůdy merlíku vonného (*Chenopodium ambrosioides* L.) — b) Listy anthelmintické odrůdy merlíku vonného (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminth.* Gray).

Рис. 1. а) Листья региональной разновидности душистого телексиса (*Chenopodium ambrosioides* L.). — б) Листья антигельминтной разновидности душистого телексиса (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *antihelmint.* Gray)

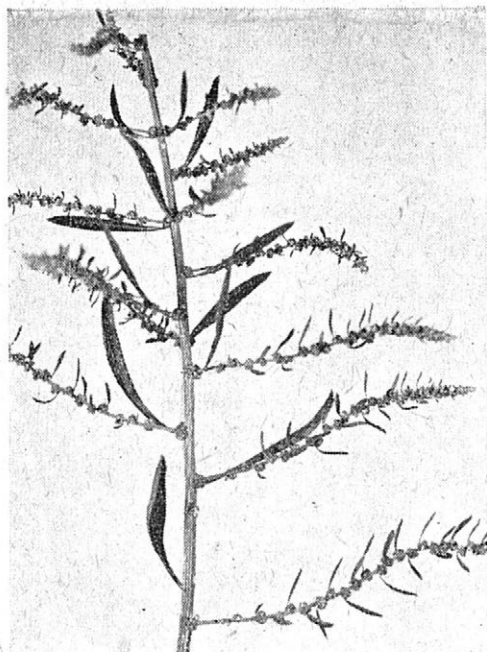
Illus. 1a. — Leaves of regional variety of aromatic goosefoot (*Chenopodium ambrosioides* L.). — 1b. — Leaves of anthelmintic variety of goosefoot (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminth.* Gray).

Abb. 1. a) Blätter der Ortssorte des wohlriechenden Gänsefußes (*Chenopodium ambrosioides* L.) — b) Blätter der anthelminthischen Sorte des wohlriechenden Gänsefußes (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminth.* Gray)

v části květenství úplně zakrnělé. Délka středních a spodních listů kolísala od 98—182 mm (obr. 1). Jednotlivé květy jsou v souvislých hroznech (obr. 3).

Žláznaté trichomy, v nichž se vytváří silice, jsou u obou odrůd ve tvaru jednostranně vychlípených hruškovitých buněk; tyto údaje rovněž souhlasí s výsledky pozorování M a c h e r o v a (25). Pylová zrna obou odrůd jsou kulatá, hladká, také dozralá semena jsou tmavohnědá, kulatá, s klíčovostí asi 50 %.

Obě uvedené odrůdy byly vypěstovány v r. 1955 na pokusných polích Výzkumného ústavu travopodní soustavy, odd. léčivých rostlin v Pohořelicích. Porosty merlíku byly založeny na střední těžké a živinami bohaté půdě. Semena merlíku byla vyseta 26. března do pařeniště a dostatečně vzrostlé sazenice vysázeny 17. května přímo na pole ve sponu 60 × 40 cm. Nať obou odrůd během vegetace byla dvakrát ručně sklizena, nejdříve před květem (23. 7.) a po druhé v době plného květu (1. 8. krajová odrůda, 17. 8. anthelmintická odrůda). Odebrané vzorky natě byly usušeny ve stínu vzdušné sušárny na lískách. V době květu jsme měřili výšku rostlin a velikost listů a mikrometricky jsme proměřovali velikost průduchů a siličných žlázek a jejich počet na ploše 1 mm². Po



Obr. 2. *Chenopodium ambrosioides* L.,
krajová odrůda ČSR.

Рис. 2. *Chenopodium ambrosioides* L., чехо-
словацкая региональная разновидность

Illus. 2. *Chenopodium ambrosioides* L.,
common Czechoslovak variety

Abb. 2. *Chenopodium ambrosioides* L.
Ortssorte ČSR



Obr. 3. *Chenopodium ambrosioides* L.
var. *anthelmintic*. Gray.

Рис. 3. *Chenopodium ambrosioides* L. var.
anthelmintic. Gray.

Illus. 3. *Chenopodium ambrosioides* L.
var. *anthelmintic*. Gray

Abb. 3. *Chenopodium ambrosioides* L.
var. *anthelminticum* Gray

dozrání semen byla stanovena jejich velikost, hektolitrová váha a váha 1.000 semen. Veškeré naměřené hodnoty byly statisticky zpracovány podle metodiky ČSAZV (27) a Hrubého (16).

Z tabulky 1 je zřejmé, že anthelmintická odrůda merlíku vonného ve srovnání s běžnou krajovou odrůdou je vyšší ve svém vzrůstu. Na základě statistického rozboru jsme stanovili rozdíly v délce siličných žlázek, avšak právě na hranici průkaznosti ($t_{(58)} = 2,01$ při $P = 0,05$). V počtu žlázek na ploše 1 mm^2 čerstvého listu není rozdílu ($t_{(98)} = 1,95$ při $P = 0,05$). Dále má anthelmintická odrůda větší semena, čímž je hektolitrová váha semen nižší; rovněž průduchy aklimatisované odrůdy jsou větší, velikost pylových zrn je stejná jako u krajové odrůdy.

Poněvadž nás nejvíce zajímaly žlázy jako hlavní producenti silice, podrobili jsme obě odrůdy dalšímu rozboru v počtu žlázek na ploše suchého listu. Z 35 rostlin obou odrůd byl odebrán vždy jeden list správně vyvinutý asi z prostředku hlavní osy a na něm byl po celé jeho ploše na deseti různých místech mikroskopicky stanoven počet žlázek na ploše $0,648 \text{ mm}^2$. Výsledky pozorování jsme podrobili analýze rozptylu (tab. 2 a 3). Z přiložených tabulek je zřejmé, že nejsou mezi oběma odrůdami rozdíly v průměrném počtu žlázek na ploše suchého listu a rovněž nebyly zjištěny rozdíly v rámci jednotlivých stanovení na témže listě. U krajové odrůdy se velmi blíží zjištěné $F = 1,41$ tabulkové hodnotě při $P = 0,05$, avšak průkazný rozdíl v počtu žlázek mezi jednotlivými rostlinami rovněž nebyl nalezen. Naproti tomu vysoce průkazný rozdíl v počtu žlázek mezi jednotlivými rostlinami anthelmintické odrůdy nasvědčuje o dalších možnostech šlechtitelské práce ve výběru rostlin s vysokým obsahem silice.

Výsledky našeho pozorování jsou shodné také s výsledky jiných autorů; tak na př. velikost siličných žlázek se podle údajů M a c h e r o v ý c h (25) pohybuje u *Chenopodium ambrosioides* L. od 47,70 μ do 123,90 μ . Velikost semene

Tab. 1. Botanické hodnocení *Chenopodium ambrosioides* L. a *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminth.*

Таблица 1. Ботаническая оценка *Chenopodium ambrosioides* L. и *Chenopodium ambrosioides* L. var. *antihelminth.*

Table 1. Botanical evaluation of *Chenopodium ambrosioides* L. and *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminth.*

Tab. 1. Botanische Bewertung des *Chenopodium ambrosioides* L. und *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum*

Stanovené hodnoty	n	<i>Chenopod. ambr.</i>			<i>Chenopod. ambr. v. anth.</i>		
		$\bar{x}$	$\bar{s}_x$	s	$\bar{x}$	$\bar{s}_x$	s
Výška rostlin v cm	100	110,40	1,08	10,85	141,20	1,43	14,27
Délka siličných žlázek v μ	10	135,97	1,80	9,86	141,92	2,34	12,90
Šířka siličných žlázek v μ	10	74,40	1,84	10,06	76,26	1,93	10,62
Počet žlázek na 1 mm ² čerstv. listu	50	2,86	0,19	1,32	3,46	0,23	1,68
Počet žlázek na 1 mm ² suchého listu	350	5,48	0,27	1,61	5,35	0,29	1,69
Délka průduchů v μ	10	28,31	0,72	2,81	31,90	0,48	1,86
Velikost pylových zrn v μ	30	29,35	0,45	2,18	29,13	0,51	2,92
Délka semen v mm	10	0,86	0,019	0,062	0,91	0,016	0,052
Šířka semen v mm	10	0,72	0,027	0,086	0,75	0,023	0,072
Hektolitrová váha v kg	—	38,50	—	—	34,45	—	—
Váha 1000 semen v gramech	—	0,191	—	—	0,165	—	—

Tab. 2. Analýza počtu siličných žlázek na ploše suchého listu merlíku vonného.

Таблица 2. Анализ числа жилок эфирного масла на площади сухого листа душистого телексиса

Table 2. Analysis of number of volatile oil glands on the surface of a dry leaf of goose-foot weed.

Tab. 2. Analyse der Anzahl von Drüsen des ätherischen Öls auf einer Blattfläche des wohlriechenden Gänsefußes

Odrůda	<i>Chenopod. ambr. L.</i>					<i>Chen. ambr. v. anthelm.</i>			
Zdroj proměnlivosti	N	Součet čtverců	Průměrný čtverec	F	s	Součet čtverců	Průměrný čtverec	F	s
Rostliny	34	53,12	1,56	1,41		113,04	3,32	2,77	**
Počítání na témže listě	9	17,03	1,89	1,71		14,59	1,62	1,35	
Nekontrol. faktory	306	337,57	1,103		1,047	367,31	1,20		1,095
	349	407,72				494,94			

Tab. 3. Průměrný počet siličných žlázek na ploše 0,648 mm² suchého listu merlíku vonného.

Таблица 3. Среднее число жилок эфирного масла на площади 0,648 мм² сухого листа душистого телексиса

Table 3. Average number of volatile oil glands on surface 0.648 mm² of dry leaf of aromatic goosefoot.

Tab. 3. Durchschnittszahl der Drüsen des ätherischen Öls auf einer Fläche von 0,648 mm² des trockenen Gänsefußblattes (wohlriechender G.)

