

6/13

SBORNÍK

ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Veterinární medicina

3✓

ROČNÍK 3 (XXXI) — PRAHA, BŘEZEN 1958

CENA 10 Kčs

VETERINÁRNÍ MEDICINA

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

Obsah — Содержание — Content — Inhalt

Kaláb D., Novotná S.: Biochemické studie o července vepřů I. Použití papírové chromatografie k diferenciaci kmenů červenky vepřů I. Применение бумажной хроматографии к дифференциации некоторых штаммов рожи свиней The Biochemical Studies on the Swine Erysipelas I. Eine biochemische Studie über Schweinerotlauf I.	149
Pivník L., Mesaroš E., Vařejka F.: K diferenciální diagnostice afekcí centrálního nervového systému u ošípaných III. Listerióza ošípaných so súčasťou izoláciou vírusu chrípky (typu Shope) z ošípaných a potkanov К дифференциальной диагностике растройства центральной нервной системы у свиней On the Differential Diagnosis of Affections of the Central Nervous System of Pigs III. Listeriosis of Pigs with Simultaneous Isolation of Influenza Virus (Shope Type) of Pigs and Browns Rats	161
Boháč J., Barek B., Dombek R., Lázníčka F.: Rekonvalescentní a hyperimunní hovězí séra u slintavky a kulhavky V. Seroneutralizační testy ke zjišťování kvality profylaktických komerčních sér Реконвалесцентные и сверхиммунные яшурные сыворотки крупного рогатого скота Fout-and-Mouth Disease Convalescent and Hyperimmune Cattle Sera Rekonvaleszenz- und hyperimmune Rinderseren bei Maul- und Klauen-senche	179
Koudela K.: Účinek streptomycinu při pokusně vyvolané enzootické bronchopneumonii selat Действие стрептомицина при вызванной в опытном порядке энзоотической бронхопневмонии поросят Effect of Streptomycin in Experimentally Caused Enzootic Bronchial Pneumonia of Pigs	187
Bondy R.: Zhodnocení nálezu „Pneumocystis Carinii“ v humánní a veterinární medicíně Значение обнаружения „Pneumocystis Carinii“ в медицине и ветеринарии Evaluation of Finding „Pneumocystis Carinii“ in Human and Veterinary Medicine	199
Zajíček D.: K otázce hepatikolozy u našich zajíců К вопросу гепатиколоза у наших зайцев On the Question of Hepaticolosis in Hares in CSR Zur Frage der Hepaticolosis bei unseren Hasen	211

Biochemické studie o července vepřů

I. Použití papírové chromatografie k diferenciaci kmenů červanky vepřů

Биохимическое изучение рожи свиней

The Biochemical Studies on the Swine Erysipelas

Eine biochemische Studie über Schweinerotlauf

D. KALÁB, S. NOVOTNÁ, technická spolupráce

Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané, ředitel MVDr. Karel Rašín

Došlo dne 1. XI. 1957

Úvod

Výroba vysoce účinných imunních sér a vakcín proti onemocnění červenkou, které působí vážné hospodářské ztráty, hlavně u vepřového dobytka, je úzce spjata s otázkou výběru imunogenních kmenů červenkových bakterií.

Specificky odlišné antigenní typy různých kmenů *Erysipelothrix rhusiopathiae* popsali již Topley, Wilson, Watts a Atkinson. Serologickými metodami prokázali autoři u zkoumaných kmenů vesměs tři rozdílné typy červenkových antigenů. Výzkumy však byly zaměřeny především k otázkám vztahů mezi antigenním typem bakterií, jejich patogenitou, virulencí, druhem živočišného hostitele a geografickým rozmístěním zdrojů infekce. Sérologickými metodami později rozřídili červenkové kmeny též Dedié, Roots a Venske na tři skupiny, jež však nejsou totožné se zmíněnými třemi skupinami shora uvedených autorů. Červenkové kmeny skupiny A mají podle Dedié imunogenní schopnosti jen v živém stavu a obsahují především antigeny A a G, jež jsou bez imunisačních schopností. Vedle toho tato skupina obsahuje též menší množství imunisujícího antigenu B. Kmeny skupiny B si naproti tomu ponechávají imunisační schopnosti i po inaktivaci nebo usmrcení a obsahují hlavně velké množství B antigenu, vedle menších množství antigenů G a A, z nichž poslední někdy nemusí být vůbec přítomen. Skupina kmenů označených N, neobsahuje antigeny A ani B. Jsou tedy pro imunisaci a výrobu vakcín vhodnější imunogenní kmeny červanky ze skupiny B. Autoři rovněž poukazují na přímou souvislost mezi specifickou imunogenní substancí B a faktorem odpovědným za haemaglutinaci slepičích červených krvinek. Na tuto souvislost upozornili též Dinter a Bakos. Traubovy poznatky o inaktivovaných vakcínách připravovaných z kultur některých vybraných kmenů červanky vepřů potvrzuje a dále rozvíjí ve svých pracích o imunisujícím

antigenu červenky Gledhill. Autolytickými pochody v bouillonových kulturách červenkových bakterií se zabýval Radvila. Poukazuje na lepší imunogenní schopnosti kmenů s vysokou autolytickou aktivitou, zejména pokud jde o výrobu účinnějších adsorbátových vakcín. K výrobě adsorbátové vakcíny proti července vepřů použil Manninger R-forem červenkových bakterií, o nichž tvrdí Gelenczei a Szent-Iványi, že působí haemaglutinaci slepičích erythrocytů, na rozdíl od S-forem, u nichž tuto schopnost nenalezli. Opačný názor vyslovil Gledhill, který přisuzuje při přípravě proti-červenkové vakcíny velký význam právě S-formám červenkových bakterií. Sokol a spolupracovníci upozorňují při výběru vakcinových kmenů červenky na přímý vztah mezi oedemogenní a imunogenní aktivitou červenkových bakterií. Biochemickým výzkumem metabolismu červenkových bakterií na modifikovaném Hottingerově bouillonu se zabývali Zimmermann a Kludas. Specifický růstový faktor pro *Erysipelothrix rhusiopathiae* našli autoři metodou papírové chromatografie živné půdy v jednoduchém peptidu, jež označili — peptid B —. Ve své práci uvedli kromě způsobu přípravy a chemické analýsy též vliv zmíněného peptidu B na růst některých kmenů červenky vepřů. Mezi rostoucí koncentrací tohoto peptidu a zvýšením tvorby imunitujícího antigenu zkoumaného kmene však autoři nenalezli přímý vztah, stejně jako nezjistili rozdíl v utilitaci peptidu mezi červenkovými kmeny skupiny A a B.

V naší práci se zabýváme chromatografickým sledováním růstu řady kmenů červenkových bakterií na různých živných půdách, zejména pak na masopeptonovém bouillonu s normálním koňským krevním sérem a glukosou, kde jsme našli kmenově specifické rozdíly v metabolismu červenkových bakterií.

Metodika

K pokusům jsme použili 228 kmenů červenky vepřů, uchovávaných na šikmém agaru v chladícím boxu bez přístupu světla. Z rozmanitých druhů bouillonových živných půd jsme pro závěrečné pokusy použili živné půdy tohoto složení: koňský bouillon (obsahující 170 mg % celkového dusíku), 2 % Bacto-peptonu (Organofarma — původ pankreatický), 0,2 % NaCl a 0,3 % Na_2HPO_4 , po sterilizaci se přidá asepticky 10 % koňského krevního séra a 0,5 % glukosy na původní objem bouillonu. Optimální výsledné pH této živné půdy je 7,7. Kultivace se provádí ve zkumavkách obsahujících 10 ml sérového bouillonu s glukosou po přeočkování červenkových kmenů se šikmého agaru. Půda se pak inkubuje 48 hodin při 37° C bez přístupu světla. Poté se provádějí zkoušky čistoty porostu makroskopickou prohlídkou a výsevem kultury na misky s normálním a krevním agarem. Výsledek zkoušek se hodnotí po 24 hodinách. Haemaglutinační testy jsme provedli metodou podle Dintera a Bakose za použití 1 % suspense promytých slepičích krvinek ve fyziologickém roztoku. Pro značnou kolísavost výsledků haemaglutinačních testů, zejména u postupně rostoucích ředění zkoumané červenkové kultury jsme se rozhodli provést všechny haemaglutinační testy uvedené v této práci výhradně s původní, neředěnou červenkovou kulturou. Na špatnou reprodukovatelnost haemaglutinačních testů při výběru vakcinových kmenů *Erysipelothrix rhusiopathiae* upozornil již dříve také Gledhill.

Chromatografické analýsy živných půd jsme prováděli mnohavýsečovou metodou podle Giriho a Rao, na filtračních papírech Whatmann č. 1.,

sestrižených do čtverců 23×23 cm. Uprostřed papíru byl tužkou vyznačen start chromatogramu kruhem o průměru 4 cm. V tomto kruhu je nástřih 2 cm pro papírový knot, jenž nasává vyvíjecí směs rozpustidel. Chromatogramy jsme vyvíjeli dvakrát za sebou ve směsi n-butanolu, kyseliny octové a vody (v poměru 4 : 1 : 5). Detekce aminokyselin a peptidů byla provedena 0,1procentním roztokem ninhydrinu v acetonu.

Na jeden chromatogram jsme nanášeli až 10 vzorků. Pro chromatografické sledování změn v obsahu glukosy v živných půdách po kultivaci jsme použili kruhových papírových filtrů Reve Angel č. 210 s obdobným startem jako pro aminokyseliny a peptidy. Vyvíjení jsme provedli stejným rozpouštědlovým systémem a skvrny glukosy jsme detekovali 0,5procentním kyselým alkoholickým roztokem benzidinu (10). Chromatografii jsme prováděli mezi dvěma stejně velikými víčky Petriho misek o průměru 20 cm.

Pokusná část

I.

V první části svých pokusů jsme sledovali růst bakterií červenky vepřů na různých živných půdách. Všimli jsme se hlavně makroskopických změn zákalu půd, jako ukazatele hustoty bakteriálního porostu, změn *pH* živných půd během kultivace a hlavní pozornost jsme věnovali sledování změn ve složení živných půd pod vlivem metabolismu bakterií. Tyto změny jsme studovali chromatografií na papíře. K orientačním pokusům jsme použili jednak nehaemaglutinujících kmenů červenky vepřů ze skupiny domácích terénních kmenů, jednak zahraničních kmenů určených k výrobě adsorbátové vakciny a konečně tuzemských haemaglutinujících kmenů červenky vepřů, vybraných v roce 1950 v Biovetě v Ivanovicích z terénních kmenů. Orientační pokusy jsme provedli na následujících živných půdách:

1. bouillon z koňského masa, bez přísad,
2. bouillon obohacený 0,5 % glukosy,
3. bouillon obohacený 0,5 % peptonu,
4. bouillon obohacený 2 % peptonu,
5. bouillon obohacený 2 % peptonu a 0,5 % glukosy,
6. bouillon obohacený 2 % peptonu a 10 % norm. koňského séra,
7. bouillon obohacený 2 % peptonu, 10 % norm. koňského séra a 5,0 % glukosy.

Základní bouillon bez přísad obsahoval 170 mg % celkového dusíku. Pokusy jsme provedli s následujícími kmeny červenky vepřů: HK 32/55, O 3/56, O 11/56 (nehaemaglutinující terénní kmeny), Ha IX., X., XI., XII. (tuzemské haemaglutinující kmeny) a B₅, B₉, B₆₄ (německé kmeny určené k výrobě adsorbátové vakciny proti července vepřů). Porosty jsme posuzovali po 24 a 48 hodinách růstu. Intensitu zákalu porostu jsme hodnotili subjektivně makroskopicky tak, že porost prakticky nerozeznatelný od čiré živné půdy v kontrolní zkumavce jsme označili 0, porost velmi slabý 1, slabý 2, středně silný 3 a velmi silný porost 4. Obdobně jsme hodnotili též haemaglutinační testy, kde 0 značí negativní haemaglutinační reakci a 4 maximální haemaglutinační reakci. Změny v chemickém složení zkoumaných bouillonů jsme sledovali na chromatogramech tam, kde je v ninhydrinovém spektru pás peptidu B. Úplné vymizení peptidu B z chromatogramu bouillonu jsme označili znaménkem minus —, tam kde pás

I. Vzhled bakteriálního porostu po 24 a 48 hodinách růstu

Půda č.	Kmeny									
	HK 32/55	0 3/56	0 11/56	Ha IX.	Ha X.	Ha XI.	Ha XII.	B 5	B 9	B 64
1.	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2
	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2.	2	2	2	3	3	3	3	3	2	3
	01	2	2	2	2	2	2	2	2	2
3.	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3
	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2
4.	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3
	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1
5.	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2
6.	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
7.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Kontrola: 0										

II. Haemaglutinace po 24 a 48 hodinách růstu

Půda č.	Kmeny									
	HK 32/55	0 3/56	0 11/56	Ha IX.	Ha X.	Ha XI.	Ha XII.	B 5	B 9	B 64
1.	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.	0	0	0	4	4	0	0	4	3	3
	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0
3.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4.	0	0	0	4	4	0	0	4	3	4
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5.	0	0	0	4	4	1	1	4	2	4
	0	0	0	3	3	1	1	3	1	2
6.	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4
	01	0	0	4	4	4	3	1	1	1
Kontrola: 0 Půda č. 7. = 0 pro všechny kmeny.										

III. Utilisace peptidu B po 24 a 48 hodinách růstu

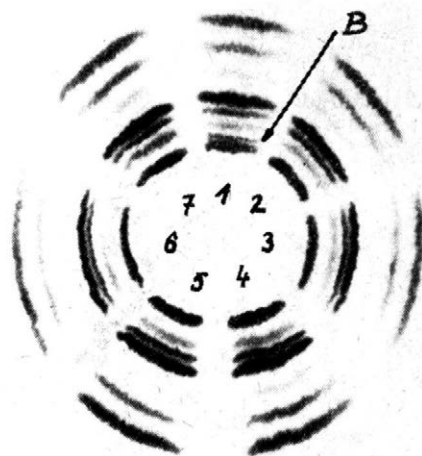
Půda č.	Kmeny									
	HK 32/55	0 3/56	0 11/56	Ha IX.	Ha X.	Ha XI.	Ha XII.	B 5	B 9	B 64
4.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7.	+	+	+	—	—	—	—	±	—	±
	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Kontrola: +										

peptidu B na chromatogramu živné půdy zůstal, zapsali jsme znaménko plus +. Neúplné vymizení peptidu B jsme označili znaménkem plus minus ±. Vzhled chromatogramu ukazuje obraz 1. Výsledky pokusů jsou shrnuty v tabulkách 1 až IV. U živných půd č. 1 až č. 3 neuvádíme v tabulce III výsledky utilisace peptidu B, neboť jeho množství je zde velmi malé. Tato skutečnost se projevuje i v řídkém porostu bakterií červenky na zmíněných půdách.

