

Булочник
Народн

1914/595

SBORNÍK

ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Národní
knihovna

Veterinární medicina

✓ 1

ROČNÍK 3 (XXXI) — PRAHA, LEDEN 1958

CENA 10 Kčs

VETERINÁRNÍ MEDICINA

Řídí redakční rada: *dopisující člen ČSAZV doktor veterinárních věd prof. MVDr. Vincenc Jelínek (předseda), gen. MVDr. Vladimír Chládek, MVDr. Eduard Zach, člen korespondent SAV František Nižňanský, MVDr. Jiří Boháč, MVDr. Jan Hiller, MVDr. Antonín Klauz, prof. MVDr. Richard Harnach, MVDr. Jaroslav Dražan, prof. MVDr. Karel Šobra. — Vedoucí redaktor František Němec.*

Obsah — Содержание — Content — Inhalt

Harnach R.: Výsledky imunizačních pokusů při enzootické bronchopneumonii selat	
Результаты иммунизационных опытов над энзоотической бронхопневмонией поросят	
Results of Immunization Trials in Enzootic Bronchopneumonia in Piglets	
Ergebnisse der Immunisationsversuche bei der enzootischen Bronchopneumonie der Ferkel	1
Karásek J.: Přenosnost brucei komáry	
Комары как переносчики бруцеллезных зародышей	
Die Mücken als Brucelloseinfektionsträger	13
Baštář O. — Baštář M.: Příspěvek k určování krevních skupin u skotu	
К вопросу существования кровяных групп у крупного рогатого скота и их установления	
Beitrag zur Frage der Existenz von Blutgruppen bei Rindvieh und deren Feststellung	33
Král J. — Trunkát J.: Bakteriofág v profylaxi a terapii salmonelos	
Бактериофаг в профилактике и терапии сальмонеллезов	
The Bacteriophage in Prophylactics and Therapy of Salmonellosis	
Der Bakteriophag in der Prophylaxe und Therapie der Salmonellosen	43
Lebeda M. — Zendulka M.: K možnosti využití resorpce solného pupene (testu podle Mc Clurea a Aldricha) k diagnostice hepatitid ve veterinární medicíně I.	
О возможности использования резорбции бугорка, вызванного физиологическим раствором (проба по К्लюре и Альдриху), для диагностики гепатитов в ветеринарной медицине I.	
On the Possibility of Utilizing the Salt Blister Resorption (Mc Clure - Aldrichs Test) for Diagnostics of Hepatitis in Veterinary Medicine	
Über die Möglichkeit der Ausnützung von Quaddelresorption (der Test nach Mc Clure und Aldrich) für Hepatitidendiagnostik in der Veterinärmedizin	59

Výsledky imunizačních pokusů při enzootické bronchopneumonii selat

Результаты иммунизационных опытов над энзоотической бронхопневмонией поросят

Results of Immunization Trials in Enzootic Bronchopneumonia in Piglets

Ergebnisse der Immunisationsversuche bei der enzootischen Bronchopneumonie der Ferkel

Doktor vet. věd R. HARNACH

*Z katedry mikrobiologie a imunologie Veterin. fakulty VŠZL v Brně, vedoucí doktor
vet. věd prof. R. Harnach*

Došlo dne 27. X. 1957

Úvod

Národohospodářský význam enzootické bronchopneumonie vepřového bravu budí zájem badatelů a ekonomů četných států. Stále stoupající nároky na odchov a výkrm vepřového bravu posunují do popředí jednak problém určování etiologie této nákazy, jednak nutnost stanovení hygienických, preventivních a profylaktických směrnic při ní. Je známo, že kromě živých specifických původců a rasové individuální citlivosti hrají důležitou roli dispoziční také závady povahy nespecifické, neživé, nedostatky krmivové a řada obtíží, které ztěžují zdolávání enzootické bronchopneumonie (dále jen EBp).

Specifické afekce plicní u prasat a zvláště u selat jsou poměrně velmi početné, ač jako klinická „chřipka“ je často chápáno několik stavů, které mohou vznikat z řady buď jednotlivých nebo navzájem spojených faktorů. Na chov a výkrm prasat klademe požadavek co nejrychlejší výroby a růstu, výkrmu a kvantity produkce, tyto požadavky jsou však velmi často v rozporu s podmínkami prostředí a s epizootologickými poměry, které abnormálně ovlivňují zvláště plemena raná a zušlechtěná, která nutno pokládat za zvýšeně citlivá především pro infekční onemocnění dýchacích cest a u nichž linie relativně vzdorné jsou mnohem vzácnější než u plemen primitivních. Zvláště stále chovných stanic a výkrmů mají četné nedostatky mikroklimatu. Většinou postrádají přiměřená zařízení větrací, je v nich nedokonalý odtok moče, značně vysoká relativní vlhkost a zvířata jsou často nahromaděna na ploše poměrně malé; chladné lože a chlad stále vytvářejí podmínky pro vznik EBp, kterým velmi špatně odolávají přirozené obranné bariéry tělové — zvláště u selat.

Ze specifických činitelů, nastupujících všude v podmínkách vhodných pro jejich rozvoj, se v moderní době podle výzkumů Shopenho a Köbeho

(1930—1931) přikládá největší význam primoinfekci filtrabilními viry pneumotropní povahy jako vlastním původcům typické EBp; tyto zavinují vlastní katary bronchů a onemocnění plicní tkáně, rychle se množí a vyvolávají prurudkou i chronickou pneumonii.

Vedle virů typu Shopeova, aglutinujícího kuřecí červené krvinky, se příležitostně vyskytuje v plicích změnách též obtížný virus, který popsal v roce 1951 Gulrajani a Beveridge a téhož roku Betts v Anglii. Je patalogenní jen pro prasata, nemnoží se ani v kuřecích embryích, ani v organismu fretek a myši, do kterých byl naočkován. Nutno ovšem dodat, že již dříve prokázali v anglických chovech Gledhill (1941) a Blake more (1949) v virech, které hemaglutinují a množí se jak v organismu myši a fretek, tak i v kuřecím embryu, avšak blíží se typu Shopeovu, ač se liší antigenní strukturou od lidského typu A.

Rejstřík virů EBp je v nové době u nás obohacen jednak početnými kmeny hemaglutinujícími, jednak typem chronické pneumonie. Avšak nejčastěji se k pneumoniím virové povahy přidružuje komplexní a sekundární mikroflóra, převážně pyogenní povahy, která dovede jednou sama, jindy ve sdružení s virem nebo konečně po virové primoinfekci způsobit prudké nebo vleklé onemocnění sliznic bronchů a plicní tkáně. Vyvolává vleklou afekci pyogenní povahy, tak častou při chronické EBp, z níž plynou neobyčejné ztráty. Nakažlivina se šíří hlavně kapénkovou infekcí, nezřídka patrně i plicními červy, sama nemoc probíhá klinicky s obtížemi na dychadlech, později zasahuje i jiná ústrojí a způsobuje sekundární afekce, jejichž vlivem selata zakrsávají a hynou v neemalém měřítku.

Proto zlepšení zevního prostředí, především po stránce hygienické, a posílení prostředí vnitřního, které zajišťuje také správná výživa, musí být doplněno v běžné chovatelské praxi ještě na třetí frontě, t. j. musí být zvyšována specifická odolnost proti infekci virové a proti bakteriální polyinfekci. Nejúčelnějším vnitřním vybavením ochrany se nám jeví — po stránce imunoprofylaxe — specifický komplexní boj současně proti virové a polymikrobní infekci, a to bez ohledu na to, zda mikroby povahy septické nebo pyogenní způsobují s současnou infekcí (koinfekčně) nebo sekundární afekci při nakažení virem.

Úloha plicních červů

K virovým afekcím plicním u prasat mohou přispívat — jak zjistil (19939) Shope při chřipce prasat, larvy plicního červa. Larvy jsou ve střevě meziphostitele-dešťovky, z které se dostanou do definitivního hostitele — prasete. Virus, pobývající patrně latentně v plicích červů, pronikne s parazitem do dýchacích cest prasete, kde se uvolní, stane se aktivním a vyvolá v plicích prasete chorobný proces. Dalšími studiemi prokazuje Shope, že plicní červi se mohou stát šířiteli EBp prasat, a to prostřednictvím dešťovek pobývajících jednak v hnoji, jednak v půdě. K jejich kontaminaci virem z hnoje nebo půdy dochází požitím vajíček plicních červů, která uzrají v jejich zaživadlech; vzniklé larvičky se zavrtají do glandul ve stěně střevní a v srdečním svalu. Načež u prasete, které požílo nakažené dešťovky, dokončí svůj vývoj, proniknou do krve a lymfy, jsou zaneseny do plic, kde se dále vyvíjejí a současně umožní aktivitu pneumotropního viru EBp, který se zde uvolnil. Shope se dokonce domnívá, že virus chřipky prasat je přežívajícím prototypem chřipkové pandemie španělské v roce

1918, který našel v plicním červu prasat mezipřenositele a tak se uchoval, když našel — třeba po antigenní modifikaci — v těle prasete (a případně snad i v jiných živých rezervoárech) vhodné životní prostředí. Tím alespoň si vysvětluje první epizootii chřipky prasat právě v roce 1918.

Kmeny viru EBP izolované v ČSR

Zatím co v dřívější době byl přikládán hlavní etiologický význam hromadného plicního onemocnění mikrobům ze skupiny *Pasteurella*, *pyogenes*, mikrokokům, streptokokům a později součinnosti hemofilních bakterií, bylo od roku 1949 naší snahou prokázat i u nás virovou povahu EBP a první úspěchy této první plánovité práce se dostavily v roce 1950 (H a r n a c h, H u b í k, C h v á t a l) izolací 4 virových kmenů, označených čísly 42, 47, 54 a 55, a to z materiálu z různých krajů republiky. Jsou v podstatě shodné jednak antigenně, jednak v tom, že všechny 4 kmeny se množí na kuřecích embryích, hemaglutinují slepičí erythrocyty a dovedou vyvolat mírné onemocnění bronchů a plic, jsou-li vpraveny v čisté kultuře intranasálně nebo intratracheálně; u bílých myši způsobují smrtelnou infekci během pěti dnů.

Zkříženým testováním podle CHu a srovnáním výsledků inhibice hemaglutinace s antisery jednotlivých kmenů a kmene Shopeova, připravenými z myši a bílých krys, jsme mohli spolu s J i r a n e m prokázat, že naše virové kmeny jsou po stránce antigenní struktury velmi blízké, ne-li přímo identické, neboť sera ukazovala každá s homologickým kmenem viru a s kmenem Shopeovým poměry = 1/1, 1/1,4, 1/2; v podstatě je nelze rozlišovat ani pomocí HIT.

Tyto kmeny nemají žádného vztahu k lidské chřipce typu A a B (PR 8 a Lee), jak ukázala srovnávací studie našeho spolupracovníka Jirana.

V roce 1954 byly v ČSR izolovány další kmeny chřipky (V a s i l, N e u b e r t, T i r č o) a v roce 1955 opět několik kmenů (Č e r n ý, M e n š í k). Konečně v roce 1956 isolovali naši pracovníci M e s á r o š a V a ř e j k a další 2 kmeny chřipky prasat. Také všechny tyto další kmeny viru EBP jsou velmi blízké — ne-li totožné — s našimi původními 4 kmeny a s kmenem Shopeovým.

Poněkud odlišný kmen viru pneumonie prasat isoloval J. Č u p í k z dýchacích cest prasat a pokládá jej za vlastní noxu pneumonie prasat. Není totožný ani antigenně příbuzný s virem chřipky (Shope), což autor prokázal kultivačními a serologickými výsledky (RVK, virus neutralizační zkoušky, inhibičními testy). Čupíkův virus pneumonie prasat neaglutinuje slepičí červené krvinky, ale množí se v kuřecích embryích a má tudíž některé znaky typu viru G u l r a j a n i - B e v e r i d g e - B e t t s o v a, z části však také typu viru Shopeova. Tím se rozhojňuje i na našem území rejstřík virových původců onemocnění dýchacích cest u vepřového bravu. Čupíkův virus pneumonie má značnou podobu s kmenem P a l y u s i k o v ý m (1953), izolovaným v Maďarsku z případů EBP selat; tento virus rovněž roste na chorioallantois kuřecího embrya, kde působí typické změny, nemá však schopnost hemaglutinace. Vyvolává po umělé infekci za týden mírné onemocnění horních dýchadel, a je-li organismus dále oslaben, i příznaky bronchopneumonické, které se však i bez léčby snadno vyhojí. Dále má Čupíkův virus pneumonie alespoň částečnou obdobu ve 3 kmenech viru, jež popsali H j ä r r e, B a k o s a N o r d b e r g v roce 1949 a Hjærre a Bakos v roce 1950 z chřipkových změn selat; tyto viry jsou odlišné od Shopeova kmene, třebaže se také množí v kuřecích embryích a v organismu fretky, myši a jiných zvířat a aglutinují slepičí krvinky.

V ý z n a m m i k r o b ů k o m p l e x n í c h n e b o s e k u n d á r n í c h

Infekce mikroby s vlastnostmi jednak septickými (pasteurely, streptokoky beta-hemolytické), jednak pyogenními (mikrokoky, pyogenes a j.) se prokazují velmi často v plicních afekcích chronické povahy a nejsou vzácným nálezem i při akutních infekcích. Úloha komplexu bakteriijního byla hodnocena vzhledem na výsledky experimentálních prací s čistým virem EBP vlivem původního mázoru, který zastávali Shope a Köbe, že totiž viry mohou vyvolat chřipku jen za součinnosti *Haemophila infl. suis* nebo *B. pyosepticum*, případně i jiných mikrobů.

Hj ä r r e a jeho spolupracovníci a B l a k e m o r e sice připouštějí, že uvedené mikroby mohou být přítomny i v čerstvých změnách pneumonických, že však nebývají o mnoho častější než v dýchacích cestách selat zdravých. Současně však ukázali H j ä r r e a W r a m b l y (v roce 1944) a B a k o s, N i l s s o n a T h a l (v roce 1955), že *Haemophilus infl. suis* může působit pathogenně nejen po infekci plic virem, ale vyvolává podmíněné změny i v jiných disponovaných orgánech, zvláště pak při fibrinosních zánětech seros a kloubů u selat.

Jestliže však těžká bronchopneumonie se jen nesnadno vyvolá čistým virem, jímž vzniká zpravidla jen lehká „filtrátová nemoc“, zatím co s pyogenními mikroby se vyvíjí onemocnění těžké, plyne z toho přece jen význačná asociativní role sekundárních mikrobů. Hodnotíme proto — zvláště s ohledem na pyogenní charakter plicních změn při subchronickém a chronickém procesu EBP — pyogenní komplex mikrobů jako vážnou složku chřipkových afekcí a pokládáme za oprávněný názor A n d r e j e v a, M a n n i n g e r a a četných jiných autorů, že pyogenní procesy bakteriijní jsou nejčastěji příčinou vlastních ztrát následkem vleklých pyogenních procesů „chřipkových“, na kterých se podílejí buď jako komplexní nebo jako sekundární, někdy podmíněně pathogenní zárodky pyogenní.

P o k u s y s a k t i v n í v a k c i n a c í p r o t i E B p p r a s a t

Imunisace byla zkoušena s různým úspěchem za použití modifikovaných kmenů viru EBP. Tak M c L e a n e t a l. (1945) použil nasální vakcinace prasat jako modelu pro vakcinaci člověka proti chřipce a zjistil, že jednorázová vakcinace je poměrně neúčinná, že však se dosáhne vyšší tvorby protilátek po opakované aplikaci vakciny, aniž by příliš záleželo na její dávce. Virus chřipky prasat v chorioalantoidní tekutině, inaktivovaný formalinem a vprášený opalčovaně do nosní dutiny prasat, stupňoval v L e a n o v ý c h pokusech tvorbu inhibičních protilátek, nicméně však autor nepokládá očkování prasat proti chřipce za výhodné, speciálně při způsobu nasální aplikace vakciny.

I v dalších zemích byly učiněny pokusy o aktivní imunisaci proti virovým vakcínám.

Nedali jsme se odradit určitými neúspěchy v jiných zemích. Z mnoha důvodů, které jsme již částečně uvedli, a ještě pro jiné příčiny — především pro obtíže v urychleném zlepšování stájové hygieny a v rasové proměně a výběru vzdorných linií prasat — pokládáme za velmi potřebné, abychom podle různých okolností věnovali pozornost metodám účinného specifického i nespecifického zvyšování vzdornosti proti EBP, zvláště v prvních třech měsících ži-

vota a u březích prasnic. Je snad chovatelsky méně cenné prase, které bylo vakcinováno proti kterékoliv nákaze, kterou vepřový brav netrpí ani v té míře jako enzootickou bronchopneumonií? Proč nemáme využít proti této nákaze veliké výhody a dobrodiní, které plynou z aktivní imunisace? Dovedeme snad vždy zabránit zavlečení viru EBp s chovnými zvířaty, když veliká většina chovů je dnes promořena?

Uvážíme-li, že chřipkové viry jsou dobrými antigeny a že jsou použitelné k imunisaci vedle nebo spolu s antigeny mikrobními, které komplikují katarální pneumonie a zaviňují tím těžké ztráty, jeví se imunisace proti EBp indikována a vysoce prospěšná. Dokonce má úplnou obdobu s chřipkou lidí, kteří jsou rovněž podrobováni aktivní imunisaci, a to dokonce i živými viry chřipkovými. Jestliže lidé žijí v poměrech nepoměrně hygieničtějších a zdaleka nejsou vydáni svým tělovým limitem tak snadno poškození vlivy zevního prostředí (prochlazení) jako selata a odstávčata, naznačuje nám to nejen účelnost, ale přímo potřebu aktivní imunisace proti EBp.

V posledních šesti letech jsme podrobili naše 4 kmeny chřipky pokusnému studiu antigenních vlastností a imunizační způsobilosti ve formě aktivní vakcinace; použili jsme jednak fenol-adsorbátových vakcín virových (ze 4 kmenů), jednak formol-adsorbátů, dále směsi fenol- (formol-) adsorbátu virového s inaktivovanou mikroflorou (8—12 kmenů z bronchopneumonií prasat) a konečně čisté mikroflory s yellon-kaseinem. Tyto práce jsme prováděli ve spolupráci s Hubíkem, Jirků, Veverkou, Markem, Mesárošem, Vařejkou, Palcem a s větším počtem terénních veterinárních lékařů.

Užití vakcín

Podle zkušeností získaných z mikrobiologických nálezů „chřipkových“ případů hodnotíme především dvě skupiny nosologické, a to virovou a polymikrobní jako specifické faktory. Vyšli jsme z tohoto poznatku a připravili si 3 druhy inaktivovaných vakcín.

1. Vakcína s obsahem 4 domácích kmenů virů EBp, inaktivovaných pomocí fenolu nebo formalinu a adsorbovaných na aluminium hydroxyd. Označujeme tuto vakcínu jako virový adsorbát.
2. Vakcína s obsahem 4 našich kmenů viru EBp a 12 mikrobních kmenů izolovaných z případů EBp inaktivovaných fenolem nebo formalinem a pak adsorbovaných na aluminium hydroxyd. Vakcínu označujeme jako adsorbát virus — bakteriový.
3. Bakteriová vakcína yellon-kaseinová s obsahem směsi 12 kmenů mikrobů z plic zvířat stížených EBp a teplem inaktivovaných. Označujeme ji jako „BVE 67“ a slouží dnes již v širokém měřítku jednak k imunoterapii, jednak v imunoprophylaxi.

Na základě těchto pokusů se 3 druhy vakcín jsme došli k názoru a k přesvědčení, že se podkožní cestou daří jednak desensibilisovat selata proti viru EBp a komplexu, a že lze mladá i dospělá prasata imunisovat proti této nákaze a tím je chránit, zvláště v době růstu během prvních 3—4 měsíců jejich života. Konečně se ukázalo, že bakteriálním preparátem z komplexu lze ovlivnit příznivě infekční proces a specificko-nespecifickým pochodem zvýšit nejen chráněnost před infekcí, ale i ovlivnit léčivé zvířata s příznaky plicní afekce. Předpokládáme, že podkožní vpravení vakcín vyvolá v těle snížení citlivosti

k následné infekci. Objektivně lze tento stav prokázat kontrolní umělou infekcí a stavem odolnosti, jaký zvířata prokáží v zamořeném prostředí. Po infekci dochází ke zvýšení protilátek, které jsme prokazovali titrací hemaglutinačně inhibujících protilátek (HIT), částečně i reakcí vazby komplementu; polarograficky a elektroforeticky jsme sledovali pohyb globulinových frakcí a především gamaglobulinu.

1. Vakcína virusadsorbátová byla vyrobena z viru pomnoženého v alantoidní tekutině kuřecích embryí, smíšeného s 2 % aluminium-hydroxydu a s 0,5 % kys. karbolové nebo s 0,2 formolu; směs byla stabilisována na Ph 8,0. Tak byly připraveny 3 druhy různých vakcín, a to s obsahem jednoho, dvou a čtyř kmenů a předem vyzkoušeny na několika skupinách bílých myšek a na 36 selatech; ukázalo se, že již první podkožní injekce vakciny selatům v dávce 2 ml vede k pomnožení protilátek inhibujících aglutinaci a druhá injekce zvyšuje HIT z 512 na 2048. Nejlepší imunita se dostaví — jak ukázaly hlavně vakcinované bílé myšky a selata — po dvojí injekci adsorbátu s obsahem 4 kmenů virových, ve stupňované dávce 2 ml a 3 ml u selat v intervalu 3 týdnů; tyto pokusy jsme provedli na 112 a 150 selatech ve věku dvou týdnů a s dávkou 5 ml a 6 ml na starších běhounech a na obřezlých prasnicích. Vakcinovaná prasata chovaná v zamořeném prostředí byla všechna chráněna proti přirozené infekci; z vakcinovaných selat, která jsme podrobili mohutné umělé infekci intranasální virem EBP, projevilo chráněnost jen 80 % očkovaných.

2. Ze směsi stejných dílů virové vakciny a suspence inaktivovaných bakteriálních kmenů z plic onemocnělých prasat jsme získali adsorbát — virus — bakteriový. Byla-li tato vakcína naočkována ve 2 injekcích v intervalu 14 dnů v dávce 2 ml a 3 ml prasatům dospělým, byli očkovaní po dobu 100 dnů od vakcinace ve 100 % chráněni jak proti přirozené infekci v zamořeném prostředí, tak i proti umělé infekci laboratorní u části selat, která jí byla podrobena.

Serum krevní ukazovalo titry HIT zvýšené v rozsahu 512 až 1024, aglutinační titry proti jednotlivým kmenům komplexním vystoupily na 200—400. Ve 3.—4. měsíci oba druhy titrů částečně poklesly. Kontrolní prasata (nevakcinovaná) onemocněla přirozenou infekcí v zamořeném prostředí skoro ve 44 % případů, po umělé intranasální infekci virem v 85,7 %, virem + mikrobiální infekci ve 100 % zkoušených případů.

Později byla tato virus-bakteriová vakcína znovu přezkoušena na 901 selati vakcinovaném (s 830 kontrolami nevakcinovanými). Během pozorování v přirozených podmínkách nedošlo u vakcinovaných selat k onemocnění cest dýchacích, které bylo zaznamenáno u 4,8 % zvířat nevakcinovaných. Z 5 kusů vakcinovaných a podrobených umělé nasální infekci virem a bakteriemi zůstalo všech 5 po 4 týdny pozorování bez příznaků klinického onemocnění, zatím co u jiných 5 zdravých vyvolala infekce již v prvním týdnu po infekci zvýšenou teplotu, onemocnění horních cest dýchacích a kašel; po jejich porážce byly zjištěny změny na plicních lalóčích a při histologickém vyšetření také příslušné změny charakteristické pro „chřipku“.

3. Zásah imunoprotektivní je žádán zpravidla v chovech již více nebo méně promořených EBP, v jakých může mít vakcinace případně výsledky již nepříznivé, je-li užita u zvířat zasažených, t. j. se subklinickými změnami. Zde by měla vakcinace virovými adsorbáty nejistý výsledek — již vzniklé onemocnění vyžaduje zásah léčivý, případně imunoterapeutický — a tím není virus a tím méně adsorbát. Jako léčebného prostředku jsme použili polymikrobiální vakciny yellon-kaseinové, která sestává — jak již uvedeno — ze směsi 12 kmenů mikrobů, vypěstěných z bronchopneumonických změn u prasat, zpřira-

Přehled výsledků z pokusů

[illegible]

vidla typu pyogenního; tyto kmeny jsou po inaktivaci smíšeny s roztokem yellon-kaseinovým, který má stimulační účinek. Označujeme tento biopreparát jako vakcinu BVE 67. Vyzkoušeli jsme ji ve spolupráci s několika desítkami veterinárních lékařů v terénu aspoň na 250.000 selat a dospělých prasnic stížených anebo ohrožených infekčním katarem bronchů nebo přímo bronchopneumonií atypickou a polymikrobní, zpravidla v prostředí zamořeném, bez hygienické úpravy. Podle zpráv spolupracujících veterinárních lékařů a podle našich vlastních pokusů a pozorování je vakcína BVE 67 způsobila zachránit 65 až 100 % selat a běhounů stížených různými stupni zánětů bronchů a bronchopneumonií. Tak zvláště D e r n e r zaznamenal pozoruhodný úspěch touto a obdobnou (stájeově specifickou) vakcínou v 50 státcích kraje svého působení, zamořených polybakterijními afekcemi, kde se mu při částečném zlepšení hygienických poměrů zdařilo p'ně zachránit ohrožené chovy.

Po 1—2 injekcích vakciny BVE 67 dojde k pozoruhodnému vzestupu opsonofagocytárního indexu, aglutinačních titrů a protilátek vázajících komplement (H a r n a c h, L o j d a) a dále k regresi pneumonických příznaků; působí specificky a nespecificky, a to vše vede k podstatnému zlepšení celkového zdravotního stavu klinického a ve většině případů k úplnému vyléčení postižených selat. U březích matek se zvyšuje gamaglobulin a protilátky, které jsou předávány selatům již s mlezivem. Osvědčuje se aspoň dvojí, příp. trojí vakcinace matek během březosti a pak selat ve 2.—3. týdnu života.

Celkem lze zjistit, že naše vakciny virus-adsorbátové nebo virus-bakterijní adsorbáty se u selat a u rostoucího odchovu — zvláště v kritické době 6 týdnů života — osvědčily jako účinné tam, kde jsou chovy ohroženy infekcí enzootickou bronchopneumonií. Dojde-li již k nakažení polymikrobními afekcemi, zvláště cest dýchacích, lze použít polymikrobní yellon-kaseinové vakciny BVE 67, která dala u 65—100 % onemocnění cest dýchacích dobré výsledky, neboť posiluje postižený organismus a desensibilisuje ohrožená selata vůči infekci.

S o u h r n

Větší počet virových kmenů enzootické bronchopneumonie prasat izolovaných v ČSR jsou hemaglutinující a pathogenní pro fretky a myši; množí se v allantoidní tekutině v kuřecích embryích a jsou antigenně blízké, ne-li totožné s virem Shopeovým. Jediný kmen (Č u p í k), označený jako virus pneumonie prasat, se blíží typu Gulrajani-Beveridge-Bettsova viru chronické pneumonie.

Vycházejíce ze známého poznatku, že filtrabilní viry jsou dobré antigeny, připravili jsme několik druhů vakcín a vyzkoušeli jsme je laboratorně i v terénu k aktivní imunisasi selat a dospělých prasat proti EBp. K výrobě vakcín jsme použili našich 4 kmenů viru typické EBp prasat, po inaktivaci fenolem nebo formolem adsorbovaných na aluminium-hydroxyd, a vyzkoušeli je v chovech selat.

Jiný druh vakciny jsme připravili ze 4 kmenů chřipkového viru a stejného množství suspence inaktivovaných pyogenních mikrobů z kmenů, které byly izolovány z chronických bronchopneumonických změn prasat, a vyzkoušeli je na prasatech. Polymikrobní složka působí jednak specificky, jednak jako mosič a stimulační faktor nespecifický. Výsledky vakcinace lze vyjádřit takto:

1. Podkožní vakcinace virovým adsorbátem, provedená 2 injekcemi v intervalu 2—3 týdnů (dávky 2 ml a 3 ml selatům a asi dvojité dávky prasatům dospělým), ukázala dobrý imunizační efekt, neboť chránila očkované proti mo-

hutné umělé nasální infekci v 80 % případů, proti přirozené infekci v zamořeném prostředí chovném až v 98 %, zatím co skoro u poloviny kontrol (nevakcinovaných) došlo k onemocnění dýchacího zařízení. Vývoj vakcinovaných selat byl vesměs příznivý.

2. Dvoji vakcinace fenolovým adsorbátem z viru a inaktivovaných bakterií ze změn bronchopneumonických měla ještě příznivější výsledky, neboť v kontrolních pokusech infekčních zůstalo 100 % pokusných vakcinovaných zvířat uchráněno před kontrolní infekcí, a stejně zůstala zdravá i všechna vakcinovaná prasata chovaná za přirozených podmínek v zamořeném prostředí, kde velká část kontrol podlehlá onemocnění.

3. Výsledky imunisace studované serologicky (HIT, RVK a virus-neutralisací), sledováním pohybu globulinových frakcí a speciálně gamaglobulinu (elektroforesou a polarografií) a biologickými pokusy ukázaly, že imunita nastupuje 10. den po vakcinaci, stává se zvláště výraznou po druhé vakcinaci a trvá s částečným poklesem ve 3.—4. měsíci průměrně 100 dní; toto je doba kritického stavu, kdy mladá selata neimunizovaná se nejsnáze nakazí a podléhají poruchám bronchopneumonickým. Gamaglobulin získaný z uzdravených prasat se ukázal účinným u prasat nakažených virem EBp, zvláště když byl vpraven do těla současně s růstovým komplexem B vitamínem.

4. Užije-li se směs inaktivovaných mikrobu ze sekundární pyogenní mikrofloory z plicních změn prasat, k nimž je použito přísady 2,5 % roztoku yellon-kaseinu — vakcina BVE 67 — ve 3 sc. injekcích (v dávkách 4 + 6 + 6 ml) pro březí prasnice nebo ve 2 dávkách (2 + 4 ml) pro ohrožená selata ve věku 2 týdnů, lze u nich dosáhnout desensibilisace a vysokého stupně chráněnosti proti polymikrobní infekci, postihující velmi často bronchy a plicní tkáň selat. Prokázalo se, že BVE 67, vyzkoušená asi u 250.000 selat a dospělých prasat, vede v 65—100 % případů k uzdravení a ochraně selat a běhounů, zvláště během výkrmu.