Číslo rostliny	<i>Chenopodium</i> ambr.	<i>Chenopodium</i> ambr. v. anth.	Číslo rostliny	<i>Chenopodium</i> ambr.	<i>Chenopodium</i> ambr. v. anth.
1	4,1	3,4	19	3,5	4,3
2	3,8	3,4	20	3,5	2,7
3	3,7	3,7	21	3,4	2,8
4	3,9	2,8	22	3,5	4,1
5	3,9	2,7	23	2,8	3,4
6	4,2	3,5	24	3,7	4,4
7	3,8	3,1	25	3,5	3,6
8	3,5	3,0	26	3,2	3,5
9	3,2	3,7	27	3,4	3,1
10	3,6	3,7	28	4,4	3,8
11	3,4	3,1	29	3,1	2,4
12	3,5	3,1	30	4,0	3,1
13	3,7	4,4	31	2,9	4,4
14	4,0	3,0	32	3,7	4,2
15	2,9	3,0	33	3,0	3,2
16	3,1	3,9	34	3,4	4,0
17	4,3	3,4	35	3,5	4,0
18	3,4	3,4			
Průměr				3,56	3,46
Minimální difference				0,92	0,98
P = 0,05					
P = 0,01				1,20	1,28

podle L j a š e n k a (23) je zcela totožná s výsledky našeho měření, naproti tomu námi stanovená váha 1.000 semen je ve srovnání s výsledky B é l y (4) (0,1155 g) vyšší.

2. Hodnocení drogy a silice

Množství silice jsme stanovili destilací natě přístrojem podle Čs L 2. Ke každému stanovení bylo bráno 10,00 g hrubě řezané natě po vyloučení zdřevnatělých silných os (II) a 300 ml destilované vody. K úplnému vydestilování silice bylo zapotřebí 3 hodin pozvolné destilace. K zjištění hustoty a indexu lomu silice a ke stanovení množství askaridolu byla silice získána jednohodinovou destilací. Hustota byla stanovena pyknometricky, index lomu A b b é o v ý m refraktometrem, množství askaridolu v předběžných pokusech současně metodou podle K n a f f l - L e n z e a H o f m a n n a (21) v modifikaci C o c k i n g a a H y m a s e (21a) a podle B ö h m e a E m s t e r a (7). Obě metody jsou založeny na stejném principu, pracují však s jinými navážkami. Předběžnými pokusy bylo zjištěno, že výsledky obou metod jsou totožné, proto další hodnocení bylo prováděno metodou podle C o c k i n g a a H y m a s e: asi 2,50 g přesně odvážené merlíkové silice se rozpustí do 50 ml v 90 % kyselině octové; 5,00 ml tohoto roztoku se přidá do směsi 3 ml 5n roztoku jodidu dra-

Tab. 4. Farmakognostické hodnocení *Chenopodium ambrosioides* L. a *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum*.

Таблица 4. Фармакологическая оценка *Chenopodium ambrosioides* L. и *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum*.

Table 4. Pharmacognostic evaluation of *Chenopodium ambrosioides* L. and *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum*.

Tab. 4. Pharmakognostische Bewertung des *Chenopodium ambrosioides* L. und *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum*

Stanovené hodnoty		<i>Chenopod. ambr.</i>	<i>Chenopod. ambr. v. anth.</i>
Sušina		95,00 %	93,96 %
Popel	{ celkový	14,12 %	15,52 %
	{ nerozp. v HCl	1,15 %	1,19 %
Extrakt	{ (40% líh)	40,36 %	40,34 %
	{ (vodný)	40,46 %	40,48 %
Hustota silice	$h \frac{20^\circ}{4^\circ}$	0,9762	0,9730
Index lomu silice	$(n \frac{20^\circ}{D})$	1,4794	1,4803
Barva silice		tmavě žlutá	světle žlutá
% obsah silice v nati	{ I. skliz. 23. 7.	0,48	0,87
	{ II. skliz. 17. 8.	1,46	2,23
% obsah ascaridolu v silici (nať II. sklizně)		65,02	60,43
Obsah saponinů v nati		31 h. j.	31 h. j.
Stupeň kyselosti silice		0,90	1,01

selného, 5 ml roztoku chlorovodíku ($h = 1,19$) a 10 ml ledové kyseliny octové ochlazené na 0–3° C. Směs se nechá asi 5 minut v chladu a vyloučený jod se za stálého chlazení rychle titruje 0,1n roztokem sirnatanu sodného za použití roztoku škrobového mazu jako indikátoru. Současně s tímto stanovením se provádí slepý pokus s 20,00 ml vody místo zkoušeného roztoku. Stanovení vodného a lihového extraktu, sušiny a popelu drogy jsme prováděli metodami podle Čs L 2. Obsah saponinů jsme stanovili rovněž metodou podle Čs L 2, a to na čerstvě zhotoveném nálevu krvinek připraveném odstředěním a postupným promýváním čerstvé hovězí krve. Jako standardu bylo použito prvosienkového saponinu o h. j. = 1.000. Všechna stanovení byla prováděna nejméně třikrát a aritmetický průměr jednotlivých výsledků je uveden v tabulce 4.

Z tabulky 4 vyplývá, že při sklizni v květu byl obsah silice v nati merlíku vonného 1,46 % a v nati anthelmintické variety 2,23 %. Obsah askaridolu v silici merlíku vonného činil 65,02 %, v silici z anthelmintické variety 60,43 %. Při sklizni provedené před květem (24 dnů před sklizní v květu) byl obsah silice u obou rostlin podstatně nižší.

Při porovnání množství silice získané v našich pokusech s anthelmintickou odrůdou s údaji písemnictví zjišťujeme, že v našich podmínkách vypěstovaná rostlina má vyšší obsah silice, než je nejvyšší množství zjištěné u rostlin aklimatizovaných v SSSR, které uvádí L j a š e n k o (23) 1,5 %. Hodnoty námi zjištěné u nati chenopodia jsou bližší údajům K u z n ě c o v a (22), který zjistil

2,5 % silice v plodech. Oelkers (27a) však uvádí, že semena obsahují 0,8–1,0 % silice. Dafert a Capesius (9a) získali ze semen merlíku vonného rostoucího v Evropě 0,6–1,3 % silice a z nati 0,3 %.

Pokud jde o obsah askaridolu v silici z nati obou odrůd shodují se vcelku naše výsledky (60,43 % v silici anthelmintické odrůdy a 65,02 % v silici krajové odrůdy) s výsledky jiných autorů. Tak Ljašenko (23) zjistil 50–60 % askaridolu v silici, Kuzněcov (22) a Wasicky (cit. podle 27a) 60–80 %, Berger (5) 55–60 %, Schmidt (cit. podle 27a) 62–70 %, Cajus-Mhaskar 56–70 % a Wrench (cit. podle 40, 41) 66 % askaridolu v silici. Hofmann (14a) uvádí obsah askaridolu přibližně 60 %. Odlišný je údaj Sarajeva (35), podle něhož obsahuje silice 74 % askaridolu. Podle Daferta a Capesia (9a) je silice evropského merlíku vonného obsahem askaridolu (až 73 %) rovnocenná silici americké anthelmintické variety.

3. Stanovení antiaskaridní účinnosti silice

Abychom se přesvědčili o anthelmintické účinnosti námi izolované silice, provedli jsme pokusy na prasatech. Pro tyto pokusy jsme použili silic z obou zkoumaných odrůd merlíku získaných destilací podle Chládky (17, 18). V těchto silicích bylo výše popsanou metodou stanoveno množství askaridolu. U krajové odrůdy činil obsah askaridolu 65,02 %, u anthelmintické variety 60,80 %. Bylo tedy množství askaridolu v silici získané podle Chládky totožné s množstvím nalezených v silicích získaných destilací obou drog metodou podle Čs L 2.

V první serii pokusů jsme u šesti prasat aplikovali konusem injekční stříkačky přímo do nosního otvoru 0,05 ml silice v 1 ml ricinového oleje pro kg živé váhy. U dalších třinácti prasat aplikovali jsme stejným způsobem dávku 0,1 ml silice v 1 ml ricinového oleje pro kg živé váhy. U všech prasat předcházela hladovka 24 hodiny a krmivo bylo podáno až za 6 hodin po aplikaci. Aplikace byla opakována za 7 dní. Kontrola účinku byla prováděna pravidelným sledováním odchodu škrkavek od každého prasete, umístěného zvláště, a pitvou. Výsledky provedených pokusů jsou shrnuty v tabulce 5.

Z tabulky je patrné, že obě silice jak krajové, tak i anthelmintické odrůdy merlíku vonného jsou velmi silně účinné na škrkavky. Po aplikaci jednotlivé terapeutické dávky 0,1 ml/kg ž. v. silice z anthelmintické odrůdy, která byla jednou opakována za 7 dní, bylo u 8 prasat do 3 dnů po druhé aplikaci vy-

Tab. 5. Účinnost merlíkové silice při askaridose prasat (aplikováno dvakrát s intervalem 6 dní).

Таблица 5. Действие эфирного масла телекиса при аскаридозе свиней (применено 2 раза с промежутком 6 дней)

Table 5. Effect of goosefoot volatile oil on ascarides of pigs (two applications with 6-day interval).