Z provedených orientačních pokusů plynou tyto závěry:

1. Nejcharakterističtější projevy růstu, haemaglutinace, utilisace peptidu B a změny *pH* se projevují na půdách č. 4 až 7, obsahujících kromě peptonu ještě normální koňské sérum a glukosu. Zákal působený v půdách bakteriálním porostem dosahuje maximální hustoty po 24 hodinách růstu a do 48 hodin se obvykle projasňuje, při čemž je většinou možno pozorovat na dně zkumavek tvorbu sedimentu (tab. I). Kromě sedimentace se podílí na projasňování zákalu působeného porostem též autolysa bakterií. Rozdíl v hustotě zákalu porostu je sice mezi jednotlivými skupinami kmenů patrný, není však nijak zvlášť typický.

2. Pokud jde o haemaglutinaci slepičích erythrocytů, působenou některými kmeny červenkových bakterií, je maximální po 24 hodinách růstu na půdách č. 5 a 6, obsahujících sérum nebo glukosu. Na půdě č. 7 haemaglutinační reakce nenastává, dochází jen k sedimentaci krvinek a změně barvy sedimentu z temně



Obr. 1

Chromatogram živné půdy č. 7.
Sektor 1 — živná půda bez porostu,
šipka označuje pás peptidu B.
Sektory 2—7, po 48 hodinách růstu
kmenů červenky vepřů Ha IX., X., B₅,
B₉, B₆₄. Peptid B úplně vymizel.

IV. Změny *pH* živných půd po 48 hodinách růstu

Půda č.	Kmeny	
	HK 32/55	Ha IX.
1.	7,2	7,3
2.	6,2	5,9
3.	7,3	7,2
4.	7,3	7,2
5.	6,7	6,2
6.	6,8	6,7
7.	5,8	5,5
Kontrola: 7,5	<i>pH</i>	<i>pH</i>

červené do šedozelené. Po 48 hodinách růstu je haemaglutinační reakce již znatelně slabší. Maximální haemaglutinační reakci u bakterií červenky veprů zjistili po 24 hodinách růstu také Radvila, Gelenczei a Szent-Iványi.

3. Hlavní pozornost jsme věnovali sledování utilisace peptidu B, jednotlivými kmeny bakterií červenky veprů. Na bouillonu č. 4, obsahující pouze 2 % peptonu, ukazuje chromatografická analýza po 24 hodinách růstu červenkové kultury kvantitativní eliminaci peptidu B z ninhydrinového spektra půdy. Naproti tomu na půdě č. 5, obsahující ještě 0,5 % glukosy, nevymizel peptid B v žádném případě.

Na půdě č. 6, s 10 % koňského séra je opět eliminace peptidu B kvantitativní již po 24 hodinách růstu bakterií. Na poslední půdě, č. 7, s 10 % séra a 0,5 % glukosy se ukazuje, že kmeny nehaemaglutinující ponechávají v půdě peptid B (proti kontrole bez porostu bakterií se zde intenzita pásu peptidu B na chromatogramu jen zanedbatelně oslabuje), zatím co kmeny haemaglutinující peptid B většinou kvantitativně eliminují (tab. III). Do 48 hodin se tento stav změnil jen na půdě č. 5 s 0,5 % glukosy, kde peptid B úplně vymizel u dvou haemaglutinujících kmenů Ha IX. a X., a na půdě č. 7 s 10 % koňského séra a 0,5 % glukosy, kde rovněž úplně vymizel peptid B u kmenů B₅ a B₆₄, u nichž po 24 hodinách růstu ještě nebyla eliminace peptidu B úplná. Dále se již stav proti analýze po 24 hodinách růstu nezměnil a zůstal týž i po 72,96 a 192 hodinách inkubace. Výsledky, jež jsme získali touto metodou na živných půdách č. 4 a 6, neobsahujících glukosu, se plně shodují s údaji v již zmíněné práci Zimmermannové a Kludsové (22). Novým poznatkem vyplývajícím z našich pokusů je vliv glukosy na utilisaci peptidu B v živných půdách č. 5 a č. 7, se sérem a glukosou. Jak jsme zjistili, je zejména půda č. 7 velmi vhodná k diferenciaci kmenů červenky veprů (viz tab. III) na základě odlišného metabolismu peptidu B po 48 hodinách růstu bakterií za přítomnosti glukosy. Haemaglutinující kmeny eliminují na této půdě peptid B kvantitativně za 48 hodin růstu, zatím co kmeny nejvíce haemaglutinující ponechávají v té době peptid B prakticky zcela nedotčen.

4. Změny *pH* živných půd po 48 hodinách růstu u 2 kmenů červenky veprů (tab. IV.), jako zástupců skupiny nehaemaglutinujících kmenů a kmenů haemaglutinujících, ukazují, že na půdách s glukosou je spád *pH* do kyselé oblasti značně prudší než na půdách bez glukosy, a že u obou druhů červenkových kmenů není tato změna stejná. Nejsilnější okyselení nastává na půdě č. 7, se

sérem a glukosou, kde je také nejmohutnější porost bakterií. K obdobným závěrům došel při svých pokusech se syntetickými půdami pro výrobu adsorbátové vakciny červanky vepřů i Hruška. Je velmi pravděpodobné, že negativní haemaglutinační reakce na půdě č. 7 je působena právě velmi silným poklesem pH do kyselé oblasti, neboť jak uvedli již Dinter a Bakos zaniká haemaglutinační reakce v prostředí silně kyselém o pH kolem 5, i v prostředí silně alkalickém, kolem pH 8. Je ovšem možné, jak uvedl Posejpal, že určitá haemaglutinační reakce by mohla nastat i na této půdě (č. 7) v důsledku velmi silného růstu bakterií červanky vepřů již v prvních hodinách inkubace a po 24 hodinách by již byla haemaglutinace negativní.

Provedené orientační pokusy byly základem naší další práce, zaměřené k diferenciaci všech nám dostupných kmenů červanky vepřů chromatografickou metodou, již jsme popsali, na půdě č. 7, obsahují 2 % peptonu, 10 % koňského séra a 0,5 % glukosy, kde nejvíce vystupují rozdíly v metabolismu jednotlivých kmenů červanky vepřů.

II.

Do pokusu jsme vzali 228 kmenů červanky vepřů, z nichž bylo 204 netříděných terénních kmenů a 24 speciálních kmenů, z nichž některé jsme získali ze zahraničí. V této speciální skupině kmenů bylo 12 tuzemských haemaglutinujících kmenů vybraných v roce 1950 v Biověte v Ivanovicích na Hané z terénních kmenů (Ha I. až Ha XII.), dále 4 německé kmeny B, určené k výrobě adsorbátové vakciny proti července vepřů (B₅, B₉, B₆₄ a B₆₉), 5 maďarských kmenů sloužících k týmž účelům (M-9-Z, M-17-B, M-15-Z, M-42-127, M-692-18) a konečně tři tuzemské kmeny používané k výrobě červankové kultury pro simultánní očkování vepřů (M, B, Z).

Kmeny jsme inkubovali 48 hodin na půdě č. 7, se sérem a glukosou, pak jsme provedli zkoušky čistoty porostů, změřili pokles pH živné půdy potencio-
metrem a provedli chromatografickou analýsu půdy pro každý kmen. Opakované pokusy (u některých skupin kmenů až šestkrát) daly stejné výsledky. Chromatogramy živných půd jsme hodnotili stejně jako v první části práce při orientačních pokusech. Znaménkem plus + jsme označili kmeny ponechávající peptid B v živné půdě nedotčen, znaménkem minus — jsme označili kmeny, jež peptid B zcela eliminovaly a konečně znaménkem plus minus ± jsme označili kmeny s kolísavými výsledky užití peptidu B. V tabulkách V a VI jsou výsledky pokusů shrnuty číselně a pro lepší přehlednost jsou číselné hodnoty přepočteny též na procenta.

Hodnoty pH živných půd po 48hodinovém růstu kmenů červanky vepřů na půdě č. 7, v rozmezí pH 5,0—6,0 jsou shrnuty v tabulce VII. Počet kmenů červanky je uveden v procentech, příslušejících určité hodnotě pH . Z tabulky je patrné, že jednotlivé skupiny červankových kmenů, mění pH živné půdy po 48 hodinách růstu různě. Kmeny, jež eliminují peptid B mají tendenci snižovat pH živné půdy do kyselé oblasti.

Současně s chromatografií peptidů a aminokyselin jsme prováděli chromatografickou analýsu glukosy v 48hodinové kultuře červanky vepřů. Analýsy ukazují, že fermentace glukosy není u všech kmenů stejná, což se jeví ostatně již v rozdílných hodnotách pH půd. Svrny glukosy na chromatogramech mají proti kontrole (živná půda bez porostu) více nebo méně sníženou intenzitu a v některých případech zcela mizí, což nasvědčuje úplnému rozštěpení glu-

kosy. Stupeň eliminace glukosy během růstu červenkových bakterií jsme oceňovali následujícím způsobem:

- 0 — skvrna glukosy na chromatogramu zcela chybí,
- 01 — skvrna glukosy je na hranici viditelnosti,
- 1 — skvrna slabá,
- 2 — skvrna střední intenzity,
- 3 — skvrna silná,
- 4 — skvrna glukosy v kontrolním bouillonu bez porostu.

V. Utilisace peptidu B tuzemskými netříděnými kmeny červenky vepřů

Kmeny	Počet kmenů	%
+	114	56
—	61	30
±	29	14
Celkem	204	100

VI. Utilisace peptidu B speciálními kmeny červenky vepřů

Kmeny	Počet kmenů	%
+	1	4
—	21	88
±	2	8
Celkem	24	100

Hodnoty % zaokrouhleny na celá čísla.

VII. Procentový počet kmenů červenky vepřů v rozmezí pH 5,0 až po 48 hodinách růstu

pH	% kmeny			
	kmeny			
	terénní +	terénní ±	vakcinové kmeny řady: Ha, B, M, a kmeny na kulturu: M, B, Z	terénní —
5,0	0	0	0	0
5,1	1	0	0	0
5,2	1	0	0	4
5,3	8	8	9	11
5,4	27	19	30	26
5,5	30	40	30	17
5,6	14	19	22	19
5,7	8	7	9	7
5,8	2	7	0	2
5,9	6	0	0	7
6,0	3	0	0	7

Hodnoty % zaokrouhleny na celá čísla.

Zvláště zajímavá je závislost procentového počtu kmenů červenky vepřů různých kategorií (viz kap. II., tab. V a VI) na stupni eliminace glukosy z živné půdy po 48 hodinách růstu. V tabulce VIII je zmíněná závislost zaznamenána pro oblast poklesu pH živné půdy na hodnoty 5,0–5,4.

VIII. Procentový počet kmenů červenky vepřů a stupeň utilisace glukosy po 48 hodinách růstu, v rozmezí pH 5,0–5,4

Stupeň utilisace glukosy	%		
	kmeny terénní +	kmeny terénní —	vakcinové kmeny: Ha, B, M a kmeny na kulturu: M, B, Z.
0	2	9	7
01	2	14	28
1	35	27	28
2	51	32	37
3	10	18	0
4	kontrola bez porostu		
Hodnoty % zaokrouhleny na celá čísla.			

Z tabulky VIII je patrné, že část kmenů haemaglutinujících (Ha – kmeny, německé B a maďarské M kmeny, kmeny na kulturu červenky M, B, Z) a terénních kmenů utilisujících peptid B, spotřebovává během svého růstu na půdě č. 7 též poměrně více glukosy než terénní kmeny, jež peptid B ponechávají nedotčen. Ve skupině speciálních haemaglutinujících kmenů jsme ne našli ani jediný, jenž by po 48 hodinách růstu vykazoval na chromatogramu živné půdy skvrnu glukosy, jejíž intenzitu bychom mohli označit čísly 3 nebo 4.

Diskuse

Rozdíly v metabolismu různých kmenů bakterií jsou jednou z hlavních příčin jejich rozdílných vlastností mikrobiologických a imunologických. Změnami ve složení živných půd je možno ovlivňovat procesy metabolismu různých kmenů bakterií tak, že rozdíly mezi nimi se projeví zvláště nápadnou měrou. Tak je tomu též u bakterií červenky vepřů, jejichž vlastnosti a životní pochody jsou na látkovém složení živných půd zvláště závislé (Gledhill, Hutner, Sokol). Popsané pokusy tuto skutečnost znovu potvrzují. Rozdíly v utilisaci peptidu B mezi různými kmeny bakterií červenky vepřů se stávají patrnými teprve za přítomnosti glukosy v živné půdě. Změny pH půd, jako následek štěpení glukosy mohou být jedněmi z příčin, proč trávení peptidu B není u všech kmenů stejné. Je však též možné, že imunogenní kmeny červenkových bakterií mají při tvorbě specifických antigenů zvláštní nároky na příjem glukosy, jako zdroje energie a současně na příjem dusíku z peptidu B pro syntézu své tělní hmoty. Tyto otázky však může objasnit teprve hlubší komplexní bakteriologický, biochemický a imunologický výzkum.

S těmito problémy souvisí též naše zjištění, že mezi kmeny utilisujícími za přítomnosti glukosy peptid B, byly i tři kmeny (M, B, Z, uvedené v seznamu speciálních kmenů v II. kapitole této práce), z nichž se vyrábí červenková kul-

tura spolehlivě použitelná při simultánním očkování k imunisaci organismu v živém stavu a patří tedy svým charakterem pravděpodobně do skupiny kmenů A podle D e d i é. Tato skupina kmenů však není antigenně jednotná, jak jsme uvedli již v úvodu této práce a obsahuje vedle antigenů A a G též určité množství B antigenu, takže jsou zde podmínky pro projev metabolických vlastností těchto kmenů směrem k vlastnostem kmenů skupiny B. Tak je možno vysvětlit i utilitaci peptidu B třemi našimi kmeny (M, B, Z). Toto vysvětlení pokládáme zatím za pracovní hypotézu, neboť jsme si je nemohli ověřit na větším počtu podobných kmenů. Krevní sérum je v živné půdě faktorem příznivě ovlivňujícím růst červenkových bakterií (H r u š k a, H u t n e r), na trávení peptidu B nemá brzdivý vliv. Jako nativní bílkovina však nemůže být přímým zdrojem výživy bakterií. Jeho funkce v živné půdě spočívá s největší pravděpodobností v inaktivaci produktů metabolismu (alifatické kyseliny) vznikajících během růstu mikrobů a blokujících posléze tento růst (H u t n e r, M á l e k). Dosavadní sérologické metody sloužící k výběru imunogenních kmenů červenky vepřů, o nichž jsme se zmínili v úvodu práce, mají společné nevýhody spočívající především ve zdoluhavosti a poměrně značné technické náročnosti provedení. Jejich praktický význam při sériovém zkoumání velkého počtu kmenů je proto značně omezen. Haemaglutinační testy jsou sice jednoduché a většinou autorů stále prováděné (D i n t e r, B a k o s, M a n n i n g e r, G e l e n c z e i a S z e n t - I v á n y i), zato však méně spolehlivé a méně reprodukovatelné (G l e d h i l l). Výsledky haemaglutinačních testů jsou ovlivňovány jednak samými bakteriemi, neboť jak tvrdí M a n n i n g e r, G e l e n c z e i a S z e n t - I v á n y i) jsou haemaglutinačně aktivní především R-formy červenkových bakterií, jednak drůbežím jedincem, jemuž byla krev odebrána, způsobem odběru krve a propírání krvinek, jejich stářím a v neposlední řadě pak i druhem živné půdy a jejím *pH* (D i n t e r, B a k o s, G l e d h i l l, R a d v i l a). Haemaglutinačními testy zjistil D i n t e r, že asi 12 % terénních kmenů červenky vepřů vykazuje zřetelnou haemaglutinační reakci (kmeny imunogenní). Naši metodou jsme zjistili (tab. V), že 30 % netříděných terénních kmenů červenky vepřů vykazuje utilitaci peptidu B za přítomnosti glukosy v živné půdě. Je tedy patrné, že výsledky D i n t e r o v ý c h haemaglutinačních testů se s našimi výsledky nekryjí. Z technických důvodů jsme sice neprovedli haemaglutinační testy všech námi zkoumaných kmenů červenky vepřů, avšak různost výsledků je na snadě, jak z důvodů nestejného počtu a charakteru červenkových kmenů sledovaných námi a jinými autory, tak hlavně z důvodů metodických (sérologické metody, haemaglutinace, chromatografie). Veliké rozdíly v počtu haemaglutinujících (imunogenních) kmenů červenky vepřů, zjišťované různými autory pomocí různých metod, jsou též patrně důsledkem okolností, že autoři obvykle neudávají v jaké formě (R, S) byly jimi studované kultury červenkových kmenů.