Literatura

Andrejev: Infekcionnija bolezni sviněj. Moskva 1948. — Barber R. S., Brande R., Mitchel K. G., Betts A. O. Eradication of Virus Pneumonia from a Herd of large White Pigs at a Research Station. *Veter. Rec.* 1955, 67, 37, 690-692. — Blakemore: Swine Influenza. *Internat. Vet. Congr.*, London 1949. — Blakemore and Gledhill: *Veter. Record* 53, 1941, 227. — Blaškovič D., Libíková H.: VI. sjezd čs. mikrobiologů, Praha 1950. — Betts A. O.: Respiratory diseases of Pigs, *Veter. Rec.* 1952, 65, 20283. — Beveridge, Betts: *Proc. XVth. Internat. Veter. Congr.*, Stockholm 1953, 1, 245-249. — Čupík J.: Isolace viru pneumonie prasat a pokus o průkaz jeho etiologické souvislosti s touto chorobou. *Sborník CSAZV, Veterinární medicína*, 1956, č. 3, 197-208. — Harnach R.: Virologický výzkum o chřipce. *Medycyn weterynaryjna* 1950, No 11. — Harnach R., Hubík R.: Die antigene Dynamik von Phenol-Adsorbat-Vakzinen bei der Ferkelgrippe. *Congr. Intern. de la Microbiol.* Budapest 1952. — Harnach R., Hubík R., Chvátal O.: Isolace viru vepřové chřipky v Československu. *Čas. čs. veterinářů* 1950, 289. — Harnach R., Hubík R., Chvátal O.: Znaky našich kmenů viru bronchopneumonie vepřů a aktivní imunisace. VI. sjezd čs. mikrobiologů, Praha 1950. — Hubík R.: Isolace a studie domácích virů chřipky vepřů. *Práce Veterinární fakulty, Brno*, XXI, 159, 1953. — Harnach R., Mesároš E., Vařejka F.: Elektroforetické hodnocení dynamiky virus-adsorbátové vakciny ve srovnání s HIT při chřipce prasat. II. vědecká konference Vet. fak., Brno 1956. — Hars: *Bull. de l'Acad. Vét. de France* 2, 1951, 233. — Hjärre, Bakos, Nordberg: Experimental Investigation into Swine bacteria. *Internat. Vet. Congr.*, London 1949. — Hjärre, Wramby: *Zschr. f. Infektionskrkh. d. Haustiere* 60, 1944, 37. — McLean I. M. et al.: Studies on the Immunization of Swine against Infection with Swine Influenza Virus. *Jour. Immunol.* 56/109, 1947. — McLean I. M. et al.: The Relation of Anti-

body Response in Swine to Dose of Swine Influenza Virus inactivated with Formalin and with Ultraviolet Light. Jour. Immunol. 51/56, 1945. — Palyusik: Untersuchung über die Aetiologie der enzootischen Ferkel. Pneumonie. Acta Veterinaria Ac. scient. Hungariae T. III., 1953, F. 1. — Palec V.: Imunizační dynamika adsorbátových polyvakcin proti enzootické bronchopneumonii selat. Sborník CSAZV, Veter. medicina, 1957. — Parnas J. a Lorkiewicz Zb.: z Zadań nad wirusem grypy. Medycyna Weter. 1955. — Shope R. E.: The Swine Lungworm as a Reservoir and intermediate Host for Swine Influenza Virus. Provocation of Swine Influenza by Exposure of prepared Swine to adverse Weather. Journ. Exp. Med. 102-567, 1955. — Szczygielska J., Lorkiewicz Z. u. Parnas J.: Vergleichende Untersuchungen über das pneumotrope Virus bei Mensch und Schwein. Arch. d. exper. Veterinärmed. Bd. X., 487-516. — Veverka H.: Pokusy o dynamice polyvalentních fenolových vakcin při aktivní imunisaci proti enzoot. bronchopneumonii vepřů. Brno 1953.

Результаты иммунизационных опытов над энзоотической бронхопневмонией поросят

Большинство вирусных штаммов энзоотической бронхопневмонии поросят, изолированных в ЧСР, является гемагглютинирующим и патогенным для африканского хорька (фретки) и мыши; размножаются эти штаммы в аллантоидных жидкостях куриных зародышей и по своим антигенным свойствам близки, почти тождественны с вирусом Шопе. Единственный штамм (Чупик), обозначенный как вирус пневмонии свиней, приближается к типу Гульрайни-Бевеидже-Бетте вируса хронической пневмонии.

Исходя из того, что фильтруемые вирусы являются хорошими антигенами, мы приготовили несколько видов вакцин и испытывали на лабораторных животных и в практике их пригодность для активной иммунизации поросят и взрослых свиней против ЭБп. Для изготовления вакцин мы использовали наши четыре штамма вируса типичной ЭБп свиней, адсорбированные на гидрат окиси алюминия после инактивации фенолом или формолом, и испытывали их на поросятах.

Другой вид вакцины мы приготовили из четырех штаммов вируса гриппа и одинакового количества суспензии инактивированных пиогенных микробов из штаммов, изолированных из хронических бронхопневмонных изменений свиней, и испробовали их на свиньях. Полимикробная часть действует специфически и как неспецифический стимулирующий фактор.

Результаты вакцинации можно изобразить следующим образом:

1. Подкожная вакцинация вирусным адсорбатом (2 инъекции в интервалах 2—3 недель, в дозах 2 мл и 3 мл поросятам и приблизительно в двойных дозах взрослым свиньям) дала хороший иммунизирующий эффект, так как она защищала привитых животных от сильной искусственной назальной инфекции в 80 % случаев, от естественной инфекции при неблагоприятных по инфекции условиях содержания свиней даже в 98 %. Напротив того, почти у половины контрольных (невакцинированных) животных произошло поражение дыхательного аппарата. Развитие вакцинированных поросят было в общем благополучным.

2. Двойная вакцинация феноловым адсорбатом из вируса и инактивированных бактерий из бронхопневмонных изменений дала еще более благоприятные результаты, так как 100 % подопытных вакцинированных животных было защищено от контрольной инфекции а также остались здоровыми и все вакцинированные свиньи, содержащиеся при естественных условиях в неблагоприятной среде, где большая часть контрольных животных заболела.

3. Результаты иммунизации, изучаемые серологическим путем (НИТ, РВК и вируснейтрализацией), исследованием движения глобулиновых фракций и, в частности, гаммаглобулина (путем электрофореза и полярографии) и на основе биологических опытов, показали, что иммунитет наступает на 10 день после вакцинации, становится особенно выразительным после второй вакцинации и продолжается в среднем 100 дней, частично понижаясь на 3—4-ом месяцах; это период критического состояния, когда молодые неиммунизированные поросята легче всего могут заразиться и погибнуть от бронхопневмонии. Гаммаглобулин, полученный от переболевших свиней, оказался эффективным средством у свиней, зараженных

вирусом ЭБп, в особенности, если был введен в организм одновременно с комплексом В витамина, действующим на рост.

4. Если применить смесь инактивированных микробов из секундарной пиогенной микрофлоры, полученной из легочных изменений у свиньи, с прибавлением 2,5%-го раствора иеллон-казеин-вакцины BEV 67 — в 3 секундарных инъекциях (в дозах 4+6+6 мл) для супоросных свиноматок или в 2 дозах (2+4 мл) для под угрозой находящихся поросят в возрасте двух недель, можно у них достичь десенсибилизации и высокой степени устойчивости против полимикробной инфекции, очень часто поражающей бронхи и легочные ткани поросят. Оказалось, что BEV 67, испытанная приблизительно на 250.000 поросят и взрослых свиных в 65—100 % случаев вылечила и предохранила поросят и свиней, в особенности откормочных.

Results of Immunization Trials in Enzootic Bronchopneumonia in Piglets

Majority of viral strains of enzootic bronchopneumonia (EBp) in piglets, isolated in CSR, are haemagglutinating and pathogenic for ferrets and mice, they multiply in allantoic fluid in the chicken embryos and as for antigen, they are related to, if not identical with, Shope's virus. The only strain (Cupik) denoted as the virus of pigs' pneumonia approaches the Gulrajani-Beveridge-Betts type of chronic pneumonia virus.

Starting from the well-known fact i. e. that filtrable viruses are good antigens, we made several kinds of vaccines and tested them in the laboratory and field practice for active immunization of piglets and adult pigs against EBp. For vaccine preparation we used our 4 virus strains of typical EBp of pigs, after phenol and formal inactivation adsorbed on aluminium hydroxide, and tested them on litters of pigs.

Another kind of vaccine was made from 4 strains of influenza virus and an equal amount of suspension of inactivated pyogenic microbes from the strains that had been isolated from chronic bronchopneumonic lesions in pigs, and these were tested on pigs. The polymicrobial component acts in a specific manner on the one hand, and as carrier and stimulating nonspecific factor on the other hand.

The results of vaccination may be expressed as follows:

1. The subcutaneous vaccination with the viral adsorbate performed in two injections in 2 to 3 weeks' interval (doses of 2 ml and 3 ml for piglets and about double as much for grown-up pigs) showed a good immunizing effect, for it protected vaccinated animals from a massive experimental nasal infection in 80 % of cases, from natural infection in infested surroundings in as many as 98 % of cases whereas respiratory organs in nearly one half of control (non-vaccinated) animals were affected. Vaccinated piglets developed on the whole well.

2. The effects of a double vaccination with phenol adsorbate from the virus and inactivated bacteria were even better, for in infection-control tests 100 % of vaccinated test animals remained protected from control infection just like all vaccinated pigs, kept in natural conditions on infested grounds remained healthy, while many controls died.

3. The results of the immunization, investigated by serologic methods (HIT, CFT and virus-neutralization) by tracing the movement of globulin fractions, especially of gamma-globulin (by means of electrophoresis and polarography) and bioassays have shown that immunity sets in the 10th day following infection, becomes marked after the 2nd vaccination and with a partial decrease in the 3rd to 4th months lasts in average 100 days. This is the critical period when young non-immunized piglets most easily get infected and succumb to the bronchopneumonic lesions. Gamma-globulin derived from recovered pigs proved effective in pigs infected with EBp, especially when put into body simultaneously with the growth-factor, vitamin B-complex.

4. The mixture of inactivated microbes from the secondary pyogenic microflora from the lung-lesions in pigs, treated with 2,5 % solution of yelton-casein — vaccine BVE 67 — administered in 3 subcutaneous injections (doses of 4+6+6 ml) to pregnant sows or in two doses (2+4 ml) to threatened piglets 2 weeks of age resulted in providing desensibilisation and high degree of protection from polymicrobial infection frequently affecting bronchi and lung tissues of piglets. BVE 67 tested on

about 250.000 piglets and grown-up pigs proved as highly effective in ensuring recovery and protection in 65 to 100 % of piglets and young pigs especially during fattening.

Ergebnisse der Immunisationsversuche bei der enzootischen Bronchopneumonie der Ferkel

Eine größere Anzahl der in CSR isolierten Stämme der enzootischen Bronchopneumonie der Ferkel sind hämagglutinierend und pathogen für Frettchen und Mäuse; sie vermehren sich in der Allantoisflüssigkeit in den Hühnerembryonen und sind dem Shopes Virus-Antigen nahe, wenn nicht mit ihm identisch. Ein einziger Stamm (Cupik), der als Pneumonie-Virus bezeichnet wird, nähert sich dem Typus von Gulrajani-Beveridge-Betts-Virus der chronischen Pneumonie.

Von der bekannten Tatsache ausgehend, nämlich daß die filtrabilen Viren gute Antigene sind, haben wir einige Arten von Vakzinen hergestellt und haben mit diesen Ferkel und erwachsene Schweine gegen die EBP immunisiert. Zur Vakzinenherstellung haben wir unsere 4 Stämme des Virus der typischen EBP der Schweine benutzt, welche nach der Inaktivierung mit Phenol oder Formol auf Aluminium-Hydroxyd adsorbiert worden waren, und haben sie an den Ferkeln erprobt.

Eine andere Vakzine haben wir aus 4 Stämmen des Influenzavirus und aus der gleichen Menge von Suspension der inaktivierten pyogenen Mikroben aus den Stämmen, welche aus den chronischen bronchopneumonischen Läsionen in den Schweinen isoliert worden waren, hergestellt und haben diese an den Schweinen erprobt. Der polymikrobielle Bestandteil wirkt einerseits spezifisch, andererseits unspezifisch als Träger und stimulierender Faktor.

Die Ergebnisse der Schutzimpfung dürften folgendermaßen ausgedrückt werden:

1. Die subkutan in 2 Injektionen im Zeitabstand von 2—3 Wochen erstattete Vakzination mit dem Virus-Adsorbat-Impfstoff (Dosen: Ferkel — 2 ml und 3 ml, erwachsene Schweine — etwa doppelt so viel) hat einen guten Immunisationseffekt erzielt, da sie die geimpften Tiere gegen eine massive experimentelle Nasalinfektion in 80 %, gegen natürliche Infektion sogar in 98 % der Fälle schützte, während es bei fast einer Hälfte der (nicht geimpften) Kontrolltiere zur Atemorganeerkrankung kam.

Die geimpften Tiere entwickelten sich insgesamt günstig.

2. Die doppelte Vakzination mit dem Phenoladsorbatimpfstoff aus dem Virus und den inaktivierten Bakterien aus den bronchopneumonischen Läsionen hatte noch günstigere Ergebnisse, denn bei den Infektionsversuchen sind 100 % der geimpften Tiere geschützt geblieben, ebenso sind alle geimpften Schweine gesund geblieben, die unter natürlichen Bedingungen in einer verseuchten Umgebung gehalten wurden, wo ein großer Teil der Kontrolltiere der Erkrankung unterlag.

3. Die Ergebnisse der Immunisation, welche serologisch (HIT, KBR und Virus-Neutralisation) durch das Beobachten der Bewegung der Globulin-Fractionen und speziell des Hämoglobulins (elektrophoretisch und polarographisch) und durch biologische Tests untersucht wurden, haben gezeigt, daß die Immunität am 10. Tage nach der Impfung erfolgt, nach der 2. Impfung besonders deutlich wird und — indem sie im 3.—4. Monat teilweise sinkt — im Durchschnitt 100 Tage dauert; das ist der kritische Zeitabschnitt, in dem die jungen nicht geimpften Ferkel am leichtesten angesteckt werden und den bronchopneumonischen Störungen unterliegen. Der aus den genesenen Ferkeln erworbene Gamma-Globulin hat sich bei den mit dem EBP-Virus angesteckten Ferkeln als effektiv erwiesen, besonders wenn er gleichzeitig mit dem Wachstum-Faktor (Vit. B-Komplex) in den Körper hineingebracht wurde.

4. Wenn die Mischung der inaktivierten Mikroben aus der sekundären Mikroflora aus den Lungenläsionen der Schweine, für welche als Zusatz die 2,5 % Lösung Yellon-Kasein — Vakzine BEV 67 — benutzt worden war, in 3 subkutanen Injektionen (in Dosen von 4+6+6 ml) für trüchtige Sauen und in 2 Dosen (2+4 ml) für gefährdete Ferkel im Alter von 2 Wochen benutzt wird, so kann bei diesen die Desensibilisation und ein hochgradiger Schutz gegen die polymikrobielle, die Bronchi und das Lungengewebe der Ferkel heimsuchende Infektion erreicht werden. Es wurde erwiesen, daß die an etwa 250.000 Ferkeln und erwachsenen Schweinen erprobte BVE 67 in 65 bis 100 % Fällen zur Genesung und Beschützung der Ferkel und Läufer, besonders während der Mastzeit, führt.

Přenosnost brucel komáry

Комары как переносчики бруцеллезных зародышей

Die Mücken als Brucelloseinfektionsträger

La transmissibilité des Brucellae par moustiques

J. KARÁSEK

Z ústavu pro mikrobiologii a imunologii veterinární fakulty VŠZ v Brně, přednosta
 prof. Dr. Richard Harnach

Došlo dne 28. V. 1957

Úvod

Brucelosa se stala světovým epizootologickým problémem, který dosud není definitivně vyřešen v žádném státě. Při šíření brucelosity se uplatňuje celá řada faktorů, jako nekontrolované přesuny zvířat, dovoz infikovaného dobytka, stájový hmyz, nedostatečná hygiena, závady v krmení a v neposlední řadě i nedostatečná péče v odborné destrukci nakažliviny, nebo i nesvědomitost ošetřovatelů.

V našem státě došlo k velkému rozšíření brucelosity již v letech před první světovou válkou a zvláště po ní, kdy bylo podle Černovského touto nákazou zachváčeno asi 20 % skotu.

O rozšíření brucelosity za první republiky nemáme přesných statistik, neboť tato nákaza nepodléhala tehdy povinnému hlášení a serologické vyšetření bylo prováděno toliko u minimálního počtu zvířat.

Ve zprávách ministerstva zemědělství o veterinární službě v ČSR nacházíme tyto údaje:

Zamořené okresy	1921	1922	1923	1924	1925
Čechy	19	20	23	27	25
Morava	7	17	12	21	17
Slovensko	8	9	13	22	20
ČSR	34	46	48	70	62

K velkému rozšíření této nákazy došlo v letech 1932–1934, kdy se nakažlivé zmetání již nelokalisovalo jenom na velkochovy hovězího dobytka, ale zachvacovalo i drobná hospodářství.

Od roku 1935 do konce roku 1950 nebyly publikovány statistické zprávy, z nichž bychom mohli udělat závěr o epizootologické situaci za tuto dobu.

Teprve vydáním zákona č. 187/1950 Sb. o zdokonalení živočišné výroby byla pojata brucelosa mezi nákazy povinné hlášení.

Podle statistických dat byl výskyt brucelosity v ČSR v květnu 1952 tento:

Kraj	Okresy	Obce	Dvory
Praha	13	66	79
Č. Budějovice	4	9	16
Plzeň	1	2	2
Karlovy Vary	7	48	51
Ústí nad Labem	13	81	119
Liberec	2	6	16
Hradec Králové	6	19	20
Jihlava	2	5	5
Brno	4	10	10
Olomouc	6	22	37
Gottwaldov	3	6	6
Ostrava	8	67	85
Bratislava	13	32	35
Nitra	10	41	56
Banská Bystrica	9	32	53
Žilina	7	19	26
Košice	5	9	128
ČSR	113	474	744

Z těchto statistických dat vyplývá, že brucelousou jsou postiženy chovy zvířat v celé naší republice.

I když začátkem roku 1954 bylo u nás zamořeno asi 1400 dvorů, není epizootologická situace v našem státě v podstatě nepříznivá. Musíme však zjistit všechny cesty, kterými se může brucelosa rozšiřovat, abychom vhodnou prevencí předešli zamoření dalších zvířat.

Učení akademika Pavlovského o přírodních ohniscích brucelosity nás přesvědčilo o tom, že je mnoho skrytých nosičů brucel (zajíců a jiných hlodavců), i hmyzu. Tyto zdroje mohou být příčinou vypuknutí nákazy a neúspěchů její asanace.

Přicházíme k otázce, do jaké míry se může na tomto šíření brucelosity podílet také bodavý hmyz, především pak komáři.

Literární údaje

Z historie lékařství se dovídáme, že již v 16. století byla přikládána hmyzu význačná úloha v šíření nakažlivých nemocí. V roce 1577 přichází *Mercurialis* s myšlenkou, že původce lidského moru (*Pasteurella pestis*) může být přenášen z mrtvolky nebo z nemocného člověka na zdravé lidi mouchami. I když ještě v té době nebylo ve světě žádných představ o mikrobech, byla *Mercurialis*ova myšlenka o přenosnosti nakažlivého agens hmyzem v podstatě správná, třebaže přenášecem lidského moru je zpravidla blecha.

V roce 1884 J. N o t t (20) vyslovil domněnku, že vznik žluté zimnice třeba klást za vinu komárům. Podobný názor o rozšiřování žluté zimnice, malárie i jiných nemocí komáry uveřejnil v roce 1854 také B e a u p e r t h u y (20).

Komáry z rodu *Anopheles* prokázal v roce 1897 R o s o (20) jako přenašeče malárie a R e e d v roce 1900 (20) potvrdil výsledky práce F i n l a y o v y (20) o přenosnosti žluté zimnice komáry *Aedes aegypti*.

Zatím co máme z hmyzu obsáhle zpracovány mouchy jako možné přenašeče mikrobů včetně jejich mikroflory, nacházíme údaje o komárech v literatuře skrovněji.

R i l e y a J o h a n n s e n (17) uvádějí, že V e d d e r našel v zamořeném prostředí u 41 % komárů *Aedes aegypti* *Mycobacterium leprae*. Byli by tudíž komáři podstatnou složkou při šíření této nemoci. Naproti tomu C u r r i e (4), který prováděl rozsáhlé pokusy s komáry, nenašel dostatek důkazů, aby je mohl počítat mezi přenašeče této infekce.

Důležitá jsou zjištění M o r r i s o v a (11), že komáři *Psorophora sayi* a *Aedes vexans* mohou ssáním na nemocných zvířatech přenášet anthrax.

Pokusy o přenos *Malleomyces pseudomallei* komáry provedli B l a n c a B a l t a z a r d (2). Dokázali, že *Aedes aegypti* snadno přenáší infekci z jednoho morčete na druhého. Infikovali takto toliko 2 morčata.

Obdobné pokusy, avšak na králících, provedli N i e s c h u l z a K r a n e f e l d (14) s *Pasteurella bollingeri*. Tito autoři nezůstali u možnosti přenosu komáry, ale zjišťovali, i po jakou dobu po krmení komárů infikovanou krví jsou tyto schopni přenést nákazu na pokusné králíky. Tak prokázali, že *Aedes aegypti* může infikovat králíky ještě po 2 dnech, *Anopheles fuliginosus* během 6 hodin a *Armigeres obturbans* po 24 hodiny.

Jakou podstatnou úlohu mohou hrát komáři v epidemiologii a epizootologii tularemie, objasňují P h i l i p, D a v i s a P a r k e r (16), kteří ve své experimentální práci s komáry *Aedes nearcticus*, *Aedes vexans*, *Aedes dorsalis*, *Aedes stimulans*, *Aedes canadensis*, *Theobaldia incidens* a *Culex tarsalis* poukazují na 3 možné způsoby infekce lidí, a to:

- a) při ssání na člověku
- b) při rozmáčknutí komára na kůži
- c) potřísněním kůže nebo sliznic exkřety.

S *Culex apicalis* jako přenašečem *Pasteurella tularensis* konal pokusy s rovněž kladnými výsledky B o ŝ e n k o (3).

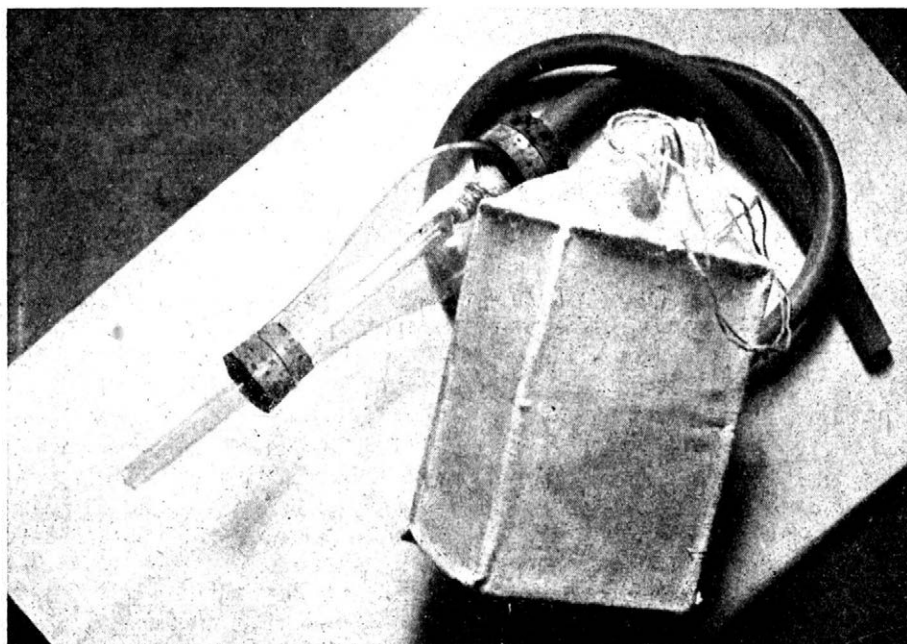
Jiní autoři se zabývali otázkou životnosti bakterií ve střevě komárů a zkoumali intensitu baktericidního účinku žaludeční a střevní šťávy u přenašeče žluté horečky — komára *Aedes aegypti*.

Na přenosu mikrobů se zpravidla zúčastní komáři jen jako mechaničtí přenašeči, jak dokázal M e t a l ' n i k o v i Š o r i n (13) svými pokusy o přenosnost *Bacillus thuringiensis*.

Podobně může mechanicky přenášet *Culex pipiens* a *Aedes vexans* *Brucella abortus* i *Brucella melitensis*, i když šlo pouze o experimentální přenos (18).

Pracovní program

Jako dílčí pracovní úkol ústavního výzkumu mně přidělil prof. Dr R i c h a r d H a r n a c h k řešení tyto konkrétní otázky:



Klíčka na lapání komárů

1. Po jakou dobu je možné prokázat
 - a) přítomnost živých brucel na povrchu těla komárů, kteří ssáli krev smíšenou s kulturou *Brucella abortus*,
 - b) přítomnost živých brucel v zaživadlech komárů po nassátí bruce-losní krve,
 - c) vylučování živých brucel ve faeces komárů krmených krví s bruce-losní kulturou.
2. Prokázat případnou přítomnost brucel
 - a) na povrchu těla
 - b) v zaživadlech
 u komárů žijících v bruce losní stáji.
3. Isolovat všechny mikrobiální kmeny
 - a) s povrchu těla
 - b) ze zaživadel
 komárů chytaných v bruce losní stáji.

Pracovní metodika

a) Opatřování komárů

V zimovištích jsme chytali komáry pomocí exhaustoru, jakožto nejpraktič-tější pomůcky k získání živých a neporušených komárů.

b) Lapací klíčky (síčky)

Lapací klíčky jsou zkonstruovány zcela jednoduše tak, že kostra z drátu tvoří čtyřboký hranol, který je potažen gázou fixovanou v rozích hranolu. Otvor do klíčky je opatřen spolehlivým motouzem, aby mohl být pevně uzavřen.

V klíčkách znázorněných na fotografii jsem převážel nachytné komáry do ústavu.

Před další manipulací s komáry byly klícky vloženy na 5 minut do chladničky, aby došlo k znehybnění komárů a tím k snadnému přesypání jich do skleněné baňky, jejíž otvor byl uzavřen gázou.

c) Postup při infekci komárů

Než došlo k úplnému procitnutí komárů, byl jim do baňky vložen kousek vaty napojený defibrinovanou hovězí krví, smíšenou s dobře rostoucí kulturou *Brucella abortus*. Asi po 20 minutách, t. j. po obnovení úplné aktivity komárů, začali tito ssát infikovanou krev z vaty a krátce na to byla pozorována první defekace. Po nassátí zvětšil se jejich objem a byl zřetelně viditelný krvavý obsah zaživadel. Nassátí komáři odlétali od předložené potravy a usedali na stěny baňky.

K jednomu pokusu bylo použito asi 60 komárů. Po 6 hodinách od provedení ssání bylo pinsetou vyjmuto 10 komárů a sterilní klíčkou sesbírány faeces se stěn baňky k bakteriologickému vyšetření. Zbývající komáři byli vpuštěni do sterilní baňky, která byla přiklopena otvorem na otvor baňky první. Abych vyloučil případné posunutí otvorů a vylétnutí infikovaných komárů a zajistil tak jejich převedení do sterilní baňky, byly okraje obou baněk spojeny plastelinou. Po přelétnutí nassátých komárů byly baňky rozpojeny, otvor druhé baňky opatřen gázou a tak byli ponecháni komáři bez dalšího ssání 18 hodin, tedy 24 hodin od doby, kdy se mohli infikovat brucelami. Po 24 hodinách bylo odebráno dalších 10 komárů, sesbírány faeces a přikročeno k bakteriologickému vyšetřování.

Popsaná manipulace byla obdobně provedena i za 36 hod., 48 hod., 72 hod. a 96 hod. od ssání.

Vlastní výzkumné pokusy

Podle pracovního programu jsem měl za úkol zjišťovat přítomnost brucel jednak na povrchu těl komárů, jednak v zaživacím traktu a ve faeces.

1. Přítomnost brucel na povrchu těla

byla zjišťována po oplachování těl komárů ve sterilním fyziologickém roztoku po dobu 15 minut. Z tohoto oplachu bylo kultivováno na agar o pH 7,4 (CTN) tohoto složení:

Dest. voda	1000,0
Pepton	20,0
NaCl	5,0
Glukosa	2,0
Thiaminhydrochlorid	0,0001 %
Agar	20,0
Nikotinamid	0,0001 %

Po uložení nakultivovaných půd do termostatu při teplotě 37° C byly pravidelně čtvrtého až pátého dne posouzeny a diagnostikovány narostlé kolonie.

2. Zjišťování brucel v zaživadlech komárů

Po provedeném opláchnutí byli vyšetřováni komáři ještě dvakrát opláchnuti sterilním fyziologickým roztokem a jejich povrch desinfikován ponořením do 0,1 % roztoku sublimátu na dobu 10 minut. Po vyjmutí komárů z desinfekčního roztoku byl jejich povrch opláchnut jod. alkoholem a znovu fyziologickým roztokem. Z posledního oplachu byla provedena kontrolní kultivace na sterilitu povrchu tělíček.

Po této přípravě byli komáři rozetřeni sterilní skleněnou tyčinkou ve zkumavce a pak ve 2 ml fyziologického roztoku. Z této suspence bylo — obdobně jako z oplachu — kultivováno na CTN agar.

3. Zjišťování živých brucel ve faeces

Ve třetí skupině pokusů byly zjišťovány živé brucely ve faeces komárů. K tomu účelu byly se stěn baňky sesbírány faeces, rozetřeny sterilní kličkou ve fyziologickém roztoku (2 ml) a z této suspence kultivováno na CTN agar.

Jelikož průkaz brucel kultivací není dosud tak spolehlivý jako u jiných mikrobů, prováděl jsem k potvrzení kultivačních nálezů biologické pokusy na morčatech a na myškách.

Při každém odběru vzorku komárů bylo z oplachu očkováno jedno morče a dvě myšky, které byly před pokusem vyšetřeny rychlou aglutinací na brucelosu a dávaly negativní výsledky; stejně bylo očkováno jedno morče a dvě myšky i suspensí z rozetřených komárů a z jejich faeces.

Morčata byla infikována intraperitoneálně množstvím 1 ml oplachu, respektive suspence, myšky dávkou 0,3 ml sc.

Každé infikované morče bylo umístěno v oddělené kleci, aby nedocházelo ke vzájemné případné infekci. Klece s morčaty byly očíslovány pro vyloučení možné záměny morčat. Současně očkované skupiny vždy dvou myšek byly umístěny v jedné 5l označené láhvi.

Serologické vyšetřování morčat a myši

Morčatům byla 15. dne od očkování odebírána krev naříznutím ušní veny k provedení rychlé skličkové aglutinace. Byl-li výsledek této zkoušky pozitivní, byla u tohoto morčete odebrána krev punkcí srdce a provedena pomalá aglutinace na brucelosu. V negativním případě bylo postupováno stejným způsobem 30. dne po očkování.

U infikovaných myšek byla 15. dne po očkování prováděna rychlá skličková aglutinace; v negativním případě ještě znovu 30. den, a to s několika kapkami krve, získané ustřížením konce ocásků.

Získání oplachu, suspence rozetřením komárů i z faeces, z nichž bylo kultivováno na CTN agar, infikování jednoho morčete a dvou myšek a provedení serologického průkazu na brucelosu se popsaným způsobem opakovalo s každou další skupinou 10 komárů za 24 hod., 36 hod., 48 hod., 72 hod. a 96 hodin po nassátí infikované krve.

Případalo tudíž na jeden pokus asi 60 komárů.

Při vyloučení náhodných výsledků byl pokus téměř za stejných podmínek opakován desetkrát. Bylo zpracováno a vyšetřeno přibližně 600 komárů. U prv-

ních tří pokusů byla prokazována přítomnost živých brucel pouze kultivačně. Tyto pokusy měly sloužit jako orientační. V dalších sedmi pokusech byly kultivační nálezy doplňovány serologickým průkazem na pokusných zvířatech.

Tímto způsobem jsem naočkoval 126 morčat a 252 myšek.

Výsledky kultivačních nálezů a výsledky biologických pokusů jsou zpracovány pro přehlednost v následujících tabulkách. *)

Kultivačně prokázaná přítomnost brucel a pozitivní výsledek rychlé aglutinace myšek je označen v tabulkách jako plus (+), neprokázaná přítomnost a negativní výsledek jako minus (-). Nula (0) značí uhynutí zvířete ještě před serologickým průkazem.