Tab. 5. Wirksamkeit des ätherischen Öls bei Schweineaskaridose (zweimal appliziert, mit einem Intervall von 6 Tagen)

Počet prasat	Odrůda	Dávka pro kg ž. v.	Vypuzeno škrkavek				Nevypuzeno, při pitvě nalez.	
			po 1. apl.	po 2. apl.	celkem			
			počet	počet	počet	%	počet	%
3	anth.	0,05 ml	5	2	7	14,5	41	85,5
3	kraj.	0,05 ml	9	6	15	93,8	1	6,2
8	anth.	0,1 ml	80	2	82	98,8	1	1,2
5	kraj.	0,1 ml	39	30	69	100,0	0	0

puzeno z 83 škrkavek 98,8 %. Jedinou nevypuzenou škrkavkou byl mladý samec, o němž je možné předpokládat, že v době aplikace merlíkové silice byl ještě mimo zažívadla. Po podání stejné dávky silice z krajové odrůdy bylo u 5 prasat vypuzeno všech 69 škrkavek přítomných v zažívadlech.

Byla tedy IE u anthelmintické variety 98,8 %, EE = 87,5 %. U krajové odrůdy činí IE i EE 100 %. K vypuzování škrkavek došlo u všech pokusných zvířat.

Poloviční dávka (t. j. 0,05 ml/kg) jevila se v našich pokusech u anthelmintické variety mnohem slabší než u odrůdy krajové, která měla i v této dávce účinek blížící se účinku dvojnásobné dávky (0,1 ml/kg) anthelmintické variety. Nechceme však pokusům s dávkou 0,05 ml/kg přičítati průkaznou hodnotu, poněvadž byly vzhledem k ceně pokusných zvířat provedeny pouze orientačně vždy na třech zvířatech.

Provedená chemická vyšetření a biologické pokusy ukazují, že krajová odrůda i anthelmintická odrůda merlíku vonného u nás aklimatisovaná obsahují anthelminiticky velmi účinnou silici.

III. Závěr

1. Byly zjišťovány morfologicko-anatomické vlastnosti merlíku vonného (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray), který byl vypěstován v našich klimatických podmínkách; výsledky pozorování byly porovnány s vlastnostmi běžně pěstované krajové odrůdy merlíku vonného (*Chenopodium ambrosioides* L.). U obou uvedených odrůd bylo stanoveno a porovnáno množství silice i obsah askaridolu a v pokusech na prasatech byl testován anthelmintický účinek silic.

2. *Chenopodium ambrosioides* var. *anthelminth.* je na rozdíl od krajové odrůdy vyšší, má hlouběji zubaté listy, větší semena a květenství v souvislých hrozních bez listů. Hustota siličných žlázek je u obou odrůd stejná; rovněž rozdíly ve velikosti žlázek obou odrůd nebyly statisticky prokázány.

3. Množství silice bylo stanoveno metodou podle Čs L 2, askaridol metodou podle Cockinga a Hymase. Nať cizí provenience merlíku vonného anthelmintické variety obsahovala v době květu 2,23 % silice a 60,43 % askaridolu v silici, krajová odrůda merlíku vonného 1,46 % silice a 65,02 % askaridolu v silici.

4. Anthelmintická účinnost byla testována v pokusech na 19 prasatech; po dávce silice z anthelminitické odrůdy 0,05 ml v 1 ml ricinového oleje pro kg ž. v. aplikované konusem injekční stříkačky do nosního otvoru (s jedním opakováním za 7 dní) bylo vypuzeno u 3 prasat 14,5 % škrkavek ze 48 a po stejné dávce silice z krajové odrůdy 93,8 % ze 16 škrkavek u dalších 3 prasat. Po dávce 0,1 ml silice z anthelmintické odrůdy v 1 ml ricinového oleje pro kg ž. v. podané stejným způsobem, bylo u 8 prasat vypuzeno 82 škrkavek z 83 (IE = 98,8 %, EE = 87,5 %) a po téže dávce silice z krajové odrůdy všechny škrkavky ze 69 u 5 prasat (IE i EE = 100 %). Kontrola účinnosti byla prováděna pitvou.

5. Bylo zjištěno, že *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray je možno u nás úspěšně pěstovat a získat tak hodnotnou surovinu k výrobě anthelmintických preparátů. Také v domácí odrůdě *Chenopodium ambrosioides* L. byl obsah silice dosti vysoký, a to 65,4 % obsahu silice v anthelmintické varietě.

V dalším výzkumu bude pokračováno jak s hlediska agrotechnického, tak i farmakologického a farmaceutického.

1. Appl J.: Výsledky pokusů s pěstováním léčivých bylin zemského výzkumného ústavu v Brně v r. 1935. — 2. Beckett A. H., Dombrow M.: J. Pharm. Pharmacol. 4, 738, 1952. — 3. Beckett A. H., Jolliffe G. O.: J. Pharm. Pharmacol. 7, 606, 1955. — 4. Béla A.: Heil. u. Gewürzpfl. 12, 88, 1929-30. — 5. Berger F.: Handbuch der Drogenkunde, Bd. IV, Wien 1954. — 6. Bodendorf K.: Arch. d. Pharm. 271, 1, 1953. — 7. Böhme H., Emster K.: Arch. d. Pharm. 284/56, 171, 1951. — 8. Borkowski B.: Farm. Polska, 9, 147, 1953. — 9. Dafert O., Capesius V. a j.: Scientia pharm. 5, 84, 1934, Pharm. Zentralh. 3, 45, 1935, ref. Pharm. Monatsch. 17, 76, 1936. — 9a. Dafert, Capesius: Pharm. Presse 1933, 38 - cit. dle: Moritz: Einführung in die allgemeine Pharmakognosie, Jena 1953. — 10. Dostál J.: Květena ČSR, Praha, 1950. — 11. Fernandes C. A., Cardoso de V. J.: ref. Chem. Abstr. 47, 4549, 1953. — 12. Fresenius Ph.: Pharm. Zentralh. 92, 8, 1953. — 13. Heeger E. F., Rosenthal C.: Pharmazie, 4, 390, 1949. — 14. Halpern A.: J. Am. Pharm. Ass., Sc. Ed. 37, 161, 1948, 37, 465, 1948. — 14a. Hofmann, Held: Die Pharmazie 8, 24, 1953. — 15. Howell J. Th.: ref. Biol. Abstr. 23, 1250, 1949. — 16. Hrubý K., Konvička O.: Polní pokusy, jejich zakládání a hodnocení, Olomouc 1954. — 17. Chládek M., Rod J., Baňoch Z.: Sborník ČSAZV, 26, 213, 1953. — 18. Chládek M.: Farmácia 23, 69, 1954. — 19. Ickov N. Ja.: Vozdělivanije lekarstvennyh rastenij, Moskva 1954. — 20. Janiczek M.: ref. Heil. u. Gewürzpfl. 12, 47, 1929-30. — 21. Knaffl - Lenz E., Hofmann A.: Arch. d. Pharm., 267, 117, 1929. — 21a. Cocking T. T., Hymas C. F.: Analyst 55, 180, 1930. — 22. Kuzněcov N. V.: Aptečnoje dělo, 2, 64-66, 1953. — 22a. Lebeda J., Šimůnek J., Marek J.: Sborník ČSAZV 27B, 701, 1954. — 23. Ljašenko S. S.: Aptečnoje dělo, 6, 19, 1952. — 24. Madaus G.: Lehrbuch der biologischen Heilmittel, Leipzig 1938. — 25. Macher Z.: Acta Polon. pharmac., 10, 131, 1953. — 26. Masao - Maruyama: Die Pharmazie 8, 595, 1953. — 27. Metodiky udržovacího šlechtění, ČSAZV, Praha 1954. — 27a. Oetkers: Pharmakologische Grundlagen der Behandlung von Wurmkrankheiten, Leipzig 1950. — 28. Pethes B.: Ger. ungar. pharm. Ges. 437-39, 1928, ref. Heil. u. Gewürzpfl. 12, 173, 1929-30. — 29. Petričić J.: Acta Pharm. Jugoslav. 2, 132, 1952. — 30. Písařík J.: Úspěšné pěstování léčivých a aromatických rostlin, Praha 1952. — 31. Preuss R. E. G.: ref. Schimmels Berichte 30, 1940. — 32. Prodanov P., Dělčev G. a Antonov St.: Veterinářství III., 233, 1953. — 33. Rojdestwensky A.: Pharm. Weekbl. 61, 1341, 1924, ref. Pharm. Zentralh. 66, 137, 1925. — 34. Russel G. A.: J. Am. Pharm. Ass. 11, 255, 1922, ref. Pharm. Zentralh. 64, 75, 1923. — 35. Sarajev P. I.: Kultura lekarstvennyh rastenij, Moskva, 1952. — 36. Sekera A., Rahm J.: Čs. Farmacie, 1, 471, 1952. — 37. Shapter R. E.: ref. Biol. Abstr. 16, 489, 1942. — 38. Schenk G. O.: Süddtsch. Apoth. Ztg. 88, 3, 1948, ref. Pharm. Zentralh. 87, 271, 1948. — 39. Schenk G. O., Schulze - Buschoff H.: Dtsch. med. Wschr., 73, 341, 1948, ref. Pharm. Zentralh. 88, 259, 1949. — 40. Schimmels Berichte: 52-54, 1921. — 41. Schimmels Berichte: 80-84, 1922. — 42. Toyohiko Kawatani, Tadarō Ohno: J. Pharm. Soc. Japan, 72, 1478, 1952, ref. Chem. Abstr. 47, 1790, 1953. — 43. Wegner E.: Pharm. Zentralh., 91, 43, 1952. — 44. Wegner E.: Pharm. Zentralh., 92, 11, 1953. — 45. Zemlinskij S. E.: Lekarstvennyje rastenija SSSR, Moskva 1951. — 46. Zimmermann W.: Apoth. Ztg., 25, 243, 1922.

Получение антигельминтного *Oleum chenopodii* из некоторых отечественных пород душистого телекиса

1. Авторы изучали морфологическо-анатомические свойства душистого телекиса (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *antihelminthicum* Gray), который был выращен в наших климатических условиях; они произвели сравнения результатов наблюдений с свойствами нормально выращенных региональных пород душистого телекиса (*Chenopodium ambrosioides* L.). У обеих указанных пород было определено и сравнено количество эфирного масла и содержание аскаридола, а на опытах со свиньями был произведен тест на антигельминтное действие эфирного масла.