Ostatně není zcela jednoduchým problémem získat morfologicky čisté bouillonové kultury červenkových bakterií. Při našich pokusech jsme očkovali do pokusných bouillonů kolonie červenky vepřů ze šikmých agarů v jejich S-formách. Bližší morfologický rozbor narostlých bouillonových kultur jsme však neprováděli.

Metoda diferenciací kmenů červenky vepřů chromatografií 48hodinových kultur červenkových bakterií na papíře, jak jsme ji popsali ve své práci, je poměrně rychlá, jednoduchá a dává reprodukovatelné výsledky. Její hlavní předností proti jiným metodám je však skutečnost, že dává současně nahlédnout do metabolismu každého kmene, čímž získává exaktní charakter. Metoda je zvláště vhodná ke kontrole stálosti vlastností kmenů červenky vepřů používaných pro

výrobu adsorbátové vakcíny. K širšímu uplatnění popsané metody v praxi, bude nutno získané výsledky a poznatky rozšířit biologickými pokusy na zvířatech.

Souhrn

V práci je popsán vliv glukosy na metabolismus červenky vepřů na různých bouillonových živných půdách. U většiny zkoumaných kmenů jsme zjistili za přítomnosti glukosy v živné půdě omezení nebo zastavení utilisace peptidu B, sledovaného analysou živných půd papírovou chromatografií. V koňském masovém bouillonu s 2 % peptonu, 10 % koňského krevního séra a 0,5 % glukosy, dochází k úplné utilisaci peptidu B u 30 % netříděných terénních kmenů červenky vepřů a u 88 % haemaglutinujících kmenů určených převážně k výrobě adsorbátové vakcíny proti července. Tam, kde nastává utilisace peptidu B, je provázána současně zvýšenou fermentací glukosy a poklesem *pH* živné půdy do kyslejší oblasti. Naproti tomu 56 % terénních a 4 % vakcinových kmenů červenky vepřů, ponechává peptid B v této živné půdě prakticky nedotčen. Společně s tím také méně glukosy. Kolísavé výsledky utilisace peptidu B dává 14 % terénních a 8 % vakcinových kmenů červenky vepřů.

Z práce vyplývá možnost použití popsané metody k diferenciaci kmenů červenky vepřů při výběru imunogenních kmenů a kontrola vlastností kmenů červenky vepřů, používaných k výrobě adsorbátové vakcíny. Svým charakterem dává popsaná metoda možnosti hlubšího studia metabolismu též u jiných druhů bakterií.

Literatura

- Atkinson N.: Austr. J. exp. Biol., 19 (1941), 45-50. — Dedié K.: Mh. Vet. Med. 4 (1949), 7-12. — Dinter Z.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 10 (1948), 113-119. — Dinter Z., Bakos K.: Zschr. Hyg., 4 (1949), 129-203. — Gelenczei E., Szent-Iványi T.: Acta Vet. Hung., 1 (1951), 55-62. — Giri K. V., Rao N. A. N.: Nature, 169 (1952), 923. — Gledhill A. W.: J. Path. Bact., 57 (1945), 179-181. — Gledhill A. W.: J. gen. Microbiol., 1 (1947), 211-227. — Gledhill A. W.: J. gen. Microbiol., 7 (1952), 179-191. — Hais I. M., Macek K.: Papírová chromatografie, I. vyd., NČSAV, Praha (1954). — Hruška K.: Sborník ČAZ, 25 (1952), 541-552; ibid 26 (1953), 261-272. — Hutner W. A.: J. Bact., 43 (1942), 629-640. — Málek I.: Obecná mikrobiologie lékařská. I. vyd., SZN Praha (1953). — Manninger R.: Acta Vet. Hung., 1 (1951), 5-27. — Posejpal V.: Soukromé sdělení, nepublikováno. — Radvila P.: Schweiz. Arch. Tierhkl., 95 (1953), 33-34. — Roots E., Venske B. u. M.: Tierärztliche Wochschr., 65 (1952), 10-19. — Sokol A., Rosocha J., Tirčo Š.: Folia Veterinaria, 1 (1956), 97-109. — Topley W. W. C., Wilson G. C.: The Principles of Bacteriology and Immunity, I., Edward Arnold, London (1936). — Traub E.: Mh. Vet. Med. 3 (1948), 121-132. Bull. Off. Internat. Epizoot., 32 (1949), 22. — Watts P. S.: J. Path. Bact., (1940), 355-370. — Zimmermann G., Kludas K. H.: Arch. f. Exp. Vet. Med., 10 (1956), 237-245.

Биохимическое изучение рожи свиней

В работе описано влияние глюкозы на метаболизм рожи свиней на различных бульонных питательных средах. У большинства исследованных штаммов нами было установлено при наличии глюкозы в питательной среде ограничение или прекращение использования пептида В при помощи анализа питательных сред бумажной хроматографией. В лошадином мясном бульоне с 2 % пептона, 10 % ло-

шадиной кровяной сыворотки и 0,5 % глюкозы получается полное использование пептида В у 30 % неклассифицированных местных штаммов рожи свиней и у 88 % гемагглютинирующих штаммов, предназначенных главным образом для производства адсорбционной вакцины против рожи. Там, где настает использование пептида В, оно сопровождается одновременно повышенной ферментацией глюкозы и снижением pH питательной среды в более кислую область. В противоположность этому 56 % местных и 4 % вакцинных штаммов рожи свиней оставляют пептид В в этой питательной среде практически нетронутым. Сравнительно меньше расходуются также глюкозы. Колеблющиеся результаты использования пептида В наблюдаются у 14 % местных и 8 % вакцинных штаммов рожи свиней. Из результатов произведенного исследования вытекает возможность применения описанного метода для дифференциации штаммов рожи свиней при выборе иммуногенных штаммов и контроля свойств штаммов рожи свиней, применяемых для производства адсорбционной вакцины. Описанный метод по своему характеру представляет возможность более глубокого изучения метаболизма также и у других видов бактерий.

The Biochemical Studies on the Swine Erysipelas

The description of the influence of glucose on the metabolism of several strains of swine erysipelas in the different liquid growing media is given. By the circular paper chromatographic analysis of some liquid growing media containing glucose, the majority of erysipelas strains after the 48 hours of incubation, lowered or fully stopped the utilisation of "peptid B", which is the growth factor for the swine erysipelas. In the horse broth, containing 2 % of peptone, 10 % of normal horse sera and 0,5 % of glucose, there the 30 % of terrain and 88 % of haemagglutinating vaccine strains of the swine erysipelas, utilised the "peptid B" quantitatively. By the utilisation of "peptid B" there has been ascertained the higher fermentation of glucose and the simultaneous downfall of pH values of the broth to the acidity. The 56 % of terrain and the 4 % of vaccine strains of swine erysipelas, however, left the content of "peptid B" in the growing medium without the change. Also the rate of fermentation of glucose was under these conditions comparatively small. The 14 % of terrain or the 8 % of erysipelas vaccine strains respectively, gave the varying results of utilisation of "peptid B". The method give the new chances in the differentiation of strains of swine erysipelas, particularly by the selection of good immunising strains for the production of vaccines, or by the routine control of the biochemical and metabolic properties of another microorganisms.

Eine biochemische Studie über Schweinerotlauf

In der Arbeit ist der Einfluß der Glukose auf den Metabolismus des Schweinerotlaufs auf verschiedenen Bouillon-Nährböden beschrieben. Bei der Mehrheit der untersuchten Stämme haben wir unter Anwesenheit der Glukose im Nährboden eine Begrenzung oder sogar Einstellung der Utilisation vom B-peptid, der durch Analyse der Nährböden mittels Papierchromatographie verfolgt wurde, festgestellt. Im Pferdefleischbouillon mit 2 % Pepton, 10 % Pferdserum und 0,5 % Glukose kommt zur vollständigen Utilisation von B-peptid bei 30 % nichtsortierter Terrainstämme des Schweinerotlaufs und bei 88 % hämagglutinierender, vorwiegend zur Erzeugung der Adsorbatvakzine gegen den Rotlauf bestimmter Stämme. Da, wo es zur Utilisation von B-peptid kommt, ist sie gleichzeitig von erhöhten Glukosefermentation mit Absinken von pH des Nährbodens in ein mehr saueres Gebiet begleitet. Demgegenüber 56 % von Terrain- und 4 % Vakzinestämmen des Schweinerotlaufs lassen den B-peptid in diesem Nährboden praktisch unberührt. Sie verbrauchen auch verhältnismäßig weniger Glukose. Schwankende Ergebnisse der B-Peptid-Utilisation weisen 14 % der Terrain- und 8 % der Vakzinestämme des Schweinerotlaufs auf. Aus der Arbeit ergibt sich die Möglichkeit der Anwendung der beschriebenen Methode zur Differenziation der Schweinerotlaufstämme bei Auswahl von immunogenen Stämmen und bei Kontrolle der Eigenschaften der für Erzeugung der Adsorbatvakzine benutzten Schweinerotlaufstämme. Durch ihren Charakter bietet die beschriebene Methode Möglichkeiten eines tieferen Studiums des Metabolismus auch bei anderen Bakterienarten.

K diferenciálnej diagnostike afekcií centrálného nervového systému u ošípaných

III. Listeriôza ošípaných so súčasnou izoláciou vírusu chrípky (typu Shope) z ošípaných a potkanov

К дифференциальной диагностике расстройства центральной нервной системы у свиней

III. Листереллез свиней с одновременной изоляцией вируса гриппа (типа Shope) у свиней и крыс

On the Differential Diagnosis of Affections of the Central Nervous System of Pigs

III. Listeriosis of Pigs with Simultaneous Isolation of Influenza Virus (Shope Type) of Pigs and Browns Rats

MVDr. L. PIVNÍK, MVDr. E. MESAROS, promováný vet. lékař F. VAŘEJKA

Z ústavu pre patologickú anatómiu a histológiu veterinárnej fakulty v Brne, prednosta dopisujúci člen ČSAZV, doktor veterinárnych vied, prof. dr. V. Jelínek a z ústavu pre mikrobiológiu a imunológiu veterinárnej fakulty v Brne, prednosta doktor veterinárnych vied prof. dr. R. Harnach

Došlo dňa 21. IX. 1957

Úvod a hlavné tézy

Pri plnení nášho úkolu objasniť prípady nervových porúch u ošípaných vyvolávaných rôznymi príčinami, podarilo sa nám odhaliť niektoré lokality listeriôznych meningo-encefalomyelitíd u ošípaných na Morave, pričom sme súčasne z pľúc izolovali vírus chrípky, a to ako z ošípaných, tak aj z potkanov chytených v postihnutom hospodárstve, o čom podávame v tejto práci zpravu.

Listerióvé infekcie sa u nás ešte stále a menovite u ošípaných bežne nedagnostikujú. Presnejšia predstava o ich výskyte a rozšírení v ČSR ako u zvierat, tak u ľudí sa zatiaľ ešte len získava. V epizootológii i epidemiológii je treba zodpovedať celý rad otázok. Naša práca má byť príspevkom k problematike listeriôz hlavne z hľadiska diferenciálnej diagnostiky afekcií CNS u ošípaných, z hľadiska otázky patogenity listérií a skúma niektoré epizootologické otázky chrípky ošípaných.

Prehľad zpráv o listeriózach*)

Stručný prehľad doterajších nálezov listerií v ČSR podľa údajov v odbornej literatúre, z konferencií a sjazdov je tento:

Prvý prehľad zahraničného písomníctva o listerióze spracoval na Slovensku r. 1943 Nižnánsky. Listérie zo zvierat u nás prvý izoloval r. 1946 Harnach, a to z kohúta a papagája. V r. 1950 vyslovil Pouska u popisovaného onemocnenia oviec podozrenie na listeriózu. Listérie však nezistoval. Ďalšie dva nálezy oznamuje r. 1951 Koppels Nižnánskym a Strickerom u sliepok, r. 1954 Marek a Zach u ovci, r. 1955 tiež Lax v prípadoch potratov u ovci, Jiran u ovci, Mráz u sliepky, r. 1956 Novický a Černovský u hydiny, Baštář u zajaca, Mráz u kurčat, Kolář a Baštář u hovädzieho dobytku. Prehľadnú zprávu o výskyte listerií na Slovensku v rokoch 1950—1956 (do apríla) podáva Stricker s Koppelom, Grunertom a Karellovou v 8 lokalitách u 18 kusov sliepok, 1 prípad septickej formy u ošipanej, u hovädzieho dobytku 4 prípady izolácie listerií z fetov abortovaných ku koncu gravidity v 3 lokalitách, 1 prípad u 10-dňového teľaťa. Najviac bolo prípadov u ovci a síce 14 enzootií v 11 lokalitách. O výskyte listeriózy na východnom Slovensku v rokoch 1950 až 1956 referoval tiež Koppel a Rohárik v 9 lokalitách, a to v 3 chovoch u oviec, dvakrát u hovädzieho dobytku a v 4 chovoch hydiny. Nálezy listerií v štátnych vedeckých veterinárnych ústavoch za posledné 3 roky sú tieto; (Mráz): SVVÚ Praha v r. 1957 u 1 sliepky (ostatné prípady už publikované); SVVÚ Hradec Králové v r. 1956 v 15 prípadoch (teľatá 4, jahňatá 2, sliepky 2, kurčatá 7); SVVÚ Brno v 13 prípadoch (krava 1, ovce 3, sliepky 6, kurčatá 3); SVVÚ Gottwaldov v r. 1956 2 prípady (prasa 1, sliepka 1) a v r. 1957 (do júna) 5 prípadov (býk 1, jahňa 1, morča 1, sliepka 1, kurča 1); SVVÚ Olomouc v r. 1955—57 u 3 jahňat; ŠVVÚ Bratislava v r. 1956 u 1 sliepky a v rokoch 1957 (do júna) 4 prípady (1 ovca, 2 jahňatá, 1 sliepka); ŠVVÚ Košice v rokoch 1957 u jedného barana, 2 jahňat, 2 ovci, 1 poľného zajaca a 4 odstávcov. O nových poznatkoch s prírodnou ohniskovosťou listeriózy referuje Gmitter (1957). 1300 voľne žijúcich zvierat kultivačne vyšetril Seeman (1955 a 1957) a zistil ako prvý v ČSR v 3 prípadoch listérie v orgánoch mikromamálií (*Rattus norvegicus*, *Apodemus sylvaticus*, *Clethrionomys glareolus*) bez nálezu makroskopických zmien. 700 prevažne chovných zvierat (hov. dobytkov, ovce, kozy) vyšetril sérologicky a zistil u 35 zvierat signifikantne zvýšené titry protilátok proti *Listeria monocytogenes* pomocou aglutinácie so špecifickým H- a O- listeriovým antigénom, pričom za pozitívny titer považoval titer 1:320 a vyššie. O listerióze laboratórnych zvierat pojednáva Jiřina (1954).