Pokus č. 4

Výsledek kultivace na brucely						
Z komárů po nassátí brucel za :	s povrchu těl komárů		ze zaživadel komárů		z faeces komárů	
6 hodin	+		+		+	
24 hodin	+		+		+	
36 hodin	—		+		+	
48 hodin	—		—		—	
72 hodin	—		—		—	
96 hodin	—		—		—	
Výsledky aglutinace na brucely u morčat a myšek očkovaných						
Z komárů po nassátí brucel za :	s povrchu těl komárů u		ze zaživadel komárů u		z faeces komárů u	
	morčete	myši I, II	morčete	myši I, II	morčete	myši I, II
6 hodin	20++	++	10++	— +	10++	++
24 hodin	10+	— +	10++	++	10++	++
36 hodin	—	— —	20++	++	10+++	++
48 hodin	—	— —	10++	— +	20++	++
72 hodin	—	— —	—	— +	—	— —
96 hodin	—	— —	—	— —	—	— —

Vysvětlení k pokusům

V každém z deseti pokusů bylo zpracováno v šesti časových intervalech (za 6—96 hodin) celkem 60 komárů, kteří po nakrmení suspenzí kultury BAB byli vyšetřeni ve skupinkách po 10 komárech na přítomnost živých brucel na povrchu těla (I), v zaživadlech (II) a ve faeces (III). V pokusech č. 1—3 byly brucely prokazovány toliko kultivací na CTN agaru, v pokusech 4—10 byly kultivační nálezy doplněny očkováním morčat a myšek, které pak byly vyšetřeny 14. a 30. dne rychlou a pomalou aglutinací.

*) Z tabulek uvádíme pouze dvě jako příklad. Ostatní tabulky jsou uvedeny v disertační práci Karáskové (8).

V ý z k u m k o m á r ů n a n o s i č s t v í *Brucella abortus* v b r u c e l o s - n í m k r a v í n u

Na základě výsledků pokusů s krmením komárů infikovanou krví *Brucella abortus*, při nichž se tyto ukázali jako možní přenašeči brucelosity, provedl jsem další pokusy o izolaci brucel z komárů, žijících v brucelosi stáji.

K pokusům jsem si zvolil kravín JZD I.—N.

Zde byly před i po svedení skotu (v roce 1953) do společné stáje provedeny podle předpisu zdravotní zkoušky. Výsledek těchto zkoušek na brucelosu byl negativní.

Komplexní vyšetření brucelosity ve stáji JZD I.-N.

Poř. číslo skotu	AR	VK	Allerg. reakce	KR ABR	Aglut. ze syrovátky
1	—	—	+	0	0 (býk)
2	—	—	—	0	0
3	—	—	—	0	0
4	—	—	—	0	0
5	—	—	—	0	0
6	40++	?	—	0	0
7	80++	—	—	0	0
8	—	—	—	0	0
9	—	—	—	0	0
10	—	—	—	0	0
11	80++	8+++	+	0	0
12	—	—	+	—	—
13	1280++	16++	+	+++	+++
14	40++	8++	++	—	—
15	160++	32++	+++	+	—
16	20+++	4+++	++	+	—
17	40+++	8++	++	+	—
18	40+++	32++	++	—	—
19	320+++	4++	+++	+++	—
20	20++	4+++	++	—	—
21	40++	8+++	++++	—	—
22	—	—	—	—	—
23	—	—	+	—	—
24	40++	—	—	—	—
25	40++	—	—	—	—
26	40++	2++	—	—	+
27	—	—	+	—	—
28	80+++	16+++	++	+++	—
29	1280++	32+++	+	+++	+++
30	40++	—	++	—	—
31	40++	—	—	—	—

(Poznámka: nedočí — označeno 0)

Asi v polovině května následujícího roku zmetala jedna kráva a zmetek spolu s krví matky odeslaný k vyšetření do SVVÚ v Brně vykázal negativní výsledek na brucelosu.

V červenci téhož roku došlo ke druhému zmetání opět s negativním nálezem na BAB.

Teprve v srpnu, t. j. při třetím případě zmetání byla potvrzena brucelosa.

Následovala řada zmetání a v přítomné době zjišťuje se brucelosa téměř u všech krav uvedeného dvorce JZD.

Byly tedy všechny krávy před svedením do společné stáje vyšetřeny na brucelosu a po jistou dobu nebyly zjištěny pozitivní nálezy brucelosity.

Nemůžeme sice považovat kraj I.—N. za typická místa rozsáhlého výskytu komárů, s jakými se setkáváme na některých místech jižní Moravy, přesto zde byla hojnost komárů. Samo město leží na soutoku tří řek. Vlhčí klima je zde vhodným prostředím pro komáry.

Náš výzkum komárů se vztahoval na málo osvětlený kravín, ležící přímo na břehu řeky, kde jeho tmavé stěny a naprostý nedostatek slunečních paprsků skýtají nejvhodnější podmínky pro život komárů.

Zůstala neobjasněnou otázkou zavlečení brucelosity do této stáje. Sama okolnost výskytu brucelosity se nabízela ke studiu, zda lze prokázat nějaké vzájemné souvislosti mezi hovězím dobytkem, brucelosou skotu a případným jejím zavlečením prostřednictvím komárů.

Usuzovali jsme totiž, že komáři, kteří se zdržují ve stáji a ssají krev zvířat stížených brucelosou, nehledíc k možnosti mechanického přenosu z infikovaného prostředí při abortech, mohli by eventuálně být tím prostředníkem, který případně zavlékl odněkud brucelosu a zavinil tak vypuknutí této nákazy a její rozšíření mezi zvířaty.

Nákazovou situaci ve vyšetřovaném kravíně udává tabulka z července 1955 (podle Dr. Rejthara) na straně 20.

Metodika pokusů

V popsaném kravíně jsem chytil komáry pomocí exhaustoru, způsobem popsaným na straně 16 této práce. Před odběrem každého vzorku komárů jsem vysterylisoval jak exhaustor, tak i přenosné klícky, aby byla zachována pouze stájová mikroflora a nedocházelo tak k dalšímu znečišťování těl komárů.

V klíčcích jsem převážel komáry do ústavu, kde byli průměrně do 8 hodin od nachytání zpracováni.

Zjišťoval jsem, zda jsou komáři žijící v brucelosi stáji nositeli brucel, ať již na svém povrchu, nebo v zaživacím traktu.

Mikrofloru s povrchu těl jsem isoloval opláchnutím komárů ve sterilním fyziologickém roztoku po dobu 15 minut. Z tohoto oplachu jsem kultivoval na maso-peptonový agar, na krevní agar, na Endův agar a na CTN agar. Po 24-hodinové inkubaci v termostatu při 37°C přistoupil jsem k diagnostikování získaných kmenů. Kultivace na CTN půdě byla sledována v termostatu po 8 dní.

Po vyjmutí komárů z fyziologického roztoku, jejich opláchnutí a desinfekci povrchu 0,1 % roztokem sublimátu po dobu 10 min., byl jejich povrch opláchnut ještě jod-alkoholem. K odstranění zbytků sublimátu a jod-alkoholu byli vyšetřováni komáři opět opláchnuti fyziologickým roztokem. Z posledního oplachu byla provedena vždy kontrolní kultivace na sterilitu povrchu tělíček.

Takto připravená skupinka komárů byla rozetřena sterilní skleněnou tyčinkou ve zkumavce; přidáním 2 ml fyziologického roztoku byla připravena suspenze, z níž bylo kultivováno na půdy a provedena diagnostika vyrostlých mikrobů — obdobně jako z oplachu povrchu.

K potvrzení kultivačních nálezů byla z každého odebraného vzorku komárů očkována 2 morčata, která před zařazením do pokusu nedávala pozitivní

serologický průkaz na brucelosu rychlou sklíčkovou aglutinací. Jedno morče bylo vždy infikováno intraperitoneálně 1 ml oplachu, druhé morče 1 ml suspenze, taktéž intraperitoneálně.

Infikovaná morčata byla 15. a 30. dne vyšetřována serologicky, a to s negativním výsledkem na brucelosu.

Z uvedeného kravína bylo odebráno 8 vzorků po 30 komárech. Bylo tedy vyšetřeno na 400 komárů a izolováno z nich 14 bakteriálních kmenů.

Určování bakteriálních kmenů u komárů z brucelosis stáje

K diagnostikování získaných kmenů byly u každého kmene určeny tyto vlastnosti:

1. morfologické
 - a) makroskopické
 - b) mikroskopické
2. biologické
3. biochemické
4. serologické
5. biologický pokus.

1. Morfologické vlastnosti

a) Makroskopické:

Určil jsem a popsal vlastnosti každého kmene na těchto základních půdách:

na masopeptonovém agaru,

na krevním agaru, kde byla sledována především tvorba alfa a beta haemonolysy,

na Endově půdě a

v bujonu.

b) Mikroskopické:

Zde byla zjišťována:

barvitelnost podle Grama,

tvár mikroorganismů,

jejich velikost,

schopnost vytvářet pouzdra a spory.

2. Biologické vlastnosti

Sledoval jsem tvorbu pigmentu kultur na škrobovém agaru při teplotě 28° C po 4 dny.

V 0,5 % vysokém agaru posuzoval jsem po řadě pěti a deseti dní pohyblivost kmenů.

3. Biochemické vlastnosti

Poměrně chudá morfologie mikroorganismů při značném počtu mikrobiálních druhů nedovoluje jejich definitivní zařazení. K přesnému jejich určení je třeba zabývat se jejich metabolismem, t. j. vlastnostmi biochemickými.

Sem patří především:

poměr mikroorganismů ke kyslíku,
pestrá řada cukrů, neboť biochemismus mikroorganismů je natolik specifický, že jejich schopnost zkvašovat toliko určité cukry může být využita k přesnému diagnostikování jednotlivých mikrobů.
tvorba sirovodíku,
tvorba indolu,
hydrolysa škrobu,
redukce nitrátů v nitrity,
tvorba kyseliny mléčné, octové a sukcinové,
tvorba acetyl-methyl-karbinolu,
peptonisace nebo srážení lakmusového mléka,
tvorba čpavku z močoviny,
zkapalňování želatiny a
zkouška asimilace anorganického dusíku a uhlíku.

4. Serologické vlastnosti

Nebyla-li předešlými zkouškami vyloučena možnost, že jde o brucely, použil jsem u zkoušeného kmene sklíčkové aglutinace.

5. Biologický pokus

Jelikož provedené zkoušky nezajišťovaly bezpečné podchycení brucel, prováděl jsem s kmeny příbuzných vlastností biologický pokus na morčatech, u nichž byla 14. a 30. den po očkování dělána aglutinace na brucelosu.

Diagnostika kmenů získaných s povrchu komárů chytaných v brucelosis stáji

Kmen č. 1

1. Popis kultury na MPA
2. Tvorba haemolysy
3. MPB
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Hydrolysa škrobu
15. Redukce nitrátů
16. Tvorba indolu
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Kosserově půdě

drobné bezbarvé rosovité kolonie
ostrých okrajů, velikosti 1 mm
haemolysu netvoří
sediment, zákal
Gr +
mikrokoky
1—1,2 μ
pouzdra netvoří
spory netvoří
pigment netvoří
nepohyblivý
roste aerobně
glukosa +
sirovodík netvoří
nehydrolysuje
nitráty neredukuje
indol netvoří
kyseliny netvoří
tvorí acetyl-methyl-karbinol
sráží, reakce kyselá
čpavek netvoří
želatinu nezkapalňuje
neroste

Kmen č. 2

- | | |
|---------------------------|--|
| 1. Popis kultury na MPA | drobné lesklé bělavé kolonie hlad-
kého povrchu i okrajů, velikosti
0,5—1 mm |
| 2. Tvorba haemolysy | haemolysu netvoří |
| 3. MPS | sediment |
| 4. Barvení podle Grama | Gr + |
| 5. Tvar mikrobů | stafylokoky |
| 6. Velikost | 0,5—1 μ |
| 7. Barvení podle Olta | netvoří pouzdra |
| 8. Barvení podle Peškova | netvoří spory |
| 9. Tvorba pigmentu | tvoří bělavý pigment |
| 10. Pohyblivost | pohyblivý |
| 11. Poměr ke kyslíku | roste aerobně |
| 12. Pestrá řada cukrů | cukry nezkvašuje |
| 13. Tvorba sirovodíku | netvoří sirovodík |
| 14. Tvorba indolu | netvoří indol |
| 15. Hydrolysa škrobu | nehydrolysuje |
| 16. Redukce nitrátů | nitráty neredukuje |
| 17. MRT | netvoří kyselinu |
| 18. Voges — Prosk. test | netvoří acetyl-methyl-karbinol |
| 19. Lakmusové mléko sráží | reakce alkalická |
| 20. Tvorba čpavku | netvoří čpavek |
| 21. Zkapalnění želatiny | želatínu nezkapalňuje |
| 22. Růst v Kosserově půdě | neroste |

Kmen č. 3

- | | |
|---------------------------|------------------------------------|
| 1. Popis kultury na MPA | závojitý povlak, silně zapáchající |
| 2. Tvorba haemolysy | netvoří haemolysu |
| 3. MPB | blanka, zákal |
| 4. Barvení podle Grama | Gr — |
| 5. Tvar mikrobů | tyčinky |
| 6. Velikost | 3—4 μ |
| 7. Barvení podle Olta | netvoří pouzdra |
| 8. Barvení podle Peškova | netvoří spory |
| 9. Tvorba pigmentu | netvoří pigment |
| 10. Pohyblivost | pohyblivý |
| 11. Poměr ke kyslíku | roste aerobně |
| 12. Pestrá řada cukrů | sacharosa +, maltosa + |
| 13. Tvorba sirovodíku | tvoří sirovodík |
| 14. Tvorba indolu | tvoří indol |
| 15. Hydrolysa škrobu | nehydrolysuje |
| 16. Redukce nitrátů | nitráty redukuje |
| 17. MRT | tvoří kyseliny |
| 18. Voges — Prosk. test | netvoří acetyl-methyl-karbinol |
| 19. Lakmusové mléko | sráží, reakce kyselá |
| 20. Tvorba čpavku | tvoří čpavek |
| 21. Zkapalnění želatiny | zkapalňuje želatínu |
| 22. Růst v Kosserově půdě | neroste |

Proteus vulgaris

Kmen č. 4

- | | |
|-------------------------|--|
| 1. Popis kultury na MPA | větší lesklé kolonie ostrých okrajů,
velikosti 2—3 mm |
| 2. Tvorba haemolysy | netvoří haemolysu |
| 3. MPB | sediment, zákal |
| 4. Barvení podle Grama | Gr — |
| 5. Tvar mikrobů | tyčinky |
| 6. Velikost | 1—2 μ |

7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Tvorba indolu
15. Hydrolysa škrobu
16. Redukce nitrátů
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Kossarově půdě

tvoří pouzdra
netvoří spory
netvoří pigment
nepohyblivý
roste aerobně
sacharosa +, manit +, maltosa +,
dulcitol +
netvoří sirovodík
netvoří indol
nehydrolysuje
nitráty redukuje
netvoří kyseliny
tvoří acetyl-methyl-karbinol
sráží
tvoří čpavek
nezkapalňuje želatinu
neroste

Aerobacter aerogenes

Kmen č. 5

1. Popis kultury na MPA
2. Tvorba haemolysu
3. MPS
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Biologický pokus:

nažloutlé kolonie nepravidelných
okrajů s matným povrchem
tvoří alfa haemolysu
blanka, sediment, zákal
Gr +
tyčinky zaoblených konců
2—7 μ
netvoří pouzdra
tvoří spory
netvoří pigment
pohyblivý
roste aerobně

0,3 ml suspence kultury bylo injiko-
váno sc. myšce. Pro myšku nepatho-
genní

Bac. anthracoides

Kmeny izolované ze zaživadel komárů nachytných v brucelosis stáji

Kmen č. 1

1. Popis kultury na MPA agaru
2. Tvorba haemolysu
3. MPB
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Tvorba indolu

bezbarvé, lesklé, hladké kolonie ve-
likosti 0,3—0,5 mm
netvoří haemolysu
sediment, zákal
Gr +/—
kyjovité tyčinky
1—2 μ
netvoří pouzdra
netvoří spory
tvoří světležlutý pigment
pohyblivý
roste aerobně
sacharosa +, manit +
netvoří sirovodík
netvoří indol

15. Hydrolysa škrobu
16. Redukce nitrátů
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Kosserově půdě

nehydrolysuje
nitráty redukuje
netvoří kyseliny
netvoří acetyl-methyl-karbinol
sráží a reakce kyselá
čpavek netvoří
zkapalňuje želatinu
neroste

Kmen č. 2

1. Popis kultury na MPA
2. Tvorba haemolysy
3. MPB
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Tvorba indolu
15. Hydrolysa škrobu
16. Redukce nitrátů
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Kosserově půdě

bezbarvé lesklé hladké kolonie
netvoří haemolysu
zákal
Gr +
mikrokoky
0,5—0,8 μ
netvoří pouzdra
netvoří spory
netvoří pigment
nepohyblivý
roste aerobně
laktosa +, glukosa + p, manit +,
maltosa +
netvoří sirovodík
netvoří indol
nehydrolysuje
nitráty redukuje
netvoří kyseliny
netvoří acetyl-methyl-karbinol
peptonisuje
netvoří čpavek
zkapalňuje želatinu
neroste

Micrococcus caseolyticus Evans

Kmen č. 3

1. Popis kultury na MPA
2. Tvorba haemolysy
3. MPB
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Tvorba indolu
15. Hydrolysa škrobu
16. Redukce nitrátů
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Kosserově půdě

šedobílé kolonie dobře lipící na půdě
netvoří haemolysu
sediment
Gr —
tyčinky
1,5—2 μ
netvoří pouzdra
netvoří spory
netvoří pigment
pohyblivý
roste fakultativně anaerobně
cukry nezkvašuje
netvoří sirovodík
netvoří indol
hydrolysuje
nitráty redukuje
netvoří kyseliny
netvoří acetyl-methyl-karbinol
—
netvoří čpavek
zkapalňuje želatinu
neroste

Alcaligenes faecalis Castellani et Chalmers

Kmen č. 4

1. Popis kultury na MPA
2. Tvorba haemolysy
3. MPB
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Tvorba indolu
15. Hydrolysa škrobu
16. Redukce nitrátů
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Kosserově půdě

hlenovité kolonie velikosti 3—6 mm, fekálního zápachu
netvoří haemolysu
sediment, zákal
Gr —
tyčinky
1—2 μ
netvoří pouzdra
netvoří spory
netvoří pigment
pohyblivý
roste aerobně
laktosa +, glukosa +, manit + p.
netvoří sirovodík
tvoří indol
nehydrolysuje
nitráty redukuje
tvoří kyseliny
netvoří acetyl-methyl-karbinol
sráží, reakce kyselá
tvoří čpavek
nezkapalňuje želatinu
neroste

Escherichia coli communis

Kmen č. 5

1. Popis kultury na MPA
2. Tvorba haemolysy
3. MPB
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Tvorba indolu
15. Hydrolysa škrobu
16. Redukce nitrátů
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Kosserově půdě

bělavé kolonie hladkého lesklého povrchu, pravidelných okrajů, velikosti 2—4 mm
tvoří alfa haemolysu
sediment, zákal
Gr +
staphylokoky
1—1,5 μ
netvoří pouzdra
netvoří spory
tvoří bílý pigment
nepohyblivý
roste aerobně
manit +
netvoří sirovodík
netvoří indol
nehydrolysuje
nitráty neredukuje
tvoří kyseliny
tvoří acetyl-methyl-karbinol
sráží, reakce kyselá
netvoří čpavek
zkapalňuje želatinu
neroste

Staphylococcus pyogenes albus

Kmen č. 6

1. Popis kultury na MPA
2. Tvorba haemolysy

větší kolonie hlenovitého povrchu
velikosti 3—6 mm, fekálního zápachu
netvoří haemolysu

3. MPB
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Tvorba indolu
15. Hydrolysa škrobu
16. Redukce nitrátů
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Koserově půdě

sediment, zákal
Gr —
tyčinky
1—2 μ
netvoří pouzdra
netvoří spory
netvoří pigment
pohyblivý
roste aerobně
sorbit +, laktosa +, glukosa +, sa-
charosa +, maltosa +, manit +
tvoří sirovodík
tvoří indol
nehydrolysuje
nitráty redukuje
tvoří kyseliny
netvoří acetyl-methyl-karbinol
sráží, reakce kyselá
tvoří čpavek
nezkapalňuje
roste

Escherichia freundii

Kmen č. 7

1. Popis kultury na MPA
2. Tvorba haemolysy
3. MPB
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Tvorba indolu
15. Hydrolysa škrobu
16. Redukce nitrátů
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Koserově půdě

bezbarvé lesklé hladké kolonie veli-
kosti 0,5—0,8 mm
netvoří haemolysu
sediment, zákal
Gr + —
kyjovité tyčinky
1—2 μ
netvoří pouzdra
netvoří spory
žlutý pigment
pohyblivý
roste aerobně
sacharosa = +, dulcitol +
netvoří sirovodík
tvoří indol
nehydrolysuje
nitráty redukuje
netvoří kyseliny
netvoří acetyl-methyl-karbinol
sráží
netvoří čpavek
zkapalňuje želatinu
neroste

Kmen č. 8

1. Popis kultury na MPA
2. Tvorba haemolysy
3. MPB
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu

Zkalené drsné kolonie velikosti
1—2 mm, tvořící „mrazové květy“
netvoří haemolysu
sediment
Gr =
tyčinky
1,5—2,5 μ
netvoří pouzdra
tvoří spory
netvoří pigment

10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Tvorba indolu
15. Hydrolysa škrobu
16. Redukce nitrátů
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko sráží
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Kosserově půdě

pohyblivý
 roste aerobně
 glukosa +, manit +, dulcitol +
 netvoří sirovodík
 netvoří indol
 nehydrolysuje
 nitráty neredukuje
 netvoří kyseliny
 tvoří acetyl-methyl-karbinol
 reakce kyselá
 netvoří čpavek
 nezkapalňuje želatinu
 neroste

Kmen č. 9

1. Popis kultury na MPA
2. Tvorba haemolysy
3. MPB
4. Barvení podle Grama
5. Tvar mikrobů
6. Velikost
7. Barvení podle Olta
8. Barvení podle Peškova
9. Tvorba pigmentu
10. Pohyblivost
11. Poměr ke kyslíku
12. Pestrá řada cukrů
13. Tvorba sirovodíku
14. Tvorba indolu
15. Hydrolysa škrobu
16. Redukce nitrátů
17. MRT
18. Voges — Prosk. test
19. Lakmusové mléko sráží
20. Tvorba čpavku
21. Zkapalnění želatiny
22. Růst v Kosserově půdě

velké nazelenalé kolonie s vypouklým středem, velikosti 5—15 mm
 netvoří haemolysu
 sediment
 Gr —
 tyčinky
 2—3 μ
 netvoří pouzdra
 netvoří spory
 netvoří pigment
 nepohyblivý
 roste aerobně
 sacharosa +, manit +
 netvoří sirovodík
 netvoří indol
 nehydrolysuje
 nitráty neredukuje
 netvoří kyseliny
 tvoří acetyl-methyl-karbinol
 reakce alkalická
 netvoří čpavek
 nezkapalňuje želatinu
 neroste

Přehled práce, výsledků a diskuse

Našími pokusy jsme se snažili přispět k řešení otázky, do jaké míry se mohou na šíření brucelasy podílet komáři jako představitelé bodavého hmyzu.

Pokusy jsme prováděli s komáři *Culex pipiens* L., kteří jsou u nás nejvíce rozšířeni. Sledovali jsme, zda po nassání komárů krví smíšenou s brucelósní kulturou podržují si tyto živé brucelasy v zažívadlech a po jakou dobu je můžeme prokázat živé ve faeces a na povrchu tělíček.

Experimentálně jsme prokázali, že při šíření brucelasy nutno brát v úvahu i komáry, kteří se v našich stájích vyskytují někdy i ve velkém počtu.

Na jejich těle se udrží brucely schopné života a infekce až po 36 hodin, v zažívadlech až po 72 hodiny a ve faeces jsou vylučovány živé asi do 48 hodin po umělé infekci.

Vyšetřením 400 komárů z brucelosis stáje se nám nezdařilo ani u jednoho komára prokázat živé brucely. Z jiných mikrobů jsme isolovali u těchto komárů 14 bakteriálních kmenů, které mohou příležitostně přispívat na př. k infekci ran.

Tim, že jsme experimentálně prokázali možnost brucelosis infekce a její vylučování lejmem komárů, pokládáme za žádoucí, aby se pečovalo o důrazné hubení komárů, zvláště v brucelosis stájích.

Preventivně nutno tudíž omezovat bažiny, tůně a různé vodní nádrže v blízkosti domácích zvířat chovaných ve stáji i na pastvinách a případně přidáváním DDT nebo jiných antiparasitik do jejich lhníšť tlumit vývoj komárů. Také ve stájích provádíme tlumení pravidelným bílením a případným postřikem emulsi DDT.

Souhrn

Sledováním brucelosis infekce u komárů (*Culex pipiens* L.) jsme došli k těmto poznatkům:

1. Komáry lze snadno přimět k přijímání brucelosis zárodků suspendovaných v krvi, takže při ssání může docházet k jich kontaminaci.

2. Po umělé infekci byly u komárů prokázány živé brucely na povrchu těla do 36 hodin,
v zažívacích do 72 hodin a
ve faeces do 48 hodin.

3. Vyšetřením 400 komárů, nachytných v brucelosis stáji v době klidu (t. j. bez případu nakažlivého zmetání), nepodařilo se prokázat živé brucely ani kultivačně, ani biologickým pokusem na morčatech.

Přesto však nutno počítat s komáry jako s možnými přenašeči brucelosis zárodků, zvláště v průběhu nakažlivého zmetání.

Literatura

1. Bergey D., 1948: Manual of Determinative Bacteriology. — 2. Blanc G. R. et Baltazard M., 1942b: Transmission de l'infection à bacille de Whitmore par insectes piqueurs. I. Maladie expérimentale du Cobaye. Ann. Inst. Pasteur, 68, 281-293. (Cit. Steinhaus.) — 3. Boženko V. P., 1936: O roli komarov *Culex apicalis* Ad. kak nositel' i perenosčikov tuljaremii. Vest. mikrobiolog., epidemiol. i parazit., 15, 445-449. — 4. Currie D. G., 1910: Mosquitoes in relation to the transmission of leprosy. Pub. Health Repts. Bull., 39, 42 p. (Cit. Steinhaus.) — 5. Černovský J., 1935: Zvěrolékařský obzor, 199. — 6. Harnach R., 1953: Nakažlivé nemoci hospodářských zvířat. — 7. Juskovec M. K., 1952: Brucelljose seľskochozjajstvennych životnych. — 8. Karásek J., 1956: Přenosnost brucel komáry. Dis. práce. — 9. Morris H., 1918: Blood-sucking insects as transmitters of anthrax or charbon. Louisiana Agr. Expt. Sta. Bull., 163, 15 p. (Cit. Steinhaus.) — 10. Mráz O., 1955: Úloha hmyzu v šíření infekčních nemocí. Veterinářství 1955, č. 8, str. 243-244. — 11. Metalnikov S. i Šorin V., 1929: On the infection of the gypsy moth and certain other insects with *Bacterium thuringiensis*. Intern. Corn Borer Invest., Sci. Repts., 2, 60-61. (Cit. Steinhaus.) — 12. Nieschulz O. und Kranefeld F. C., 1929: Experimentelle Untersuchungen über die Übertragung der Büffelseuche durch Insekten. Zentr. Bakt. Parasitenk. Infekt., I. Orig., 113, 403-417. — 13. Nižňanský

F., 1952: Príspevok k epizootologickej a diagnostickej problematike brucelózy zvierat v CSR. Veterinárství 1952, č. 15-16, str. 164-168. — 14. Philip C. B., Davis G. E. and Parker R. R., 1932: Experimental transmission of tularaemia by mosquitoes. Pub. Health Repts., 47, 2077-2088. (Cit. Steinhaus.) — 15. Riley W. A. and Johannsen O. A., 1938: Medical entomology. 2nd ed. Mc Graw-Hill Book Co., New York, 483 p. (Cit. Steinhaus.) — 16. Rosický B. a Weiser J., 1952: Skůdci lidského zdraví II. Medicinální entomologie. — 17. Sedlák J., 1955: Enterobacteriaceae jako původci střevních nákaz. — 18. Steinhaus E. A., 1950: Mikrobiologija nasekomych. Moskva, Orig. Insect. Mikrobiology, 1947.

Комары как переносчики бруцеллезных зародышей

При исследовании бруцеллезной инфекции у комаров мы пришли к следующим заключениям:

1. Комаров можно легко заставить принимать в крови взвешенных бруцеллезных зародышей, вследствие чего при всасывании может доходить к их контаминации (*Culex pipiens* L.).

2. После искусственной инфекции у комаров до истечения 36 часов были обнаружены на поверхности тела живые бруцеллы, в пищеварительном аппарате до истечения 72 часов и в кале — до 48 часов.

3. При осмотре 400 комаров, пойманных в бруцеллезом загрязненном хлеву во время покоя (т. е. без случаев инфекционного аборта), нам не удалось обнаружить живых бруцелл ни путем культивации, ни путем биологического опыта на морских свинках.

Но все-таки необходимо считать комаров возможными переносчиками бруцеллезных зародышей, особенно в течение инфекционного аборта.

Die Mücken als Brucelloseinfektionsträger

Bei Verfolgung der Mückenbrucelloseinfektion (*Culex pipiens* L.) kamen wir zu folgenden Erkenntnissen:

1. Die Mücken können leicht zur Annahme der im Blut suspendierten Brucellosekeime gezwungen werden, sodaß beim Saugen zu ihren Kontamination kommen kann.

2. Nach der künstlichen Infizierung wurden binnen 36 Stunden an der Mückenkörperfläche lebendige Brucellen erwiesen, dieselben im Verdauungsapparat binnen 72 Stunden und im Exkrement binnen 48 Stunden.

3. Mittels Untersuchung von 400 Mücken, die man bei ruhigem Zustande im durch Brucellose infizierten Stalle gefangen hat (d. h. ohne Vorfälle von Abortinfektion) gelang es uns lebendige Brucellen weder durch Kultivierung, noch mittels biologischen Versuch an Meerschweinchen zu erweisen.

Man muß jedoch die Mücken als mögliche Übertragungsindividuen von Brucellosekeimen betrachten, besonders im Laufe der Abortinfektion.

La transmissibilité des Brucellae par moustiques

En poursuivant les infections brucelliques chez les moustiques (*Culex pipiens* L.), nous avons arrivés aux notions suivantes:

1. On peut aisément faire les moustiques accepter les germes brucelliques suspendus dans le sang, de sorte que pendant la succion peut occasionner leur contamination.

2. Après l'infection ont été démontrées chez les moustiques les Brucellae vivantes: en surface du corps jusqu'à 36 heures et dans l'appareil digestif jusqu'à 72 heures et dans faeces jusqu'à 48 heures.

3. Après avoir examiné 400 moustiques, qui ont été saisis dans une étable empestée des Brucellae pendant le temps de calme (c'est-à-dire sans aucun cas d'avortement contagieux) on n'a pas réussi de montrer les Brucellae vivantes ni en voie de cultivation, ni par expériment biologique avec les cobayes.

En dépit de tout cela on doit compter avec les moustiques comme avec les vecteurs potentielles de germes brucelliques, surtout au cours d'un avortement contagieux.