2. *Chenopodium ambrosioides* var. *antihelminth.* в отличие от региональной разновидности является более высоким растением, имеющим более глубоко-зубчатые листья, более крупные семена и соцветие из связанных кистей без листьев. Густота эфирных волосков листьев у обеих пород одинаковая; также не было статистически подтверждено различие размеров жилок листьев у обеих разновидностей.

3. Количество эфирного масла было установлено по методу, указанному Чехословацкой фармакологией 2, аскаридол по методу Кокинга и Гимаса. Ботва душистого телекиса антигельминтозной разновидности зарубежного происхождения содержала в период цветения 2,23 % эфирного масла и 60,43 % аскаридола в эфирном масле, региональная порода душистого телекиса содержала 1,43 % эфирного масла и 65,02 % аскаридола в эфирном масле.

4. Антигельминтное действие было установлено путем теста на опытах с 19 свиньями; после подавания эфирного масла из душистого телекиса антигельминтозной разновидности 0,05 мл в 1 мл касторового масла на 1 кг живого веса, вводимого конусом шприца для инъекций в носовое отверстие (с одним повторным влиянием по прошествии 7 дней) у 3 свиней было изгнано 14,5 % аскарид из 48, а после такой же дозы эфирного масла из региональной разновидности 93,8 % из 16 аскарид у дальнейших 3 свиней. После дозы 0,1 мл эфирного масла из антигельминтозной разновидности в 1 мл касторового масла на 1 кг живого веса, поданным аналогичным способом у 8 свиней было изгнано 82 аскариды из 83 (IE — 98,8 %, EE — 87,5 %) и после такой же дозы эфирного масла из региональной породы все аскариды из 69 были изгнаны у 5 свиней (IE и EE 100 %). Контроль действия был установлен путем вскрытия свиней.

5. Было установлено, что *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelmithicum* Gray возможно у нас успешно выращивать и таким образом получать столь ценное сырье для производства антигельминтных препаратов. У отечественной разновидности *Chenopodium ambrosioides* L. содержание эфирного масла было достаточно высоким, а именно 65,4 % содержания эфирного масла в антигельминтозной разновидности.

Дальнейшее исследование будет производиться как в агротехническом, так и фармакологическом и фармацевтическом направлениях.

Obtaining Anthelmintically Effective Oleum Chenopodii from Some Strains of Goosefoot Growing in Czechoslovakia

1. The morphological-anatomical properties of aromatic goosefoot (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelmithicum* Gray), grown under our climatic conditions, were ascertained; the observed results were compared with the properties of common regional strains of aromatic goosefoot (*Chenopodium ambrosioides* L.). In both of these strains we established and compared the amount of volatile oils and the ascaridol content, and tests were made on pigs for the anthelmintic effect of the volatile oils.

2. As compared with the common regional varieties, *Chenopodium ambrosioides* var. *anthelmith.* is taller, has more deeply toothed leaves, larger seeds, and the flowers are in related clumps without leaves. The density of the volatile oil glands is the same for both varieties; the differences in size of the glands on both varieties were also not demonstrable statistically.

3. The amount of volatile oils was established by the ČsL. 2 method, ascaridol by the method of Cocking and Hymas. The tops of the goosefoot of foreign origin, with anthelmintic properties, contained 2.23 % volatile oils in the period of flowering and 60.43 % ascaridol in the volatile oils. The respective figures for domestic varieties were 1.46 % and 65.02 %.

4. The anthelmintic effect was tested in 19 pigs; after a dose of volatile oils from the anthelmintic variety of 0.05 ml. in a ml. of castor oil per kilogram live weight, applied with the cone of an injection syringe into the nasal aperture (repeated once in seven days), 14.5 % of the round-worms out of 48 were expelled in three pigs, and after the same dose of volatile oils from regional variety 93.8 % of the 16 roundworms in three other pigs. After a dose of 0.1 ml. volatile oils of the anthelmintic variety in 1 ml. castor oil per kilogram live weight, given in the same manner, 82 out of 83 roundworms were expelled from 8 pigs (IE-98.8 %, EE-87.5 %), and after the same dose of volatile oils from the regional variety, all roundworms out of the 69 in five pigs were expelled (IE and EE — 100 %). The control on effectiveness was carried out by autopsy.

5. It was found that *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelmithicum* Gray can be grown successfully in our country and thus we may obtain a valuable raw material for the production of anthelmintic preparations. The volatile oil content in domestic varieties of *Chenopodium ambrosioides* L. was also quite high — 65.4 % of the volatile oil content in the anthelmintic variety.

**Die Gewinnung des anthelmintisch wirkenden *Oleum Chenopodii*
von zwei Varietäten des in der ČSR gepflanzten *Chenopodiums***

1. Es wurden die anatomisch-morphologischen Merkmale und Eigenschaften des in der ČSR gepflanzten *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray studiert, und mit denen des einheimischen *Chenopodium ambrosioides* L. verglichen. Es wurde der Inhalt des ätherischen Öles und des Ascaridols bestimmt, und im Tierversuch die anthelmintische Wirkung der gewonnenen ätherischen Öle geprüft.

2. Das *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray ist im Gegensatz zum *Chenopodium ambrosioides* L. höher gewachsen, es hat tiefer zackige Blätter, größere Samen und die Blüten in zusammenhängenden Trauben ohne Blätter. Es konnten keine Unterschiede in der Dichte der Pflanzendrüsen sowie auch in deren Größe festgestellt werden.

3. Die Menge des ätherischen Öles wurde durch die in dem Arzneibuche PhBs 2. Aufl. angeführte Methode festgestellt, der Inhalt des Ascaridols im Öle nach Cocking u. Hymas bestimmt. Beim *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray während der Blütezeit betrug die Menge des ätherischen Öles 2,23 % und beim *Chenopodium ambrosioides* L. 1,46 %. Der Inhalt des Ascaridols im Öle war bei der anthelmintischen Varietät 60,43 % und bei der einheimischen 65,02 %.

4. Die anthelmintische Wirksamkeit wurde an 19 Schweinen überprüft. Es wurden die abgetriebenen und die im Verdauungstrakt verbliebenen Würmer (Sektion) gezählt. Jede Dosis des *Oleum Chenopodii* wurde mit 1 ml des *Oleum Ricini* pro kg Lbgw. mit dem Spritzenkonus direkt in eine Nasenöffnung eingespritzt. Die Dosis wurde nach 7 Tagen einmal wiederholt. Es wurden folgende Ergebnisse festgestellt:

Die Dosis von 0,05 ml pro kg Lbgw. des *Oleum Chenopodii* aus dem *Chenopodium ambrosioides* var. *anthelminthicum* vertrieb bei 3 Schweinen 14,5 % Askariden von 48. Die gleiche Dosis des *Ol. Chenopodii* der einheimischen Varietät *Chenopodium ambrosioides* L. vertrieb bei 3 Schweinen 93,8 % aus 16 Spulwürmern.

Die doppelte Dosis 0,1 ml des *Oleum Chenopodii* der anthelminthischen Varietät vertrieb bei 8 Schweinen 82 Askariden von 83 (IE = 98,9 %, EE = 87,5 %). Dieselbe Dosis des Öles der einheimischen Varietät vertrieb bei 5 Schweinen alle 69 Spulwürmer aus 69 (IE und EE = 100 %).

5. Diese Untersuchungen zeigen, daß es möglich ist, in der ČSR *Chenopodium ambrosioides* var. *anthelminthicum* Gray anzubauen und aus diesem vollwirksames *Ol. Chenopodii anthelminthici* zu gewinnen. Auch in der einheimischen Varietät *Chenopodium ambrosioides* L. war der Gehalt an *Ol. Chenopodii* ziemlich hoch (65,4 % des Gehaltes in der anthelminthischen Varietät).

Diese Forschungen werden weiterhin fortgesetzt und vom Standpunkte der Agrotechnik, Pharmazie, Pharmakologie und Therapie erweitert werden.

Účinnost česneku, křenu a merlíku vonného při askaridose prasat

Действие чеснока, хрена и душистого телекиса при аскаридозе свиней

Effect of Garlic, Horse Radish and Aromatic-Goosefoot on Ascarides of Pigs

Die Wirkung des *Allium sativum*, *Armoracia rusticana* und des *Chenopodium ambrosioides* beim Spulwurmbefall der Schweine.

Doktor vet. věd, prof. Dr. J. LEBDUŠKA, Dr. J. ŠIMŮNEK, promováný veterinární lékař J. BOURA

Z katedry farmakologie veterinární fakulty VŠZ v Brně

Došlo dne 12. VI. 1956

I. Úvod a všeobecná část

Při soustavném výzkumu antiaskaridních prostředků, který provádíme na naší katedře již delší dobu, přezkoušeli jsme v pokusech *in vitro* vedle jiných látek i účinek celé řady rostlin u nás rostoucích. Výsledky těchto pokusů byly zčásti uveřejněny (Lebduška a spol., 1) zčásti je publikujeme současně (Lebduška, Šimůnek, Bálek, Hakoš). Pokusy *in vitro* nám sloužily za orientaci, neboť konečné závěry pro terapii na základě výsledků těchto pokusů nelze činit. Rozhodující je teprve pokus na hostiteli napadeném askaridami. Pro pokusy na prasatech jsme vybrali rostliny, které měly v pokusech *in vitro* nejsilnější askaricidní účinek. Jsou to: křen (*Armoracia rusticana*), česnek (*Allium sativum*) a merlík vonný (*Chenopodium ambrosioides*). Účinnost těchto tří rostlin v pokusech *in vitro* je uvedena přehledně v diagramu 1, v němž srovnáváme jejich účinnost vzájemně, a též s působením našeho, t. č. neúčinnějšího dostupného antiaskaridního prostředku pro prasata — fluoridu sodného, NaF, který jsme použili jako standard. Z diagramu vyplývá, že křen měl účinek prakticky stejně silný jako NaF, slabší byl merlík vonný a nejslabší česnek, hojně používaný proti škrkavkám v lidovém lékařství.