U ľudí bola zistená listerióza hlavne u novorodencov (Patočka, Benda, Vacek, Suchanová, Menčíková, Benešová a j.), pričom nákaza vznikla z matky. Pretože sa dosiaľ nepodarilo dokázať priamu alebo nepriamu infekciu matky od zvierata, je badať u časti autorov snahu zamerať sa na štúdium interhumánneho prenosu listeriózy.

Je však známo, že hlavným rezervoárom listerií sú zvieratá a hmyz (Olusufjev a Emeljanova, Gutkova, Kratochvilova — cit. Gmitter, Plummer, Byrne a j.) a je preto nutné, aby humánni i veterinári infekcionisi venovali listerióze a spôsobu jej prenosu na ľudí čo najväčšiu pozornosť.

*) Pretože „Prehľad zpráv“ musel byť z technických dôvodů zkráten, odkazujeme na literatúru kde je uveden seznam použitých autorů.

Prípady dokázaných listerií ošipaných sú u nás ešte stále riedke. V Čechách ju dokázal v jednom chove Hubík a Láznicka v r. 1954, na Slovensku 1 prípad septickej formy (t) Stricker a spol. a v r. 1957 ŠVVÚ Košice u 4 odstávčat. Z Moravy hlási nález listerií u prasata v r. 1955 z našich pitevných prípadov Jiran a v r. 1956 SVVÚ Gottwaldov. Otázku listeriiových encefalomyelitíd pokladá u nás za otvorenú aj Nižnánský (1957) vo svojom poslednom hodnotení hospodársky závažných chorôb v ČSR, menovite v súvislosti ich diferenciácie od nákazlivej obrny ošipaných.

Výskyt listeriózy u ošipaných, ako sme ho mohli zistiť z dostupnej svetovej i našej literatury je uvedený v tabuľke I.

Vcelku možno povedať, že aj keď od prvého zistenia listeriózy u ošipaných uplynulo už vyše 30 rokov, nie je zpráv o nej v porovnaní s inými chorobami príliš mnoho.

Pre výskum a vyhľadávanie ďalších listeriózou postihnutých chovov bude vhodné všimnúť si, za akých okolností bola táto zisťovaná.

Ako je známo, prebieha listerióza u ošipaných buď pod obrazom nervového ochorenia, buď ako septikémia s vysokou horúčkou, alebo má vleklý charakter. Môže byť tiež komplikovaná s iným ochorením a vtedy môže byť jej klinický, ba aj epizootologický obraz veľmi skreslený. Berúc v úvahu, že ani izolácia listerií nie je vždy jednoduchou záležitosťou, niet sa čo diviť, že odhalovanie zamorených chovov postupuje pomaly a pri bežnom vyšetrovaní celý rad prípadov môže uniknúť odhaleniu.

Prvé prípady listeriózy boli diagnostikované ako „nové ochorenie“ a izolované agens bolo označené ako tyčinka „X“. Ďalšie štúdie tejto tyčinky ukázali, že patrí k listeriám (Svinčov, Slabospickij — cit. Tregubova, Andrejev).

Podľa Smitha vyžaduje diagnóza izoláciu listerií. Klinické príznaky nie sú patognomické a pitvou nie vždy sa zisťujú zmeny. Výskyt prasiec s „červenými očami“ a poruchami CNS dávajú vždy podozrenie na listeriózu. Je možné, že aj aborty u prasíc môžu spôsobiť listérie. Liečebne sa osvedčil Teramycín a protimorové sérum.

Hubík a Láznicka zistili listeriózu v pôrodnici a v odchovni ošipaných, kde sa často rodili predčasne nevyrovnané a veľmi slabé vrhy, objavovali sa hnačky, zvýšené teploty, tvorby abscesov, kašeľ, chrastavité vyrážky, opuchnutie zhybov a znížený apetit. Asi po troch mesiacoch boli izolované z prípadov fibrinózných polyserozitíd v tomto chove L-organizmy. Vzťahy oboch infekčných agens autori bližšie študujú. V tomto smere je zaujímavé zdelenie Suchanovej a Patočku, ktorým sa podarilo získať kombináciou účinku penicilínu a glycinu kolónie zložené z elementov jasne pripomínajúcich L-formy Dienesovho typu B.

Orobinskij píše o ochorení pripomínajúcom listeriózu, a to v septickej i nervovej forme. Izoloval bližšie neurčenú kultúru, odlišnú od listerií. Subkutánne vyvolal u myši parézy, paralýzy a hynutie, intravenózne u 3 ošipaných ochorenie a uhynutie 1 kusu.

Vlastné pozorovanie

Pri sústavnom histologickom vyšetrovaní CNS z ošipaných dodatých k pitve sme viackrát zistili zmeny, ktoré sa niekedy svojim charakterom blížili k zmenám popisovaným u listeriózy. Z toho sme vyslovili predpoklad o možnosti

I. Výskyt listeriózy ošipaných podľa zistených údajov

Š t á t	R o k	Enzoo- ticky	Spora- dicky	A u t o r
ČSR (Čechy)	1954		+	Hubík, Láznicka
ČSR (Morava)	1955		+	Jiran (cit. Harnach)
ČSR (Morava)	1956		+	Pivník, Mesároš, Vařejka
ČSR (Slovensko)	1950		+	Stricker a spol.
ČSR (Morava)	1956		+	SVVÚ Gottwaldov (dla Mráza)
ČSR (Slovensko)	1957		+	ŠVVÚ Košice (dla Mráza)
Holandsko (Utrecht)	1942		+	De Blicck, Jansen
Holandsko (sev. Holandsko, Brabant, Utrecht, Overijssel)	1951		+	Van Dorssen, Jansen
Holandsko (Friesland)	1952		+	Van Ulsen
Maďarsko	1956	+	+	Csontos, Pesti
Nemecko	1950 – 1		+	Schoop
Nemecko (Niedersachsen)			+	Schulte
SSSR (Ukrajina)	1936	+		Slabospickij a Svincev
SSSR (Moskovská oblasť)	1947	+	+	Tregubova
SSSR	1948			Tregubova
SSSR (Černigovská oblasť) 1	1949	+		(cit. Kornilova)
SSSR (Novosibirská oblasť)	1950			Zagurskij, Pogorelko
SSSR	1951	+		Kornilova
SSSR	1952	+		Solomkin
SSSR	1952	+		Solomkin
SSSR	1952	+		Šiladze
SSSR	1954	+		Vendrov
SSSR (Kirgizská SSR)	1954	+		Čepajev, Zinkov,
				Gordienko
SSSR (Kirgizská SSR)	1955		+	Čepajev, Zinkov,
				Gordienko
SSSR (Smolenská oblasť)	1955	+		Koznov, Barsukov
SSSR (Gruzínská SSR)	1955	+		Bedenašvili
SSSR (Molodečnenská a Vitebská oblasť)	1955	+		Gavričenko
SSSR	1955			Kuzminskij
Švajciarsko (Kanton Zurich)	1955		+	Schlegel, Fey
Švajciarsko	1955		+	Schlegel, Oprecht
USA (Iowa)	1939 – 40		+	Biester, Schwarte
USA (Illinois)	1945		+	Kerlin, Graham
USA	1948		+	Rhoades, Sutherland
USA	1951		+	Bolin etc.
USA	1951		+	Helmboldt etc.
USA	1952		+	Woodring
USA (sev. Dakota)	1952		+	Eveleth etc.
USA (Indiana)	1955			Ryu

listériovej etiológii niektorých meningoencefalitíd ošipovaných. Bežným bakteriologickým vyšetrením bola izolovaná len bežná bakteriálna flóra. Preto sme sa v ďalších prípadoch s poruchami CNS zameriavali tiež aj na izoláciu listérií.

Prípad č. 1.

Dňa 5. 2. 1955 boli dodané k pitve z JZD Kupařovice dve prasiatka o váhe 3,5 a 6,5 kg s udaním, že prejavovali príznaky nervových porúch.

Pitvou (č. p. p. 291/55) bola u oboch zistená krupózne-nekrotická pneumónia, *pleuritis adhaesiva*, dilatácia a degenerácia srdcového svalu, granulózna degenerácia pečene a obličiek, katar zažívadiel a celková anémia, mierny tumor sleziny.

Histologický boli v CSN (H 124/55) zistené ojedinelé ložiská bunkového infiltrátu prevažne z neutrofilných granulocytov, hlavne v rohoch sivej hmoty miechy (obr. č. 1), v predĺženej mieche a v *pons Varoli*, velikosti niekoľkých gangliových buniek. V mieste ložísk dochádza aj k bujneniu gliových elementov. Širšie úseky zmnoženej glie sú aj v okolí ependymu *canalis centralis* spinálnej miechy a 4. komory. V sivej hmote miechy ojedinele dochádza aj k difúznej infiltrácii a bujneniu glie, k miernej satelitóze i k pravej neuronofágii. V *medulla oblongata* a *pons Varoli* tiež výlevy krvné rôznej veľkosti. V blanách len na jednom mieste vyšetrovaných rezov nejasné ložisko charakteru abscesu.

K bakteriologickému vyšetreniu boli odoslané orgány a časť mozgu s podozrením na možnosť listeriózy. Bežnou kultiváciou boli izolované *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli comm.*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus viridans* vo všetkých orgánoch i v mozgu. Bližším vyšetrením so zameraním na listeriózu izoloval Jiran z tohoto materiálu kmeň *Listeria monocytogenes*, ktorého vlastnosti bližšie popísal v samostatnom zdení (Harnach a spol.).

Etiológia zmien na pľúcach nebola bližšie objasnená. Taktiež pomery v chove neboli ďalej vyšetrované.

Prípad č. 2.

Dňa 21. 11. 1956 bol z ČSSS Krumvíř, v domnení, že cestou uhynie, dodatý k vyšetreniu živý cicik s príznakmi paralýzy, trasu svalstva, teplotou 35,6° C. Uhynul však až o dva dni bez podstatnej zmeny v príznakoch. Bol to posledný kus z vrhu o 8 kusoch, ktorý celý vyhylnul za obdobných príznakov.

Pitvou (č. p. p. 3228/56) bola zistená staršia katarálna, miestami až hleno-hnisavá konfluujúca a karnifikujúca bronchopneumónia, siahajúca od apikálnych do poloviny diafragmatických lalokov, totálna dilatácia srdca, granulózna degenerácia myokardu a pečene, anémia obličiek a mierna hyperémia tenkých čriev.

Histologickým vyšetrením mozgu a miechy boli zistené najvýraznejšie zmeny v podobe mohutných, prevažne mono- a polymorfonukleárných bunkových infiltrátov v blanách *medulla spinalis* (obr. č. 2) a *pons Varoli* a mozočku. V poslednom zistujeme aj silné difúzne zmnoženie glie a zmiešané perivaskulárne bunkové infiltráty v bielej hmote. Blany hemisfér ukazujú silné rozšírenie krvných ciev a miestami aj silný výstup erytrocytov do tkane blán. V sivej hmote mozgu a miechy prevláda obraz hyperémie, regre-

sívne zmeny rôzneho stupňa na nervových bunkách a len zriedka slabšie bunkové infiltráty a reakcie glie.

Vzhľadom na zistené zmeny bolo vyslovené podozrenie na listeriózu.

Bakteriologické vyšetrenie

Bežnou kultiváciou bolo izolované *E. coli comm.* Časť mozgu, uložená zatiaľ vzhľadom na klinické príznaky v mraziacom pulte, bola preto ďalej bakteriologicky vyšetrovaná. Po 4-násobnom zmrazení a rozmrazení bola prevedená po 4 týždňoch kultivácia zo suspenzie mozgu. Na krvnom agare vyrástli za 24 hod. pri 37° C drobnejšie, pri prenikajúcom svetle šedo-biele kolónie S-formy s modravým nádychom pri bočnom osvetlení. Kolónie javili slabú α -hemolýzu. Pohyblivosť po 6 hod. inkubácii vo fázovom kontraste pozitívna a v U-skúmavke s 0,25 % agarom za 7 dní pri 18° C zistený šedo-biely diskovitý terč. V bujone za 24 hod. zakalenie so slabou sedimentáciou. V náteroch podľa Gramma Gr +, krátké, rovné tyčinky, niekedy na koncoch mierne zhrubnuté, terasovité a v podobe V usporiadané. Biochemické vlastnosti v tabuľke II.

II.

	Po 24 hod.	Po 96 hod.		Po 24 hod.	Po 96 hod.
Sacharóza	+	+	Salicin	—	+
Maltóza	+	+	Glycerin	—	—
Trehalóza	+	+	Dulcit	—	—
Levulóza	+	+	H ₂ S	—	—
Arabinóza	—	—	MRT	—	+
Rafinóza	+-	+	NB	—	—
Rhamnóza	—	—	VP	—	—+
Laktóza	—	+	Indol	—	—

Biologický pokus

Konjunktiválna skúška s 5-tyimi kvapkami 24 hod. bujonovej kultúry bola na králikovi a morčati o 48 hod. pozitívna.

Biele myšky, ktoré dostali subkutánne a intraperitoneálne 0,1 ml a králici týmže spôsobom a ešte aj intravenózne dávku 1,5 ml 24 hod. glukózo-bujonovej kultúry, zostali behom 2 mesiacov pozorovania na žive bez príznakov choroby.