Príspevek k určování krevních skupin u skotu

Přirozené isoaglutinace

К вопросу существования кровяных групп у крупного рогатого скота
и их установления

Beitrag zur Frage der Existenz von Blutgruppen bei Rindvieh und deren
Feststellung

O. BAŠTÁŘ, Benešov u Prahy, M. BAŠTÁŘ, Státní vědecký veterinární ústav v Praze,
přednosta Dr. A. Klauz

Došlo dne 28. V. 1957

Úvod

Určování krevních skupin u skotu má ve veterinární medicíně význam spíše theoretický; transfusní terapie neboli krevní převod se u skotu zřídka kdy provádí. V literatuře však nacházíme záznamy o použití transfuse při různých onemocněních jako ku příkladu anaplasmoze, déle trvajícím krvácení, poporodní parese, při některých otravách jedy a plyny, při metritidách, zadržení lůžka, kokcidioze, osteomalacii, některých příčinách neplodnosti, u novorozenců tetat (mateřská krev), dále při některých anemiích, spáleninách, cholemmi a uremii a u některých autointoxikací. Transfuse krve byla rovněž použita při piroplasmose skotu, flegmonách, hnisavých zánětech šlach a kloubů. Naproti tomu je transfuse krevní podle literárních údajů (K a b e l í k) kontraindikována při organických srdečních vadách chlopní a myokardu, při stase v malém oběhu krevním (oedema plic), při oligurii a anurii (s některými výjimkami), při trombose ven a arterií a trombopflebitidě a dále i při leukemii, myelose, při některých formách TBC a kachexii a někdy i při sepsi, endokarditidě, hnisavé parametritidě a nefritidě.

Dále je možno využít znalostí krevních skupin skotu při sledování příbuzenských linií, vyrovnanosti chovu, event. jich použít k vyloučení sporného otce či matky. Někteří autoři (T o l l e, U r b a s c h e k, F e r g u s o n a spoluprac.) se zabývají praktickým použitím krevních skupin při sledování ras skotu. Konečně zjištění krevních skupin má význam i při výzkumu transplantace tkání.

Zvířecí krvinky jsou stejně jako u člověka nositeli aglutinogenu (ku příkladu A a B) a v krevním seru jsou naproti tomu přítomny aglutininy (anti A: α , anti B: β). Tyto substance jsou však u zvířat v nepatrnější míře nebo těžěji prokazatelné nebo dosud dobře neprokázané (myš, krysa, žába — W i r t h).

Při určování krevních skupin vycházíme od tak zv. isoaglutinací, t. j. reakcí ser a krvinek různých jedinců téhož druhu. Podle vzájemného působení ser a krvinek rozdělujeme pak krev jedinců do skupin, ku příkladu u člověka do 4 hlavních skupin: do 0 skupiny, kde krvinky této skupiny nejsou aglutinovány žádným serem — nemají aglutinogeny, ale aglutininy β a α v seru, do A skupiny s aglutinogenem A a aglutininem β , do skupiny B s aglutinogenem B v krvinekách a v seru s aglutininem α a konečně do čtvrté skupiny AB s aglutinogeny A i B, ale bez aglutininů v seru. (Uvedené schema je ovšem jen přehledem hlavních vlastností krve u člověka, existuje celá řada dalších aglutinogenů a aglutininů a faktorů vedlejších jako M, N a pod.) Pro účely transfuse má především význam ten fakt, že červené krvinky dárce nemají být aglutinovány serem příjemce. Stačí tedy v naléhavých případech — jako tomu bude i ve veterinární medicíně — porovnat jen krvinky dárce se serem příjemce.

Musíme ovšem dále podotknout, že u zvířat se většinou nedá provést podobné zřetelné rozdělení, vedle hlavních skupin se vyskytují vedlejší skupiny a často se objeví výjimky. V krvi některých zvířat byly nalezeny do určité míry specifické protilátky vůči lidské krvi, kterých by mohlo být použito k rozlišení skupin jako u lidí (kůň).

V podstatě závisí isoaglutinace jako téměř všechny seroreakce na vhodné změně elektrického náboje v koloidní soustavě tak, aby došlo k vypadnutí pozorovaných a sledovaných elementů ze suspence (K a b e l í k).

K vytvoření výrazných isosubstancí dochází u zvířat s přibýváním věku (u mladých kusů od 3. a 5. měsíce stáří). Isohemaglutinace je slabě vyvinuta zvláště u krávy, ovce a kozy, ačkoliv u těchto zvířat může dojít rovněž při event. transfusi k inkompatibilitě (neslučitelnosti) částic krve (F i s h b e i n). Jde asi o nevhodnou techniku, použitou při zjišťování krevních skupin (G e r m a n, T o l l e a druzí a jiní). Někteří autoři vzhledem k nezdaru s průkazem isoaglutininů prohlašovali, že krevní skupiny nejsou u skotu vůbec (G o d e n b e r g, B y s t r o v, P a u l i, K e i s e r, K u h n s), jiným se však podařil průkaz isosubstancí (O t t e n b e r g, F r i e d m a n).

Někteří dokazovali existenci 2 skupin (K a r s c h n e r) a pak 3 skupin Ao, O α , Oo (S c h e r m e r, K a y s e r, O t t e n b e r g, J e t t m a r). Zvýšení titru aglutinací a zesílení isoaglutinací dosáhl R a n g sražením a odstředováním ser. (Obdobně si počínají někteří autoři jako na příklad T o l l e.)

Avšak brzo se ukázalo, že tento systém 3 skupin je nedostačující, neboť se vyskytly aglutinace, které nemohly být do uvedeného schematu zařazeny. Proto po dalším vyšetřování, zvláště s vysycenými sery byla krev skotu rozdělena do čtyř skupin se schematem:

1. O $\alpha\beta$ nebo také O α O β a Oo.

2. A β vedle toho též ještě Ao.

3. B α vedle toho i Bo.

4. ABo (W i n t e r, R a n g, S c h e r m e r, H o f f e r b e r, K ä m p f e r, Č e r e d k o v, Č u b a r), při čemž možné odchylky možno považovat za podskupiny hlavních skupin. Tyto údaje potvrzuje i K r o n a c h e r, který však ve svých pracích uvádí i 6 skupin. Ale ani toto rozdělení nebylo úplné, poněvadž se často objevila krev, která nemohla být do uvedeného schematu zařazena (H o f f e r b e r). Rozdělení krevních skupin skotu není tedy úplně a podrobně vyřešeno a je předmětem dalšího vyšetřování.

Rozhodně je však nutno dbát toho, že krevní skupiny u skotu jsou, o čemž svědčí výskyt hemolytického šoku při krevním převodu (Č u b a r, M ü l l e r).

Podle rozdělení krve skotu do 4 skupin připadá procentuálně do jednotlivých skupin (Č e r e d k o v): 4,46 % skupina 0α a $B\alpha$, do skupiny $A\alpha$ 34,8 %, do skupiny 0α 14,28 %, do skupiny AB 45,54 %, při čemž 0,89 % se nedalo vůbec zařadit. K r o n a c h e r se svým rozdělením do 6 variant s aglutininem alfa a beta a s aglutinogenem A a B shledal u krav skupinu B u 5,4 % a skupinu AB u 2,7 %. Jako zajímavost možno uvést, že Č u b a r pracoval pokusně s rozlišením krve skotu pomocí erythrocytů lidských a koňských.

V novější době se zabývalo otázkou krevních skupin u skotu více autorů (Schermer, Otte, Little). K průkazu isohemaglutinace předpokládá Little nutnou přítomnost určitého faktoru komplementofilní povahy vedle přirozených isoaglutininů a aglutinogenů. I po přidání čerstvých ser různých druhů nemohli však Schermer, Otte i Little dosáhnout reaktivace sera. K úspěšnému provedení reakce se dospělo teprve zmražením, resp. lyofilisací ser (Tolle, Urbaschek). Autoři soudí, že u skotu je 7 normálních isohemaglutininů s odpovídajícími receptory na krvinkách (anti A, anti B, anti C, anti D, anti E, anti F, anti G).

Američtí autoři z university Madison ve Wisconsinu (Irwin, Ferguson, Stormont, Cumley, Todd, Whitte a j.), získali specifická sera imunisováním skotu nebo králíků a těmito sery za současného použití králíčího komplementu našli až 42 faktorů, které řadí do 11 různých genetických systémů.

Je zde nesmírně mnoho různých kombinací. Faktory označují písmeny velké abecedy a event. i dalším indexem (čárkou a pod.). Autoři přihlížejí ve svých pracích zvýšenou měrou k praktickým stránkám otázky (genetika faktorů, paternita i transfuse). Zdá se tedy, že v cizině je otázka krevních skupin vyřešena v tom smyslu, že krevní skupiny existují a jsou těžko zjistitelné.

Vlastní práce

Jako první úkol jsme si vytkli vyhledat rychlou a jednoduchou metodu zpracování krve pro vlastní reakci a teprve druhým našim úkolem bylo zabývat se otázkou rozlišení krevních skupin.

Při hledání vhodné metody začali jsme nejdříve s mechanickou defibrinací užívané krve. Krev odebranou do zkumavky (většího obsahu, silnostěnnou s perlami) po protřepání 15 minut jsme uložili do chladu (kolem $4-10^{\circ}$) a zpracovali druhého dne (přefiltrováním přes gázu a 3krát promytím fysiologickým roztokem). K získání sera jsme nechali odebranou krev ve zkumavkách vysrazit, pak odtrhli krevní koagulum od stěny, ponechali $\frac{1}{2}-1\frac{1}{2}$ hod. v teplé místnosti (kolem $20^{\circ}C$) a uložili do dalšího dne v chladu za teploty kolem $4^{\circ}-10^{\circ}C$. Takto dojde nejlépe k vysycení autoaglutininů. Vlastní zkouška isoaglutinační byla provedena metodou skličkovou (Beth-Vincent). Dvě kapky zkoumaného sera byly smíšeny na podlož. skličku s 1 kapkou 5krát ředěné krve fysiologickým roztokem nebo jednou kapkou suspense čistých erythrocytů v poměru 1 : 10 ve fysiologickém roztoku. Současně jsme též používali metodu zkumavkovou podle D u n g e r n - H i r s c h f e l d a : 0,5–1 ml směsi v ředění 1 : 9 2% roztoku citranu sodného a fysiologického roztoku (0,85 % $NaCl$) s krví v udaném poměru krvinek 1 : 10 a 1–2 kapkami sera. Reakci skličkovou jsme posuzovali do 5 minut při mírném pohybování skličkem, zkumavkou po lehkém protřepání po několika hodinách (4–12 hod.) při ponechání zkumavek v pokojové teplotě (kolem $20^{\circ}C$).

Vyšetřena krev a serum u ks celkem	zpracováno ser celkem	zpracováno krve celkem	zkoušky skličkové	zkoušky zkumavkové
4 volů 136 býků a býčeků 102 krav 58 jalovic 2 telat	152 obyčej. způsobem 25 zmrazením	53 mech. defibrinace 19 chemická antikoagulan- tia 105 podle Schiffa (15 z toho též jinými způsoby) (50 krví skličkovou metodou za přidání roztoku citranu sod- ného)	5 pozitivních 66 dubiosních (nevýrazných) 549 negativních	57 pozitivních 232 dubiosních 531 negativních
302 zvířat	177 vzorků ser	177 vzorků krve	620 zkoušek skličkových	820 zkoušek zkumavkových

Metodu vlašné komůrky (Lattés), poněvadž vyžaduje použití mikroskopu a sklíček s výbrusem jsme pro složitější techniku nepoužili.

K přípravě krve pro reakci jsme zkoušeli použití některých chemických protisrážkových prostředků, a to citranu sodného v suchém stavu a později v roztoku 3,2 %, 4 % a i isotonického 3,8 procenta, dále směsi štavelanu (Wintrobe), do sucha odpařovaných ve zkumavce.

Docházelo však k částečnému sražení odebrané krve stejně jako u mechanicky defibrované, když nebyla hned odfiltrována přes gázový filtr.

Po přezkoušení všech těchto způsobů jsme si proto zvolili jako daleko jednodušší a výhodnější i sovětskými autory doporučené (Rubinskín) zachycení krve ve zředovací tekutině podle Schiffa: 0,9 dílu chloridu sodného, 0,5 dílu citranu sodného ve 100 dílech destil. vody a v poměru 2 a $\frac{1}{2}$ dílu zachycené krve (4 až 8 kapek) na 100 dílů (10 ml) uvedené tekutiny.

Reakci zkumavkovou jsme pak poznamenali tak, že do zkumavky jsme dávali 2 kapky seta a 4 kapky protřeptané suspence krve v uvedené zředovací tekutině; po protřeptání a ponechání při pokojové teplotě po dobu několika hodin (až 12) jsme pak prováděli posuzování. Reakce zkumavkové jsme pak posuzovali vždy při mírném protřeptání (15–20×).

Zkoušeli jsme s dobrým výsledkem i zkrácení této reakce odstředováním. Po protřeptání se zkumavky ponechají jednu hodinu stát při pokojové teplotě a pak se odstředují 2 min. při 1500–2000 obrátkách za minutu (Wirth). A bratřím v soudí, že centrifugováním dojde k těsnějšímu sblížení

Sera					Stupina
1	2	3	4	5	
1 K	X	+	+	-	II, III
2 K	-	X	+	-	II, III
3 B	+	-	X	-	I,
4 B	+	+	+	X	II, III
5 K	-	-	+	X	II, III

6	7	8	9	10	Stupina
6 K	7 K	8 K	9 K	10 B	
6 K	X	+	+	+	IV,
7 K	-	X	+	-	II, III
8 K	-	+	X	+	II, III
9 K	-	-	+	X	II, III
10 B	-	-	+	X	II, III

11	12	13	14	15	Stupina
11 K	12 K	13 K	14 K	15 K	
11 K	X	-	-	-	I,
12 K	+	-	0	+	II, III
13 K	-	-	X	-	I,
14 K	-	-	-	X	I,
15 K	-	+	-	+	nezař.

16	17	18	19	20	Stupina
16 K	17 K	18 B	19 B	20 K	
16 K	X	+	+	+	IV,
17 K	-	X	-	0	II, III
18 B	+	-	X	-	nezař.
19 B	-	+	-	+	II, III
20 K	-	+	-	+	II, III

21	22	23	24	25	Stupina
21 J	22 J	23 J	24 J	25 J	
21 J	X	-	+	-	II, III
22 J	-	X	+	-	II, III
23 J	+	-	X	-	II, III
24 J	-	-	-	X	nezař.
25 J	-	-	-	+	nezař.

26	27	28	29	30	Stupina
26 J	27 J	28 J	29 J	30 J	
26 J	X	+	+	-	II, III
27 J	+	X	+	+	II, III
28 J	+	-	X	+	II, III
29 J	+	0	+	X	II, III
30 J	-	0	+	-	II, III

II.

Sera					Stupina
31	32	33	34	35	
31 J	X	0	+	+	IV,
32 B	-	X	-	+	II, III
33 B	-	-	X	-	II, III
34 B	-	+	+	X	nezař.
35 K	+	+	+	-	II, III

36	37	38	39	40	Stupina
36 B	37 B	38 K	39 B	40 B	
36 B	X	-	+	+	II, III
37 B	-	X	+	+	II, III
38 K	0	+	X	-	II, III
39 B	+	+	-	X	II, III
40 B	-	-	+	X	II, III

41	42	43	44	45	Stupina
41 B	42 B	43 B	44 B	45 B	
41 B	X	-	+	0	II, III
42 B	-	X	+	+	II, III
43 B	-	-	X	-	I,
44 B	+	+	+	X	II, III
45 B	+	0	+	+	IV,

46	47	48	49	50	Stupina
46 J	47 B	48 B	49 J	50 J	
46 J	X	+	-	+	II, III
47 B	+	X	-	0	II, III
48 B	-	-	X	-	nezař.
49 J	+	-	-	X	II, III
50 J	-	+	-	+	II, III

Vysvětlivky:

Dubiosní (±) výsledky uvedeny jako pozitivní

+ = pozitivní aglutinace

- = negativní aglutinace

0 = výjimka ze schema

K = kráva

J = jalovice

B = býček

Schema:

I. Oα, Oβ, Oo 5 krví

II. Aβ, Ao 35 krví

III. Bα, Bo 35 krví

IV. AB 4 krve

Nezařaditelné 6 krví

Výjimky ze schema 16 kříž.

agl.

* Peněvadž bylo málo křížových aglutinací v jednom seskupení, byly krve a sera přezkoušeny před konečným zařazením namátkově s jinými krvemi a sery z jiných seskupení.

koloidních částic a k jejich rychlejšímu vypadnutí ze soustavy koloidní emulze. Takto dochází k úplné absorpci a vypadnutí celých komplexů, což je zvláště důležité při poměrně složitě isoaglutinační soustavě, proto aby všechny aglutiny se vyvázaly na krvinky.

Zkoušku sklíčkovou jsme pozměňovali tím způsobem, že jsme přidávali k zředěné krvi (mechanicky defibrinované) i isotonický roztok citranu sodného; některé reakce pak byly posuzovány pod trichinomikroskopem. Při použití tekutiny podle Schiffa jsme ke sklíčkové zkoušce použili jedné kapky sera a 1–2 kapky krve ve zředovací tekutině.

Odčítání aglutinátů jsme prováděli podobně jako při zjišťování isosubstancí vůbec, podle tohoto měřítka:

Negativní reakce: — homogenní směs krvinek ve zkumavce,
pozitivní reakce: + hrubší shluky o velikosti prosa až čočky,
dubiosní reakce: ± jemné aglutináty na hranici viditelnosti až pískovité shluky.

(V tab. II uvádíme dubiosní výsledky jako pozitivní.)

Dále jsme též pracovali se sery konservovanými 5% karbolisovaným fyziologickým roztokem (v poměru 1 : 9 dílům sera). Jinak jsme používali sera zpracovaného způsobem již popsaným převážně druhého dne po odběru. Vzhledem k udávanému zesílení isosubstancí v seru zmražením a následným odstředováním (globulinové frakce) byly provedeny pokusy i v tomto směru. Zmražení a opětovně rozmražená sera byla odstředěna a po odstředění oddělena světlejší vrstva vrchní od hustší a tmavší části spodní. Spodní část je bohatší na isosubstance a používá se k vlastní reakci. Celý postup se 3× opakoval. Titrace ser, úplné vysycení ser a sledování vlivu různé teploty prostředí při isoaglutinaci nebylo v našich pokusech provedeno.

Bakteriogenní panaglutinaci (Thompsonovu, resp. Friedenreich-Hübner-Thompsonovu fenomenu) jsme se snažili zabránit tím, že jsme používali ser a krev v zředovacích roztocích jen do stáří 2 dnů. Upotřebené sklo, jako kapátka, zkumavky, perly, zátky a pod. jsme před použitím sterilisovali varem 20 min. ve vroucí vodě v gáze a dosušili zabalené v gáze v elektr. sušárně, ve které se sterilisovaly pipety a j. sklo pouze suchým teplem. Zkumavky, kapátka a pipety jsme před bezprostředním použitím propláchli sterilním fyziologickým roztokem, aby bylo dosaženo isotonického prostředí a odstraněny povlaky na skle, které se někdy tvořily po sterilisaci varem a následujícím sušení.

Chladové aglutinaci jsme se snažili zabránit tím, že všechny potřebné ingredience (krev ředěná v Schiff. tekutině, serum a fyziol. roztok) byly ponechány před zpracováním několik hodin při pokojové teplotě (nad 20°C). Při pokojové teplotě byly také všechny vzorky zpracovány.

Poněvadž vzorky krve nebyly zpracovány hned, ale ponechány do druhého dne k oddělení sera od krevního koagula, docházelo již asi k přirozené adsorpci autoaglutininů na vlastní krvinky.

Pseudoaglutinaci mohlo být zčásti zabráněno tím, že se používala krev (krvinky ředěné fyziol. roztokem při nejmenším poměru 1 : 5, dále, že nebyly prováděny pokusy s krví a serem čerstvým a také proto, že byl dodržován poměr ředěné krve k seru 1 : 2. Jest také samozřejmé, že všechny potřebné roztoky a přípravky byly připraveny předem v laboratoři za sterilních podmínek. Nezkoušeli jsme některých speciálních způsobů zábrany nespecifických aglutinací, jako je použití lecitinu, žloutkové emulze a pod. (Germa n).

Vzorky byly odebírány od porážených jatečných kusů z otevřených velkých žil — hrdelnic do kapátek a zkumavek, většinou od 5 (resp. 10) kusů pro získání sera a od 5 jiných jatečných zvířat pro získání krvinek. U další části pokusů bylo použito krvinek i sera z těchto kusů. Z technických důvodů nemohli jsme odebrat větší množství vzorků najednou a provádět více křížových aglutinací. U každého kusu, kterému byla odebírána krev, jsme zaznamenávali pohlaví, váhu, jateční jakost, event. onemocnění a sledovali jejich případný vliv na průběh reakce. Pokud se týče plemene skotu, jednalo se téměř výlučně u všech kusů o červenostrakatý skot čs. původu (Bern — Haná).

Bylo provedeno celkem 1440 křížových aglutinací od 302 ks skotu. Z tohoto počtu připadá na zkoušky skličkové 620 reakcí, na zkumavkové pak 820 reakcí. Ke křížovým isoaglutinacím bylo použito celkem 177 vzorků ser a celkem 177 vzorků krve (různým způsobem zpracované) od 4 ks volů, 136 býků a bčků, 102 ks krav, 58 jalovic a 2 ks telat. Třepáním bylo mechanicky defibrováno 53 vzorků krve. 19 vzorků krve bylo konservováno citranem sodným, (viz předchozí sdělení). U ostatních 105 vzorků krve bylo použito převážně zředovací tekutiny podle Schiffa (z toho u 15 vzorků bylo současně použito i jiných způsobů přípravy krve, jako citranu v substanci, šťavelanu a citranu v roztoku).

Průběh 300 reakcí byl urychlen odstředováním, pomalá aglutinace byla provedena u 175 reakcí.

K skličkové reakci (metoda 3 kapek) jsme přidávali roztok citranu v 50 případech. Dále bylo použito celkem 25 ser zmrazených a odstředěných za účelem zvýšení podílu isosubstancí v globulinové frakci (a současně konservovaných karbolisovaným fyziologickým rozborem soli). U 50 ks skotu (19 býků, 17 krav, 14 jalovic) provedli jsme opakovaně (za účelem kontroly) 200 reakcí křížových za použití sera a krve z těchto kusů zkumavkovou metodou se zachycením krve podle Schiffa. (Přehledně uvedeno v tab. I.)

Jestliže jsme si jako první úkol zvolili vyhledat vhodnou metodu zpracování krve pro vlastní reakci, potom můžeme naše výsledky zhodnotit takto:

Nejvhodnější se nám osvědčilo zachycení krve ve zředovací tekutině podle Schiffa. Aglutinaci pak provádíme v aglutinačních zkumavkách syst. 2 kapky sera a 4 kapky suspense krve. Reakci urychlujeme odstředěním, nebo odečítáme po 12 hodinách při pokojové teplotě.

Krev se při úschově v chladu nesráží. Nezjišťovali jsme ani po 2 dnech i po delší době hemolysu výrazného stupně, jen něco tmavší zbarvení krve. Serum nutno zpracovat po 1 dnu stání (a lépe odstředěné). Popisovaná technika může být snadno použita u krví zasílaných do laboratoří. Metoda skličková vzhledem k slabší výraznosti reakcí u skotu nám vůbec nedala vhodné výsledky. Možné zpenízkovatění ji mimoto pro nezaškoleného pozorovatele značně znesnadňuje. Přesné posouzení reakce by vyžadovalo pravděpodobně použití metodiky podle Lattèsa s vlhkou komůrkou a mikroskopem.

Mechanicky defibrovaná krev se nám pro účely jemné isoaglutinace neosvědčila. Docházelo často k hemolyse, srážení krve a chumáčkovitosti. Tato metoda vyžaduje důkladného promývání krvinek, dalšího odměřování potřebné suspence a hodí se proto spíše pro imunoreakce se zvláště vyrobenými sery nebo pro práci výlučně laboratorní. Je možné, že vypadnutím určité složky ze suspence se ovlivní i výraznost imunních isosubstancí a reakcí, jak to dokazují někteří američtí autoři. Koncentrované čisté krvinky mají zároveň menší údržnost. Použití běžné techniky aglutinační s citrátem v roztoku i v substanci nevedlo k lepším výsledkům. U ser zpracovaných zmražením rovněž nebylo po-

zorováno zesílení reakcí. Nebyl zjištěn větší útlum reakcí při práci se sery konservovanými (karbolisovanými).

Vzhledem k variabilitě reakcí i možnému omylu je lépe zkoušku opakovat 2–3×; sporné reakce je možno doplnit a ověřit biologickou zkouškou.

Při zrychlování reakce odstředěním je nutno dodržovat počet obrátek a dobu odstředování; jinak dochází k nespecifickým aglutinacím.

K otázce existence isoaglutinací krve skotu můžeme říci, že jsme je zjistili jen celkem v 289 (20,1 %) případech ze 1440 aglutinací křížových, z nichž podle kvality můžeme považovat za výrazné pozitivní s jasným aglutinátem + (57, za méně výrazné) dubiosní — s náznaky aglut. krviněk 232. Z toho sklíčkovou metodou bylo možno zjistit jen 5 výrazně pozitivních a 66 dubiosních a metodou aglutinačních zkumavek 52 pozitivních a 166 dubiosních. Z tohoto počtu zkumavkových zkoušek bylo stanoveno 31 pozitivních a 131 dubiosních výsledků ze 105 vzorků celkem, při použití metody podle Schiffa. Poměrně malý počet kladných výsledků možno vysvětlit jednak nevhodně použitými způsoby reakcí, jednak tím, že za dané situace nemohly být isoglutinace v plné míře odkryty. Tuto okolnost mohou osvětlit některé novější práce, ukazující složitou strukturu isosubstancí a jejich obtížné odhalování u skotu (Tolle a spol., Irvin, Ferguson atd.).

Je nutno však na druhé straně uvážit, do jaké míry může být směrodatné určení faktorů za zcela nepřirozených a umělých podmínek, které se nám nikdy v haemotransfusi nevyskytují. Rozhodně však musíme počítat s faktem, že s'arší rozdělování krevních skupin podle schematu (4 skupiny) s poměrně jednoduchou charakteristikou neodpovídá skutečnosti.

Pokusili jsme se na základě provedených reakcí zařadit zkusmo, jak bylo naším druhým úkolem, 50 vzorků krví a ser téhož původu do čtyř skupin — vlastně jen do 3 oddílů:

I. O α , O β , O o — —

II. A β , A o — —

III. B α , B o — —

IV. AB — — — /

Druhou a třetí skupinu jsme mohli uvést pouze společně. Použitá technika nám nedovolovala tyto skupiny od sebe zřetelně oddělit. Při určování skupinové příslušnosti jsme vycházeli ze schematu:

Skupina I. O: — nemá aglutinogenů, není aglutinovatelná, ale aglutinuje ostatní krvinky, II, III, IV.

Skupina II. A: — obě skupiny mohou mít aglutinovatelné krvinky, mohou také pomoci ser aglutinovat, krvinky opačné skupiny a IV.

Skupina IV. AB: — její krvinky jsou aglutinovatelné, její sera nemohou aglutinovat krvinky jiných skupin.

Je jisté, že jde o poměrně zjednodušený systém posuzování, zvláště když uvážíme možnost absence aglutininů u skupin I., II., III.

Nutno konstatovat, že se nám nepodařilo přesně zařadit krve do těchto skupin (I.—IV.). Vzhledem k slabé výraznosti isosubstancí je možné, že se ani opakovaně neprojevily vinou použité techniky. Podle tohoto pokusného rozlišení dalo by se do I. skupiny zařadit asi 5 krví a ser (10 %), do druhé a třetí skupiny 35 (70 %) a do IV. skupiny 4 (8 %). Nezařaditelných krví bylo pak 6 (12 %). I toto pokusné zařazení má však výjimky (16 t. j. 32 %). (Přehledně uvedeno v tab. 2. Pro sestavení skupin pomocí kříž. aglutinací by bylo třeba použít nejméně 10 krví a ser najednou.)

Dále nutno podotknout, že nebyly zjištěny v podstatě rozdíly mezi polhaviím (jedině u telat bude nutno provést další průzkum), vahou a jateční kondicí zvířete, pokud se týče výraznosti reakce. Určité odchylky jeví pocho-pitelně krev i serum klinicky nemocných kusů. Případné změny v průběhu reakce jsme však nemohli posoudit, protože stejnorodého materiálu jsme měli velmi málo.

Revidujeme-li dosažené výsledky spolu s přehledem dosavadních poznatků v literatuře, zjišťujeme především jasně, že u skotu nutno počítat s výskytem isoaglutinací a tedy s možnými následky neslučitelnosti krvi a ser při trans-fusi. Proto bude nutno před každou transfusí provést aglutinační zkoušku nej-lépe podle doporučované metody podle Schiffa ve dvojím až trojím kontrolním provedení s pomalou aglutinací nebo urychleně s odstředěním (krvinky dárce se serem příjemce). Nelze však doporučit, aby se před transfusí upouštělo od biologické zkoušky malým množstvím převáděné krve, zvláště když otázka všech faktorů, které zde mohou hrát významnou roli, není dosud rozřešena.

I když jsme neměli sami výraznějších výsledků s vymražováním ser a od-středováním, nelze rovněž tento způsob podceňovat, neboť jeho použití podle zařízení laboratoře nám dává alespoň jistotu, že jsme vyčerpali všechny mož-nosti získati co nejvíce isosubstancí z daného sera. Některé výsledky zahranič-ních autorů by rovněž podobný postup doporučovaly. V otázce krevních sku-pin bude nutno vyjasnit, zda lze vystačit s poměrně jednoduchým schematem rozdělení, které bylo tradováno všude ve starší evropské literatuře (až na malé výjimky z novější doby), či zda je správnější a také pravděpodobnější skuteč-nost, že krev skotu vlastní více určitých přirozených faktorů a teprve kombinací těchto faktorů je možné rozlišit skupiny, jež mají význam nejen pro transfusi, ale i pro sledování linií, vlastností potomstva i otázky paternity v plemenném stádě (Ferguson, Dujarric a j.). Dokonalé prozkoumání těchto fak-torů si vyžaduje ovšem použití a vyrobení imunních ser a jejich vysycení. A my, i když jsme nemohli z technických příčin sledovat podobnou náročnou cestu, se musíme na základě svých skrovných poznatků o přirozených isosub-stancích přiklonit k názoru o větší početnosti faktorů v krvi skotu. Doufáme také, že naše výzkumná pracoviště budou se moci v brzké době připojit k ře-šení tohoto problému s větším úspěchem a většími technickými možnostmi, než jsme měli my, kteří jsme pracovali jednoduchou technikou mimo zařízenou laboratoř.

Souhrn

Byla provedena řada pokusů a prověřeny některé možné metody přípravy krve a sera k isoaglutinaci; osvědčila se nejvíce aglutinační zkouška se zachy-cením krve podle Schiffa. Provedenými křížovými aglutinacemi byla potvrzena existence isosubstancí v krvi skotu. Podle provedených pokusů nelze považovat dosavadní rozdělení krve skotu na 4 krevní skupiny za konečné.

Literatura

(uvedeny jen významnější spisy)

1. V. A. German : Perelivanie krovi u lošadej i drugih domašnich životnych. Moskva, Leningrad, 1948. — 8. L. C. Ferguson : The blood groups of cattle. J. A. V. M. A., 1947, 111.849, 466-469. — 3. O. Hofferber : Über Blutgruppen bei Tieren -

Monatshefte f. Veterinärmedizin, 1952, 3, 46-50. — 4. R. Dujarrie de la Rivière a A. Eyquem: Les groupes sanguins chez les animaux (Individualités sanguine et tissulaire) Paris, 1953. — 5. D. Wirth: Grundlagen einer Klinischer Hämatologie der Haustiere, Wien a Innsbruck, 1950. — 6. Fr. Jurný: Transfúze krve u domácích zvířat. Casopis čs. vet., 1947, 11/23, 604-611. — 7. J. Kabelík: Nauka o serových protilátkách (serologie), Praha, 1939. — 8. M. Netoušek: Nauka o krvi, Praha 1951. — 9. M. Hrubíško: Transfúzia krvi, 1955, Bratislava. — 10. A. Tolle: Der Stand der Blutgruppenforschung beim Rind. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschrift, 1956, 69/20: 406. — 11. A. Tolle a B. Urbaschek: Nachweis u. Häufigkeit d. Blutgruppenfaktoren bei Rindern verschiedener Rassen. Deutsch. Tierärztl. Wochenschrift, 63, 1956, 5/6, 45-59. — 12. A. Tolle a B. Urbaschek: Die Vererbung der mit Normalantisera nachweisbaren Blutgruppenfaktoren des Rindes. Deutsch. Tierärztl. Wochenschrift 63, 1956, 7/8, 74-76.