V pokusech, o nichž referujeme v této práci, zjišťovali jsme, jaký antiaskaridní účinek budou mít tyto rostliny *in vitro* značně účinné, použijí-li se jako příměs v krmivu prasat po delší dobu. Takovýto způsob ovlivnění stupně invaze červů je jednou z možností, kterou podle našeho názoru není možno nechat bez povšimnutí vzhledem k jednoduchosti a snadné proveditelnosti v praxi. Důvody uvádíme blíže v práci o účinnosti řady rostlin na škrkavky *in vitro*, která je uveřejňována současně.

Diagr. 1. Účinnost drti česneku, křenu a merlíku vonného (1:100) a fluoridu sodného (1:1000) na *Ascaris suis* in vitro

(Na ose y je uvedeno procento zahynulých škrkavek, na ose x čas v hodinách.)

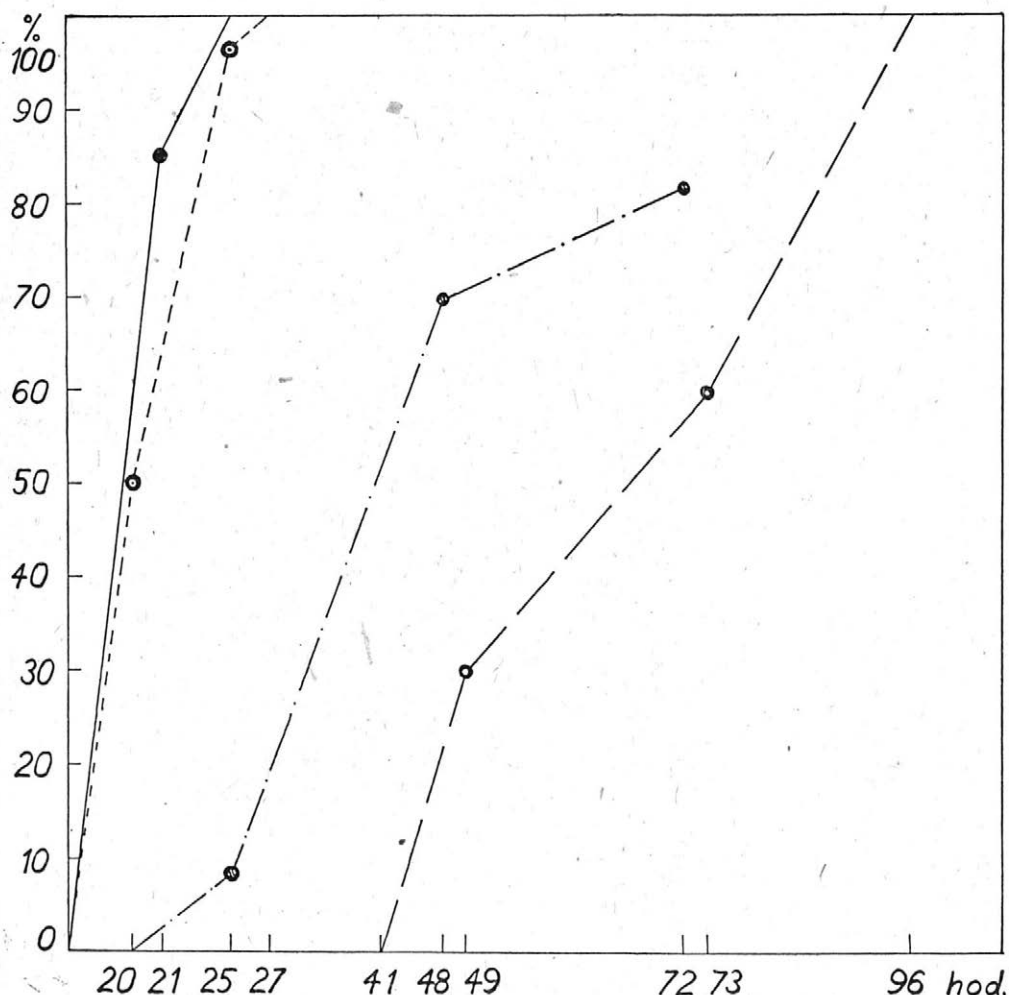
Диаграмма: Действие натертого чеснока, хрена и душистого телекиса (1:100) и фтористого натра (1:1000) на *Ascaris suis* in vitro

(На оси у указан процент погибших аскаридов, на оси x — врем. в часах)

Diagram 1. Effect of crushed garlic, horse radish and aromatic goosefoot (1:100) and sodium fluoride (1:1000) on *Ascaris suis* in vitro

(Axis y shows the percentage of dead ascarides, axis x shows the time in hours)

Diagramm 1. Wirksamkeit des gemahlenen Knoblauchs, Meerrettichs und wohlriechenden Gänsefußes (1:100) und des Natriumfluorids (1:1000) gegen *Ascaris suis* in vitro. (Die Koordinate gibt die Anzahl der abgestorbenen Ascariden, die Abszisse-Zeitangabe in Std. an)



— křen (60 škrkavek)
хрен (60 аскарид)
horse radish (60 worms)
Meerrettich (60 Ascariden)

- - - NaF (30 škrkavek)
NaF (30 аскарид)
NaF (30 worms)
NaF (30 Ascariden)

- · - · - česnek (20 škrkavek)
чеснок (20 аскарид)
garlic (20 worms)
Knoblauch (20 Ascariden)

- · - · - merlík vonný (30 škrkavek) —
pokus skončen o 72 hod.
душистый телекис (30 аскарид) — опыт закончен через 72 часа

aromatic goosefoot (30 worms)
test ended in 72 hours

wohlriechender Gänsefuß
(30 Ascariden)
(der Versuch wurde nach 72 Std. beendet)

II. Experimentální část

A. Metodika

K pokusům jsme vybrali prasata na základě ovoskopického vyšetření trusu. Z každého vzorku odebraného z rekta zhotovovali jsme tři nativní preparáty. Obvykle po trojím takovémto vyšetření provedeném během několika dní, vybrali jsme pro pokusy prasata s největším počtem vajíček škrkavek v nativních preparátech k vlastnímu pokusu. Prasata jsme umístili po jednom v kotcích s dřevěnou roštovou podlahou a denně jsme prohlíželi trus na vypuzené škrkavky. Kontrolu účinnosti zkoušených rostlin jsme provedli pitvou, při níž jsme zjišťovali počet askarid zbylých v zažívadlech. Výsledky pokusů hodnotíme podle kritérií VIGIS (2) procentem intensefektivnosti IE (t. j. procento vypuzených škrkavek z celkového jejich počtu) a procentem extensefektivnosti EE (t. j. procento zvířat úplně zbavených škrkavek). Kromě toho bereme pro další zpřesnění ještě v úvahu i procento zvířat, od nichž vlivem léčiva odcházel červi, bez ohledu na to, zda vypuzení parazitů bylo úplné nebo jen částečné. Vzhledem k nákladnosti takovýchto bezpečně průkazných pokusů, při nichž je nutno prasata zabíjeti, není možné je provádět na tak velkém počtu zvířat, jak by bylo žádoucí.

K pokusům použité rostliny jsme těsně před aplikací krájeli na drobno, resp. strouhali (křen, česnek). Dávku jsme stanovili v procentech pevných součástí krmiva. Prasata byla krmena dvakrát denně. Pitvu pokusných prasat jsme prováděli za 3–7 dní po skončeném podávání zkoušených rostlin v krmivu. Česnek a křen byly opatřeny ve skladech distribuce a pokusy byly provedeny v prosinci až březnu. Pokusy s měříkem byly provedeny v létě těsně před jeho květem. Potřebné množství čerstvé rostliny bylo denně sklizeno. Šlo o *Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray původem z botanické zahrady ve Ferraře, u nás aklimatisované.

B. Výsledky pokusů

1. Merlík vonný

V pokuse jsme měli 7 prasat živé váhy od 16,0 do 30,5 kg. Většina prasat (5) vážila 20,0 až 23,0 kg.

a) Podávání rostliny.

V první části pokusu jsme přidávali denně čerstvě požitý merlík vonný v množství 5 % do každého z obou denních krmiv, a to po dobu 10 dní. Jednotlivá dávka nožem na jemno posekaných listů a nezdřevnatělých částí rostliny byla 42,5 g. Krmivo bylo dobře přijímáno. Výsledky byly tyto:

Od začátku podávání merlíku vonného v krmivu až do 5 dní po skončeném podávání rostliny bylo vypuzeno celkem 27 škrkavek od 2 prasat. Od 5 prasat nebyla tedy během celé této doby vypuzena žádná škrkavka. Podle sledování odchodu škrkavek v trusu během druhé části pokusu i podle výsledku potom provedené pitvy dojdeme k tomuto zjištění:

U celé skupiny 7 prasat byly na začátku pokusu v zažívadlech přítomny 72 škrkavky, během 10 dní podávání merlíku vonného v krmivu a 5 dní po skončení jeho podávání bylo vypuzeno 27 škrkavek (t. j. 37,5 %), nevypuzeno zůstalo 45 škrkavek (t. j. 62,5 %) — maximum 17, minimum 0. Jedno prase bylo zbaveno všech škrkavek.

b) Podávání šťávy merlíku vonného.