Tou istou kultúrou boli 8. 1. 1957 infikované 2 asi 12týždňové prasiatka. Jedno (č. p. p. 393/57) intranazálne dávkou 10 ml, druhé (č. p. p. 392/57) intranazálne 10 ml a súčasne *intra venam* 5 ml. Na 4. deň došlo k zvýšeniu teploty na 40,8 a 40,9° C trvajúcemu do druhého dňa a k prechodnej inapetencii. Váňové prírastky od tej doby temer žiadne. O mesiac boli prasatá zabité a pitvou u oboch zistená konfluujúca katarálna bronchopneumónia kraniálnej poloviny pľúc, čiastočne karnifikujúca, ložisková chronická hepatitída a u jedného (č. p. p. 392/57) tiež silná hyperplazia miazgových uzlín.

Histologickým vyšetrením CNS boli zistené regresívne zmeny na gangliových bunkách, ojedinelé perivaskulárne guľatobunečné infiltráty v spinálnej

mieche a v *pons Varoli*, v okolí ependymu komôr roztrúsené menšie ložiská zmnoženej glie, u prasiatka s č. p. p. 392/57 aj ohraničenú zmiešanú bunkovú infiltráciu blán v *medulla oblongata* a výraznú perivaskulárnu satelitózu v bielej hmote hemisfér.

Spätná izolácia použitej kultúry v bujone s 0,3% natriumthioglykolátom a s obsahom 10 % ovčích červených krviniek (*K e m é n e s*) a na pôde s glycerolátom, cystínom, sacharózou a vodnou modrou sa podarila len u prasiatka č. p. p. 392/57 z mozgu a miechy.

Celkové vyšetrenie chovu

Bolo prevedené 4. 1. 1957 hlavne vzhľadom na niektoré vlastnosti izolovaných zárodkov a za účelom zistenia epizootologickej situácie. Jedná sa o väčšie objekty štát. majetku v Krumvíři s prevádzkovými budovami, odchovňami a pôrodnickými stanicami typu 100 a s drevenými búdami pre prasnice, ktorým už boli ciciaky odstavené. Leží na okraji veľkého lánu poľa, niekoľko *km* od väčších sídlisk. Silné zamorenie potkanmi, pozorované asi pred rokom, sa značne zmenšilo po položení betónových dlaždíc pod drevené státi. Kŕmenie, hygienické a mikroklimatické pomery sú v dobe vyšetrenia vcelku vyhovujúce. U ciciakov i behúňov pozorovať často chrastovité vyrážky, konjunktivitídy a kašeľ. Váhové prírastky napriek tomu priemerne 0,54 *kg* za deň. Vždy za určitú dobu dojde k väčšiemu hynutiu, inak sú straty pomerne malé.

Matka (č. 26) vyhynutého chovu, v poradi piateho, je z vlastného chovu, 3ročná, jedna z najlepších v chove, klinicky stále zdravá. Kŕmenie pred a po porode vyhovujúce. V dobe vyšetrenia je už v drevenej búde a v pôrodnom koterci na jej mieste je prasnica č. 74 z 5-tymi 14dennými, dosiaľ zdravými, vyrovnanými ciciakmi. Predchádzajúce vrhy oboch matiek boli zdravé, vyrovnané, o 10–11 kusoch. Vyšetrenie krve matky č. 26 na hemaglutinačne-inhibičný test a leptospirózu (aglutinačne i kultivačne) ako aj na listeriózu (serologicky) bolo negatívne. Kultiváciou z nosných výterov na MPA bol izolovaný *E. coli*, *Proteus vulgaris* a *Staphylococcus aureus*.

Prvé príznaky sa v postihnutom vrhu, podľa výpovede ošetrovateľa, objavili asi 3 týždne po pôrode, najprv u jedného kusu v zmenšenej živosti, postupnom ochrnutí predných a zadných končatín. Občas došlo k epileptiformným záchvatom, kedy sa ciciak, ležiac na boku, premiestnil aj o 4 *m*. Behom 14 dní vyhynul za obdobných príznakov celý vrh. Choroba trvala 1–2 dni, u niektorých až týždňov. Posledného ciciaka dodali k vyšetreniu ešte živého (viď vyššie).

Izolácie listérií

Pretože doterajšie výsledky neboli pre listeriózu jednoznačné, prikázali sme zaslať ďalšie uhynuté kusy a škodlivých hlodavcov z objektov a okolia. Behom 6 týždňov prišlo k vyšetreniu bez bližšej anamnézy ešte 9 ošipaných a 14 potkanov.

Z troch ošipaných bola izolovaná kultúra, ktorá po preočkovaní bola typizovaná ako *Listeria monocytogenes* (*Bergey's Manual*, Koljakov, Topley-Wilson).

Prvé prasiatko (č. p. p. 218/57) — odstávča:

Pitva: *bronchopneumonia catarrhalis confluens*, *gastritis catarrhalis*, *hepatitis interstitialis chronica nodosa*, *hyperemia hepatis et renum*, *meningitis purulenta*.

Histologicky (H 166/57) mohutné zmiešané bunkové infiltráty s veľkým množstvom neutrofilných granulocytov, prenikajúce blanami hlavne v oblasti *medulla oblongata* (obr. č. 3), *pons Varoli*, mozočku a hemisfér a postupujúce i do hĺbky vlastnej nervovej tkane, kde dochádza i k výrazným perivaskulárnym zmiešaným infiltrátom bunkovým (obr. č. 4), výlevom krvným (obr. č. 5) a k ložiskovému, miestami i k difúznejšiemu bujeniu gliových elementov. Niekde dochádza až k nekrobiotickému rozpadu tkane. Obrazy takýchto zmien ako aj obrazy edému mozgovej tkane a regresívnych zmien na nervových bunkách však bližšie nehodnotíme, lebo počítame u vyšetrovaných ošipáných so značnou účasťou posmrtných pochodov, ktoré môžu imitovať niektoré intravítálne zmeny. Na gangliových bunkách vidieť rôzne stupne regresívnych zmien. V pečeni vyniká obraz *hepatitis interstitialis chronica eosinofilica*. Pri tom je treba poznamenať, že účasť eosinofilných granulocytov na infiltrátoch v CNS je u všetkých ošipáných veľmi slabá.

Bakteriologicky boli izolované z orgánov *E. coli comm.*, *Micrococcus pyogenes albus et aureus*. Kultiváciou z mozku po 14dennej inkubácii v mraziacom pulste vyrástli na krvnom agare šedo-biele, jemno modravé drobné kolónie. Vlastnosti kmeňa: 6 hod. bujonová kultúra je vo fázovom kontraste silne pohyblivá, v náteroch podľa Gramma Gr +. Konjunktiválna skúška u králika a morčata sa prejavila za 24 hod. silnou hnisavou konjunktivitídou (obr. č. 6). Biele myšky infikované ip 0,1 ml 24 hod. glukózo-bujonovou kultúrou hynuli behom 4—5 dní. Pitvou zistené nekrotické ložiská v pečeni (obr. č. 7) a v slezine. Kultivačne získaná z orgánov východzia kultúra. Biochemické vlastnosti izolovaného kmeňa v tabulke III.

III.

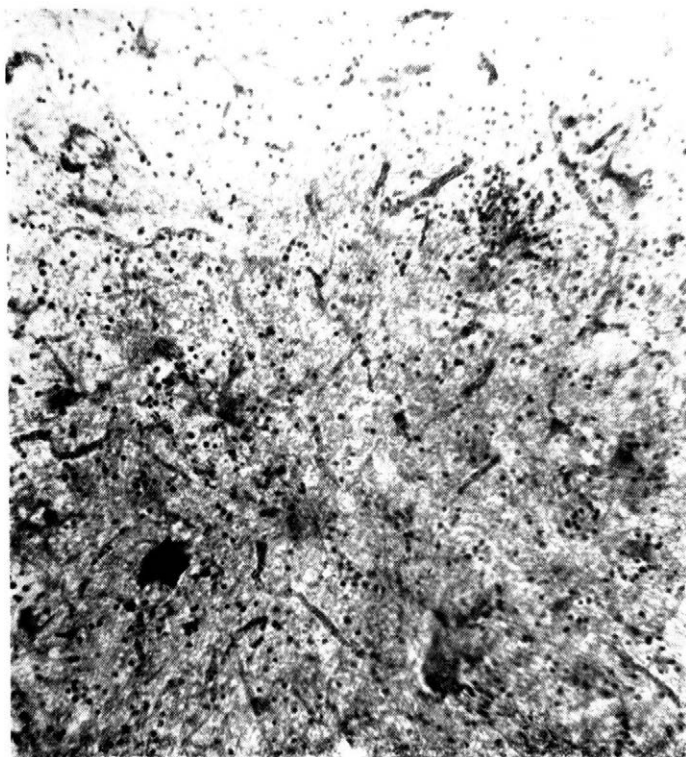
	Po hod.		Po hod.			Po hod.		Po hod.	
	24.	48.	72.	96.		24.	48.	72.	96.
Maltóza	±	+	+	+	Manit	—	—	—	—
Salicín	±	±	±	+	Arabinóza	±	—	—	—
Rhamnóza	±	±	—	—	Rafinóza	—	—	—	—
Trehalóza	±	+	+	+	Dulcit	—	—	—	—
Levulóza	±	+	+	+	MRT	—	—	+	+
Glycerín	—	—	—	—	NB	—	—	—	—
Sacharóza	±	+	+	+	H ₂ S	—	—	—	—
Laktóza	±	±	+	+	Indol	—	—	—	—

Králik infikovaný *intra venam* 5 ml 24 hod. glukózo-bujonovej kultúry po 40dňovom sledovaní nejavil žiadne príznaky onemocnenia.

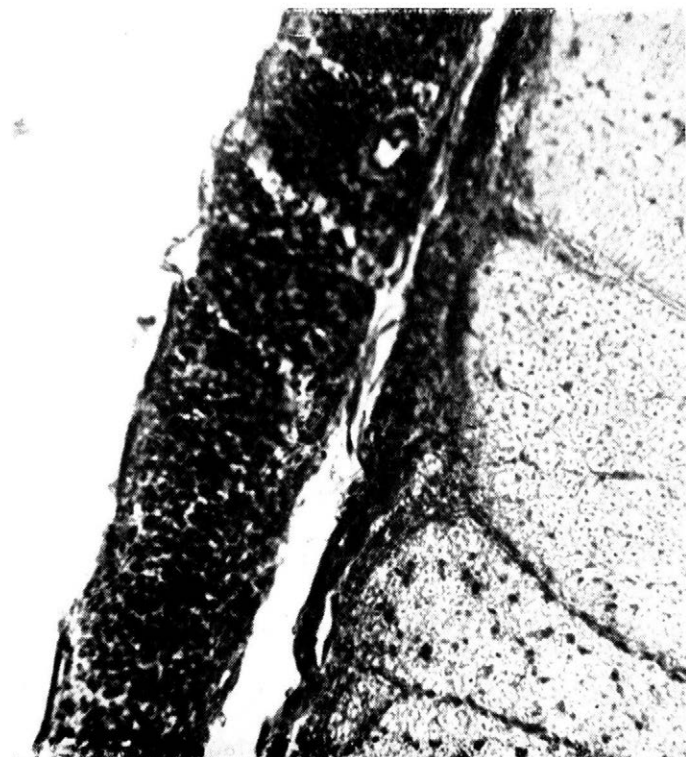
Druhé prasiatko (č. p. p. 123/57) — kančík, 2,5 kg:

Pitva: zakrpatenosť, podkožie a svalstvo edematózne, hyperplazia miazgových uzlín, *bronchopneumonia catarrhalis confluens*, *pleuritis fibrinosa adhesiva*, *pericarditis et peritonitis exudativa serofibrinosa*, *dilatatio cordis dextri et myodegeneratio cordis*, *degeneratio hepatis granulosa*, mierny tumor sleziny, *gastritis catarrhalis*.

Histologicky (H 167/57) zistená úseková lymfo- a monocytárna spinálna meningitída, perivaskulárne lymfocytárne infiltráty, silné rozšírenie ciev a výlevy krvné z ciev mozochka hlavne v *stratum moleculare*, pruhovité vypa-



Obr. 1. Submiliárne ložiská bunkového infiltrátu prevažne z neutrofilných granulocytov a zmnožených elementov glie. Prípad č. 1, H 124/55. Mikrofoto



Obr. 2. Silné zhrubnutie blán spinálnej miechy v dôsledku zápalovej bunkovej prevažne mono- a polymorfojadrovej infiltrácie. Prípad č. 2, H 1336/56. Mikrofoto



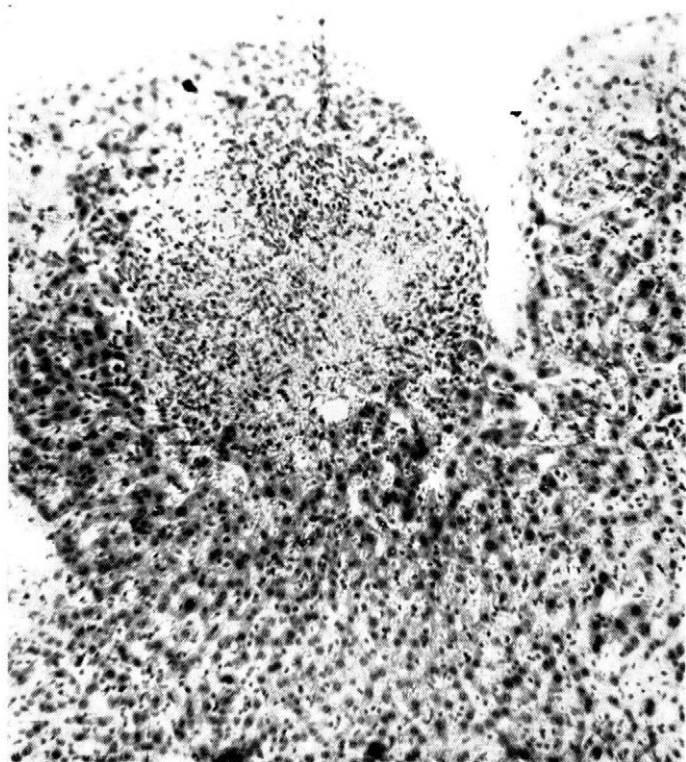
Obr. 3. Mohutné zmiešané zápalové bunkové infiltráty prenikajúce blany predĺženej miechy a postupujúce do hĺbky nervovej tkane, kde došlo tiež k zmnoženiu gliových elementov. Prípád č. 2, H 166/57. Mikrofoto