К вопросу существования кровяных групп у крупного рогатого скота и их установления

Был проведен ряд опытов и проверены некоторые методы подготовки крови и сыворотки к изоагглютинации. Лучшие результаты дало агглютинационное испытание с разбором крови согласно Шиффу.

Проведенными перекрестными агглютинациями было подтверждено существование изосубстанций в крови крупного рогатого скота. Согласно проведенным опытам, установленное до сих пор разделение крови крупного рогатого скота на 4 кровяные группы нельзя считать окончательным.

Beitrag zur Frage der Existenz von Blutgruppen bei Rindvieh und deren Feststellung

Es wurde eine Reihe von Versuchen durchgeführt und einige mögliche Methoden der Vorbereitung des Blutes und des Serums zur Isoagglutination überprüft; am meisten hat sich die Agglutinationsprobe mit dem Auffangen des Blutes nach Schiff bewährt.

Durch die kreuzweise durchgeführten Agglutinationen wurde die Existenz von Isosubstanzen im Blute des Rindviehs bestätigt. Nach den durchgeführten Versuchen kann man die Einteilung des Blutes von Rindvieh in 4 Blutgruppen nicht als endgültig betrachten.

Bakteriofág v profylaxi a terapii salmonelos

Бактериофаг в профилактике и терапии сальмонеллезов

The Bacteriophage in Prophylactics and Therapy of Salmonellosis

Der Bakteriophag in der Prophylaxe und Therapie der Salmonellosen

MVDr J. KRÁL, MVDr J. TRUNKÁT, za techn. spolupráce A. HOŠKOVÉ
a V. MÍČKOVÉ

Státní vědecký veterinární ústav v Praze a Opavě, přednosta MVDr A. Klauz

Došlo dne 12. V. 1957

Ú v o d

Dosavadní boj proti salmonelose u zvířat se pro malou účinnost chemoterapeutik, specifických vakcín a antibiotik omezuje na eliminaci nosičů (vylučovatelů) a na zlepšování hygienických podmínek odchovu. Fagoprofylaxe a fagoterapie jako další možné metody tlumení nebyly dosud v medicíně jednoznačně zhodnoceny, ačkoliv u salmonelosity jako typické střevní nákazy, by byly předpoklady pro účinnost bakteriofága, který se terapeuticky osvědčil při některých jiných střevních infekcích. Od objevu bakteriofága byly provedeny velmi četné pokusy o využití jeho destrukčních schopností na mikroby v prevenci a terapii bakteriálních onemocnění. Již sám d'Hérelle (3) po uspokojujících výsledcích při dysenterii propagoval fagoterapii infekčních onemocnění a jeho návrhy našly značný ohlas, jak se šířil zájem o nově objevené lytické agens. Brzy vyšlo najevo, že bakteriofág nedosahuje sice v živém organismu takové aktivity jako *in vitro*, ale během doby bylo při některých bakteriálních infekcích zaznamenáno pozoruhodné ovlivnění průběhu nemoci po podávání bakteriofága.

R a š k a (11) uvádí, že „v anglosaském světě se nahlíží skepticky na praktické užití fagoterapie a fagoprofylaxe u dysenterie“. Literární údaje z poslední doby prokazují, že včasná aplikace specifických bakteriofágových kmenů má při dysenterii (7) i choleře (4) prokazatelný profylaktický i terapeutický účinek, když jsou aplikovány včas a vhodným způsobem. Obdobný účinek by bylo možno předpokládat také u jiných nálezů s obdobnou pathogenesí, avšak v humánní medicíně se po dosavadních zkušenostech nahlíží celkem skepticky na terapeutickou použitelnost bakteriofága při tyfu, salmonelozách i colinfekcích. Jen v jednotlivých případech byly zaznamenány pozitivní léčebné výsledky, zejména při intravenózní aplikaci bakteriofága ve stadiích bakteriémie.

O účinnosti bakteriofágové terapie při salmonelose nacházíme ve veterinární literatuře poměrně málo příznivých údajů. I v a n o v (5) charakteriso-

val tuto situaci vyjádřením: „fagotherapie paratyfových onemocnění ve veterinární medicíně není dosud propracována“. Literární údaje nehodnotí stejně význam bakteriofága v prevenci a léčbě, dosavadní výsledky terénních pokusů jsou celkem málo uspokojivé.

V posledním desetiletí nacházíme v písemnictví zprávy, které doporučují fagotherapii při salmonelose u různých druhů zvířat. Tak Meriweather, Shoening (10) isolovali specifické bakteriofágové kmeny pro *Salm. cholerae suis* a navrhli jejich použití pro fagotherapii. Topolník (16) provedl terénní pokus s perorální léčbou 503 prasat bakteriofágem a jeho účinku přičetl snížení ztrát hynutím o 7,85 %. Kušašvili (9) při terapeutickém perorálním podávání polyvalentního bakteriofága počsal uzdravení drůbeže u 94,14 %, zatím co v kontrolní skupině neuhynulo pouze 7,3 % drůbeže. Na podkladě těchto výsledků doporučil široké použití fagotherapie při bílé úplavici drůbeže. Hodnotíme-li kriticky údaje Kušašviliho, musíme mít na zřeteli, že příznivý terapeutický účinek bakteriofága byl zjištěn u poměrně malého počtu pokusných zvířat, jimž byl podáván bakteriofág vysokého stupně individuálně. Pozoruhodnou je práce Romínova (13), který provedl pokusy s bakteriofágem *Salm. pullorum* na 500 kuřatech a ohodnotil terapeutický efekt na 20 až 50 %, profylaktický na 40–80 %. Naproti tomu u nás Klášterka a Dvořáček (6) z experimentálních výsledků došli k závěru, že bakteriofág je vhodný spíše k profylaxi nežli k terapii, neboť účinek se projevil teprve tehdy, když bakteriofág byl podán *per os* současně nebo jen za několik hodin (nejvýše 1–6 hodin) po perorální infekci. Při podání bakteriofága po delší době zjistili autoři zmírnění průběhu infekce a oddálení doby exitu.

Tento přehled literárních údajů z poslední doby charakterizuje současný stav názorů na význam bakteriofága při tlumení bakteriálních střevních infekcí.

Vlastní práce

Při profylaktickém a terapeutickém využití bakteriofága je nutno brát v úvahu poněkud zvláštní pathogenesu salmonelos, dosah destruktivního účinku specifických bakteriofágových kmenů na mikroby *in vivo* a možnosti pronikání bakteriofága v živém organismu.

Pathogenita salmonel spočívá v tom, že aktivně pronikají u zcela zdravého organismu zvířat bariérou sliznice střevní do mízních drah a, i když se objevují v krvi jen přechodně, udržují se ve vnitřních orgánech, zejména v játrech, žlučovém měchýři a slezině, aniž by při tom infikované zvíře pravidelně vylučovalo zárodky výměty. Takové případy latentního průběhu salmonelos, často zjišťované u jatečných zvířat, se *intra vitam* obtížně diagnostikují a unikají v chovech zvířat včasné izolaci. Slavín (14), který se zabýval experimentálně u prasat latentní salmonelose, zjistil, že po perorální dávce 200 až 400 tisíc zárodků *Salm. cholerae suis* projevovala se vleklá, latentní salmonelosa jen nedostatečným vývinem, případně váhovými úbytky, aniž docházelo k hynutí prasat.

Tato experimentální práce, provedená na laboratorních zvířatech a v omezeném rozsahu též na prasatech, byla zaměřena k výše uvedeným hlavním problémům fagoprofylaxe a fagotherapie při salmonelose. K srovnání a k přesnějšímu zhodnocení byla v první části rozpracována experimentální salmonellosa

u morčat, bylo sledováno pronikání bakteriofága v organismu morčat, králíků, prasat po různých způsobech aplikace a provedeny pokusy o zvýšení koncentrace bakteriofágových elementů adsorbci na aluminiumhydroxyd.

I. Experimentální salmonelosa

V pokusech bylo použito morčat, u nichž spontánní salmonelové infekce nejsou tak časté jako u bílých myšek. Pokusy byly zaměřeny na určení infekci-osity odstupňovaných dávek mikrobů tří, pro morčata různě pathogenních typů a na průběh infekce, t. j. pronikání mikrobů ze zažívacího traktu do vnitřních orgánů. Pro experimentální salmonelosu byly voleny tři typy: *Salm. typhi murium*, *Salm. cholerae suis*, *Salm. gallinarum*.

a) Infekční dávky salmonel

K dosažení podmínek blízkých přirozené infekci byla morčatům na lačno aplikována jednorázově čerstvá, zředěná osmnáctihodinová bouillonová kultura jednotlivých typů salmonel pipetou *per os*. Počet zář. bouillonové kultury byl určován před aplikací přímo mikroskopicky podle Breera a byl kontrolován zředovací metodou. Pro srovnání pathogenity použitých typů salmonel byla vole-na odstupňovaná množství zárodků, a to circa 300.000, 3 miliony, 15 a 225 milionů v 1 ml. Po aplikaci byl denně bakteriologicky vyšetřován trus odbíraný rektálními rourkami. Pokud morčata neuhynula do 10 dnů na akutní salmonelosu, byla po 10 dnech chloroformována a kultivačně byl sledován výskyt salmonel v zažívacím traktu a ve vnitřních orgánech (slezině, játrech, ledvině). Pokusy s třemi typy salmonel byly provedeny celkem na 380 morčatech váhy 250–300 g.

Přehled výsledků je uveden v tabulkách I a II.

I. *Salmonella typhi murium*

	Počet zárodků jednorázové infekční dávky			
	300.000	3 mil.	15 mil.	225 mil.
Počet morčat	40	40	40	40
Nález salmonel ve střevním obsahu během 10 dnů po infekci				
Počet morčat	12	28	31	34
Úhyn do 10 dnů po infekci				
Počet morčat	—	12	13	32
Nález salmonel v org.	—	12	13	31
Nález salmonel ve střevě	—	4	7	18
Usmrceno za 10 dnů po infekci				
Počet morčat	40	28	27	8
Nález salmonel v org.	11	26	24	8
Nález salmonel ve střevě	9	14	17	8

Po jednorázové perorální dávce odstupňovaných množství zárodků *Salm. typhi murium* vznikla akutní salmonelosa, která se projevila vylučováním zárodků trusem a jejich proniknutím do vnitřních orgánů (sleziny, jater, ledvin). Jen po vyšších infekčních dávkách jevila morčata příznaky zjevného onemocnění (netečnost, odmítání potravy, zjevení srsti, zvýšení tělesné teploty o 0,5 – 1,8° C) a docházelo i k náhlým úhynům bez zjevných příznaků.

Průběh salmonelosity byl sice značně závislý na počtu mikrobů jednorázových infekčních dávek, avšak ve vylučování mikrobů střevním obsahem, ani v pronikání mikrobů do vnitřních orgánů a v úhynech na septickou salmonelosu nebyla přímá souvislost s výškou infekčních dávek. Nižší infekční dávky nestačily k vyvolání perakutní salmonelosity, která se při vyšších dávkách jevila náhlým hynutím morčat v několika dnech po infekci.

Stejnou metodikou byly provedeny pokusy se *Salm. choleare suis*. Přehled výsledků je uveden v tabulce II.

II. *Salm. choleare suis*

	Počet zárodků jednorázové infekční dávky			
	300.000	3 mil.	15 mil.	225 mil.
Počet morčat	40	40	40	40
Nález salmonel ve střevním obsahu během 10 dnů po infekci				
Počet morčat	0	0	7	6
Úhyn do 10 dnů po infekci				
Počet morčat	0	0	0	0
Nález salmonel v org.	0	0	0	0
Usmrceno 10 dnů po infekci				
Počet morčat	40	40	40	40
Nález salmonel v org.	0	2	8	6
Nález salmonel ve střevě	0	0	7	6

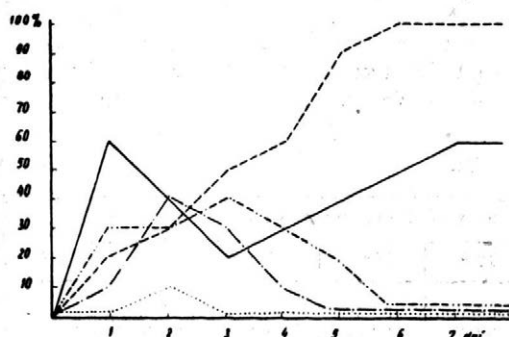
Z výsledku pokusů je patrné, že *Salm. choleare suis* byla pro morčata i při vysokých infekčních dávkách podstatně méně pathogenní. Po jednorázové infekční dávce 300 tisíc zárodků nebyla do 10 dnů vůbec prokázána salmonellová infekce a teprve při vyšších dávkách byla *Salmonella choleare suis* vylučována trusem a pronikala do vnitřních orgánů, ale v podstatně menší míře nežli *Salmonella typhi murium*.

Po perorálním podání jednorázových dávek circa 3, 15 a 300 milionů zárodků *Salm. gallinarum* nevznikla u morčat salmonelosa; morčata nevylučovala po infekci zárodky trusem, 10 dnů po infekci nebyla *Salmonella gallinarum* prokázána v trusu ani v orgánech žádného z 60 pokusných morčat. Lze uzavírat, že morčata jsou velmi málo vnímavá pro *Salm. gallinarum* a málo vnímavá pro *Salm. choleare suis*.

b) Pronikání salmonel ze zaživadel do vnitřních orgánů

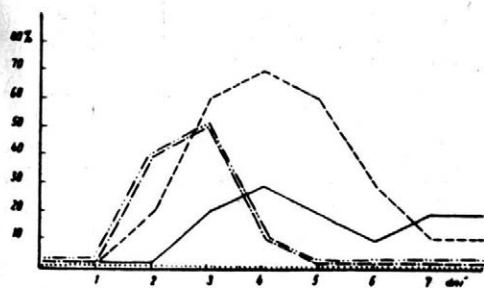
Morčatům (70 kusů) byla podána jednorázově bouillonová kultura v dávce (circa 225 milionů zárodků *Salm. typhi murium* a *Salm. cholerae suis*. V intervalech 24 hodin byla morčatům ve skupinách po 10 kusech odbírána krev punkcí srdeční a pak byla morčata každé skupiny étherisována a po sekci prováděna kultivace přes pomnožovací půdu z mizních uzlin krčních, mesenterálních, ze sleziny, jater, ledvin a z obsahu tlustého střeva.

Výsledek pokusu je zachycen v grafu 1.



Graf 1. Pronikání *Salm. typhi murium* ze zaživadel do vnitřních orgánů morčat

Graf charakterisuje velmi výstižně průběh experimentální salmonelasy virulentním typem *Salm. typhi murium*; v období do 24–96 hodin pronikly zárodky salmonel do mizních uzlin krčních a mesenterálních, v témže období byly u ojedinělých morčat prokázány v krvi. Křivka, vyjadřující pronikání salmonel do vnitřních orgánů měla téměř pravidelně stoupající tendenci, zatím co vylučování zárodků střevním obsahem mělo dvoufázový průběh; první kulminace po 24 hodinách odpovídala masové perorální infekční dávce, pozvolný, stálý vzestup ke druhé kulminaci byl v souvislosti s postupující salmonelovou infekcí zaživacího traktu a vnitřních orgánů, která po 6 dnech od infekce postihla celou skupinu, t. j. 100 % morčat.



Graf 2. Pronikání *Salm. cholerae suis* ze zaživadel do vnitřních orgánů morčat

Poněkud odchylný průběh infekce morčat typem *Salm. cholerae suis* vyjadřuje graf 2. Křivky, znázorňující pronikání zárodků *Salm. cholerae suis* do vnitřních orgánů a jejich vylučování trusem jsou monofázové a jejich kulminace odpovídá jednorázové infekční dávce. Chybějící výskyt druhé vzestupné

fáze infekce vnitřních orgánů, charakteristický pro virulentní typy mikrobů, nasvědčuje tomu, že při menší pathogenitě zárodků se organismus morčat s infekcí vyrovnával.

II. Průzkum některých biologických vlastností bakteriofága

a) Tenacita bakteriofága v kyselém prostředí o různém pH

Ke zjištění vzdornosti bakteriofága v kyselém žaludečním prostředí, kde případná neutralisace žaludečních šťáv nemusí být úplná, byla provedena zkouška tenacity bakteriofága v různém časovém údobí při různém pH. Do sterilního bouillonu o určitém pH byl přidán bakteriofág (aa), který pak byl po 10, 20, 30 a 60 minutách přenášen (v poměru 1 na 9 dílů) do bouillonu o pH 7,2 a titrován až do zředění 10^{-7} . Tabulka III až VI ukazují vliv doby a koncentrace kyseliny solné na výšku dosaženého titru bakteriofága:

III.

	Účinek HCl po dobu 10 minut						
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
pH 5,6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
pH 5,15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
pH 4,45	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
pH 4,0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
pH 3,65	+++	+++	+++	+++	+	—	—
pH 3,0	+++	+++	+++	+++	+++	+	+

IV.

	Účinek HCl po dobu 20 minut						
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
pH 5,6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
pH 5,15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
pH 4,45	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
pH 4,0	+++	+++	+++	+++	+	+	+
pH 3,65	+++	+++	+++	+++	++	+	+
pH 3,0	+++	+++	+++	+++	+++	+	—

V.

	Účinek HCl po dobu 30 minut						
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
pH 5,6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
pH 5,15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
pH 4,45	+++	+++	+++	+++	++	++	+
pH 4,0	+++	+++	+++	+++	+	+	+
pH 3,65	+++	+++	+++	+++	+	+	+
pH 3,0	+++	+++	+++	+++	++	++	+

	Účinek HCl po dobu 60 minut						
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
pH 5,6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
pH 5,15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
pH 4,45	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
pH 4,00	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
pH 3,00	+++	+++	+++	+++	+	+	—

+++ = bouillon čirý

++ = bouillon s jemným závojem

+ = bouillon mírně zakalen, méně nežli bakteriální kontrola

— = bouillon zakalený

Z tabulek je patrné, že *in vitro* vykazuje bakteriofag poměrně značnou odolnost vůči kyselému prostředí.

b) Pronikání bakteriofága v živém organismu

Pronikání bakteriofága v živém organismu bylo sledováno na laboratorních zvířatech, a to zejména při těch způsobech aplikace, které přicházejí v úvahu při profylaktické nebo terapeutické aplikaci u salmonelozy, t. j. při aplikaci perorální, subkutánní, intraperitoneální a intravenózní.

Zvířatům byl aplikován bakteriofag a v odstupňovaných časových intervalech byl sledován jeho výskyt v obsahu střevním, v krvi ev. mozkomíšním moku a v moči (zkumavkovou a plotnovou metodou).

Při opakované perorální aplikaci bakteriofága o titru 10⁻¹⁰ po dobu 3 až 10 dnů u 20 morčat byl bakteriofag prokazován po 18–24–36 hodinách v obsahu střevním, nikoli však ve vnitřních orgánech, v krvi a v moči. Rovněž po perorální aplikaci bakteriofága králíkům a selatům nebyl tento prokázán v krvi, případně v mozkomíšním moku.

Při intravenózní aplikaci koloval bakteriofag ve velkém množství v krvi po dobu 4–6 hodin, pak postupně z krve mizel a po 24–30 hodinách nebyl již prokazatelný v krvi ani ve vnitřních orgánech.

Po intraperitoneální aplikaci bouillonové kultury bakteriofágové byly bakteriofágové elementy prokazatelné po 30 minutách v krvi, mozkomíšním moku ve vnitřních orgánech a v moči.

Po subkutánní aplikaci byl prostup bakteriofága do krve pozvolný a málo intenzivní.

Za nejvhodnější způsoby aplikace, při níž se dosahuje v krátkém čase maximální koncentrace, je třeba označit intravenózní a intraperitoneální aplikaci.

c) Adsorbce bakteriofága na aluminiumhydroxyd

Adsorbce na koloidní aluminiumhydroxyd byla zkoušena za účelem zvýšení koncentrace bakteriofágových elementů. Vytitrovaná bouillonová kultura bakteriofága byla přidávána v poměru 1 : 4 k 8 % aluminiumhydroxydu, zahuštěnému opatrnou centrifugací při malých obrátkách. Po centrifugaci odebraný čirý supernatant byl doplněn do původního objemu bouillonovou kulturou bakteriofága. Po důkladném promíslení byl pochod opakován a po dvojí až trojí adsorbci byl určován titr bakteriofága.

V 30 provedených pokusech bylo zjištěno, že při dvojí adsorpci na aluminiumhydroxyd se zvyšuje titer bakteriofága průměrně z 10^{-8} na 10^{-11} . Trojí adsorpci se titer víc nezvyšuje, vícenásobné adsorbce porušují stabilitu koloidního stavu aluminiumhydroxydu.

III. Průzkum profylaktického účinku bakteriofága

Profylaktický účinek specifického bakteriofága *Salm. typhi murium* byl sledován na morčatech, jimž byl bakteriofág aplikován perorálně a intrakardiálně.

a) Bouillonová kultura bakteriofága byla podávána 5krát denně v dávce 1 ml 20 morčatům *per os* pipetou. Třetí den byla provedena infekce jednorázovou dávkou circa 300 milionů zárodků *Salm. typhi murium* — *per os*. Od 4. dne byl prováděn pravidelně denně odběr trusu pro bakteriologické vyšetření rektální rourkou. Desátý den po infekci byla morčata chloroformována a z vnitřních orgánů (slezina, játra, ledvina) i z obsahu střev byla prováděna kultivace.

U morčat nepropukla zjevná salmonelosa, morčata zůstala bez poruchy zdravotního stavu, avšak desátý den byla kultivací prokázána *Salm. typhi murium* ve vnitřních orgánech všech 20 morčat, zatím co ve výmětech byl kultivační nález pozitivní za deset dnů pozorování pouze u 8 morčat. U pěti kontrolních kusů, jimž byla aplikována pouze kultura *Salm. typhi murium*, uhynula do 10 dnů spontánně 3 morčata, v trusu byla prokázána *Salmonella* u 2 morčat, v orgánech u všech morčat. Přehledný výsledek je uveden v tabulce VII.:

VII.

Profylaktická 3denní perorální aplikace bakteriofága		
Počet morčat	Nález salmonel	
	v orgánech	v trusu
Kontroly 20 ks	100 %	40 %
5 ks	100 %	40 %

Výsledek pokusu ukazuje, že 3denní profylaktická aplikace bakteriofága *per os* sice poněkud zmírnila akutní průběh salmonelosity, avšak neovlivnila pronikání a pomnožení zárodků ve vnitřních orgánech.

b) V dalším pokuse byl 20 morčatům aplikován po dobu 4 dnů 5krát denně 1 ml bakteriofágového aluminiumadsorbátu o titru 10^{-12} . Pátý den byla pro-

VIII.

Profylaktická 4denní perorální aplikace bakteriofágového aluminiumhydroxydu		
Počet morčat	Nález salmonel	
	v orgánech	v trusu
20	100 %	40 %

vedena perorální infekce jednorázovou dávkou circa 300 milionů zárodků *Salm. typhi murium*. Morčata byla pozorována a vyšetřována po dobu 21 dnů. Během této doby uhynulo 6 morčat na kultivačně prokázanou salmonelosu, 8 morčat vylučovalo zárodky trusem, u nich a u 6 dalších, zdánlivě zdravých, která nevylučovala zárodky výměty, byla 22. den po infekci prokázána *Salm. typhi murium* ve žluči a v játrech. Přehled výsledků uvádí tabulka VIII.

Vliv perorální aplikace specifického bakteriofágového aluminiumhydroxydu jevil se rovněž jen zmírněním průběhu experimentální salmonelové infekce, nepředělo se septické salmonelose.

c) Na 25 morčatech byl sledován profylaktický účinek bakteriofága při intravenosní aplikaci, při níž lze dosáhnout nejrychlejšího a nejintenzivnějšího proniknutí bakteriofága do tkání celého těla. Morčatům byla 2 hodiny po intrakardiální aplikaci 1 ml bouillonové kultury bakteriofága podána *per os* kultura *Salm. typhi murium* v dávce circa 15 milionů zárodků. Intrakardiální aplikace bakteriofága byla opakována ve 24hodinových intervalech po další dva dny. Během 24 hodin uhynula 3 morčata na *laesi* myokardu, u zbývajících 22 kusů, které byly 10. den po infekci chloroformovány, byla kultivačně prokázána salmonelosa v mizních uzlinách i ve vnitřních orgánech. Nález je uveden v přehledu.

IX.

Profylaktická 3denní intrakardiální aplikace bakteriofága						
Počet morčat	Nález salmonel					
	Mizní uzlina krční	Slezina	Játra	Ledvina	Mizní uzlina střešní	Obsah střešní
22	22	19	20	16	22	18

Z výsledku pokusu je patrné, že i při poměrně malé infekční dávce neměla intrakardiální aplikace bouillonové kultury specifického bakteriofága dostatečný profylaktický účinek a nezabránila propuknutí akutní salmonelosity. Z morčat, jimž byl aplikován bakteriofág, byly vyšetřovány lysogenní kultury, což je důkazem, že mikrobiální kultura se dostala v organismu do styku s bakteriofágovými elementy, avšak pomnožení zárodků v organismu bakteriofág nezabránil.

IV. Průzkum terapeutického účinku bakteriofága

Therapeutický účinek bakteriofága byl sledován na morčatech, králících a prasatech. Specifický bakteriofág byl jim aplikován perorálně buď těsně (1–4 hod.) po infekci přiměřeně zředěnou kulturou *Salm. typhi murium* ev. *Salm. cholerae suis* nebo dodatečně po 12–24 hodinách. Některým prasatům byla před aplikací bakteriofága podána jedlá soda pro úpravu kyselého prostředí žaludečního. Bakteriofág byl podáván též intraperitoneálně a intravenosně. U morčat a králíků byl do 10 dnů po infekci rektálními rourkami odbírán a bakteriologicky vyšetřován trus, po ukončení pokusu byla zvířata usmrcena a orgány byly vyšetřovány bakteriologicky.

a) V pokusu provedeném na 20 morčatech byla podána jednorázově pipetou *per os* bouillonová kultura specifického bakteriofága v dávce 1 ml po prvé po 24 hodinách po infekci *Salm. typhi murium* (circa 15 milionů zárodků) a pak denně opakovaně 5krát pipetou, na ovsu a v pitné vodě po dobu 10 dnů. Během

doby pozorování a při usmrcení po 10 dnech byla *Salm. typhi murium* prokázána v trusu u 30 morčat, ve vnitřních orgánech u 75 % morčat.

b) V pokusu provedeném na 20 morčatech byl bakteriofág podán po prvé 4 hodiny po infekci *Salm. typhi murium* (circa 15 milionů zárodků), a to pipetou *per os*, a pak další dny 5krát denně pipetou *per os*, na ovsu a v pitné vodě. Během 10 dnů byla *Salm. typhi murium* prokázána v trusu u 30 % morčat, ve vnitřních orgánech u 75 % morčat.

c) V pokusu provedeném na 30 morčatech byl bakteriofág podáván masivně (pipetou *per os*, na ovsu, v pitné vodě) 48 hodin před infekcí a pak denně po dobu 10 dní po infekci jednorázové dávky (circa 15 milionů zárodků) *Salm. typhi murium*. Během pozorování po dobu 10 dnů byla *Salm. typhi murium* prokázána v trusu 20 morčat (66,6 %), v orgánech u 18 morčat (60 %). Tento pokus ukazuje, že ani kombinované profylaktické a terapeutické podávání bakteriofága nepotlačuje průběh latentní salmonelové infekce.

d) V pokusech na 20 morčatech, jimž byl aplikován bakteriofág intraperitoneálně 1 hodinu po perorální infekci jednorázovou dávkou circa 15 milionů zárodků *Salm. typhi murium*, nedošlo do 5 dnů ke spontánnímu hynutí morčat. Pátý den po infekci byla provedena kultivace z orgánů; výsledek je uveden v přehledu:

X.

Therapeutická intraperitoneální aplikace bakteriofága	
Počet morčat	Nález salmonel
20	krev 2
	mízní uzliny krční 10
	játra 9
	slezina 10
	mízní uzlina mesent. 6
	obsah střevní 4

Z pokusu je patrné, že jednorázová intraperitoneální aplikace bakteriofága záhy po perorální infekci neovlivnila průběh latentní salmonelózy.

e) V pokusech provedeném na 20 morčatech byl prověřován terapeutický účinek bakteriofága *Salm. cholerae suis* aplikovaného bezprostředně a pak další tři dny v intervalu 24 hodin intraperitoneálně. Po jednorázové perorální dávce 15 milionů zárodků *Salm. cholerae suis* byla během 10 dnů pozorování prokázána *Salm. cholerae suis* v trusu 4 morčat. Nález salmonel v orgánech 10. den po infekci je uveden v přehledu.

XI.

Opakovaná intraperitoneální terapeutická aplikace bakteriofága	
Počet morčat	Nález salmonel
20	krev 0
	mízní uzliny krční 2
	játra 4
	slezina 6
	mízní uzliny střevní 4
	obsah střevní 0

Při hodnocení tohoto pokusu a při srovnání výsledku infekce typem *Salm. typhi murium* je nutno brát v úvahu menší pathogenitu *Salm. cholerae suis* pro morčata.

f) V pokuse provedeném na 20 morčatech byl sledován účinek bakteriofága *Salm. typhi murium* po jednorázové intrakardiální aplikaci, provedené bezprostředně po perorální infekci dávkou circa 3 miliony zárodků *Salm. typhi murium*. Výsledek je uveden v přehledu.

XII.

Intrakardiální terapeutická aplikace bakteriofága	
Počet morčat	Nález salmonel
20	krev 0 mízní uzliny krční 2 játra 9 slezina 10 mízní uzliny střevní 4 obsah střevní 4

Pokus ukazuje, že jednorázová intrakardiální aplikace provedená bezprostředně po perorální infekci nepotlačila průběh salmonelové infekce.

g) V pokuse na 20 morčatech byl sledován účinek bakteriofága na *Salm. typhi murium* po intrakardiální aplikaci provedené 2 hodiny po perorální infekci *Salm. typhi murium* (circa 3 miliony zárodků) a po intrakardiální aplikaci opakované každých dalších 24 hodin do 4 dnů. Výsledek bakteriologického vyšetření provedeného 10. den po infekci je uveden v přehledu.

XIII.

Opakovaná intrakardiální terapeutická aplikace bakteriofága	
Počet morčat	Nález salmonel
20	krev 1 mízní uzliny krční 13 slezina 14 játra 14 mízní uzliny mesent. 13 obsah střevní 17

Při poměrně malé perorální infekční dávce probíhala latentní salmonelosa i po opakovaných intrakardiálních dávkách bakteriofága.

h) Terapeutická aplikace specifického bakteriofága *Salm. cholerae suis* byla dále sledována na 2 králících, jimž byla 2 měsíce po lienektomii aplikována nezředěná bouillonová kultura *Salm. cholerae suis* intraperitoneálně (1 ml) a po 24 hodinách 5–7 ccm bouillonové kultury specifického bakteriofága rovněž intraperitoneálně. Během 3 resp. 5 dnů došlo k exitu. Ze všech vnitřních orgánů byla vypěstována *Salm. cholerae suis*.

i) Po intravenosní aplikaci specifického bakteriofága, provedené u dvou králíků těsně po intravenosní aplikaci 0,2 ml nezředěné bouillonové kultury

Salm. cholerae suis došlo k exitu 3 den po infekci za příznaků septické, bakteriologicky potvrzené salmonelosity.

j) Při perorální aplikaci 5 ml bakteriofága provedené těsně po perorální infekci 1 ml nezředěné bouillonové kultury *Salm. cholerae suis* hynuli králíci (4 ks) na akutní salmonelosu 4–6 den po infekci, a to i tehdy, když jim byl podáván bakteriofág opakovaně *per os* nebo *intra venam* každodenně.

k) Selatům byl bakteriofág *Salm. cholerae suis* aplikován perorálně a intraperitoneálně v dávce 20–30 ml současně s kulturou *Salm. cholerae suis* nebo za 24 hodin po perorální infekci 10 ml nezředěné bouillonové kultury *Salm. cholerae suis*. Selata hynula 3, 6 až 9 den po infekci na akutní salmonelosu. I když před tím byla u nich (po intraperitoneální aplikaci) zjištěna, byť i jen krátkodobě, zvýšená hladina bakteriofága v krvi, byly po uhynutí zárodky prokázány ve všech vnitřních orgánech.