Ve druhé části pokusu, která počala za 5 dní po skončení podávání celé

rostliny v krmivu, podali jsme téměř 7 zvířatům a jednomu dalšímu (ž. v. 22 kg) po 24 hod. hladovce šťávu, získanou pomletím a vylisováním listů merlíku vonného, v množství od 365 do 400 ml. Šťáva byla smíchána s krmivem a směs byla vesměs dobře přijata. Výsledky byly tyto:

Po aplikaci šťávy merlíku vonného 8 prasatům došlo k vypuzení 1 škrkavky od 1 prasete. Při pitvě provedené za 7 dní bylo zjištěno, že 1 prase bylo již před aplikací šťávy zbaveno všech škrkavek účinkem podávání celé rostliny v 1. části pokusu. Po jednorázovém podání šťávy merlíku vonného byla tedy ze 67 škrkavek v zažívadlech 7 prasat vypuzena jen jedna (t. j. 1,49 %).

2. Křen

S touto rostlinou jsme provedli 2 pokusy dohromady na 11 prasatech. Ve druhém pokusu byly proti prvnímu zvýšeny dávky.

a) P o k u s č. 1.

Použili jsme 6 prasat živé váhy od 14,5 do 28,1 kg. Do každého z obou denních krmiv jsme přidávali denně čerstvě nastrouhaný křen, a to v množství 2 % po 8 dní, v množství 3 % po další 4 dny a v množství 5 % po další 4 dny. Jednotlivá dávka křenu byla 27,6 g, 41,4 g a 69,0 g. Podávané krmivo se křenem bylo dobře přijímáno. Celkem byl tedy křen podáván po 16 dní. Výsledky byly tyto:

Od začátku podávání 2—5 % křenu v krmivu až do pitvy za 3 dny po skončeném podávání bylo vypuzeno celkem 7 škrkavek od 5 prasat. U jednoho prasete nebyla tedy během celé této doby vypuzena žádná škrkavka. Při pitvě jsme našli 73 škrkavky (maximum 36, minimum 2). U celé skupiny prasat bylo tedy na počátku pokusu v zažívadlech přítomno 80 škrkavek, během 16 dní podávání křenu v krmivu a 3 dní po skončení podávání odešlo 7 škrkavek (t. j. 8,7 %), nevypuzeny zůstaly 73 škrkavky (t. j. 91,3 %).

b) P o k u s č. 2.

Použili jsme 5 prasat živé váhy od 12,9 do 21,8 kg. Do každého z obou denních krmiv jsme přidávali denně čerstvě nastrouhaný křen, a to v množství 2 % po 6 dní, 5 % po dalších 5 dní a 10 % po dalších 5 dní. Jednotlivá dávka křenu byla 17,0 g, 42,5 g a 85,0 g. I tyto dávky křenu v krmivu byly dobře přijímány. Celkem byl tedy křen i v tomto pokusu podáván po 16 dní. Výsledky byly tyto:

Od začátku podávání 2—10 % křenu v krmivu až do pitvy za 3 dny po skončeném podávání byly vypuzeny celkem 2 škrkavky od 1 prasete. U čtyř prasat nebyla tedy během celé této doby vypuzena žádná škrkavka. Při pitvě jsme našli 34 škrkavky (maximum 18, minimum po 1 u dvou prasat). U celé skupiny 5 prasat bylo tedy na počátku pokusu v zažívadlech přítomno 36 škrkavek, během 16 dní podávání křenu a 3 dní po skončeném podávání odešly 2 škrkavky (t. j. 5,5 %), nevypuzeny zůstaly 34 škrkavky (t. j. 94,5 %).

3. Česnek

Pokusy jsme provedli celkem na 6 prasatech živé váhy od 17,6 do 26,8 kg.

a) O r i e n t a č n í p o k u s y o m n o ž s t v í č e s n e k u p ř í j í m a n ě m v k r m i v u.

Jednomu z prasat (ž. v. 17,6 kg), které bylo později zařazeno do hlavního pokusu (sub b.), podali jsme 14 dní před počátkem hlavního pokusu po 24hodinové hladovce 10 % čerstvě nastrouhaného česneku v obou denních dávkách krmiva (t. j. vždy 85 g). Při dopoledním krmení byla tato dávka přijata dobře, při odpoledním jen asi ze tří čtvrtin. Do 7 dní po aplikaci nebyla vypuzena žádná škrkavka.

Témuž zvířeti bylo podáno 7 dní před hlavním pokusem po 24hodinové hladovce 15 % čerstvě nastrouhaného česneku (t. j. 127 g) v jednom krmení. Tato dávka byla podána v 1 litru mléka, které bylo pomalu přijímáno; celá dávka byla prasetem přijata až po přidání vařených brambor a šrotu. Do 7 dnů po aplikaci nebyla vypuzena žádná škrkavka.

b) Hlavní pokus

Použili jsme 6 prasat výše uvedené váhy. Do každého z obou denních krmiv jsme přidávali denně čerstvě nastrouhaný česnek v množství 2 % po 8 dní, 3 % po další 4 dny a 5 % po další 4 dny. Jednotlivá dávka česneku byla 17,0 g, 25,5 g a 42,5 g. Prasata krmivo s česnekem vesměs dobře přijímala. Výsledky byly tyto:

Po dobu podávání česneku v krmivu bylo vypuzeno u jednoho prasete 11 škrkavek, během podávání 3 % u dalších dvou prasat 1 a 2 škrkavky a během podávání 5 % česneku u těchto dvou prasat po 1 škrkavce. Od skončení podávání česneku až do provedení pitvy (za 6 dní) nebyla již vypuzena žádná škrkavka. U tří prasat nebyla během celé této doby vypuzena žádná škrkavka. Při pitvě bylo v zažívadlech nalezeno u všech šesti prasat celkem 104 škrkavek (maximum 52, minimum 10). Žádné zvíře nebylo zcela zbaveno škrkavek. U celé skupiny 6 prasat bylo tedy na počátku pokusu v zažívadlech přítomno 156 škrkavek, během 16 dní podávání česneku odešlo 16 škrkavek (t. j. 10,2 %), nevypuzeno zůstalo 140 škrkavek (t. j. 89,8 %).

Výsledky všech provedených pokusů uvádíme přehledně v tabulce 1, v níž jsme jednotlivé pokusy seřadily podle zkoumaných rostlin.

C. Zhodnocení výsledků a diskuse

1. Porovnání účinnosti tří rostlin

Ke srovnávání účinku studovaných rostlin nutno předem upozornit, že z tabulky lze srovnávat poměrně přesně navzájem jen pokusy č. 2a a 3b, provedené při stejném procentuálním obsahu křenu a česneku v krmivu. Při tom ovšem absolutní dávka rostlin i krmiva byla rozdílná podle krmné dávky. Přibližně je možno s nimi srovnávat i pokus č. 2b (křen) a č. 1a (merlík vonný), kde však dávka v krmivu i délka podávání byly poněkud odlišné. S určitostí možno považovati merlík za účinnější než křen, neboť u tohoto při stejné dlouhé podávání (z toho 5 dní ve dvojnásobné dávce) byla účinnost nižší. U česneku v pokusu č. 3b bylo proti merlíku podáváno po kratší dobu (4 dnů proti 5) menší množství (3 % proti 5 %), ale tento rozdíl je možno pokládati na vyrovnaný tím, že česnek byl v souvislosti těsně před tím podáván po 8 dní v množství 2 % krmiva. Vzhledem k velikému rozdílu účinnosti merlíku proti česneku (v pokusu č. 1a a 3b) lze pokládati za jisté, že účinnost merlíku je podstatně vyšší než u česneku.

Pomineme-li nevelké rozdíly v dávce a délce podávání rostlin, jeví se číselně srovnání takto:

Merlík vonný (pokus 1a): $IE = 37,5 \%$, $EE = 14,3 \%$,
česnek (pokus 3b): $IE = 10,2 \%$, $EE = 0$,
křen (pokus 2a): $IE = 8,7 \%$, $EE = 0$.

Výsledek u křenu, kde menší dávky působily silněji než větší dávky ukazuje,

Tab. 1. Účinnost česneku, křenu a merlíku vonného podávaných v krmivu při askaridose prasat.

Таблица 1. Действие чеснока, хрена и душистого телекиса, подаваемых в корме при аскаридозе свиней

Table 1. Effect of garlic, horse radish and aromatic goosefoot when given in feed for ascaridosis of pigs

Tab. 1. Wirksamkeit von Knoblauch, Meerrettich und wohlriechendem Gänsefuß, verabreicht im Futter bei Schweineaskaridose

Rostlina	Pokus číslo	Počet prasat	Dávka v krmivu v % pevných součástí	Celkem počet dní	% IE	% EE	% zvířat, od nichž byly škrkavky vypuzovány
Merlík vonný	1a	7	5	10	37,5	14,3	28,6
	1b	7	365—400 ml šťávy najednou	v 1 krmení	1,49	0	14,3
Křen	2a	6	2 po 8 dní 3 po 4 dny 5 po 4 dny	16	8,7	0	83,4
	2b	5	2 po 6 dní 5 po 5 dní 10 po 5 dní	16	5,5	0	20,0
Česnek	3aI	1	10 ve 2 krmeních	1	0	0	0
	3aII	1	15 najednou	v 1 krmení	0	0	0
	3b	6	2 po 8 dní 3 po 4 dny 5 po 4 dny	16	10,2	0	50,0

že počty 5—6 kusů zvířat pro pokusy tohoto druhu nejsou zcela postačitelé pro kvantitativní hodnocení anthelmintik, neboť nejsou u nich vyloučeny náhodné vlivy a paradoxní výsledky, neodpovídající obecně platné zásadě závislosti účinku na dávce. V našem případě je však zapotřebí vzít také v úvahu tu okolnost, že u skupiny prasat, kterým byl podán křen ve vyšší dávce, byla invase velmi slabá, což se může také projevat na výsledku pokusu.