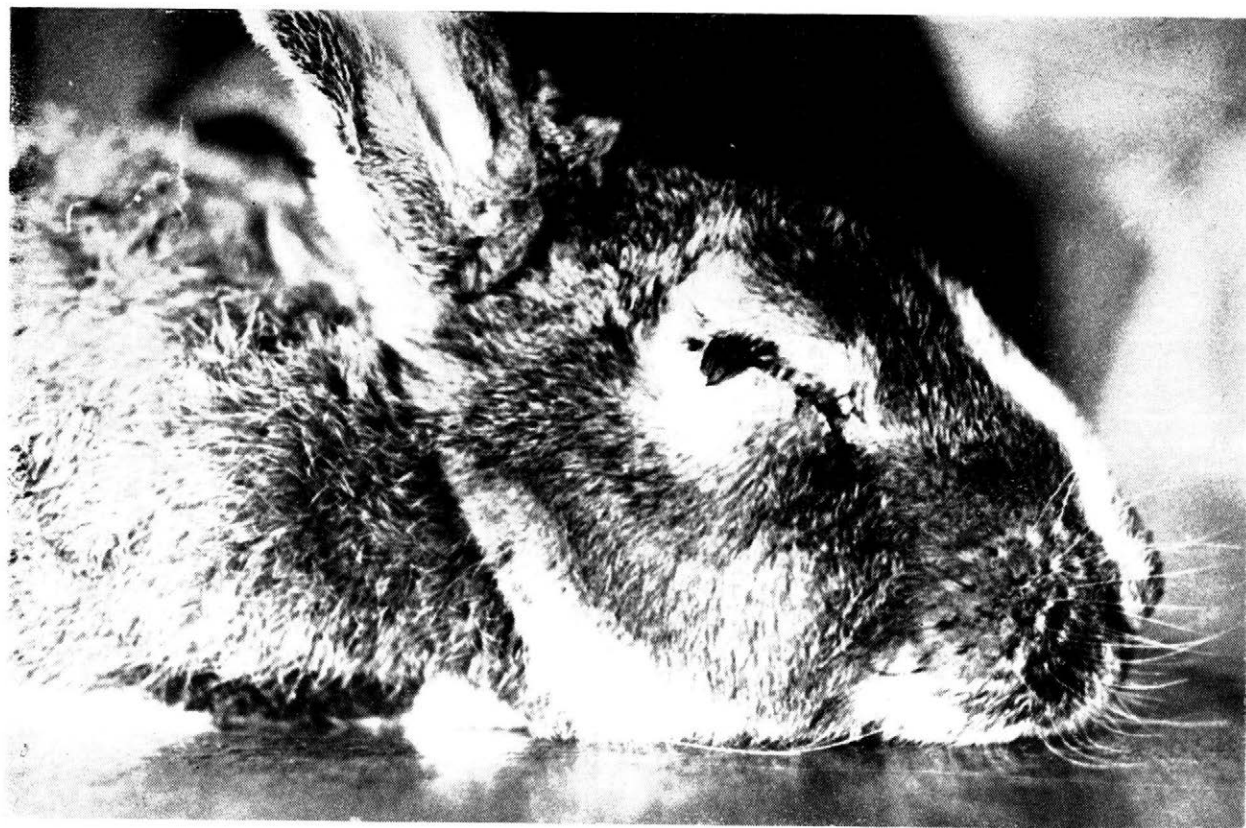
Obr. 4. Výrazné zmiešané perivaskulárne bunkové infiltráty v predĺženej mieche. Prípád č. 2, H 166/57. Mikrofoto



Obr. 5. Perivaskulárne infiltráty
a čítné hemoragie v medulla
oblongata. Pripad č. 2, H 166/57.
Mikrofoto



Obr. 6. Ložiská nekrobiotického
rozpadu v pečeni bielej myšky,
infikovanej intraperitoneálne
dávku 0,1 ml kultúry izolova-
nej z prasiatka č. p. p. 218/57.



Obr. 7. Pozitívna konjunktiválna skúška u kráľika, ktorému bolo aplikované 5 kvapiek kultúry izolovanej z prasiatka č. p. 218/57

dávanie hrudkovitých bazofilných látok v blanách spinálnej miechy, ktorých patogenezu nebolo možno bližšie určiť.

Bakteriologicky bola z mozgu tohoto prasiatka, rovnakým spôsobom ako u prvého prasiatka, kultúra identifikovaná opäť ako *L. m.* rovnakých vlastností.

Tretie prasiatko (č. p. p. 397/57):

Pitva: zakrpatenosť, chrastovité vyrážky po tele, mierna hyperplazia miazgových uzlín, v podľopiatkovom väzive abscedácia, katarálne-hnisavá bronchopneumónia, fibrinózne-hnisavá polyserozitída s tvorbou adhezií, katar zažívadiel a hepatitída.

Histologicky zistený v CNS hlavný výrazný obraz leukostázy vo viacerých cievach rôzneho kalibru v sivej hmote spinálnej miechy, predĺženej miechy a štvorohrbolia. Lumen ciev je vyplnené prevažne mladými i zralými neutrofilnými granulocytami, menej guľatojadrovými bunkami a erytrocytami. V hlbších vrstvách kôry hemisfér a v okolí ependymu komôr výrazné ložiskové zmnoženie gliových elementov. V pečeni mikroabscesy a degeneratívne zmeny, v ostatných orgánoch potvrdená makrodiagnóza.

Bakteriologicky bola izolovaná kultúra zhodných vlastností ako u predchádzajúcich dvoch prasiatok a síce z podľopiatkových abscesov, zatiaľ čo z mozgu sa ju nepodarilo zachytiť. Z vnútorných orgánov vyrástli *E. coli comm.*, *Proteus vulgaris* a *Corynebacterium pyogenes*.

U ostatných kusov:

Pitvou boli zisťované najčastejšie osutinové vyrážky, bronchopneumónia, katary zažívadiel, hyperplázia miazgových uzlín, degeneratívne zmeny v parenchymatóznych orgánoch, po jednom prípade tiež obraz fibrinózne-hnisavej serozitídy, abscedujúcej lymfadenitídy a abscedácie v chrupkových spojoch rebier a enormnej invázii škŕkaviek.

Histologicky u niekoľkých obraz leukostázy v cievach, ložiskové bujenie glie, regresívne zmeny v gangliových bunkách a u jedného obraz pripomínajúci *ependymitis granularis*.

Bakteriologicky boli izolované najčastejšie *E. coli comm.*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus pyogenes albus* a *aureus*. Snaha izolovať listérie bola u týchto kusov bezúspešná.

14 zabitých potkanov:

Pitvou boli u 4 zistené výrazné pneumonie, zväčšenie sleziny.

Bakteriologicky vypestované *Corynebacterium pyogenes murisepticum*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus pyogenes albus*. Listérie sa z orgánov a CNS nepodarilo izolovať a tak potvrdiť údaje iných (Levy, Macchia-vello, Seeman).

Virologické vyšetrenie

Bolo prevedené hlavne za účelom objasnenia etiológie pneumonických zmien zistených u ošipaných i potkanov.

A. Izolácia vírusového agens

Bola vykonaná zo zmenených pľúc 4 potkanov a prasiatka č. p. p. 218/57, z ktorého bola z mozgu izolovaná aj *Listeria monocytogenes*. Z tkáni pľúc bola pripravená 10% suspenzia trením so sterilným skleneným pieskom a pufovaným fyziologickým roztokom a 10 min. odstredovaním pri 1500 obr./min. Po pridaní antibiotík sme infekčný materiál očkovali do amniotického vaku 10 až 11denných kuracích embryí a intranazálne bielym myškám. Založenie dvoch

izolačných línii malo zaistiť čo najväčšiu možnosť zachytenia prípadného vírusu chrípky ošipáných a vzhľadom na údaje v našej odbornej literatúre (Ču-pík a spol.) event. iného vírusu pneumónie ošipáných.

1. Vyšetrenie ošipáných

a) Línia vajcová

Do amniového vaku bolo očkované 0,1 ml 10% suspenzie z pľúc. Po 48 hod. inkubácii bola amniová tekutina odčerpaná, vypreparovaná amniová blana a rozotretá vo vlastnej amniovej tekutine na 10% suspenziu. 2. a 3. embryonálna pasáž bola prevedená očkovaním amniovej tekutiny do amniového vaku. Prítomnosť vírusu sa dokazovala v týchto pasážach hemaglutinačným testom podľa Hirsta v Salkovej modifikácii s kuracími a morčacími erytrocytami. V 1. pasáži sme dosiahli pozitívneho výsledku a aglutináciou amniovej tekutiny s morčacími Ec v zriedení 1 : 4. V 2. a 3. pasáži bol hemaglutinačný test s morčacími Ec tiež pozitívny a v tretej pasáži bol pozitívny aj so slepačiami Ec v zriedení 1 : 64. Inokulácia v ďalších (zatiaľ šiestych) pasážach sa prevádzala len do alantoidného vaku a HT so slepačiami Ec sa pohyboval priemerne okolo 1024.

b) Línia myšia

Biele myši boli infikované vždy po 5 kusoch intranazálne 3–4 kvapkami 10% suspenzie infekčného materiálu a denne sledovaný klinický stav. Uhytnuté alebo 5. deň po infekcii zabitú myš boli pitvané a bakteriologicky vyšetrované. Suspenzia z pľúc ošipáných bola pre myši patogénna už v 1. pasáži, kde u 1 myši vyvolala nepatrné bronchopneumonické zmeny. Zmeny boli v ďalších pasážach stále rozsiahlejšie a od 5. pasáže vírus zabíjal pravidelne všetky myši. Infekcia alantoidného vaku kuracích embryí suspenziou z pľúc myši 2. pasáže mala pozitívny výsledok. Alantoidná tekutina aglutinovala slepačie Ec do zriedenia 1 : 512.

2. Vyšetrenie potkanov

a) Línia vajcová

Izolačný pokus bol vykonaný rovnakou metódou ako u ošipáných, ale ani po 5. pasážach sa týmto spôsobom nepodarila izolácia vírusového agens.

b) Línia myšia

Tento spôsob sa ukázal výhodnejším a hneď od 1. pasáže sme zisťovali pneumónie vcelku nepatrné, avšak v ďalších pasážach stále výraznejšie. V 3. pasáži už uhynuli všetky myši 5. deň po infekcii, keď predtým javili ťažké príznaky onemocnenia (schúlenie do kľbka, slabá dráždivosť, zježená srst, ťažký dych). Pitvou boli zistené rozsiahle disseminované pneumónie a edém pľúc, ktoré sme potom pravidelne zisťovali aj v ďalších pasážach. Z 3. pasáže sme preniesli 10% suspenziu z pľúc myši do alantoidného vaku kuracích embryí, avšak alantoidná tekutina neaglutinovala ani s morčacími ani so slepačiami Ec a ani v ďalších embryonálnych pasážach nedávala alantoidná tekutina pozitívny hemaglutinačný test.

Infekciu alantoidného vaku sme previedli znovu z 5. myšej pasáže. Hemaglutinačným testom so slepačiami Ec bola zistená prítomnosť hemaglutinujúceho vírusu v alantoidnej tekutine (HT — 4096). V ďalších embryonálnych intraalantoidných pasážach sme potvrdili jeho množenie. Kontrolný prenos zo 6. pasáže bol opäť pozitívny. V 1. embryonálnej pasáži aglutinovala alantoidná tekutina slepačie Ec do zriedenia 1 : 128, v druhej do 1 : 1024 a v tretej do titru 4096.

Alantoidnú tekutinu z 2. embryonálnej pasáže sme aplikovali intranazálne 5. bielym myšiam. Tieto zreteľne onemocneli už na tretí deň po infekcii a na piaty deň 4 z nich uhynuli. U týchto ako aj u piatej, ktorá bola zabitá, sme pitvou zistili rozsiahle pneumónie. Bakteriologicky boli pľúca sterilné. Takto bola založená nová myšia línia pasáží, v ktorých virulencia vírusu pre myši neustále vzrastala. Spätňý prenos vírusu na kuracie embryá a jeho množenie v bunkách amniotického a alantoidného vaku sa podaril vo všetkých myších pasážach. Ektromélia myši bola vylúčená intraplantárnou injekciou infekčného materiálu.

B. Identifikácia izolovaných hemaglutinačných vírusových agens

Izolované hemaglutinujúce vírusové agensy sme identifikovali skríženými hemaglutinačne inhibičnými testami s myšimi antisérmi (T ů m o v á). Antigény: alantoidné tekutiny obsahujúce vírus influenzy ošípaných, kmene Shope,

IV.

Sérum	Kmeň	Výsledky hemaglutinačne-inhibičného testu v jednotlivých riedeniach sér						
		32	64	128	256	512	1024	2048
Shope	Shope	+	+	+	+	+	+	—
	55	+	+	+	+	+	+	—
	Krumvř — 1	+	+	+	+	+	—	—
	Krumvř — 2	+	+	+	+	+	—	—
55	Shope	+	+	+	+	+	+	—
	55	+	+	+	+	+	+	—
	Krumvř — 1	+	+	+	+	+	—	—
	Krumvř — 2	+	+	+	+	+	—	—
Krumvř — 1	Shope	+	+	+	+	+	+	—
	55	+	+	+	+	+	—	—
	Krumvř — 1	+	+	+	+	+	+	—
	Krumvř — 2	+	+	+	+	+	+	—
Krumvř — 2	Shope	+	+	+	+	+	—	—
	55	+	+	+	+	+	—	—
	Krumvř — 1	+	+	+	+	+	—	—
	Krumvř — 2	+	+	+	+	+	+	—
č. 19	Shope	+	+	+	+	+	+	—
	55	+	+	+	+	+	—	—
	Krumvř — 1	+	+	+	+	+	+	—
	Krumvř — 2	+	+	+	+	+	—	—
č. V.	Shope	+	+	+	+	+	+	—
	55	+	+	+	+	+	+	—
	Krumvř — 1	+	+	+	+	+	+	—
	Krumvř — 2	+	+	+	+	+	+	—

Vysvetlivky: + = inhibícia hemaglutinácie, — = hemaglutinácia.

M40E51 a kmene Krumvíř - 1 a Krumvíř - 2, ktoré boli vytitrované so slepačiami Ec a bol určený hemaglutinačný titer. Antigény boli skladované pri 4°C. Myšie antiséra boli pripravené dvojitoú imunizáciou (Vasil, Pačenovský). Prvýkrát sme vstriedli bielym myšiam intraperitoneálne 1 ml alantoidnej tekutiny zriedenej 1:10 a za 7 dní druhýkrát ip 1 ml neriedenej alantoidnej tekutiny o HT 1024. O týždeň potom sme myši vykryli podkožnou amputáciou prednej končatiny (Jirán) v éterovej narkóze. Získané krvné sérum sme zriedili 1:4 pufrovaným fyziologickým roztokom, inaktivovali 30 min. pri 60°C a uchovávali pri -25°C.

Súčasne s takto pripravenými antisérmi sme použili k HIT tiež dve séra ošipáných z terénu (č. 19 a č. V), u ktorých bola klinicky a sérologicky zistená influenza ošipáných. HIT sme prevádzali metódou modifikovanou Kaplanom, trochu odlišnou od metódy, ktorú doporučuje komisia pre štandardizáciu pri World Influenza Centre (WIC) Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO).