Z pokusů provedených na morčatech, králících a prasatech vyplývá, že ani masivní perorální a parenterální (intravenosní a intraperitoneální), terapeuticky opakované podávané dávky specifických bakteriofágových kmenů podstatně neovlivnily průběh experimentální salmonelosity. Lehké zmírnění a protrahování průběhu infekce po intravenosní, záhy po infekci provedené aplikaci nelze hodnotit jako léčebný účinek, neboť zvířata zůstávala nositeli, případně vylučovateli salmonel.

Diskuse

Průběh salmonelových infekcí bývá velmi variabilní a je ovlivněn několika činiteli: Je to především přirozená vnímavost zvířat pro určité typy salmonel, která umožňuje vznik akutní salmonelosity po poměrně malých infekčních dávkách. Na druhé straně přirozená vzdornost vůči některým typům ztěžuje nebo znemožňuje vznik akutní salmonelosity. Morčata jsou velmi vnímavá pro *Salm. typhi murium*, méně vnímavá pro *Salm. cholerae suis* a refrakterní vůči *Salm. gallinarum*. Na druhém místě stojí infekční dávka mikrobů. McCulloch (2) prokázal experimentálně, že prořuknutí akutní salmonelosity závisí na velikosti infekčních dávek mikrobů, při čemž klinické příznaky akutní salmonelosity byly u lidí vyvolány i typy relativně málo pathogenními. Třetím důležitým činitelem je individuální resistance makroorganismu, závislá na celkovém zdravotním a výživném stavu. Tato vzdornost může být snížena různými zevními i vnitřními faktory, takže při stejném způsobu infekce a při stejných infekčních dávkách má salmonelosa nestejný průběh.

Při sledování experimentální salmonelosity na morčatech bylo zjištěno, že po perorálním podání lze nalézt salmonely již během prvních 24 hodin v mízních uzlinách krčních i mesenterických a že pak pronikají mízními a krevními drahami do vnitřních orgánů. Srovnáme-li naproti tomu pronikání bakteriofága v živém organismu, je třeba zdůraznit, že bakteriofágové elementy nepronikají aktivně po perorální aplikaci bariérou sliznice střevní. Z orgánů morčat, jimž kultura a bakteriofág byly aplikovány perorálně, byly získány lysogenní kultury. Střevní sliznicí pronikající mikroby jsou s největší pravděpodobností vektory bakteriofága, který je jinak epitelem zadržován. Bakteriofág perorálně podávaný nemůže primárně ovlivňovat zárodky, které již pronikly sliznicí střevní do hlubších tkání.

Kyselina solná při pH 3,0 neinaktivuje bakteriofága, takže i bez alkalizace žaludečního obsahu prochází bakteriofág aktivní do tenkého střeva, kde při pH

vyšším než 6,0 dochází v přítomnosti mikrobů k pomnožení, takže jej lze prokázat v poměrně vysokých koncentracích v trusu.

Účinnost bakteriofága ve střevě je podporována některými aminokyselinami (tryptofan, prolin), o nichž je známo, že usnadňují fixaci bakteriofágových elementů na mikrobiální buňky. Další adjuvační účinek má vitamin B 12, kyselina nukleínová, kalciumchlorid, fosfát draselný, chlorid sodný, magnesiumsulfát, natriumacetát, a to již v nepatrných koncentracích. Naproti tomu ve střevě působí na bakteriofága inhibičně mnohé koloidní látky a fermenty, takže vcelku lze uzavírat, že podmínky pro účinek bakteriofága v obsahu střevním nejsou zvlášť příznivé.

Při parenterální, zejména při intravenósní aplikaci jsou podmínky pro bakteriofágovou lysi v organismu příznivější, avšak účinek bakteriofága snižuje přítomnost krevních elementů, vliv krevní plasmy a jiných tkáňových tekutin, bohatých na organické látky koloidní povahy. Hlavní překážkou, která brání pronikání korpuskulárních fágových elementů, jsou nesporně buněčná pletiva. Jedině proniknutí bakteriofága do krevního oběhu umožňuje jeho stejnoměrné rozdělení v celém organismu zvířete. Avšak i při intravenósní aplikaci je nutno počítat s poměrně rychlým snížením účinnosti bakteriofága podmíněným tím, že krevní plasma zpomaluje fixaci bakteriofágových tělísek na sensibilní mikroby, a proto, že bakteriofágové elementy jsou postupně fagocytovány buňkami RES, takže bakteriofág po 24 hodinách mizí z krevního oběhu. Další možnou příčinou malé účinnosti bakteriofága na mikroby v živém organismu může být zvláštní zjev podobný fenomenu interference podmíněný tím, že kultura vyvolávající salmonelosu je lysogenní a nepodléhá účinku bakteriofágového kmene, který je léčebně nebo profylakticky aplikován.

Pokusy provedené na morčatech, králících a prasatech ukázaly, že perorální ani parenterální aplikace specifických bakteriofágových kmenů neovlivňuje podstatně průběh latentní salmonelosity a neodvrátí septickou salmonelosu po vyšších infekčních dávkách pathogenních typů salmonel. Zvířata, jimž byl bakteriofág podáván profylakticky nebo terapeuticky, zůstávala po experimentální infekci nositeli, eventuálně vylučovateli salmonel.

Souhrn

V práci je podáno zhodnocení experimentální salmonelosity a vztahu bakteriofága k salmonelovým infekcím.

Na vzniku a průběhu salmonelosity má vedle přirozené vnímavosti zvířat k některým typům podstatný vliv infekční dávka mikrobů. Pathogenní typy salmonel pronikají po perorální infekci aktivně bariérou sliznice střevní do miznic, miznicích uzlin a krevním oběhem do vnitřních orgánů. Bakteriofág, podaný perorálně, prostupuje i bez alkalizace žaludečního obsahu do tenkého střeva, neproniká však aktivně sliznicí střevní a miznicemi do vnitřních orgánů. Salmonely, s nimiž přijde do styku v obsahu zažívacího traktu, se stávají při svém pronikání do organismu jeho vektory. Po intravenósní a intraperitoneální aplikaci dosáhne se na dobu 6–12 hodin poměrně vysokých koncentrací bakteriofágových elementů v krvi, v mozkomíšním moku a v tělových tkáních vůbec, avšak ani při těchto koncentracích nemá bakteriofág dostatečný baktericidní účinek a salmonelosu nepotlačuje. Včasnou perorální a zejména parenterální (intravenósní) aplikací bakteriofága záhy po infekci lze dosáhnout nejvýše zmírnění

akutního průběhu a protrahování salmonelozy, nelze však zabránit jejímu latentnímu průběhu ani nelze odvrátit septický průběh salmonelozy po vyšších infekčních dávkách. Pokusná zvířata, jimž byl bakteriofág podáván profylakticky nebo therapeuticky ve vysokých dávkách, zůstávala nosiči, eventuálně vylučovatelci lysogenních salmonellových kmenů.

V živém organismu nemá bakteriofág na salmonely dostatečný baktericidní účinek a nelze jej považovat za prostředek vhodný pro profylaxi ani terapii salmoneloz.

Literatura

1. McCulloch: Publ. Healt. Rep. (1951), 66, 1538-40. — 2. McCulloch: Journ. Inf. Dis. (1952), 89, 3, 259. — 3. D'Hérelle: Bull. Inst. Past. (1951), 49, 583. — 4. A. Gallis: *Pediatrica Polska* XXVI (1951), 438-439. — 5. Ivanov: Trudy gosudarstvennogo naučno-kontrol'nogo Instituta veterinarnych preparatov. Sv. VI. SeI'koz'giz 1953. — 6. Klášterka, Dvořáček: Bakteriofágie a biologická destrukce infekčních hmot při salmonelozách u drůbeže na velkofarmách. Sůbor prác prednesených na VIII. celoštátnom sjazde československých hygienikov, epidemiologov, mikrobiologov a infekcionistov. Bratislava 1954. — 7. Karpíšek: Presse Méd. (1947), 422-23. — 8. Kluda, Krug: *Ärztl. Wchschr.* (1951), 42, 1000. — 9. Kušasvili: *Vetërinarija* 1950, 8. — 10. Meriweather, Schoening: *Am. Journ. Vet. Res.* (1944), 5, 16. — 11. Raška: *Epidemiologie* 1952. — 12. Raška - Matějovská: *Cs. hyg., epid. a mikrobiol.* (1953), II, 1, 68-72. — 13. Romin: *Bolezni ptic.* Moskva 1952. — 14. Slavin: *Journ. Comp. Path. Ther.* (1951), 61, 168-179. — 15. Sevastjanova: *Vetërinarija* (1952), 12, 18. — 16. Topolnik: *Veter. Glasnik* (1950), 4, 153. — 17. Wahl, Ferrad: *Ann. Inst. Past.* (1950), 79, 255-70.

Бактериофág в профилактике и терапии сальмонеллезов

Авторы в своей работе подытоживают результаты экспериментального сальмонеллеза и сообщают об отношении бактериофага к инфекциям, вызываемым сальмонеллами.

Кроме естественной восприимчивости животных к некоторым типам сальмонеллезов, на возникновение и течение болезни оказывает существенное влияние инфекционная доза микробов. После пероральной инфекции патогенные типы сальмонелл проникают активно через барьер слизистой оболочки кишок в лимфатическую систему и циркуляцией крови попадают во внутренние органы. Перорально введенный бактериофág и без алкализации содержимого желудка попадает в тонкий отдел кишечника, однако он активно не проходит через слизистую оболочку кишечника и лимфатическую систему во внутренние органы. Сальмонеллы, с которыми бактериофág соприкасается в содержимом пищеварительного тракта, проникая в организм, становятся его векторами. После интравенозного и интраперинеального применения достигаются относительно высокие концентрации элементов бактериофага в крови, спинномозговой жидкости и в тканях тела вообще в продолжение 6—12 часов, однако даже при этих концентрациях бактериофág не имеет достаточного бактерицидного действия и не подавляет сальмонеллез. Своевременным пероральным и, в особенности, интравенозным применением бактериофага вскоре после инфекции можно достичь по крайней мере ослабления и замедления острого течения сальмонеллеза, однако нельзя воспрепятствовать латентному течению и септической форме сальмонеллеза после больших инфекционных

доз. Подопытные животные, которым бактериофаг был введен профилактически или терапевтически в больших дозах, продолжали переносить или выделять лизогенные штаммы сальмонелл.

В живом организме бактериофаг не имеет достаточного бактерицидного воздействия на сальмонеллы и нельзя с ним считаться как со средством, пригодным для профилактики и терапии сальмонеллезов.

The Bacteriophage in Prophylactic and Therapy of Salmonellosis

In the paper experimental salmonellosis and the relation of bacteriophage to *Salmonella*-infections are evaluated.

The origin and course of salmonellosis are considerably influenced by natural susceptibility of animals to certain types, and the infectious dose of microbes as well. After peroral infection pathogenic *Salmonella* types penetrate actively through the barrier of the intestinal mucosa into lymphatic vessels, lymphatic nodes and along the blood circulation into internal organs. The bacteriophage, administered per os, penetrates — even if no alkalifying of the stomach content occurs — into the small intestine; it does not, however, penetrate actively through the intestinal mucous membrane and the lymphatic vessels into the internal organs. *Salmonellae* which it encounters in the content of digestive organs become its vectors while penetrating into the organism. After intravenous and intraperitoneal administrations relatively high concentrations of bacteriophage-elements can be obtained for 6 to 12 hours' duration in the blood, liquor and body tissues in general, but not even at these concentrations the effect of the bacteriophage is bactericidal enough to control the salmonellosis. By timely peroral and mainly parenteral (intravenous) application of bacteriophage soon following the onset of the infection the acute course can be mitigated and protraction of salmonellosis achieved, at most; its latent course, however, cannot be prevented nor a septic course of salmonellosis due to higher infectious doses, averted. Test animals treated with high prophylactic and therapeutic doses of bacteriophage remained carriers or excretors of lysogenic *Salmonella* types. In a living organism the effect of Bacteriophage upon *Salmonellae* is not bactericidal enough and consequently this cannot be regarded as a means suitable for prophylactics and therapy of salmonellosis.

Der Bakteriophag in der Prophylaxe und Therapie der Salmonellosen

In der Arbeit wird die experimentelle Salmonellose und die Beziehung des Bakteriophages zu *Salmonella*-Infektionen bewertet.

An der Entstehung und dem Verlauf der Salmonellose hat — nebst der natürlichen Empfänglichkeit der Tiere gegenüber bestimmten Typen — die infektiöse Gabe von Mikroben einen wesentlichen Anteil. Die pathogenen Typen der Salmonellen dringen nach der peroralen Infektion aktiv durch die Barriere der Darmschleimhaut in die Lymphgefäße, Lymphknoten und durch den Blutkreislauf in die inneren Organe ein. Der peroral eingereichte Bakteriophag dringt auch in Abwesenheit der Alkalisierung des Mageninhaltes in den Dünndarm durch, dringt jedoch nicht aktiv durch die Darmschleimhaut und die Lymphgefäße in die inneren Organe durch. Die Salmonellen, mit denen er in dem Inhalt der Verdauungsorgane in Berührung kommt, werden bei ihrem Durchdringen in den Organismus zu seinen Vektoren. Nach der intravenösen und intraperitonealen Applikation werden auf die Dauer von

6—12 Stunden verhältnismäßig hohe Konzentrationen von Bakteriophagenelementen in Blut, Liquor und Körpergeweben überhaupt erreicht, aber nicht einmal bei diesen Konzentrationen hat der Bakteriophag hinreichend bakterizide Wirkung, um die Salmonellose zu unterdrücken. Durch eine rechtzeitige perorale, und besonders parenterale (intravenöse) Applikation des Bakteriophages bald nach der Infektion kann höchstens eine Linderung des akuten Verlaufes der Salmonellose und deren Protrahierung erreicht werden, dagegen kann weder ihr latenter Verlauf verhindert, noch ein septischer Verlauf nach höheren infektiösen Gaben abgewandt werden. Die Versuchstiere, welchen der Bakteriophag in hohen prophylaktischen und therapeutischen Dosen eingereicht worden war, blieben Träger, bzw. Ausscheider von lysogenen Salmonella-Stämmen. In dem lebendigen Organismus hat der Bakteriophag keine hinreichende bakterizide Wirkung und kann nicht als ein für die Prophylaxe und Therapie von Salmonellosen geeignetes Mittel angesehen werden.

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

О возможности использования резорбции бугорка, вызванного физиологическим раствором (проба по Клюре и Альдриху), для диагностики гепатитов в ветеринарной медицине I.

On the Possibility of Utilizing the Salt Blister Resorption (McClure-Aldrich's Test) for Diagnostics of Hepatitis in Veterinary Medicine

Über die Möglichkeit der Ausnützung von Quaddelresorption (der Test nach Mc Clure und Aldrich) für Hepatitidendiagnostik in der Veterinärmedizin

MVDr M. LEBEDA a MVDr M. ZENDULKA

Došlo dne 22. III. 1957

Úvod a literární přehled

Hepatitidy různého původu u hospodářských zvířat, zejména u koní, psů a vepřů dostávají se v poslední době do okruhu intensivního zájmu veterinárních kliniků. Při řešení problému hepatitid naráží veterinární medicína nejen na obtíže spojené často s neznámou etiologií onemocnění, ale i na vážné metodické překážky diagnostické. Diagnosa může být obtížná jak u akutní degenerativní hepatitidy, tak i u hepatitidy chronické, a to pro častou nezřetelnost a nevyhraněnost příznaků (K r á l). Veterinární lékař je při diagnostice hepatitid v mnohem obtížnější situaci než lékař humánní. Obtíže spočívají nejen v tom, že uložení jater činí jejich vyšetřování u zvířat svízelným, ale též v tom, že materiální vybavení obvodních veterinářů i ošetřoven a namnoze dosud i veterinárních nemocnic jim nedává možnost širšího využití laboratorních vyšetřovacích metod, běžných v humánní medicíně. V nejpriznivějších případech obrací se pozornost veterinárního praktika kromě klinického vyšetření pacienta na zjištění žlučových barviv v moči, resp. v krevním seru a někdy i ke zjištění žlučových kyselin v moči. Je pochopitelné, že i kombinace adspekce, palpce a perkuse s těmito biochemickými zkouškami nemůže v mnoha případech dát ucelené, diagnosticky cenné výsledky.

Ze speciálních metod, používaných ve veterinární medicíně při diagnostice jaterních afekcí, je možno uvést harpunaci jater, doporučovanou W a l l e m a H y e r r y m u koní podezřelých z infekční anemie. Tento způsob vyšetřování nemá však podle S i ň o v a podstatný význam pro jiné formy jaterních onemocnění než právě pro infekční anemii, kde dochází k charakteristickým hemo-

siderotickým změnám. Vhodnější by zde snad bylo použití punkce jater za účelem získání t. zv. hepatocytogramu podle Mešerské.

V humánní medicíně je naproti tomu u hospitalizovaných pacientů používáno široké spektrum zkoušek zaměřených na zjištění funkčního stavu jater. Je to řada zkoušek na metabolismus uhlovodanů, na přeměnu bílkovin, tuků, metabolismus vody a minerálů, jsou to zkoušky založené na změnách vlastností krevních bílkovin, zkoušky na metabolismus barviv, zkoušky detoxikační, chromodiagnostika a jiné (Hořejší).

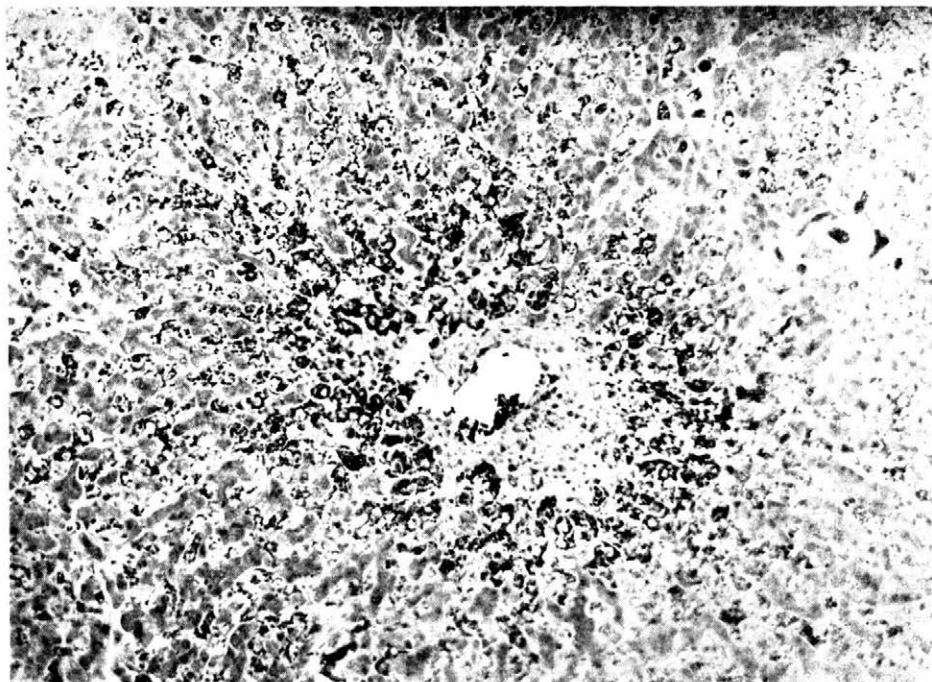
V posledních letech je možno v naší veterinární medicíně pozorovat snahu řady vědeckých pracovníků o prozkoumání použitelnosti některých z těchto zkoušek ve veterinární praxi. Tyto snahy jsou zaměřeny převážně na t. zv. zákalové reakce, kterých je v humánní medicíně používáno značné množství. Problém použitelnosti těchto reakcí se zabývají na př. práce Machovy, Tichého, Domanského, Palounka, Rademacherové a j.

Naším cílem při hledání diagnostických metod, usnadňujících diagnostiku jaterních afekcí, bylo vyzkoušet reakci lehce proveditelnou v podmínkách praxe bez speciálního laboratorního vybavení a případně ji i srovnat s některou náročnější reakcí laboratorní. Těmto požadavkům vyhovuje podle našeho názoru test podle McClurea a Aldricha, který náleží do skupiny zkoušek na metabolismus vody a minerálů, a na druhé straně pak thymolová reakce v modifikaci Pospíšilové.

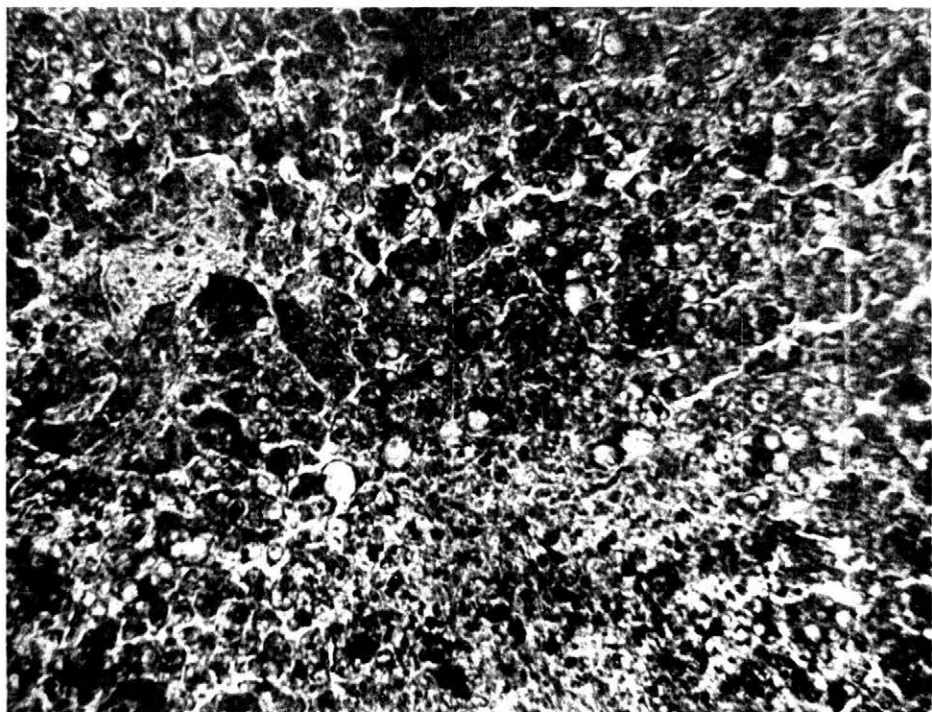
Podstatou testu McClurea a Aldricha je resorpce solného pupene, vytvořeného intrakutánní injekcí 0,2 ml fyziologického roztoku. Doba resorpce činí u zdravých lidí 60 min., u hepatiků je resorpce zkrácena. Zkrácení resorpce je vysvětlováno vyšší hydrofilii tkání. Test může být pozitivní i tehdy, nejsou-li ještě vyvinuty manifestní otoky (Hořejší). Blížší vysvětlení mechanismu této reakce lze hledat v práci Loopera a Siguiera, kteří tvrdí, že u hepatiků se vyskytují edémy, jejichž genesis nelze vysvětlit žádným mechanismem, v kterém by hrály vedoucí úlohu poruchy ledvin, kardiovaskulárního nebo endokrinního systému a pod. Podle názoru těchto autorů se jedná o specifický vliv jaterní buňky na vodní hospodářství. Pro vznik edémů u jaterních chorob má význam i nedostatek některých vitaminů, hlavně komplexu B. Podle Lemaire a Varaye působí též lipoidy na hydrofilii tkání. Gely poutají tím méně vody, čím více obsahují mastných kyselin. Cholesterol působí opačně a jeho rozmnožení tedy může vést k retenci tekutiny (Lemaire a Varay).

Rovněž ve veterinární medicíně je prokázán vliv jater na výměnu vody a minerálních látek. Kromě svalového mechanismu jaterních věn, které řídí množství a tlak krve v játrech a tím i tvorbu lymfy a retenci a uvolňování vody, je zde vedle předpokládaného hormonálního působení jater na bobtnavost tkání (Vacek) i působení jater na výměnu hlavně sodných solí. Poruchy jaterní funkce mohou být spojeny se zadržováním těchto solí, jejichž zvýšená koncentrace může být jedním z edémogenních faktorů (Dalmatov, Žuravel, Koropov). Konečně je zde i všeobecně známý vliv jater na bílkovinnou rovnováhu krve a tkání, na albumin-globulinový kvocient. Stupeň dispersity koloidů se podstatně podílí na velikosti onkotického tlaku krve i tkání a tím se stává důležitým faktorem, ovlivňujícím hydrofilii tkání. Uher přímo označuje koloidně-osmotický tlak a bobtnací tlak tkáňových koloidů za hlavní síly určující přechod vody z krve do tkání. Proto je možno se dívat na edém v moderně pojeté pathogenese jako na problém koloidně osmotický.

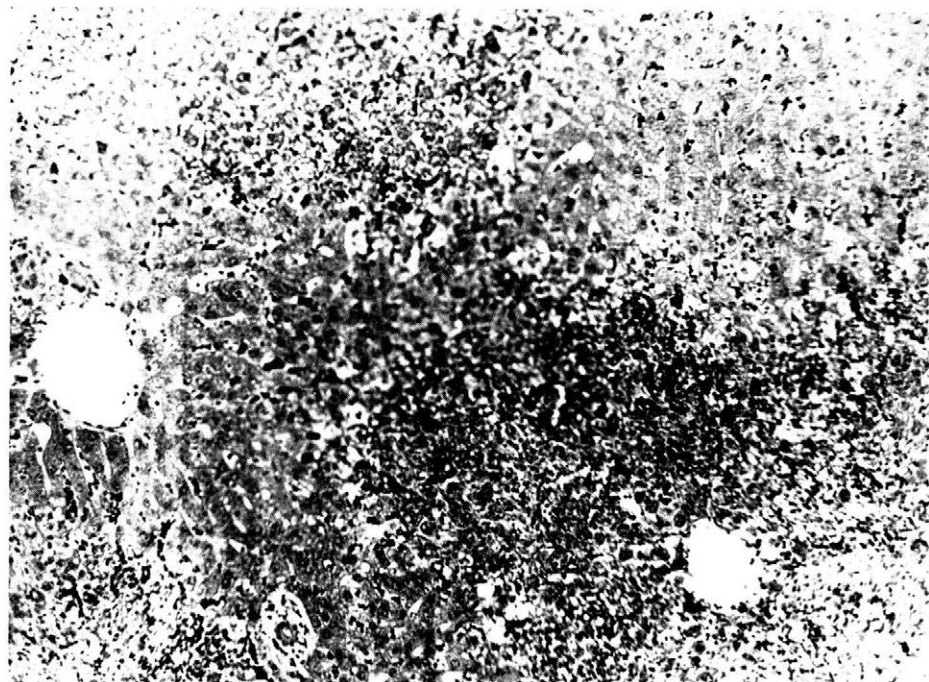
Je ovšem nutno mít na paměti, že i když je hydrofilie tkání v podstatě podmíněna posuny v poměru vody „volné“ a vody hydratační, vázané na různé



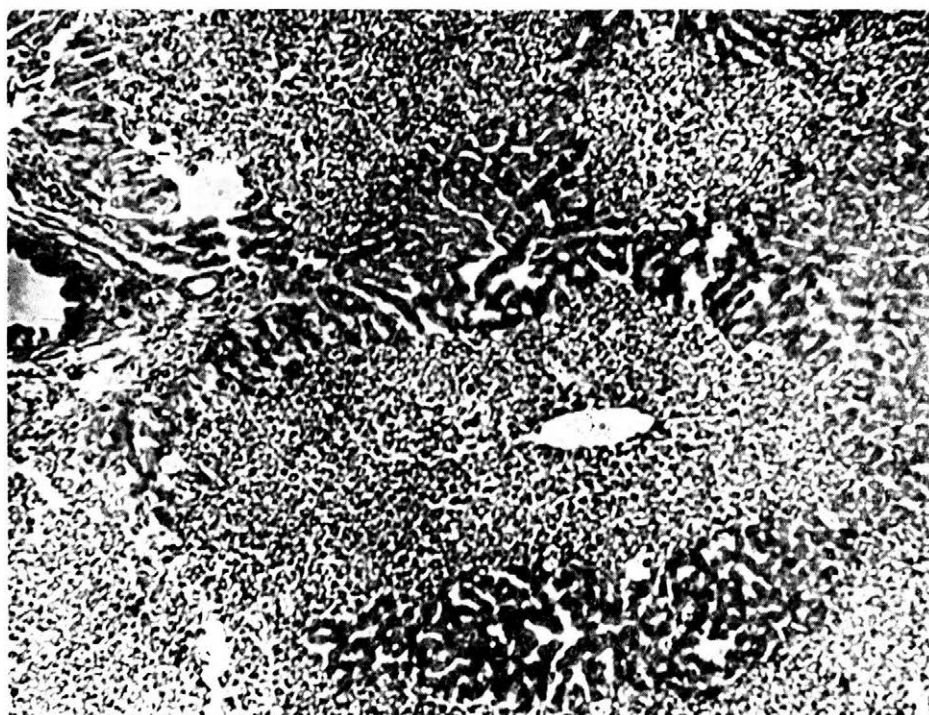
1. Histologický obraz jater u psa uhynulého týden po poslední dávce CCl_4 . (Lumipan, obj. 10, okul 9.) Foto Dr E. Mesáros



2. Těžká jaterní dystrofie u psa, uhynulého po 2 týdnech perorálního podávání CCl_4 . (Lumipan, obj. 10, okul. 9.) Foto Dr E. Mesáros



3. Histologický obraz jater u králíka po podkožní injekci 1 ml CCl_4 . (Lumipan, obj. 10, okul. 9.) Foto Dr E. Mesáros



4. Nekrosy v játrech králíka po podkožní injekci CCl_4 . (Lumipan, obj. 10, okul. 9.) Foto Dr E. Mesáros

koloidy, na něž játra výrazně působí, je zde mimo to i řada jiných mechanismů, které mění vodní a minerální hospodářství organismu. Jsou to zejména poruchy ledvinové, kardiovaskulární a endokrinní, které mohou měnit primárně vodní a minerální metabolismus, které však mohou též jako druhotné nebo doprovodné změny při hepatitidách spolupůsobit významně při změnách hydrofilie tkání. Stačí zde, aby došlo k posunům H iontů nebo i jiných iontů, které mění botnací poměry krevních a tkáňových koloidů (Uher). Edémogenním je tedy každý faktor, který zvyšuje hydratační schopnost tkáňových koloidů.

V humánní medicíně byla věnována otázce vztahu jater k hydrofilii tkání značná pozornost. Olmer tvrdí, že edémy se mohou objevit v průběhu jaterních onemocnění, představovaných atrofickými i cirhosi, precirhotickými hepatitidami, při karcinomu jater a vzácně při katarálních žloutenkách. Naproti tomu Barral a Aulagnier popsali otoky jako úvodní znak katarální žloutenky. O nejednotnosti v názoru na tuto otázku svědčí i to, že Voisin, Miscea, Halita, Caroli, Cachera, Deparis pozorovali edémy naopak až ke konci katarální žloutenky. Edémy při hepatitidách jsou různého rozsahu a intensity. Mohou se vyskytnout jen v některé fázi onemocnění jako akutní edémy, jindy je jejich rozvoj spíše vleklý. Mohou se vyskytnout i edémy latentní, projevující se zvýšenou aviditou kůže hepatika k tekutině. K objevení této pohotovosti k edémům ještě před vznikem manifestního otoku slouží právě test McClureův a Aldrichův. Olmer pokládá výskyt otoků při jaterních afekcích za prognosticky nepříznivý znak.