2. Jiné okolnosti plynoucí ze zhodnocení výsledků

K okolnosti, že ve všech provedených pokusech nebylo postupováno naprosto shodným způsobem, lze uvést toto: Stoupající dávky v krmivu byly voleny proto, aby si zvířata na podávané nezvyklé krmivo zvykla. Dávky křenu ve druhém pokusu (2b) byly zvýšeny proto, že malá účinnost v prvním pokusu (2a) je v naprostém rozporu s vysokou účinností křenu *in vitro*. Zvýšením dávky v krmivu chtěli jsme dosáhnout i zvýšení koncentrace křenu v zažívadlech. Orientační jednorázové vysoké dávky česneku byly podány proto, abychom se přesvědčili o tom, jak budou přijímány a také proto, že způsob jednorázového po-

dávání je běžný v laické terapii. U merlíku vonného jsme volili podávání stále stejných dávek s ohledem na event. praktické používání, kdy by se stále stejné množství požitá rostlina přidávalo do krmiva. Pokus s jednorázovou aplikací šťávy z merlíku (pokus 1b) jsme provedli proto, abychom si ověřili, zda by tímto způsobem nebylo možné dosáhnouti lepšího účinku, při čemž jsme předpokládali, že lisováním přejde do šťávy větší množství anthelminticky účinné silice.

3. Závěry pro praxi a pro další výzkum

a) Pro praxi plynou z našich pokusů tyto závěry: Výsledky pokusů s česnekem potvrzují, že česnek má antiaskaridní účinek, že však tento účinek není zdaleka vyhovující, neboť bylo vypuzeno jen 10,2 % škrkavek. Proto laickou terapii česnekem nelze schvalovat, neboť provedení neúplné dehelmintisace není přínosem v boji proti askaridose prasat. K celkem shodným závěrům o příliš malé anthelmintické účinnosti česneku došli Fleischer (3) i Koppuncz (5) v pokusech na psech a Grieder (5) v pokusech na nutriích (proti strongylidům). Názory některých autorů, jako je Styles, Larsson (cit. podle Konráda, 6) o úspěšném používání česneku proti parazitům stříbrných lišek nebo zcela mladých štěňat, dále údaje Chielliniho (7) a Oppikofera (8) o jeho použitelnosti k anthelmintické léčbě u zvířat nutno tedy pokládati za nepodložené a neoprávněné. Rovněž malá účinnost křenu podávaného v krmivu neukazuje na to, že by se křenu dalo takto v praxi účelně použít. Poměrně značná účinnost merlíku vonného (aklimatizovaná var. *anthelminthicum* nebo i krajová odrůda použitá v dřívějších pokusech *in vitro*) ukazuje na to, že i u nás rostoucí rostlina obsahuje patrně nebezvýznamné množství merlíkové silice, která je obecně známa jako praxí prověřené anthelmintikum, získávané z rostlin rostoucích v Americe. Přesto však nelze podáváním merlíku v krmivu doporučovat (vypuzeno bylo jen 37,5 % škrkavek).

b) Pokusy s křenem ukázaly znovu, že výsledky pokusů *in vitro* je nutno hodnotit jen s velikou rezervou, a že z těchto pokusů nelze v žádném případě činit závěry o účinnosti u zvířat. Výsledky pokusů s merlíkem vonným u nás rostoucím ukazují, že rostlina obsahuje zřejmě dosti anthelminticky účinných látek. Při dalším výzkumu hodláme se proto zaměřit na řešení otázky jejich získávání.

III. Souhrn

1. V pokusech na prasatech (ž. v. od 14,5 do 28,1 kg) byla přezkoušena antiaskaridní účinnost křenu (*Armoracia rusticana*), česneku (*Allium sativum*) a merlíku vonného (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray) podávaných v krmivu po delší dobu. Vypuzení červi byli denně počítáni a nevypuzení zjištěni pitvou za 3–7 dní po skončeném podávání.

Křen byl podáván 6 prasatům v množství 2 % pevných součástí krmiva po 8 dní, v množství 3 % po následující 4 dny a v množství 5 % po další 4 dny. Dalším 5 prasatům byl křen podáván v množství 2 % pevných součástí krmiva po 6 dní, v množství 5 % po dobu dalších 5 dní a v množství 10 % po následujících 5 dní.

Česnek byl podáván 6 prasatům v množství 2 % pevných součástí krmiva po dobu 8 dní, v množství 3 % po další 4 dny a v množství 5 % po následující 4 dny. Kromě toho byl na 1 praseti orientačně zkoušen účinek dávky 10 % česneku v obou krmeních jednoho dne a 15 % česneku v jednom krmení.

Merlík vonný byl podáván 7 prasatům v množství 5 % pevných součástí krmiva po 10 dní. Těmže prasatům (a jednomu dalšímu) byla za 5 dní po skončeném podávání celé rostliny podána v jednom krmení šťáva, získaná pomletím a vylisováním této rostliny, v dávce 365–400 ml pro kus.

2. Nepřihlížíme-li k nepodstatnému rozdílu ve výši dávek a době podávání, byla antiaskaridní účinnost zkoušených rostlin podávaných v krmivu tato:

Merlík vonný (5 % po 10 dní): IE = 37,5 %, EE = 14,3 %.

Česnek (2–5 % po 16 dní): IE = 10,2 %, EE = 0.

Křen (2–5 % po 16 dní): IE = 8,7 %, EE = 0.

Křen (2–10 % po 16 dní): IE = 5,5 %, EE = 0.

3. Na základě těchto výsledků nelze pro praxi doporučovat přidávání česneku, křenu a merlíku vonného do krmiva prasat v námi přezkoušených množstvích za účelem provedení dehelmintisace.

4. Výsledky pokusů s anthelmintickou odrudou merlíku vonného ukazují, že tato rostlina vypěstovaná v našich klimatických podmínkách obsahuje zřejmě dosti anthelminticky účinných látek, na jejichž získávání se zaměříme v dalším výzkumu, a to jak u této aklimatisované variety, tak i odrůdy krajové.

Literatura

1. Lebduška, Šimůnek, Marek: Sborník ČSAZV, 27 B, 701, 1954. —
2. Skrjabin: Strojitelstvo sovětskoj gēlmintologii, Moskva - Leningrad 1946. —
3. Fleischer: Použití česneku a česnekových preparátů jako anthelmintika proti ascaridům psů. Diss. Brno, 1952. — 4. Kopunecz: Příspěvky k léčení askaridosy u štěňat. Diss. Brno, 1953. — 5. Grieder: Schw. Arch. Thlk. 79, 477, 1937. — 6. Konrád: Anthelmintická účinnost tetrachlorethylenu u stříbrných lišek. Diss. Brno, 1951. — 7. Chiellini: Az. vet. 9, 343, 1940 ref. Jahresber. Vet. Med. 69, 458, 1942. — 8. Oppikofer: Schw. Apoth. Ztg. 86, 785, 1948.

Действие чеснока, хрена и душистого телекиса при аскаридозе свиней

1. На опытах со свиньями было испытано (свиньи живого веса от 14,5 до 28,2 кг) антиаскаридозное действие хрена (*Armoracia rusticana*), чеснока (*Allium sativum*) и душистого телекиса (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray), подаваемых в корме в течение продолжительного времени. Количество изгнанных червей ежедневно подсчитывалось, а оставшиеся были обнаружены при вскрытии через 3–7 дней после прекращения подавания.

Хрен подавали 6 свиньям в количестве 2 % твердых составных частей корма в течение 8 дней, в количестве 3 % в течение следующих 4 дней и в количестве 5 % в течение дальнейших 4 дней. Дальнейшим 5 свиньям подавали хрен в количестве 2 % твердых составных частей корма в течение 6 дней, в количестве 5 % в течение дальнейших 5 дней и в количестве 10 % в течение следующих 5 дней.

Чеснок подавали 6 свиньям в количестве 2 % твердых составных частей корма в течение 8 дней, в количестве 3 % в течение дальнейших 4 дней и в количестве 5 % в течение следующих 4 дней. Кроме того на одной свинье было ориентировочно испытано действие 10 % дозировки чеснока в двух кормовых дачах в течение суток и 15 % дозировки чеснока в одной кормовой даче.

Душистый телекис подавали 7 свиньям в количестве 5 % твердых составных частей корма в течение 10 дней. Тем же свиньям (и одной дальнейшей) по прошествии 5 дней после окончания подавания целого растения был подан в одной кормовой даче сок, полученный размельчением и прессованием этого растения, в количестве 365–400 мл на голову.

2. Если не будем придавать значения незначительному различию в дозировках и сроках подавания, то антиаскаридозное действие испытываемых растений, подаваемых в корме, дало следующие показатели:

Душистый телекис (5 % в течение 10 дней): 1Е — 37,5 %, ЕЕ — 14,3 %

Чеснок (2—5 % в течение 16 дней): 1Е — 10,2 %, ЕЕ — 0.

Хрен (2—5 % в течение 16 дней): 1Е — 8,7 %, ЕЕ — 0.

Хрен (2—10 % в течение 16 дней): 1Е — 5,5 %, ЕЕ — 0.

3. На основании этих результатов нельзя рекомендовать для практики при-
бавление чеснока, хрена и душистого телекиса в корм свиней в нами испытанных
количествах для целей дегельминтизации.

4. Результаты опытов с антигельминтной разновидностью душистого телек-
сиса показывают, что это растение, выращиваемое в наших климатических усло-
виях, содержит очевидно достаточное количество веществ, действующих антигель-
минтно, на получение которых будет нацелено наше дальнейшее исследование,
а именно как на исследование акклиматизированной разновидности его, так и на
региональные разновидности.