Výsledky dosiahnuté HIT uvádzame v tabuľke IV.

Obidva vírusové agensy izolované nami jednak z pľúc ošipanej (Krumvíř 1), jednak z pľúc potkanov (Krumvíř - 2) pokladáme za vírus influenzy ošipáných. Obidva kmene sa množia v bunkách alantoidného vaku kuracích embryí, alantoidná tekutina aglutinuje slepačie a morčacie erytrocyty a je infekčná pre biele myši. Podľa skrížených HIT sú obidva izolované kmene v úzkom antigénnom vzťahu ku kmeňu Shope a kmeňu 55. Tento vzťah k štandardným kmeňom najlepšie vidieť z antigénneho pomeru. (Tabuľka V.)

V. Výsledky skrížených HIT myších antisér s homológnyimi a heterogénnyimi antigénami

Vírusové kmene	Specifické antiséra				Normálne sérum
	Shope	55	Krumvíř - 1	Krumvíř - 2	
Shope	1024	1024	1024	512	0
55	1024	1024	512	512	0
Krumvíř - 1	512	512	1024	512	0
Krumvíř - 2	512	512	1024	1024	0

Kmeň Krumvíř - 1 dáva s kmeňom Shope antigénny vzťah $1/1,4$ a s kmeňom päťdesiat päť $1/2$. Kmeň Krumvíř - 2 je s kmeňom Shope v pomere $1/2$ a s kmeňom päťdesiat päť v pomere $1/2$. Vzájomný pomer medzi kmeňami Krumvíř - 1 a Krumvíř - 2 činí $1/1,4$. Pretože sme užívali k reakciám hyperimúne sérum, považujeme za úzku antigénnu príbuznosť aj vzťah $1/2$. Novoizolovaný kmeň Krumvíř - 1 z pľúc ošipanej a Krumvíř - 2 z pľúc potkanov tvoria spolu s ostatnými kmeňami (42, 47, 54, 55) a s kmeňom Shope homológnu skupinu. Zostáva preveriť patogénne vlastnosti, hlavne kmeňa z potkanov, pre ošipané, aby bolo dokázaná možnosť existencie alebo prežívania vírusu influenzy ošipáných v potkanoch ako možnom zdroji nákazy, lebo u nás sú zatiaľ práce tohoto druhu zatiaľ ojedinelé (Rozsocha, Neubert).

Diskúzia

Objasňovanie listériových meningoencefalomyelitíd a listériových infekcií vôbec u ošipáných môže byť niekedy dosť ťažké, lebo klinické príznaky i pi-

tevné nálezy nie sú špecifické. Určítym vodítkom môže byť nález pathohistologických zmien v CNS pri nervových formách choroby.

V našich prípadoch boli tieto zmeny obdobné, ako ich popisujú iní autori (Andrejev, Fankhauser, Flamm, Seeliger, Jamagiwa a rad iných). Je známo, že obdobné zmeny môžu byť vyvolané i inými zárodkami, na pr. pyogennými, ako sú streptokokky, mikrokokky, korynebaktériá. V niektorých prípadoch treba diferenciálne diagnosticky myslieť aj na tzv. infekčnú polyserozitídu a polyartritídu prasiatok. Mimochodom naše pátranie po *Hae-mophilus suis* a *L* organizmoch, ktoré sa v súčasnej dobe považujú za pôvodcov (Hjärre, Láznicka a spol.) bolo v takýchto prípadoch bezúspešné.

Považujeme však za potrebné zamerať sa pri takýchto nálezoch aj na listeriózu. V našich prípadoch sme potvrdili skúsenosť Gray-ovu, že listérie niekedy možno izolovať z mozgu až po dlhšej dobe uchovávaní jeho suspenzie pri nižších teplotách (4°C) s opakovanou kultiváciou, a to niekedy len z malej jeho časti (Kornilova). Je to síce zdĺhavejšia metóda, ale tým istejšia. Doporučujeme preto všetkým pracoviskám, aby aspoň pri pitve ošipaných a klinických príznakmi porúch CNS dodržovali tento postup a uchovávali časť CNS, aby mohol byť podľa výsledku histologického vyšetrenia ďalej vyšetrovaný. Okrem toho treba prevádzkať aj biologický pokus na laboratórnych zvieratách. Je to nutné nielen z hľadiska odhaľovania listeriózy, ale i iných chorôb, ako je *morbus Aujeszky* (Teper) i event. iných meningoencefalomyelitíd. Inak sa bude stále väčšina porúch CNS u ošipaných u nás pokladať za nákazlivú obrnu alebo ich etiológia zostane neobjasnená a protiobrnové opatrenia nepovedú k žiadúcim výsledkom. Kampelmacher doporučuje tiež u nútené zabíjaných kusov s klinickými poruchami CNS vyšetrovať na listeriózu, aby sa zabránilo infekcii ľudí.

Bronchopneumonické zmeny pri listerióze ošipaných tak často zisťované (Solomkin, Andrejev, Zagurskij a Pogorelko, Hubík a Láznicka a i.) nebývajú autorami etiologicky presne objasňované. Podľa výsledkov nášho virologického vyšetrenia predpokladáme, že značná ich časť bude primárne vírusového pôvodu a listeriózu treba v týchto prípadoch pokladať za pridruženú chorobu.

Taktiež často sú pri listerióze zisťované osutinové zmeny na koži. Pretože sú však u ošipaných všeobecne veľmi časté, bude treba pre objasnenie ich vzťahu k listerióze, k chrípke a k iným chorobám, previesť podrobné patogenetické a etiologické štúdie. V humánnej medicíne sú kožné erupcie pri listerióze známe len vzácné (Novák).

Čo sa týka vlastných izolovaných kmeňov listérií treba si všimnúť niektorých odlišných biochemických vlastností. Srovnávajúc s údajmi Seeliger a sú rozdiely v našej tabuľke II. pri zkvasovaní cukrov za 96 hod. pri laktóze, rhamnóze, rafinóze a salicíne. Za 96 hod. sú tiež odchylky pri MRT a VP. V tabuľke III. sú odchylky za 96 hod. pri rhamnóze a salicíne a za 72 hod. pri laktóze a MRT. Z toho usudzujeme, že biochemické vlastnosti jednotlivých listériových kmeňov nie sú jednotné.

Patogenita izolovaných kmeňov pre pokusné zvieratá bola tiež pomerne slabá. Vo vyšetrovanom chove bol väčší počet nemocných a zakrpatených prasiatok odobratý k pokusom, v ktorých sa zisťovala hladina penicilínu po rôznej aplikácii. Kusy, ktoré neuhynuli, boli vrátené k dokŕmeniu. Či mali tieto zásahy vliv na vlastnosti izolovaných kmeňov a ich virulenciu, je však otázne.

Vznik prípadných *L. fori* sme nezistili. O izolácii pre biele myši nepatogénneho kmeňa *L. m.* referuje aj Tregubova, [a to zo spiekok.

Snaha objasniť zdroj infekcie listériami, vyšetrovaním škodlivých hlodavcov a matky, sa nestretla s úspechom i keď izolácia listérií z nosných výterov klinicky zdravých zvierat (Schimizu, Otsuka, Oka — cit. Lax) a z mikromammálií (Levy, Macchiavello, Seeman, podľa Seeliger) tiež na vysoké škole veter. v Giessenu) sa iným podarila. Pri tejto príležitosti nami izolovaný vírus influenzy ošipaných z potkanov poukazuje na to, že títo môžu byť zdrojom nákazy pre podsvinčatá a dajme tomu novoprikúpená matka môže byť pritom chrípky prostá. Patogenita izolovaného kmeňa pre ošipané bude podrobnejšie sledovaná v ďalšej časti nášho výskumu.

Z hľadiska epidemiologického nie sú podľa informácií poradne pre antro-pozoonózy pri II. porodnícko-gynekologickej klinike prof. Horálka v Brne a KHES-u v Brne, prípady listeriózných infekcií u ľudí v nami vyšetrovanej lokalite (Věžík, Žák). Výsledky dodatočného serologického vyšetrovania budú oznámené v samostatnom krátkom zdení v kladnom prípade.

Na základe našich pokusov a pozorovaní sa kloníme k tej časti autorov, ktorí považujú *L. m.* vo väčšine prípadov za podmienené patogénneho mikróba.

Súhrn

Podáva sa zpráva o izolácii 2 kmeňov listérií zo 4 prasiatok pri nervovom onemocnení ošipaných. Vlastnosti kmeňov boli trochu odlišnejšie ako uvádza Seeliger. Histologické zmeny v CNS boli vyznačené: 1. prevažne tvorbou mikroabscesov (obr. 1) v sivej hmote miechy, predĺženej miechy a v *pons Varoli*, bujením glie a krvácaninami, 2. prevažným postihnutím blán miechy (obr. 2), predĺženej miechy a *pons Varoli* v podobe zmiešaných infiltrátov bunkových, gliózy a infiltrátov v mozočku a krvácanin v blanách hemisfér, 3. prevažne zmiešanou meningoencefalitídou, gliózou a krvácaninami v mozgovom kmeni a v hemisférach (obr. 3, 4, a 5), 4. leukostázou a gliózou v prípade izolácie listérií z podlopatkových abscesov. Súčasne bol z pneumonických zmien u jedného prasiatka a 4 potkanov izolovaný vírus influenzy ošipaných rovnakých vlastností. Autori doporučujú v prípadoch porúch CNS uchovať časť mozgu pri nízkej teplote a vyšetriť na listérie podľa Gray-a a previesť zároveň biologický pokus na laboratórnych zvieratách. *Listeria monocytogenes* sa podľa autorov javí vo väčšine prípadov ako podmienené patogénny mikróba.

Tým, že sa podarí odlíšiť listeriové meningoencefalomyelitídy od nákazlivej obrny ošipaných, možno sa pokúsiť o zachranu živých nemocných kusov liečbou kombinovaním sulfonamidov s antibiotikami i keď doterajšie výsledky s nimi nie sú jednoznačné.

Literatúra

Andrejev P. N.: Nakažlivé nemoci prasat. Praha 1951, 255-268. — Baštář M.: Sdělení o nálezu zárodků *Listeria monocytogenes* u zajíce. Veterinářství 1956 (6), 5, 137-138. — Bedenašvili G. G.: Smešanaja infekcija čumy svinej i listerelleza. Veterinarija 1957 (XXXIV), 5, 25-26. — Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Baltimore 1948, 408-409. — Biester H. E., Schwarte L. H.: Listerellosis in Swine

and Criteria for Diagnosis. U. S. L. S. S. Assn. 1940 (December). — De Blieck L., Jansen J.: Listerellosis in Pigs. Biol. Abst. 1946, 20, 2189. — De Blieck L., Jansen J.: Listeriose bei Tieren. Listeriose bei Ferkeln. Antonie van Leeuwenhoek ned. Tijd. Hyg. Microbiol. 1943, 9, 93-103, ref.: Tijdschr. Diergeneesk. 1942, 69, 573. — Csontos J., Pesti L., Romvári J.: Adatok a sertések Listeriosisához. Magyar Állatorv. Lapja 1956 (11), 6, 204-209. — Čepajev I. P., Zinkova Z. V., Gordienko L. F.: Lečenie svinej Miarsenolom pri listerelleze. Veterinarija 1955, 9, 41-43. — Čupík J.: Isolace viru pneumonie prasat a pokus o průkaz jeho etiologické souvislosti s touto chorobou. Sborník ČSAZV - Veterinární medicína 1956, 3, 197-210. — Eveleth D. F.: Listeriosis of Sheep and Swine. Norden News 1954, 28, 6. — Eveleth D. F., Bolin F. M., Thurn Jenny: Listeriosis of Sheep and Swine. Progress Report B. J. O. (B. J. - 9,6) Nord Dak Agric. Exp. Sta., Fargo 1953. — Eveleth D. F., Goldsby Alice J., A. B. and Jenny Thurn: Listeriosis of Swine. Veterinary Medicine 1953 (XLVIII), 82-83. — Fankhauser R., Wyler R.: Die Nervenkrankheiten des Schweines. Schw. Arch. f. Tierheilk., 1953 (95), 11, 608-611. — Flamm H.: Die patho-histologische Diagnose der Listeriose im Tierversuch. Schw. Zeitschr. f. allg. Path. Bakt. 1955 (18), 270-277. — Gavričenkova A. J.: Zaboľevanije svinej listerellozom. Veterinarija 1955 (XXXII), 11, 34-35. — Gmitter J.: Nové poznatky o prírodnej ohniskovosti zoonóz. Veterinársky časopis 1957 (VI), 2, 170-176. — Graham R.: Listeriosis in Swine. N. Am. Vet. 1949, 30, 520. — Gray a spol.: J. Bacter. 1948 (55), 471, cit. Seeliger. — Harnach R., Mráz O., Jiran E.: Naše nálezy kmenů *Listeria monocytogenes* u ovci, selat a ptáků. Sborník ČSAZV - Veterinární medicína 1957 (XXX), 6, 395-400. — Harnach R., Mráz: Nálezy *Listeria monocytogenes* na veterinární fakultě v Brně v letech 1946-55. Prednesené na X. sjezde mikrobiologické a epidemiologické sekce čs. lek. spol. J. E. Purkyně 21.-23. V. 1956 v Praze. — Hemholdt C. F., Jacobs R. E., Case L. I.: An Outbreak of porcine Listeriosis. Vet. Med. 1951, 46, 347, cit. Smith H. C. — Hirst: J. Exp. Med. 1942, 76, 101. — Hjärre A.: Glässers Krankheit. Arch. f. exp. Vet. Med. 1957 (XI), 1, 3-8. — Hubík R., Láznicka F.: Listeriové infekce prasat. Veterinářství 1955 (V), 10, 303-307. — Saburo Jamagiwa: Comparative pathological investigation on encephalitis of domestic animals; especially on the eosinophilic encephalitis of swine and distemper encephalitis II. The Japanese Journal of Veterinary Research, 1955 (3), 4, 153-170. — Jiran E.: Pokus o antigenní rozlišení virových kmenů influenzy (chřipky) prasat a jejich vztah k typu A a B chřipky lidské. Sborník ČSAZV - Veter. medicína 1957, 6, 433-442. — Jiřina K.: Listeriosa u pokusných zvířat. Voj. zdrav. listy 1954 (XXIII), 10, 444-447. — Kampelmacher E. G.: Značenie listerelloza pri sanitarnom osmotre mjasu. Veterinarija 1956 (XXXIII), 12, 63-65. — Keménes F.: Adatok a hazai juhlisteriosis oktanához és kórokozójának kitenyészteséhez. Magyar állatorv. lapja 1955 (10), 4, 115-118. — Kerlin D. L., Graham R.: Studies of Listerellosis. VI. Isolation of *Listerella monocytogenes* from Liver of Pig. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 1945, (58), 351-352, cit. Rhoades. — Kolář J., Bašťář M.: Příspěvek k zjištění a serodiagnostice listeriosy u skotu. Veterinářství 1956 (6), 5, 130-132. — Koljakov: Veterinarnaja mikrobiologija, Moskva 1952, kap. XIII, 223-227. — Koppel, Nižňanský, Stricker: K otázce výskytu a národohospodarskemu významu listeriózy zvierat. Veterinářství 1951, 4, 37-39. — Koppel Z., Rohárik J.: Príspevok k výskytu listeriózy na východnom Slovensku. Folia veterinaria facultatis medicinae veterinariae Cassoviensis 1956 (TI), 2, 173-178. — Kornilova A. L.: Listereloz životnych i ptic v Novosibirskoj oblasti. Veterinarija 1956 (XXXIII), 7, 57-60. — Koznov N. A., Barsukov G. F.: Listerellez svinej. Veterinarija 1957 (XXXIB), 5, 23-24. — Kuzminskij A. S.: Epidemiologia vspyški listerelloznoj infekcii. Žurnal Mikrobiol., Epidemiol. i Immunobiol. 1956 (27), 8, 25-30. — Lax T.: Listerellosní zmetání bahnic. Veterinářství 1955, 4, 117. — Láznicka, Bednář, Boháč, Dombek: Identifikace agens vyvolávajícího infekční polyserositis prasat. Sborník