Ve veterinární medicíně jsou manifestní edémy při hepatitidách celkem vzácné, spíše je zde možno předpokládat latentní edémy na podkladě porušení hydrofilie tkání při poruchách jaterní funkce.

V této práci referujeme o výsledcích, získaných u zvířat klinicky zdravých a v modelových pokusech. V další práci chceme sdělit poznatky, získané v praxi a na klinickém materiálu.

Metodika

Provedli jsme pokusy celkem na 197 zvířatech, a to 160 králících a 37 psů. Z uvedených čísel připadá na zjištění normálních hodnot resorpce solného pupene u klinicky zdravých zvířat plný počet psů a 155 králíků. Na zjištění hodnot po experimentálním zásahu do funkce jater bylo použito celkem 55 králíků a 20 psů včetně kontrol.

Solný pupen jsme vyvolávali běžným způsobem tak, že jsme injikovali tuberkulinační jehlou intrakutánně u králíků 0,1 ml a u psů 0,2 ml fyziologického roztoku. Místem inokulace byla u obou druhů zvířat krajina hřbetní nad posledními obratly hrudními. Pupen vzniklý po správně provedené injekci byl u králíků tenkostěnný a poměrně vysoký, u psů více plošný, ale nápadný svou světlejší barvou. Kůže v místě vpichu a jeho blízkého okolí byla předem zbavena srsti buď oholením nebo hladkým vystříháním. Vzhledem k tomu, že při hojení bylo toto nutno provádět několik dní předem, aby výsledky nebyly narušeny podrážděním kůže, zbavovali jsme později kůži srsti pouze stříháním. Resorpci pupene jsme posuzovali palpací — vyhmatáním rozdílů v napětí kůže — a adspекci zejména ve směru tangenciálním. Kůži před vpichem jsme desinfikovali ethanolem.

Thymolová reakce v Pospíšilově modifikaci byla prováděna u všech zvířat, kterým byla experimentálně poškozována játra, a u příslušných kontrol.

Pospíšilova modifikace thymolové reakce se nám zdála vhodnou pro naše pokusy, protože dává možnost jednoduchého hodnocení celkových lipidů v seru při dynamickém sledování a též proto, že její hlavní indikací, jak uvádí autor, jsou hepatopatie (Pospíšil-Sláma). Mísili jsme 0,1 ml krevního sera s 4 ml thymolového činidla a po 30 min. jsme odečítali zákal na Pulfrichově fotometru při červeném filtru S 66 (665 mμ). Standardní suspence $BaCl_2$ ke stanovení hodnoty jedné zákalové jednotky byla připravena podle Hořejšího. Krev k vyšetření jsme odebírali vždy před krmením zvířat a před podáním tetrachlormethanu nebo chloroformu v tutéž denní hodinu u králíků z ušní vény, u psů z *vena cephalica antebrachii*.

Experimentální poškození jater jsme u psů a části králíků vyvolávali pomocí CCl_4 (Mytník, Pospíšil), u druhé části králíků chloroformem. U jedné skupiny králíků jsme injikovali jednorázově dávku 1 ml CCl_4 podkožně prokus, u další pak 0,5 ml prokus dvakrát v intervalu 5 dní. U další skupiny králíků jsme injikovali každý týden podkožně chloroform v dávce 0,1 ml na kg váhy (Black-Schaffer a j.) po dobu 8 týdnů. U psů jsme začali rovněž s podkožními injekcemi 1 ml tetrachlormethanu. Po druhé aplikaci jsme však od tohoto způsobu upustili pro silné lokální reakce zánětlivé až nekrotické povahy. Dále jsme pak podávali tetrachlormethan *per os* (Stowell) sondou dvakrát týdně v postupně stoupajících dávkách a pak opět klesajících dávkách (8, 10, 12, 10, 5, 5, 5 ml). Sonda byla zaváděna v pentothalové narkose. U poloviny kontrolních psů byla rovněž prováděna pentothalová narkosa. Celkem byla zvířata vystavena působení tetrachlormethanu 34 dní.

Funkci jater jsme sledovali jednak thymolovou reakcí a jednak kvalitativní zkouškou na bilirubin podle Van Den Bergha v modifikaci Homolkové. Hlavní výhodou modifikace bylo pro nás nepatrné množství sera potřebného k reakci (4 kapky).

Kontrolu působení použitých chemikálií na tkáň jaterní jsme prováděli sekci a histologickým vyšetřením uhynulých zvířat. Mimo to jsme pro chloroform založili malou řadu 5 zvířat, která jsme za tímtež účelem zabíjeli v různých intervalech po první dávce chloroformu.

V ý s l e d k y

Před vlastními pokusy, zaměřenými na zjištění změn resorpce solného pupene po poškození jater, jsme sledovali dobu resorpce solného pupene u 155 klinicky zdravých králíků a 37 klinicky zdravých psů.

Jak ukazuje graf 1, podléhá resorpce solného pupene u klinicky zdravých králíků značné variabilitě. Největší počet případů se soustřeďuje v rozmezí, zahrnujícím dobu resorpce od 20 do 80 min. Na první pohled je zřejmé, že variační šířka doby resorpce solného pupene je u králíků značná a podléhá velkým individuálním výkyvům.

Rozložíme-li si četnost případů podle váhy zvířat, t. j. v podstatě podle jejich stáří (graf 2), ukáže se, že se stoupajícím stářím zvířat se zvyšuje i rozptyl hodnot a stoupá průměrná doba resorpce solného pupene. Zvláště nápadná je uniformita výsledků u zvířat mladých do váhy 1 kg.

S podobnými výsledky se setkáváme i u klinicky zdravých psů (graf 3), kde opět vidíme nápadně malý rozptyl hodnot u štěňat, u nichž resorpce proběhla za 10–15 min., zatím co u dospělých zvířat je rozptyl mnohem větší

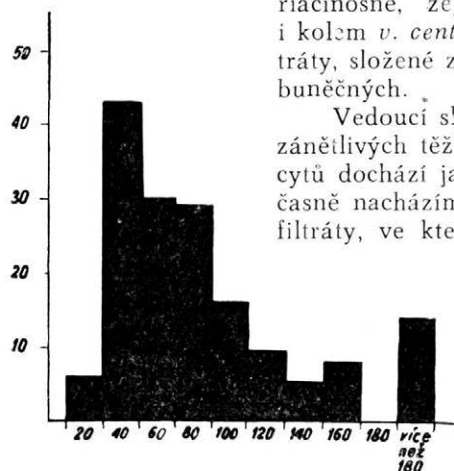
a resorpce proběhla za 25–55 min. Průměrná doba resorpce u dospělých psů činila 33,2 min., u štěňat 12,2 min. I když počet vyšetřených psů je mnohem menší než počet králíků, zdá se, že individuální variabilita u psů je mnohem menší než u králíků.

Vliv jednorázové dávky 1 ml tetrachlormethanu, zjišťovaný v předpokuse u 13 králíků ve váze 1,60–2,80 kg, je zachycen v tabulce I, kde jsou současně uvedeny časy resorpce solného pupene u 10 králíků kontrolních. Vliv této dávky CCl_4 na hodnoty thymolové reakce ukazuje stejným způsobem tabulka II. U 100 % započitatelných výsledků se rychle zpomalila resorpce solného pupene o 35–100 min., v průměru o 63,3 min. Po dosažení maxima se hodnoty vracely podstatně pomaleji a nedosáhly ani u jednoho z králíků, kteří přežili, výchozích hodnot. U 80 % kontrolních králíků se doba resorpce solného pupene v tomto období rovněž prodloužila, ale pouze o 15–50 min., v průměru o 29,3 min. Doba resorpce v posledních dnech pokusu zde byla kratší než časy výchozí pouze u 30 % králíků.

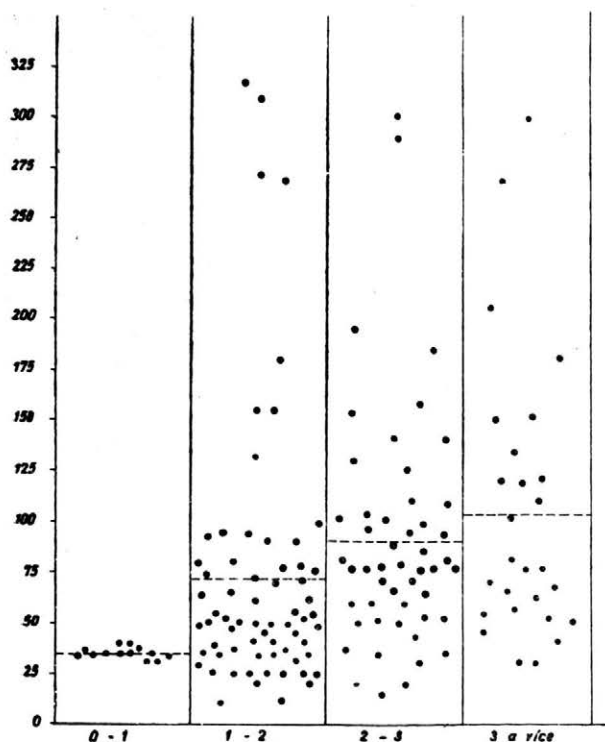
O průběhu hodnot thymolové reakce je možno říci, že u 100 % započitatelných výsledků stoupla po injekci CCl_4 hodnota zákalu o 1,41–15,29 j., v průměru o 7,35 j. Po dosažení nejvyšších hodnot došlo u 3 z 5 králíků, kteří přežili, k poklesu hodnot pod výchozí úroveň. U 60 % kontrolních králíků se rovněž zvýšila hodnota thymolové reakce, ale jen o 0,13–1,68 j., v průměru o 1,09 j. Nižší hodnoty na konci pokusu než na začátku byly i zde zjištěny u 60 % králíků, rozdílů nejsou však výrazné.

Účelem 1 ml CCl_4 na organismus králíků byl velmi drastický, jak ukazuje vysoká mortalita i morfologický obraz. Nejvýraznější změny jsou v histologickém obraze jater a ledvin. V játrech pozorujeme ostré kontrastující rozrušenou a zachovalou tkáň. Hranice mezi oběma je nápadně ostrá s marginálním charakterem. Ostrým přechodem nastupuje dystrofická tkáň, ve které zůstávají zachovány jen pleteně jaterních sinusoid s výraznými jádry endotheliálních buněk. Vlastní jaterní buňky jsou převážně zcela rozrušeny. Dystrofický okresek v lalůčce je lokalizován většinou v centru, zasahuje však větší část lalůčku. Dystrofické okrsky jsou představovány detritem tkáňovým, barvicím se kyselými barvivy. Mezi jednotlivými lalůčky dochází k slévání dystrofických procesů a vzniká mapovitý lem. Úsekově nacházíme i lokalizaci dystrofických procesů na periferii lalůček a v některých lalůčkách je rozrušení tak výrazné, že neporušené zůstávají jen nepatrné okrsky několika desítek jaterních buněk. Periacinosně, zejména v portobiliárních prostorech, ale i kolem v. centralis, nastupují již výrazně buněčné infiltráty, složené z lymfocytárních a plasmatických elementů buněčných.

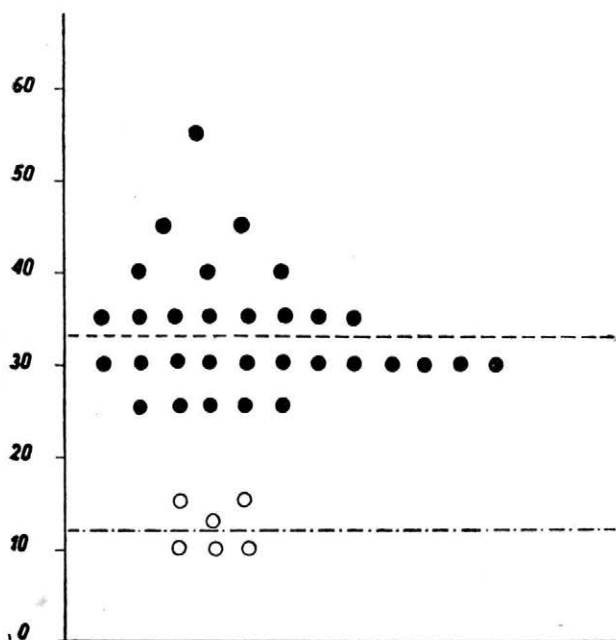
Vedoucí složkou změn v ledvinách jsou vedle změn zánětlivých těžké poruchy cirkulační. K výstupu erytrocytů dochází jak v glomerulech tak i v intersticiu. Současně nacházíme poměrně slabě vyznačené buněčné infiltráty, ve kterých vedle lymfocytů se vyskytují ojedi-



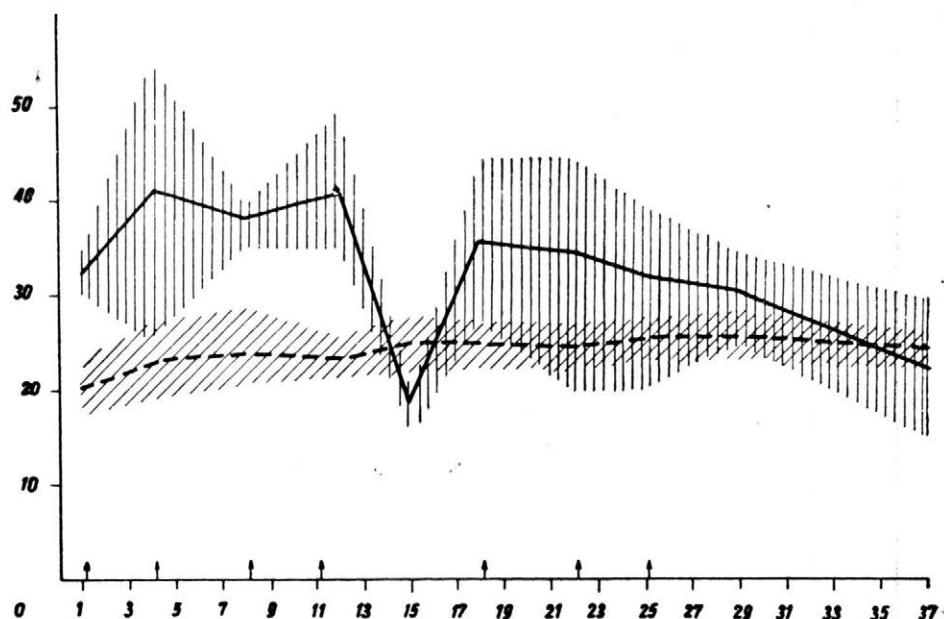
Graf 1. Resorpce solného pupene u klinicky zdravých králíků. Na svislé ose počet králíků, na vodorovné ose resorpce solného pupene v minutách. Číslo uvedená pod příslušnými sloupci značí vždy horní hranici dvacetiminutového intervalu



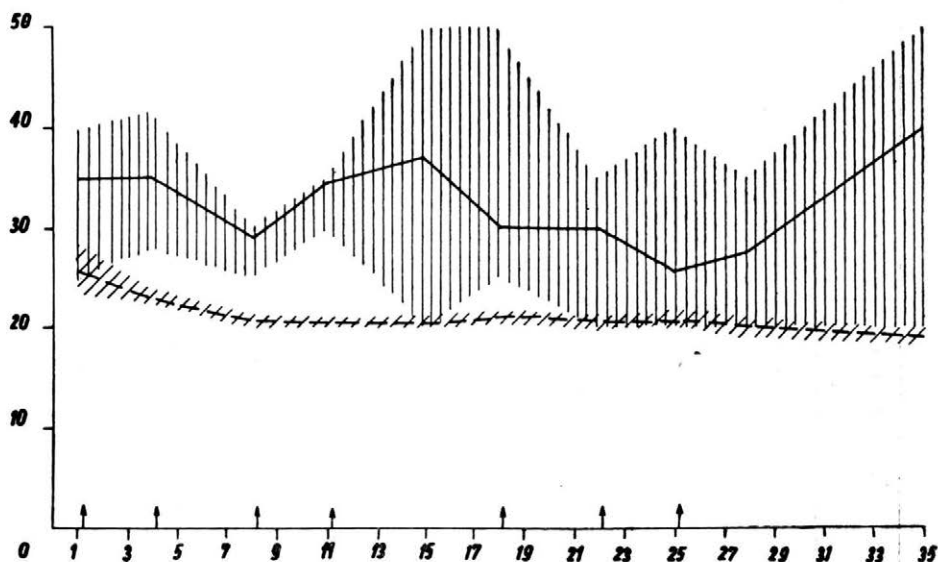
Graf 2. Četnost případů resorpce solného pupene podle váhy klinicky zdravých králíků. Na svislé ose doba v minutách, za kterou došlo k resorpci. Na vodorovné ose váha králíků v kg. Přerušovaná vodorovná čára značí průměrnou dobu resorpce ve skupině



Graf 3. Resorpce solného pupene u klinicky zdravých psů. Na svislé ose doba resorpce solného pupene v minutách. Dospělí psi jsou označeni černými body, štěňata kroužky. Přerušovaná čára == průměrná doba resorpce u dospělých psů. Čerchaná čára == průměrná doba resorpce u štěňat.



Graf 4. Průběh resorpce solného pupene a thymolové reakce u psů otrávených CCl_4 . Na svislé ose doba resorpce v minutách a jednotky thymolové reakce ve společné stupnici. Na vodorovné ose dni pokusu. Dni, v kterých byl perorálně podáván CCl_4 , jsou označeny šipkou. Plná čára = průměrná doba resorpce solného pupene. Svisle vyšrafovaná plocha = rozpětí minima a maxima resorpce solného pupene. Přerušovaná čára = průměrná hodnota thymolové reakce. Šikmo vyšrafovaná plocha = rozpětí minima a maxima zákalových jednotek.



Graf 5. Průběh resorpce solného pupene a thymolové reakce u kontrolních psů narkotizovaných pentothalnatriem. Označení jako u grafu č. 4, šipky však značí pouze den podání narkotika.

I. Vývoj resorpce solného pupene

Den	Hodnoty resorpce solného pupene v min. u pokusných králíků č.													Den	Hodnoty resorpce solného pupene v min. kontrol. č.												
	224	225	226	228	230	231	232	233	234	235	236	237	238		239	240	241	242	243	244	245	246	247	248			
1.	40	50	10	15	20	20	45	50	25	25	25	25	35	1.	50	40	30	25	25	35	25	30	110	110			
2.	1 ml CCl ₄ podkožně všem králíkům													2.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4.	75	80	+	85	120	90	+	95	+	90	90	75	85	5.	90	90	50	30	30	35	35	50	60	90			
6.	60	20	—	50	+	20	—	77	—	110	+	35	73	9.	75	75	40	50	50	50	50	40	70	70			
10.	+	40	—	50	—	75	—	70	—	55	—	40	85	16.	60	70	50	35	35	30	30	45	70	40			
17.	—	+	—	65	—	+	—	60	—	50	—	+	65	21.	55	70	60	25	30	30	25	55	65	50			

Křížek v tabulce značí uhynutí zvířete.

II. Vývoj hodnot thymolové reakce

Den	Hodnoty TR v zákalových jednotkách u pokusných králíků č.												
	224	225	226	228	230	231	232	233	234	235	236	237	238
1.	10,5	5,1	1,1	3,0	1,4	5,1	2,4	2,3	1,6	5,1	7,6	6,9	0,5
2.	1 ml CCl ₄ podkožně všem králíkům												
4.	-	-	+	2,73	+	-	+	7,15	+	13,11	12,1	8,31	-
6.	17,9	8,95	-	-	+	13,6	-	5,48	-	-	+	-	7,98
10.	+	5,36	-	13,92	-	7,5	-	8,63	-	3,84	-	2,91	15,79
17.	-	+	-	1,96	-	3,2	-	3,22	-	1,43	-	+	1,62

III.

Resorpce solného pupene v minutách a hodnoty TR v zákalových jednotkách u králíků č.																					
Den	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258											
1.	30	8,14	45	0,87	45	2,94	30	3,39	55	8,35	35	3,28	30	0,96	25	3,59	15	10,40	20	3,92	
3.	50	5,97	50	4,87	45	7,62	40	2,83	40	3,33	30	8,55	30	5,27	35	6,64	25	5,72	25	7,65	
5.								0,5 ml CCl ₄ podkožně všem králíkům													
6.	40	4,62	45	10,3	45	8,55	30	7,12	40	6,33	30	14,73	35	6,36	35	7,32	30	6,04	25	11,06	
								0,5 ml CCl ₄ podkožně všem králíkům													

něle i neutrofilní leukocyty. Vyznačena je jak glomerulitis tak periglomerulitis. Okrskově lze nalézt též značné množství hyalinních válců, které vyplňují kanálky. Hyalinisaci podléhá i výstelka těchto kanálků.

Celkové poruchy cirkulační ztěžovaly odběr krve u králíků, otrávených tetrachlormethanem, natolik, že získaná krev stačila sotva na získání sera pro thymolovou reakci. Proto zde nebyl zjišťován bilirubin. Klinické příznaky žloutenky však nebyly pozorovány.

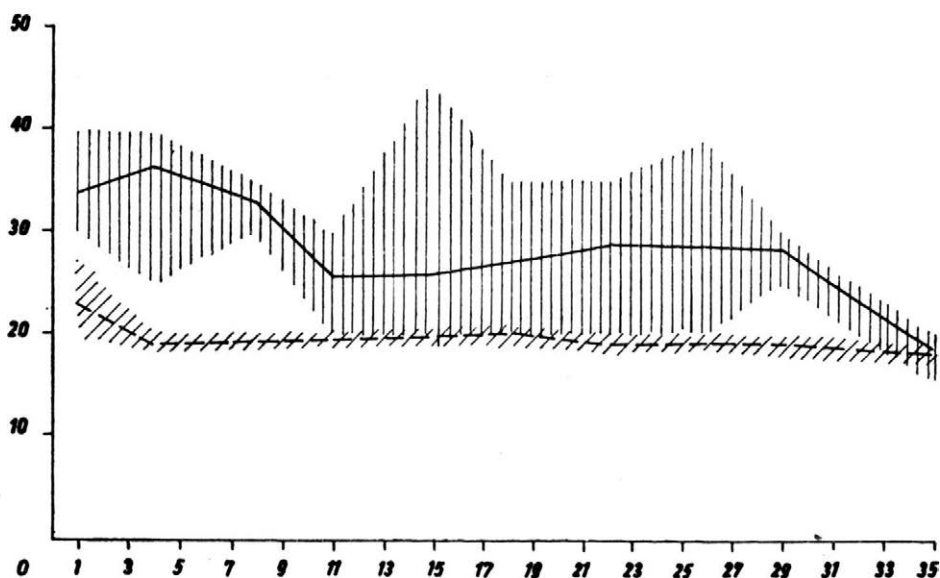
V dalším krátkém předpokuse jsme srovnávali obě reakce u 10 králíků, kteří dostali dvakrát dávku 0,5 ml CCl₄ v intervalu 5 dní. Výsledky ukazuje tabulka III. Výsledky jsou velmi nejednotné. U 60 % králíků se doba resorpce prodloužila o 5 až 20 min. již po první dávce CCl₄. U 50 % se prodloužila po druhé dávce o 5 až 15 min. Pouze u 30 % králíků se doba resorpce prodloužila po obou dávkách CCl₄. Hodnota thymolové reakce se zvýšila u 60 % králíků po první dávce CCl₄ o 3,05–5,27, v průměru o 4,17 j., po druhé dávce se zvýšila u 70 % vzhledem k výchozím hodnotám o 3,73–11,45 j., v průměru o 7,12 j. U 90 % se zvýšila vzhledem k hodnotám po první dávce.

V hlavních pokusech jsme se zaměřili na déle trvající poškození jater, od kterého jsme očekávali ucelenější výsledky než při akutním poškození.

Pokusy na 20 psech — vesměs německých ovčáků —, z nichž 10 bylo kontrolních, jsme zahájili podkožními injekcemi CCl₄. Jak již uvedeno, byli jsme nuceni od tohoto způsobu aplikace upustit. Mimo to nevyvolávaly tyto malé dávky žádné zřetelné změny v resorpci solného pupene ani v hodnotách thymolové reakce. Další průběh pokusu počínaje od perorálního podávání CCl₄ je zachycen v grafu 4. V grafu 5 je zachycen vývoj těchto hodnot u kontrolních psů, kteří byli pouze narkotisováni pentothalnatriem a v grafu 6 vývoj hodnot u kontrolních psů inaktivních.

Z grafů vyplývá, že vývoj resorpce solného pupene vykazuje jak u psů pokusných tak u kontrolních velké nepravidelnosti. Minima a maxima zjištěná v jednotlivých skupinách jsou u psů pokusných 15 a 55 min., u kontrolních psů narkotisovaných pentothal-

natriem 20 a 50 min., u kontrolních psů intaktních 20 a 45 minut. U klinicky zdravých psů činila variační šířka jak již bylo shora uvedeno 25 až 55 minut. Nepřesahují tedy odchylky v pokuse zjištěné o mnoho krajní hodnoty zjištěné u zdravých zvířat. Mimo to, se jednalo u krajních hodnot jen o krátkodobé výkyvy, které u příslušného individua se brzy opět posunuly ve směru k středním hodnotám. Nelze proto těmto krajním hodnotám přikládat velký význam. Náhlé snížení resorpčního času po čtvrtém perorálním podání CCl_4 nemůžeme přesně zdůvodnit, ale domníváme se, že v něm podstatnou úlohu hrálo velké ochuzení organismu o vodu, vyvolané těžkými průjmy po tetra-

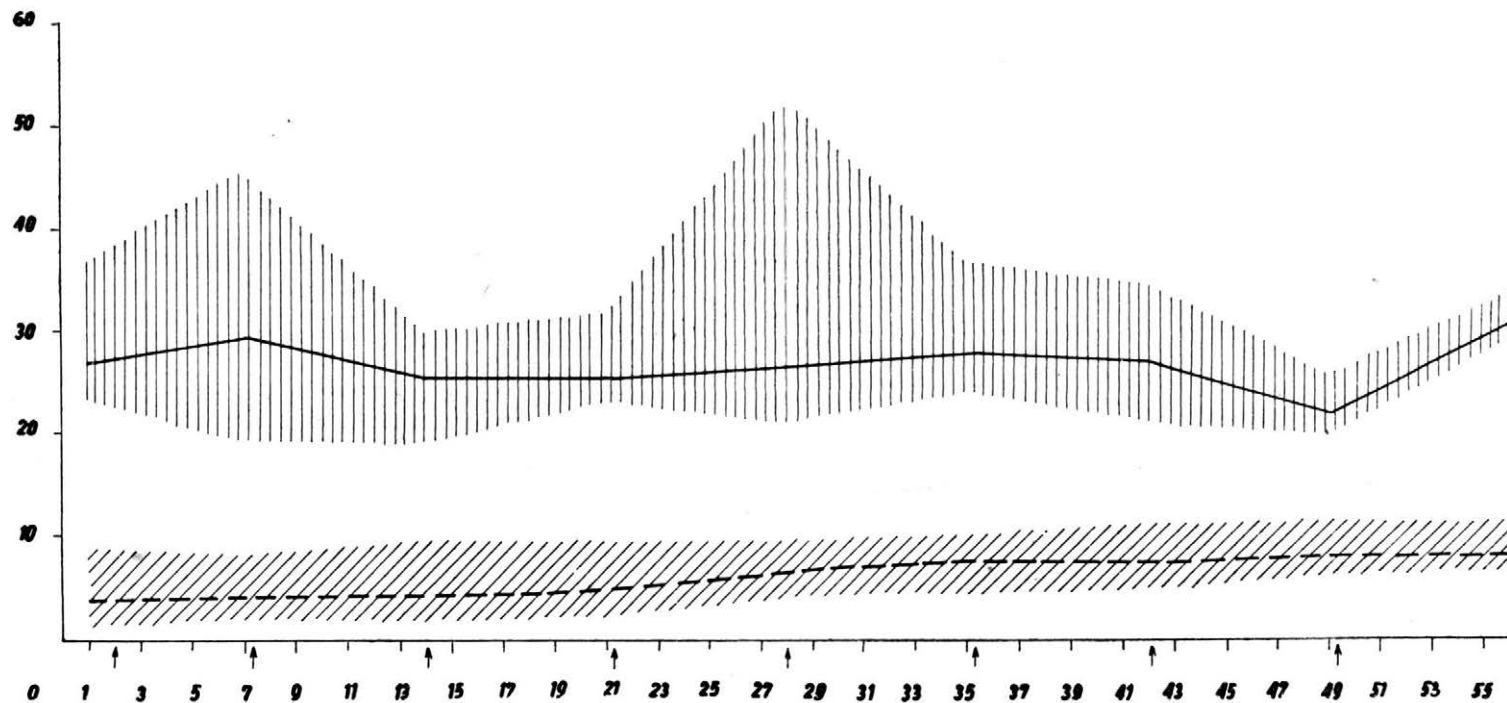


Graf 6. Průběh resorpce solného pupene a thymolové reakce u kontrolních psů intaktních. Označení jako u grafu č. 4.

chlormethanu u všech pokusných psů. Této domněnce nasvědčuje i opětné prodloužení resorpce po vypuštění dávky CCl_4 , která měla následovat. Tato přestávka byla vynucena celkovým stavem psů, který vzbuzoval vážné obavy. Ani postupné zkracování resorpčních časů v posledních dvou týdnech pokusu není možno označit za projev změny hydrofilie tkání, vyvolaný porušením jater, protože s podobným zjevem se setkáváme i u kontrolních psů úplně intaktních.

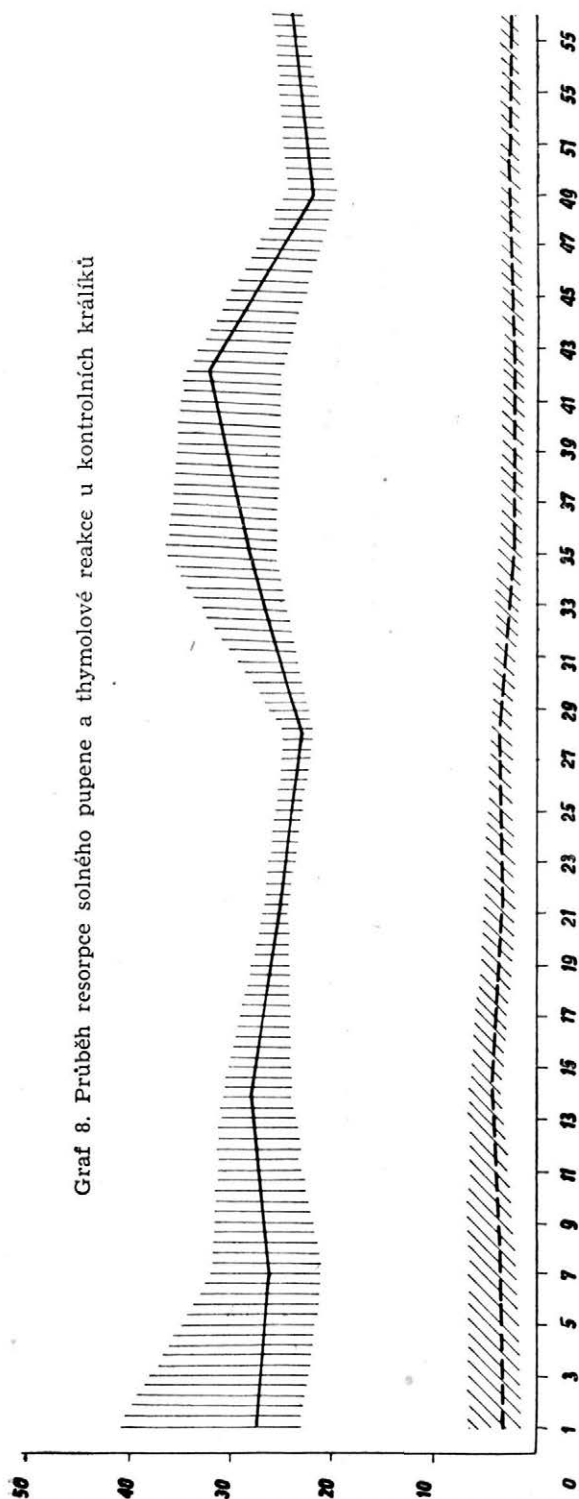
Průběh hodnot thymolové reakce se jeví daleko ucelenější a jednoznačnější. Vzestup zákalových hodnot dosahuje v průměru až 5,4 j. U kontrolních zvířat je zpočátku průběh hodnot ořačného charakteru a v dalším pak jeví vyrovnaný průběh s nepatrnou sestupnou tendencí. Nápadný je i větší rozptyl hodnot u pokusných psů, který se udržuje po celou dobu pokusu, zatím co u kontrol je rozptyl daleko menší.