Effect of Garlic, Horse Radish and Aromatic Goosefoot on Ascarides of Pigs

1. Tests were made on pigs (body weight from 14.5 to 28.1 kg) to study the anti-
ascarides effect of horse radish (*Armoracia rusticana*), garlic (*Allium sativum*) and
aromatic goosefoot (*Chenopodium ambrosioides* L. var. *anthelminthicum* Gray), given
in the feed over a long period of time. The worms expelled were counted daily and
those not expelled were ascertained by autopsy three to seven days after ceasing to
give these substances in the feed.

Horse radish was given to six pigs in the amount of 2 % of solids in feed for
8 days, in the amount of 3 % for the following 4 days and in the amount of 5 %
during the next 4 days. To another five pigs was given horse radish in the amount
of 2 % of solid feed for 6 days, 5 % over a period of 5 days following and 10 % in the
next 5 days.

Garlic was given to six pigs in the amount of 2 % of solid feed over a period
of 8 days, in the amount of 3 % for another 4 days and 5 % for the following 4 days.
In addition an orientation test was made on one pig to ascertain the effect of a dose
of 10 % garlic in both feedings on one day and 15 % in one feeding.

Aromatic goosefoot was given to seven pigs in the amount of 5 % of solid feed
for 10 days. To the same pigs (and one additional) was given, five days after ceasing
to give the above, the juice of the whole plant, obtained by grinding and pressing
the plant, in a dosage of 365—400 ml. per feeding.

2. If we ignore the insignificant differences in amount of dosage and the time
of giving it, the anti-ascarides effect of the plants tested, when given in the feed,
was as follows:

Aromatic goosefoot (5 % for 10 days): 1Е - 37.5 %, ЕЕ - 14.3 %.

Garlic (2-5 % for 16 days): 1Е - 10.2 %, ЕЕ - 0.

Horse radish (2-5 % for 16 days): 1Е - 8.7 %, ЕЕ - 0.

Horse radish (2-10 % for 16 days): 1Е - 5.5 %, ЕЕ - 0.

3. On the basis of these results, we cannot recommend the giving in practice
of garlic, horse radish and aromatic goosefoot into the feed of pigs in the amounts we
used, in order to perform a dehelminthization.

4. The results of the tests with anthelminthic strains of aromatic goosefoot show
that this plant, when cultivated under our climatic conditions, contains apparently
enough anthelminthic active ingredients, the obtaining of which is the object of
further tests, both of the acclimatized variety and the regional strains.

Die Wirkung des *Allium sativum*, *Armoracia rusticana* und des *Chenopodium ambrosioides* beim Spulwurmbefall der Schweine.

1. In Versuchen an Schweinen (Lbgw. von 14,5—28,1 kg) wurde die antiaskaride
Wirksamkeit des Krens (Meerrettich), Knoblauchs und des *Chenopodiums* überprüft.
Die genannten Pflanzen wurden im Laufe mehrerer Tage dem Futter beigemischt.

2. Es wurden verabreicht (die Menge ist im % der festen Futteranteile ange-
geben):

a) Der Kren (6 Schweine) in der Menge von 2 % 8 Tage lang, 3 % 4 Tage lang
und 5 % 4 Tage lang.

b) Der Kren (weitere 5 Schweine) in der Menge von 2 % 6 Tage lang, 5 % 5 Ta-
ge lang und 10 % 5 Tage lang.

c) Der Knoblauch (6 Schweine) in der Menge von 2 % 8 Tage lang, 3 % 4 Tage lang und 5 % 4 Tage lang. (Außerdem wurde einem Schwein orientierend die Menge von 10 % an einem Tage (2 Fütterungen) und die Menge von 15 % in einem Futter verabreicht).

d) Das *Chenopodium ambrosioides* (7 Schweine) in der Menge von 5 % 10 Tage lang. Denselben Schweinen (und einem weiteren) wurde 5 Tage danach der Presssaft dieser Pflanze in der Menge von 365—400 ml pro Schwein einem Futter beigemischt.

3. Wenn wir die unbeträchtlichen Unterschiede in der Höhe der Dosen und in der Länge der Verabreichung der Pflanzen nicht in Betracht nehmen, war die antiaskaride Wirksamkeit der dem Futter beigemischten Pflanzen die folgende:

Chenopodium ambrosioides (5 % 10 Tage lang): IE = 37,5 %, EE = 14,3 %
Allium sativum (2—5 % 16 Tage lang): IE = 10,2 %, EE = 0.
Armoracia rusticana (2—5 % 16 Tage lang): IE = 8,7 %, EE = 0.
Armoracia rusticana (2—10 % 16 Tage lang): IE = 5,5 %, EE = 0. IE bedeutet die Prozentzahl der ausgetriebenen Würmer (tägliche Zählung und Sektion), EE die Prozentzahl der von Askariden völlig befreiten Tiere.

4. Auf Grund dieser Ergebnisse kann die Verfütterung des Knoblauchs, Krens und des *Chenopodium ambrosioides* an Schweine in den angeführten Gaben nicht empfohlen werden, denn auf diese Weise kann eine Dehelminatisation nicht erzielt werden.

5. Die Ergebnisse der Versuche mit der anthelmintischen Varietät des *Chenopodium ambrosioides* zeigen, daß diese Pflanze, die in unserem Klima angebaut wurde, eine in Betracht kommende Menge der anthelmintisch wirksamen Stoffe enthält. In weiteren Forschungen werden wir uns den Problemen der Gewinnung dieser Stoffe aus der anthelmintischen und auch aus der einheimischen Varietät widmen.

- Blažek Karel MVDr:** Klinika a patologická morfologie enzootické hepatidy koní
Клиника и патологическая морфология энзоотического гепатита лошадей
Clinical Picture and Pathological Morphology of Equine Enzootic Hepatitis
Klinik und pathologische Morphologie der enzootischen Hepatitis der Pferde 603
- Lehký F., MVDr - Zicha B. MVDr:** Příspěvek k biochemickému obrazu experimentální infekce Weilovy choroby u psů
Сообщение о биохимической картине экспериментальной инфекции болезни Вейля у собак
Contribution Toward the Biochemical Picture of Experimental Infection of Weil's Disease in Dogs
Ein Beitrag zum biochemischen Bild einer experimentellen Infektion der Weil'schen Krankheit bei Hunden 617
- Vasil Michal Dr - Pačenovský J.:** Porovnávání štúdiu základných vlastností novoizolovaných kmeňov vírusu chrípky ošípaných z roku 1955 s vlastnosťami kmeňov z roku 1954
Сравнительное изучение основных свойств вновь изолированных штаммов вируса гриппа свиней в 1955 году со свойствами штаммов 1954 года
Comparative Studies of the Fundamental Characteristics of Newly Isolated Species of Virus of Hog Cholera in 1955, with Characteristics of Species in 1954
Eine vergleichende Studie der Grundeigenschaften neuisolierter Virusstämme der Schweinegrippe vom Jahre 1955 mit Eigenschaften der Stämme vom 1954 633
- Potoček Miroslav MVDr:** Toxoplasmosa psa — příspěvek k serologické diagnostice
Токсоплазмоз у собак — пособие к серологической диагностике
Toxoplasmosis in Dogs — a Contribution to Serological Diagnosis
Die Toxoplasmosose des Hundes — Beitrag zur serologischen Diagnose 643
- Lebduška J. Dr, Šimůnek J. Dr, Bálek V. Dr, Hakoš J. Dr:** Účinnost některých rostlin na škrkavky *in vitro*
Действие некоторых растений на аскариды *in vitro*
Effect of Some Plants on Roundworms *in vitro*
Die Wirksamkeit einiger Pflanzen auf die Schweineaskariden *in vitro* 665
- Lebduška J. Dr, Chládek M. Ing., Košová V.:** Získání anthelminticky účinného *Oleum chenopodii* z některých odrůd merlíku vonného u nás rostoucích
Получение антигельминтного *Oleum chenopodii* из некоторых отечественных пород душистого телекиса
Obtaining Anthelmintically Effective *Oleum Chenopodii* from Some Strains of Goosefoot Growing in Czechoslovakia
Die Gewinnung des anthelmintisch wirksamen *Oleum chenopodii* aus zwei, in der Tschechoslowakischen Republik wachsenden Sorten des Wohlriechenden Gänsefußes 675
- Lebduška J. Dr, Šimůnek J. Dr, Boura J.:** Účinnost česneku, křenu a merlíku vonného při askaridose prasat
Действие чеснока, хрена и душистого телекиса при аскаридозе свиней
Effect of Garlic, Horse Radish and Aromatic Goosefoot on Ascarides of Pigs
Die Wirkung des *Allium sativum*, *Armoracia rusticana* und des *Chenopodium ambrosioides* beim Spulwurmbefall der Schweine 687

Socialistická věda pomáhá socialistické praxi

**KNIHY, KTERÉ PŘIPRAVUJE ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE
ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD PRO ROK 1957**

*

**Kroulík - Leitgeb a kol.: Horké kompostování mrvy a různých
odpadů**

Najmr.: Humus v genetických půdních typech ČSR

Šimek a kol.: Soustava socialistického zemědělství v ČSR

Špička a kol.: Směry pro zpracování půdy v Československu

Šmerha a kol.: Červenostřakatý skot

Jančařík - Prokšová - Reichl.: Biologie výživy ssačích mláďat

Pasičnyj a kol.: Nové poznatky ve výkrmu prasat

Černý: Soupis archivů velkostatků

**Velebil a kol.: Mechanisace a elektrifikace v živočišné výrobě
(druhé přepracované a rozšířené vydání)**

Matyáš: Lesní dopravní sítě — Podklady pro plánování

Hylský: Závlahy městskými odpadními vodami

*

**Knihy žádejte ve všech knižních prodejnách, nebo si je objednejte
přímo u nás**

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

propagace a odbyt, Praha XII, Slezská 7