Účinek perorálního podávání tetrachlormethanu na játra byl velmi intenzivní. Svědčí o tom ta skutečnost, že v průběhu pokusu uhynuli 4 pokusní psi, a to 2 po 2 týdnech podávání CCl_4 a 2 až v posledních dnech pokusu po poslední dávce tetrachlormethanu. U všech uhynulých psů byly zjištěny makrosko-



Graf 7. Průběh resorpce solného pupene a thymolové reakce u králíků otrávených chloroformem. Označení stejné jako u grafu číslo 4.

Graf 8. Průběh resorpce solného pupene a thymolové reakce u kontrolních králíků



pické i mikroskopické změny na játrech. U prvních dvou psů rozrušují rozsáhlé dystrofické pochody zcela stavbu jaterní tkáně, zejména v blízkosti *vena centralis*, kde dochází k úplnému vymizení jaterních buněk a vyplnění těchto prostor rozšířenými kapilárami. Trámčitá stavba je zcela vymizelá, jednotlivé jaterní buňky jsou disociovány a roztroušeny volně v dystrofických okresech. V detriu tkáňovém zjistitelné jaterní buňky jsou degenerovány — vakuolisovány. Některé vakuoly obsahují žlutohnědý pigment v podobě krystalických jehliček. Barvitelnost jader je vymizelá, v uvolněných buňkách jaterních dochází již k intravitální autolyse. V takto rozrušené tkáni jaterní rychle nastupují hnilobné posmrtné pochody.

V plicích byly zjištěny pouze cirkulační poruchy, a to venosní hyperemie, rozšíření kapilár, transsudace do alveol, výstup erytrocytů, které ve tkáni již jeví znaky hemolysy. V ledvinách v četných glomerulech je patrný nebuněčný výpotek, v kapilárním pletivu glomerulu zmnožení jaderných elementů buněčných. Výstěrka vývodných cest vykazuje degeneraci granulární až vakuolární, která je nejvýraznější v papilární vrstvě.

U psa, který uhynul druhý den po poslední dávce CCl_4 a měl již před poslední dávkou pozitivní bilirubin v seru, bylo histologicky již při přehledném zvětšení patrné rozrušení jaterní tkáně, které je nejnápadnější v blízkosti *vena centralis*, kde došlo k úplnému vymizení jaterních buněk. Zůstávají zde jen vlasečnice jaterních sinusoid a retikulární vlákna. Endothelie kapilár jsou výraznější, Kupferovy buňky jsou naplněny zrný hnědého pigmentu — hemo-

siderinu. Ve vzdálenější zóně jsou jaterní buňky v různém stadiu degenerativních pochodů. Převážně jsou zde buňky vakuolisované. Vakuoly jsou buď opticky prázdné nebo obsahují žlutohnědý pigment. Jádra některých buněk jeví nekrobiotické pochody. V další vrstvě acinu jsou převážně granulose degenerované buňky. Pouze na periférii acinu zůstávají okrsky buněk, které nevykazují zjevné změny. Buněčná infiltrace portobiliárních prostorů je zcela nepatrná. Ojediněle zde nacházíme lymfocyty a plasmatické buňky.

U posledního psa, který uhynul týden po poslední aplikaci CCl_4 , byl histologický nále z jatrech tento: pestrý obraz střídajících se okrsků atrofovaného parenchymu jaterního s okrsky rozšířených jaterních kapilár. V převážně většině lalůček nacházíme kolem *v. centralis* rozšíření jaterních sinusoid, které vyplňují prostory vzniklé po vymizení jaterních buněk. Obraz odpovídá reparativnímu stadiu po toxické jaterní dystrofii. Degenerativní pochody na jaterních buňkách nacházíme jen v malém rozsahu. Stejně vzácné jsou však i buňky jaterního typu regeneračního. Dochází zde již k vytváření jizvovité tkáně, a to jak v prostorách při *v. centralis* tak periacinosně. Novotvořená jizvovitá tkáň je bohatá na elementy buněčné, jsou zde především fibroblasty, lymfocyty, plasmatické elementy buněčné. Ojediněle nacházíme i polymorfní leukocyty. V místech rozšířených jaterních sinusoid v blízkosti *v. centralis* jsou časté megakaryocyty s různě formovaným jádrem. Kupferovy buňky obsahují hojně hemosiderinu. V ledvinách byly změny v podstatě stejné jako v shora popsaném případě. O zvýšení rozpadů erythrocytů svědčí značná hemosiderosa sleziny, která byla zjišťována téměř ve všech vyšetřovaných případech. Podobně jako v předcházejících případech jsou i zde v plicích nápadné cirkulační poruchy.

Přímý bilirubin byl v seru psů zjištěn pouze třikrát, a to u psa, jehož histologický nále z je shora uveden, a u dalšího psa, který přežil, po 3. a 7. perorální dávce CCl_4 .

Další pokus provedený na 10 pokusných králících a 5 kontrolách je zachycen v dalších dvou grafech. Graf 7 ukazuje průběh hodnot resorpce solného pupene a thymolové reakce u králíků, kterým byl injikován chloroform podle metody Black-Schafferovy. V grafu 8 jsou tytéž hodnoty u kontrol. Je zřejmé, že průběh resorpce solného pupene nebyl injekcemi chloroformu nijak zřetelně narušen. Průměrná doba resorpce nejeví výrazné změny a ani minima a maxima nepřesahují obvyklé hranice zjištěné u zvířat zdravých. Rovněž průběh thymolové reakce a negativní nále z bilirubinu v seru všech pokusných králíků nesevědí pro těžké porušení funkce jater. Zřetelné zvýšení hodnot thymolové reakce se objevilo až po čtvrté dávce chloroformu, v dalším průběhu je pak zjištělná trvalá mírně vzestupná tendence. Na konci pokusu byly hodnoty zákalů v průměru o 4,37 j. vyšší než na začátku pokusu. U kontrolních králíků byl maximální výkyv průměrné hodnoty thymolové reakce vzhledem k hodnotě výchozí plus 1,25 j. Na konci pokusu byla průměrná hodnota zákalů o 0,6 j. menší než hodnota výchozí.

Slabé působení chloroformu na parenchym jaterní potvrdily i pitevní a histologické nále z u pokusných králíků i u dalších pěti králíků, kteří byli zabiti v různých časových intervalech po první dávce chloroformu. U těchto zabitých králíků byly zjištěny makroskopicky i histologicky slabě vyjádřené projevy granulose degenerace jater a elektivním barvením podle Besta na glykogen značná glykogenní infiltrace. Zvýšena thesaurace glykogenu v jaterních buňkách svědčí na snížení disimilačních procesů v jatrech.

Diskuse

Hodnoty resorpce zjištěné u klinicky zdravých zvířat nás nutí se pozastavit u několika skutečností. Podstatně kratší doba resorpce a nápadná uniformita výsledků u mláďat mají s největší pravděpodobností podklad ve vyšší hydrofilii tkání mláďat, projevující se i všeobecně známým vyšším obsahem vody u mladších než u starších organismů. S věkem vzrůstající difference metabolické, spojené s konstitucí, pohlavním dimorfismem a jinými individuálními zvláštnostmi, podmiňují zřejmě velkou variabilitu resorpce u zvířat dospělých. Příčinu prodlužování průměrné doby resorpce s věkem zvířat je možno analogicky hledat v biochemických a fyzikálně chemických změnách tkání, spojených se stárnutím, včetně snižující se bobtnací schopnosti koloidů (Růžicka). Z hodnot, zjištěných u klinicky zdravých zvířat vyplývá, že změny resorpce solného pupene u dospělých zvířat, které by bylo možno označit za patologické, by musely být zvláště výrazné a dále, že příznivější situace pro využití testu se zdá být u mladých zvířat. Zdá se tedy, že u zdravých dospělých zvířat je podobná situace, vyznačující se velkou individuální variabilitou resorpce solného pupene, jako u lidí. Lash totiž zjistil u zdravých žen bělošek resorpční čas mezi 62–101 minutou, u černošek mezi 56–150 min. Nutno podotknout i to, že s úspěchem bylo testu podle McClure a Aldricha používáno právě u dětí (McClure a Aldrich, Olmsted).

Stavbě kůže nepřikládáme zvláště u králíků velký význam v ovlivňování resorpčních časů. Pokožka králíčí kůže je totiž velmi tenká — pouhých 25 μ m — a činí na trupu asi 2,1–2,8 % tloušťky škáry (Böhm). Zavedení jehly do epidermis při intradermální injekci zde tedy nemůže prakticky přicházet v úvahu. Spíše se domníváme, že u extrémně vysokých hodnot, zjištěných u klinicky zdravých králíků, mohou být výsledky skresleny zduřením, které se vyvíjí na místě vpichu po traumatizaci jehlou a injikovanou tekutinou. Toto zduření mizí mnohem později než vlastní pupen, vyvolaný fyziologickým roztokem (McClure a Aldrich). Traumatická reakce může někdy simulovat persistenci pupene, jejíž rozlišení je u králíků někdy velmi obtížné.

Pokud jde o lokalizaci solného pupene, nevolili jsme končetiny jako v humánní medicíně proto, že bylo třeba vybrat místo, které by si zvíře nemohlo ani olizovat ani škrabat. Dalším důvodem bylo použití testu k diagnostice jaterních poruch a nikoli poruch cirkulačních, při kterých je testu v humánní medicíně rovněž používáno.

Pokusy s poškozováním jater tetrachlormethanem a chloroformem potvrdily vcelku nepříznivou situaci pro využití testu k diagnostice akutních a subakutních hepatitid. Jako negativní činitel se zde uplatňovala nejen velká variační šířka resorpčních časů u jednotlivých zdravých zvířat, ale i značné kolísání hodnot u téhož zdravého zvířete při dalších měřeních.

Při hodnocení výsledků bereme v úvahu, že toxické dystrofie jater, které jsme u zvířat experimentálně vyvolávali a které pak byly následovány reaktivními zánětlivými změnami, nemohou být věrným obrazem přirozených afekcí jaterních. Proto nelze výsledky takto získané mechanicky aplikovat na podmínky v praxi. Nicméně je třeba uvážít tu okolnost, že přes velmi vážné poškození jater vyvolané tetrachlormethanem, nelze považovat výchyly v resopci při nich získané za diagnosticky významné, protože jen málo přesahují hranice kolísání normálních hodnot. Uvědomíme-li si, že test by byl používán výhradně jen u zvířat již nemocných, kde veterinář nemá možnost zjistiti si výchozí normální hodnoty, vidíme, že u dospělých zvířat až dosud použitých k pokusům, ne-

existuje žádné spolehlivé kritérium, podle kterého by bylo možno posoudit zjištěné hodnoty. Procesy námi vyvolané v játrech dosáhly maximálně počátečního stadia cirhosisy. Nelze vyloučit, že u vysloveně chronických hepatitid budou znamenány výsledky diagnosticky použitelné.

Množství injikovaného fyziologického roztoku jsme volili s přihlédnutím k množství, kterého je používáno v humánní medicíně. Vodítkem zde byla i ta zkušenost, že výhodnější je injekce menšího množství pro technicky spolehlivější injekci roztoku do úrovně kůže a vyloučení možnosti úniků tekutiny pod kůži (Herles, Prusík).

Kontrolní psy jsme museli rozdělit na dvě skupiny, z nichž jedna dostávala pentothalnatrium, proto, že podle názoru některých autorů musí intravenózně vpravená narkotika tohoto druhu způsobovat poškození jaterního parenchymu, který je odbourává (Frank). Walton, Salgado a Egner zjistili pomocí protrombinového času a zjišťování bilirubinu v seru poškození jater u psů, kteří dostávali po 14 dní dvakrát denně injekci 20 mg pentothalnatria pro 1 kg váhy. Upozornili na to, že poškození jater může být způsobeno přechodnou hypoxemií během narkosisy a že u zvířat s předem jinak nepoškozenými játry došlo vždy k uzdravení. U našich kontrolních psů jsme nepozorovali žádné příznaky poškození jater. Snad proto, že dávka pentothalnatria byla v našich pokusech menší (15–17 mg na 1 kg váhy) současně byla i podstatně menší frekvence injekcí. U pokusných psů by pak případné prohloubení poruchy vyvolané tetrachlormethanem bylo jen vítáno.

Vcelku můžeme konstatovat, že thymolová reakce reagovala citlivěji a také jednoznačněji než resorpce solného pupene. I když zatím nemáme všeobecně platné normální a patologické hodnoty této reakce u zvířat, přesvědčila nás o její citlivosti dynamika jejího vývoje u zvířat pokusných a kontrolních. Nedovedeme vysvětlit větší rozptyl hodnot a jejich snížení u obou skupin psů kontrolních na počátku pokusu. Snad se zde uplatňovaly vlivy sezónní nebo výživa. Thymolová reakce sama však nemůže mít pro diagnostiku hepatitid u zvířat rozhodující význam, protože její změny nemusí mít podklad jen ve funkci jaterní. Přesvědčili jsme se o tom u králíků, kteří trpěli třeba jen malými hnisavými procesy v podkoží, vznikajícími dosti často po pokousání. Zde došlo vždy k zvýšení hodnot thymolové reakce a po lokálním ošetření abscesu (otevření) hodnoty opět rychle klesly. Je nutno poznamenat, že i tetrachlormethan vyvolával při podkožní aplikaci hnisavé procesy, což je v souhlase s literárními údaji.

Použití thymolové reakce k diagnostice by přicházelo v úvahu ve veterinárních nemocnicích. Reakci bude však třeba podrobit ještě širšímu studiu, zejména pak v rámci komplexního vyšetřování krevního sera jednotlivých druhů zvířat. V našich pokusech se projevila druhová rozdílnost v obsahu lipoproteinů v krevním seru různou intenzitou zákalů u obou použitých druhů zvířat. U králíků byly hodnoty zákalů nízké, v průměru přibližně šestkrát nižší než u psů. Tento zjev je možno považovat za souhlasný s literárními údaji. Transport lipidů obstarávají hlavně beta-globulinová a alfa-globulinová frakce krevních bílkovin (Wuhrman, Wunderly, Oncley, Pospíšil a j.), u zdravého psa též albumin-alfa-globulinová frakce (Fasoli). Srovnáme-li poměr obou frakcí u králíků a u psů podle údajů Schermerových, vidíme, že u králíků představují obě frakce pouze 16,3 % serových bílkovin, u psů však 41,7 %. Poměr pouhých beta-globulinů u králíků a psů je 9,6 % : 25,4 %.

Velmi nízké hodnoty zákalů u králíků při ředění 0,1 ml sera na 6 ml thymolového reagensu nás přiměly použít ředění 0,1 ml sera na 4 ml thymolového

reagens. Toto ředění však bylo opět dosti nevýhodným u psů, kde zákal byly velmi intenzivní.

Konečně je třeba konstatovat, že v dalším výzkumu by bylo vhodné používat jako kontrolní metody též papírovou elektroforesu nebo jiné metody, které by daly přehled o dynamice albuminů a globulinů, jejichž vzájemný poměr se významně podílí na koloidně-osmotických poměrech krve.

Použití chloroformu k poškození jater podle metody Black-Schaffferovy se nám neosvědčilo. Podle literárních údajů měla vyvolat použitá dávka centrální nekrosy jaterních lalůčků. Přesto, že byla injekce několikrát opakována, očekávaný výsledek se nedostavil a omezil se pouze na nápadně zvýšenou thesauraci glykogenu v játrech.

Souhrn

Byla zkoumána možnost využití resorpce solného pupene k diagnostice jaterních afekcí ve veterinární medicíně.

Z výsledků získaných na laboratorních zvířatech vyplynulo, že resorpce solného pupene u dospělých klinicky zdravých zvířat podléhá velké variabilitě. Tím vzniká nepříznivá situace pro stanovení hodnot patologických. Příznivější základna pro využití tohoto testu se zdá být u zvířat mladých, kde je značná uniformita výsledků.

Experimentální poškození jater tetrachlormethanem v podstatě potvrdilo závěry, získané posouzením výsledků u zvířat klinicky zdravých. Ani v krátkodobých ani v dlouhotrvajících pokusech s tetrachlormethanem, kdy bylo dosaženo až precirhotických stavů jater, nevykázaly hodnoty testu podle McClurea a Aldricha diagnosticky použitelné výsledky.

Chloroform, použitý podle Black-Schaffferovy metody k alteraci jater, se u králíků neosvědčil.

Thymolová reakce v Pospíšilově modifikaci se osvědčila jako citlivá kontrolní metoda funkce jaterní. Její eventuální využití ve veterinární diagnostice vyžaduje však ještě další studium.

Test podle McClurea a Aldricha je třeba ještě prověřit na klinickém materiálu, větších druzích hospodářských zvířat a zejména pak u mladých zvířat, než bude možno definitivně posoudit jeho použitelnost ve zkoumaném směru.

Literatura

1. Böhm R.: „Struktura kůže králíka.“ Disertační práce, Vys. šk. veterinární, Brno, 1950. — 2. Dalmatov M. K., Žuravel A. A., Koropov V. M.: „Patologičeskaja fiziologija sel'skochozjajstvennych životnych.“ Moskva, 1955. — 3. Domanský F.: „Zákalové reakce ve veterinární medicíně.“ Spisy vet. fak., I., 1-6, 6, 1953. — 4. Fasoli A.: „Serové lipoproteiny při experimentálním diabetu.“ Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 4, 652, 1954. — 5. Frank A.: „Zur Bewertung von Leberfunktionsprüfungen.“ Helvetica chirurgica acta, 18, 4/5, 421, 1951. — 6. Homolka J.: „Chemická diagnostika v dětském věku.“ Stát. zdrav. nakl., Praha, 1956. — 7. Hořejší J.: „Choroby jaterní.“ I, II. Vědecké nakladatelství J. Tožička, Praha, 1947. — 8. Hořejší J., Slavík K.: „Základy chemického vyšetřování v lékařství.“ Stát. zdrav. nakl., Praha, 1953. — 9. Král F.: „Interní medicína veterinární.“ Brno, skripta, 1946. — 10. Lazarev N. V.: „Vosproizvedeniye zabojevanij u životnych dlja experimentalno-terapevtičeskich issledovanij.“ Medgiz, Leningrad, 1954. — 11. Mach P.: „Pokus o stanovení šíře Weltmanova spektra u klinicky zdravých psů.“ Veterinářský časopis, 1, 16, 1956. — 12. Mach P., Tihelka J., Kárník J.: „Po-

kus o srovnání výsledků“ acid precipitable globulin (APG) a modifikované kadmiumsulfátové reakce (CDR) s výsledky Weltmannovy reakce (WER) v seru skotu.“ Veterinární medicína, 11-12, 813, 1956. — 13. Mc Clure W. B., Aldrich C. A.: „Die intradermale Salzlösungsprobe.“ Klinische Wochenschrift, 6, 25, 1198-1201, 1927. — 14. Palounek V.: „Použitelnost thymolové zákalové reakce a Grossovy zkoušky při klinickém hodnocení u skotu.“ Disert. práce, Veterinární fak., Brno, 1955. — 15. Pospíšil M.: „Zákalový test v seru laboratorních zvířat.“ Čsl. fyziologie, IV, 1, 93-97, 1955. — 16. Pospíšil M.: „K otázce zákonitosti koloidní lability sera z hlediska mechanismu zákalových reakcí.“ Rukopis. — 17. Pospíšil M., Sláma J.: „Přímé hodnocení celkových lipidů v seru zákalovou metodou.“ Vnitřní lékařství, I, 5, 360, 1955. — 18. Oncley J. L.: „Fractionation and Properties of the Proteins of Normal Human plasma. Plasma proteins, II, C, Illinois, USA, 1950. — 19. Prusík B., Herles F.: „Umělý pupen solný a pituitrinový.“ I, II. Čas. lék. čes. 25, 1051-1054, 1927; 26, 1092-1095, 1927. — 20. Rademacherová J.: „Příspěvek k zjištění upotřebitelnosti reakce Takata-Ara a zákalové reakce s destilovanou vodou v interní medicíně skotu.“ Disert. práce, Veterinární fak., Brno, 1955. — 21. Schermer S.: „Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere.“ Leipzig, 1954. — 22. Siňov A. V.: „Klinická diagnostika vnitřních chorob domácích zvířat.“ SAV, Bratislava, 1955. — 23. Šochor N. J.: „Patologičeskaja fiziologija.“ Ogiz-Selchozgis, Moskva, 1947. — 24. Tichý J.: „Weltmannova vložková reakce a kadmiumsulfátová reakce a možnosti jejich využití v klinickém vnitřním lékařství skotu.“ Diplom. práce, Veterinární fak., Brno, 1955. — 25. Uher V.: „Funkční pathologie.“ I, II. Blansko, 1948. — 26. Vacek T.: „Srovnávací fyziologie zvířat domácích a ostatních obratlovců.“ Brno, 1937. — 27. Wuhrman-Wunderly: „Die Bluteiweißkörper des Menschen.“ Basel, 1947. — Citace: Walton, Salmado a Egner podle 4. Van den Bergh podle 6. Loeper a Siguier, Lemaire a Varay, Olmer, Barral a Aulagnier, Voisin, Miscea, Halita, Caroli, Cachera, Deparis podle 7. Mc Clure a Aldrich podle 7 a 19. Mešerská podle 10. Olmsted, Lash podle 13. Walle a Hyerry podle 22. Růžicka podle 23.

О возможности использования резорбции бугорка, вызванного физиологическим раствором (проба по К्लюре и Альдриху), для диагностики гепатитов в ветеринарной медицине I.

Авторы испытывали возможность использования резорбции бугорка, вызванного физиологическим раствором, в ветеринарной медицине для диагностики печеночных заболеваний.

Результаты, полученные на основании опытов с лабораторными животными, показывают, что резорбция бугорка, вызванного физиологическим раствором, у взрослых, клинически здоровых животных подвергается большой изменчивости. Вследствие этого возникает неблагоприятная обстановка для определения патологических данных. Более благоприятный базис для использования этой пробы создается, кажется, у молодых животных, у которых получают более однородные результаты.

Экспериментальное повреждение печени тетрахлорметаном в сущности подтвердило выводы, вытекающие из обсуждения результатов у клинически здоровых животных. Как при кратковременных, так и при долговременных опытах с тетрахлорметаном, путем которых были вызваны даже прециррозы печени, данные пробы по К्लюре и Альдриху не дали результатов, которые диагностически можно использовать.

Хлороформ, примененный по методу Блек-Шаффера для альтерации печени, у кроликов не оказался пригодным.

Тимоловая реакция в модификации Поспишила оказалась пригодной как чувствительный метод для контроля функции печени. Использование ее в ветеринарной медицине для диагностики требует, однако, еще дальнейшего изучения.

Пробу по К्लюре и Альдриху необходимо еще проконтролировать на клиническом материале, более крупных видах сельскохозяйственных животных, в особенности на молодняке, прежде чем можно будет окончательно оценить ее пригодность в испытываемом направлении.

On the Possibility of Utilizing the Salt Blister Resorption (McClure-Aldrich's Test) for Diagnostics of Hepatitis in Veterinary Medicine

The possibility of utilizing the blister resorption for diagnosing the liver lesions in veterinary medicine was investigated.

From the results acquired in laboratory animals the conclusion was made that there was a great variability in salt blister resorption in adult, clinically healthy animals. By this variability the determination of pathological values is disadvantageously influenced. A more propitious basis for utilizing this tests seems to be in young animals, in which the results appear to be fairly uniform.

By experimental injury of the liver by tetrachlormethan the conclusions gained by judging the issues in clinically healthy animals were essentially confirmed. In experiments with tetrachlormethan, which were either of short or of long duration and in which even precirrhotic conditions of the liver had been attained, the values according to McClure and Aldrich's test gave no results that could be utilized for diagnosis.

Chloroform, applied for the alteration of the liver according to Black-Schaffer's method, proved as inefficient in rabbits.

The thymol reaction in Pospíšil's modification proved to be a sensitive method of checking the function of the liver. Nevertheless, further investigation is needed to find out whether it could be utilized in veterinary diagnostics.

It is on the clinical material, bigger species of domestic animals and especially on younger animals that McClure-Aldrich's test should be checked before it is possible to judge definitely its applicability for the problems investigated.

Über die Möglichkeit der Ausnützung von Quaddelresorption (der Test nach McClure und Aldrich) für Hepatitidendiagnostik in der Veterinärmedizin

Es wurde die Möglichkeit der Ausnützung von der Quaddelresorption für die Diagnosestellung der Leberaffektionen in der Veterinärmedizin untersucht.

Aus den bei den Laboratoriumstieren gewonnenen Ergebnissen ergab es sich, daß die Quaddelresorption bei erwachsenen, klinisch gesunden Tieren großer Variabilität unterliegt. Dadurch entsteht eine ungünstige Situation für die Bestimmung der pathologischen Werte. Eine günstigere Grundlage für das Ausnützen dieses Testes scheint bei jüngeren Tieren zu sein, bei denen es eine erhebliche Uniformität der Ergebnisse gibt.

Die experimentelle Leberbeschädigung mit Tetrachlormethan hat grundsätzlich die durch Beurteilung der Ergebnisse bei klinisch gesunden Tieren gewonnenen Schlüsse bestätigt. Weder in kurz-, noch in langfristigen Versuchen mit Tetrachlormethan, bei denen sogar praezirrhotische Zustände erzielt worden waren, haben die Testwerte nach McClure und Aldrich diagnostisch brauchbare Ergebnisse erwiesen.

Das Chloroform, das nach der Black-Schaffer's Methode zur Alteration der Leber gebraucht worden war, hat sich bei Kaninchen nicht bewährt.

Der McClure-Aldrich'sche Test sollte daher noch an dem klinischen Material, größeren Arten von Haustieren und besonders an den Jungtieren überprüft werden, bevor es möglich sein wird, seine Brauchbarkeit in dieser Richtung der Untersuchung endgültig zu beurteilen.

Socialistická věda pomáhá socialistické praxi

Nezapomeňte si zajistit

PROTOKOL Z KONFERENCE O TUBERKULOSE SKOTU

Hlavním článkem živočišné výroby je dnes skot. Je sice všeobecně uznáváno, že klíčovou otázkou při přechodu našeho zemědělství k velkovýrobě je zachování stavu dojníc a zvýšení jejich užitkovosti, ale k vyřešení této otázky se dosud nepřistoupilo komplexně. Nezbytnost komplexního postupu se ukazuje i z nutnosti náhrady nezdravých krav, trpících hlavně TBC, co nejrychleji jedinci zdravými. O uvedené otázce bylo jednáno na mezinárodní konferenci ČSAZV o tuberkuloze skotu.

Tlumení tuberkulózy skotu s cílem jejího úplného vymýcení není už dnes problém výlučně vědecký, ale především hospodářský a organizační.

Dosáhnout toho co možno nejdříve, je jeden z nejzávažnějších úkolů, který je nutno řešit nejen se zřetelem na důvody hospodářské, ale i z důvodů veřejně zdravotních. ČSAZV vzhledem k závažnosti této otázky rozhodla, aby z uvedené konference vyšel stručný protokol, ve kterém budou zpracovány závažné podněty a připomínky k odbornému zdolávání tuberkulózy. Upozorňujeme na tento protokol, který vyjde ve druhém čísle Věstníku ČSAZV, všechny pracovníky našeho zemědělství, a žádáme je, aby laskavě upozornili na vydání protokolu i své nejbližší spolupracovníky.

Kromě protokolu budou uveřejněny ve druhém čísle Věstníku ČSAZV výsledky výzkumu v inseminaci a biologii rozmnožování hosp. zvířat a vyřešené vědeckovýzkumné úkoly z úseku živočišné výroby. Cena výtisku Kčs 8,—.

Objednávky zasílejte na adresu

Československá akademie zemědělských věd

propagační referát vydavatelství

Praha XII, Slezská 7.

Sborník ČSAZV - Veterinární medicína vydává Československá akademie zemědělských věd. Uveřejňuje studie, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu v oboru veterinární medicíny. — Vychází měsíčně. — Celoroční předplatné 120 Kčs. — Redakce Praha 12, Slezská 7, telefon 577-51, 575-41. — Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky přijímá každý poštovní úřad i doručovatel. A-12062

NĚKTERÉ VÝZNAMNĚJŠÍ PRÁCE V PŘÍŠTÍM ČÍSLE SBORNÍKU

VETERINÁRNÍ MEDICINA

přináší práce zaměřené k provedení a potírání nejrozšířenějších chorob skotu a prasat. Jsou to: MVDr. J. Boháč a kol.: „Rekonvalescentní a hyperimunní séra u slintavky a kulhavky“, MVDr. B. Kaláb: „Biochemické studie o července prasat“, MVDr. L. Pivník a kol.: „Listeriosa ošipaných so súčasnou izolaciou viru chripky u ošipaných a potkanov“ aj.

CO JE UVEŘEJNĚNO V OSTATNÍCH SBORNÍCÍCH Č. 2

Sborník „Rostlinná výroba“ uveřejňuje práci L. Pavla: Některé poznámky k roentgenografické identifikaci půdních jílových minerálů „práškovou“ Debyl-Scherrerovou metodou s válcovou komůrkou“, dále práci J. Šobka „Ořešákové oblasti“, J. Šedivého „Aklimatisace mšicovníka vlnatkového“ a V. Veselého „Využití některých nedonošených píceňin v krátkodobých luskobílných směskách — I. část — oblast kukuřičná“.

Sborník „Živočišná výroba“ obsahuje tématický materiál k problémům chovu ovcí. Mimořádné pozornosti zaslouží tyto práce: Dr. Došlého „Využití beranů texel při křížení hrubovlnných valašek“, Ing. V. Eremiáše „K otázce jarní bonitace jehňat při kontrole dědičnosti beranů“ a řada dalších příspěvků z oboru plemenářství.

Sborník „Zemědělská ekonomika“ přinese v dvojčísle 2—3 práci Inž. Františka Myslivečka „Zaostávání československého zemědělství a cesty jeho rozvoje“, dále práci Dr. Inž. Petra Rastokina „Vztah mezi tržní produkcí, intenzitou a přírodními podmínkami zemědělské výroby v JZD se zvláštním zřetelem na diferenční rentu“ a Inž. M. Svobody „Vplyv organizácie odchodu a mechanizácie na potrebu pracovných sil v živočišnej výrobe“ a konečně práci Inž. Kožíška „K otázce zemědělské dopravy“.

Sborník „Lesnictví“ přináší práce R. Čvančary „Zhodnocení provedení pokusu s modřínem polským“, dále Jiřího Michálka „Vejmutovka z hlediska biologických a ekologických požadavků“ aj.

O P R A V A

Ve článku prom. lék. M. Polákové „Adipát piperazinu při askaridiose a heterakidose slepic“ uveřejněném v 12. čísle Sborníku Veterinární medicína, strana 867, 18. řádka se shora má býti uveřejněno: Místo: „v dávce 2 g na 1 litr pitné vody...“ správně: „v dávce 20 g na 1 litr pitné vody...“. Prosíme čtenáře, aby si toto místo laskavě opravili.

R e d a k c e