ČSAZV - Veter. medicina 1955 (28), 101-106. — Levy: *Listeria monocytogenes* in voles. Vet. J. 1948 (104), 9, 310-312. — Macchiavello: Arg. Hig. (Rio de Janeiro), 12, 105. cit. Levy podľa výťahu v Biol. Abst. (1943), 18, 1244. — Marek J., Zach E.: Nález listerel u ovci. Veterinářství 1954, 12, 373-374. — Mráz O.: Výskyt listeriosy u zvířat v ČSR. Prednesené na prac. schůzi brnenskéj odbočky mikrobiol. sekcie čs. lék. spol. J. E. Purkyňu v Brně. — Nižnánský: Slov. veterinár 1943, 345. — Novák J.: Zvláštní kožní projevy při listerioze. Čas. lék. čes. 1957 (XCVI), 14, 420-421. — Novický R., Černovský J.: Zjištění *Listeria monocytogenes* u drůbeže. Veterinářství 1956 (6), 2, 39-42. — Orobinskij J. J.: O listerellezopodobnom zaboľevaniji sviněj. Veterinarija 1955 (XXXII), 11, 37. — Patočka, Benda: Čsl. hyg., epid., mikrobiol. 1953 (II), 5. — Plummer P. J. G., Byrne J. L.: Canad. J. comp. Med. a. Vet. Sci. 1950 (14), 214. — Pouska F.: Listerellosis. Čas. čs. veter. 1950 (V), 4, 57. — Rhoades H. E., Sutherland A. K.: Concurrent *Listerella Monocytogenes* and Hog Cholera Infections. J. Amer. vet. med. Assoc. 1948 (112), 855, 451. — Rosocha J., Neubert J.: Izolácia vírusu chrípky ošípaných z potkanov a štúdium jeho základných vlastností. Folia veterinaria facultatis medicinae veterinariae Cassoviensis 1956 (TI), 2, 179-189. — Rvu E.: Three cases of *Listeria* infection in Swine (In Indiana, USA, - Ed.). Mem. Coll. Agric. Taiwan Univ. 1955, 4, 10. — Šiladze M. V.: Listerellez lošadej i sviněj. Veterinarija 1953 (30), 9, 23-24. — Schlegel, Oprecht: Über einem Fall von Listeriose beim Schwein. Schw. Arch. f. Tierhik. 1955 (97), 11, 542-547. — Schoop G.: DTW 1946, 42 - cit. Flamm. — Seeliger H.: Listeriose. Beiträge zur Hygiene u. Epid. 1955, 8, Leipzig 1955, s. 152. — Seeman J.: Nálezy *Listeria monocytogenes* u hlodavců. Čs. epid., mikrobiol., imunobiol. 1957 (VI), 3, 140-145. — Slabospickij T. P.: Pro novij patogennij mikroorganizm z rodu *Listerella*. Naukov. zapiski Kijivsk. vet. inst. 1938, 1, 39-49 - cit. Tregubova. — Slabospickij T. P.: Pro novij mikroorganizm, vidilenij vid porosjat. Veter. sprava 1936, 3, 52-58 - cit. Tregubova a Andrejev. — Slabospickij T. P.: Pro novij patogennij mikroorganizm z rodu *Listerella*. Mikrobiolog. žurnal 1939 (VI), 1-2, 123-151 - cit. Andrejev. — Smith H. C.: Advances made in Swine Practice. Part VIII. Listeriosis. Vet. Med. 1956 (51), 8, 367-371. — Solomkin P. S.: K voprosu o listerelloznoj infekciji u sviněj. Veterinarija 1954, 1, 24-29. — Solomkin P. S.: Bolezni sviněj s kliničeskimi javenijami poraženija centralnoj nervnoj sistemy. Veterinarija 1956, 6, 24. — Stricker, Koppel, Gruhert, Karellová: Príspevok k výskytu listeriózy zvierat. Veter. časopis 1956 (V), 5, 352-355. — Suchanová, Menčíková, Patočka, Benešová: Experimentální příspěvek k adnáním listeriosám. Universitas Carolina-Medica, suppl I, 1955, 360-368. — Suchanová, Patočka: Pokus o dosažení L forem *Listeria monocytogenes*. Čs. epid., mikrobiol., imunobiol. 1957 (VI), 3, 133-139. — Svincov P. M.: Listerellez životnych. Veterinarija 1948, 7, 23. — Svincov P. M.: Listerelly i listerellez životnych. Diss. VIEV, 1946 - cit. Tregubova a Andrejev. — Svincov P. M.: Listerellozy životnych i čelovjeka. Sov. veterinarija 1942, 12: 8 - cit. Andrejev. — Teper: Skúsenosti s Aujeszkého chorobou na Slovensku. Veterinársky časopis 1957 (VI), 1, 35-54. — Topley's and Wilson's Principles of Bacteriology and Immun. London 1947. str. 709. — Tregubova N. G.: Listerelloz sel'skochozajstvennych životnych, kur i pušnych zvěrej. Veterinarija 1949 (26), 1, 27-32. — Tůmová - Papírníková: Isolace nových kmenů z epidemie chrípky v Československu 1950-1951. Čs. hemat. 1952, 1, 32-40. — van Ulsen F. W.: Tijdschr. Diergeneesk. 1952 (77), 899 - cit. Seeliger. — Vacek R., Benda R.: Vrozená listeriosa novorozenců (tzv. pseudotuberkulosa neboli pseudodifterie novorozenců podle starších autorů). Pediatrické listy 1954 (9), 107-116. — Vasil, Pačenovský: Porovnávacie štúdium základných vlastností novoizolovaných kmeňov vírusu chrípky ošípaných z r. 1955 s vlastnosťami kmeňov z r. 1954. Sborník ČSAZV - Veterinární medicina 1956, 9, 629-638. — Vendrov A. A.: Listerellez sviněj. Veterinarija 1954 (31), 8, 32-33. — Věžník Z., Žák K.: Současný stav listeriosy

v porodnictví a gynekologii. Prednesené na prac. schůzi brnenskéj odbočky mikrobiol. sekcie Čs. lék. spol. J. E. Purkyňu v Brně 2. 7. 1957. — Zagurskij, Pogorelko: Listerelloz svinej. Veterinarija 1950 (27), 10, 26-28.

К дифференциальной диагностике расстройства центральной нервной системы у свиней

III. Листереллез свиней с одновременной изоляцией вируса гриппа (типа Shope) у свиней и крыс

Авторы делают сообщение о результатах опыта по изоляции 2 штаммов от 4 поросят при расстройстве нервной системы свиней. Характеристика этих штаммов несколько отличалась от приводимой Зеелигером. В центральной нервной системе были установлены гистологические изменения следующего характера:

1. главным образом образование микроабсцессов (рис. № 1) в сером веществе спинного мозга, продолговатого мозга и в варолиевом мосте, бурное размножение глии и кровоизлияния,

2. повреждения главным образом оболочек спинного мозга (рис. № 2), продолговатого мозга и варолиева моста в виде клеточных инфильтратов, глиоз и инфильтратов в спинном мозгу и кровоизлияния в оболочках гемисфер,

3. главным образом смешанный менингоэнцефаломиелит, глиоз и кровоизлияния в мозгу и в гемисферах (рис. №№ 3, 4, 5),

4. лейкостаз и в случае изоляции листерелл из подлопаточных абсцессов. Одновременно из пневмонических изменений у одного поросенка и у 4 крыс был изолирован вирус инфлюэнцы свиней с одинаковыми свойствами. Авторы рекомендуют в случаях нарушения центральной нервной системы сохранять часть мозга при низкой температуре и произвести исследование на листереллы по Грею и одновременно биологический опыт на лабораторных животных. *Listerella monocytogenes* по мнению авторов в большинстве случаев является условным патогенным микробом.

Благодаря тому, что удастся отличить листереллезные менингоэнцефаломиелиты от инфекционного паралича свиней можно попытаться сохранить жизнь больным свиньям путем лечения комбинацией сульфомидных препаратов с антибиотиками, хотя полученные до сих пор результаты не всегда были эффективными.

On the Differential Diagnosis of Affections of the Central Nervous System of Pigs

III. Listeriosis of Pigs with Simultaneous Isolation of Influenza Virus (Shope Type) of Pigs and Brown Rats

This study reports on the isolation of two strains from four pigs suffering from affections of the nervous system of pigs. The characteristic of the strains were slightly different from those given by Seeliger. Histological changes in the central nervous system were marked by: (1) chiefly the formation of microabscesses (see Fig. 1) in the grey matter of the brain, the medulla oblongata, and in the pons Varoli, rampant glioma and bleeding, (2) predominantly the affection of the membrane of the brain (see Fig. 2), of the medulla oblongata and pons Varoli in the form of mixed infiltrates of cells of the glioma and infiltrates in the brain and bleeding in the membranes of the hemispheres, (3) predominantly mixed meningoencephalitis, glioma and bleeding in the base of the brain and in the hemispheres (see Figs. 3,4 and 5), (4) leucostasis, and in case of isolation

Listeria from subshoulder abscesses. At the same time the influenza virus was isolated from the pneumonic changes in one pig and four brown rats with the same characteristic. The authors recommend in case of disturbances of the central nervous system with a low temperature to investigate the Listeria according to Gray's method and perform the author's experiment, showing in most cases a prerequisite pathogenic microbe.

The fact that Listeria meningoencephalomyelitis can be distinguished from infectious paralysis of pigs, means that we can attempt to save the living animals by treating with a combination of sulphonamids and antibiotics, even though results so far are not completely demonstrable.

Rekonvalescentní a hyperimunní hovězí séra u slintavky a kulhavky

V. Seroneutralizační testy ke zjišťování kvality profylaktických komerčních sér

Реконвалесцентные и сверхиммунные ящурные сыворотки крупного
рогатого скота

Foot-and-Mouth Disease Convalescent and Hyperimmune Cattle Sera

Rekonvaleszenz- und hyperimmune Rinderseren bei Maul- und Klauenseuche

J. BOHÁČ, B. BAREK, R. DOMBEK, R. HUBÍK, F. LÁZNIČKA

Biovet. Terežín, n. p.

Došlo dne 22. XI. 1957

Úvod

Když jsme byli postaveni před úkol výroby profylaktických sér proti slintavce a kulhavce (SlaK), museli jsme současně vypracovat způsob kontroly kvality vyráběného séra. Při výběru metodiky rozhodli jsme se především pro séroneutralizační (SN) testy. Jako druhou metodu pro vyhodnocování obsahu protilátek v hovězích profylaktických sérech proti SlaK, jsme vypracovali metodu nepřímých komplementfixačních testů (KFT). O tom byla podána zpráva jinde, jako vůbec první sdělení o použitelnosti tohoto testu pro systém hovězí sérum — antigen SlaK, dokonce dříve, než se objevila práce Rice-ové a spol..

SN-testů se užívá ve studiích s virem SlaK vedle KFT k určení typů viru SlaK a ke zjištění jemnějších antigenních diferencí. Tyto testy jak známo odкрývají skutečné kolující imunní gamma-globulinové protilátky a zjištěné titry sér jsou shledávány v dobré shodě se stupněm imunity zvířete.

Technika SN-testů doznala během doby u SlaK určitého vývoje, zejména pokud jde o zvíře použité k testu. Tak *B e d s o n et al* prováděli k rozlišení typů viru SlaK SN-testy na morčatech. Pro zjištění jemnějších rozdílů mezi dvěma kmeny téhož typu bylo už morče málo citlivým zvířetem, takže průkazně nemohli odkrýt podtypy nebo varianty. To provedli pomocí SN-testů na skotu *Brooksby et al*. Na zvláště vybraných zvířatech s naprosto čistou slintavkovou minulostí mohli už zjistit určité difference mezi pirbrightským základním kmenem a dvěma kmeny mexickými, patřícími k témuž typu (*Vallée A.*). Konečně *S k i n n e r* zjistil, že lze k SN-testům použít sajících myšek, a to se stejnou citlivostí jako skotu.

V sérii předchozích sdělení jsme sledovali v rekonvalescentních a hyperimunních sérech obsah albuminů, globulinů, Brdičkovu filtrátovou reakci, celkový obsah bílkovin (10), obsah fibrinogenu a obsah protilátek zjišťovaný pomocí nepřímých KFT. Cílem této práce bylo zjistit použitelnost SN-testů k vyhodnocování účinnosti komerčních profylaktických sér, vypracovat metodu zkoušky účinnosti pro potřeby státní kontroly a vyhodnotit touto metodou sérii op. čísel námi vyráběných profylaktických sér. Jelikož jsme měli k dispozici skot z oblastí nezasazených slintavkovou epizootií, rozhodli jsme se z provozních důvodů pro SN-testy na skotu.

Materiál a metodika

1. Profylaktická séra

Byla zkoušena: a) *obchodní hyperimunní séra*. Jako dárců séra bylo použito volů o živé váze 6 q. Zvířata byla rozdělena do 2 skupin s poněkud odlišným hyperimunizačním schematem.

1. skupina: o 87 zvířatech přestála nejprve spontánní onemocnění slintavkou typu A s těžkým průběhem. Za měsíc po infekci byla zvířata vakcinována monovalentní vakcinou typu O. Za měsíc po vakcinaci byla zvířata zkušebně infikována 3 krát po sobě natřením na jazyk suspense viru SlaK typu O o stupňované koncentraci $10^5 - 10^7$ ID₅₀ viru, aniž došlo ke klinickým projevům onemocnění. Pak bylo přikročeno k iv hyperimunizacím směsí obou typů.

2. skupina o 73 zvířatech byla nejprve vakcinována obchodní bivalentní vakcinou (typu A + O), po třech nedělích byla provedena kontrolní infekce 10^7 ID₅₀ viru SlaK typu O natřením na jazyk a za 14 dní potom 10^6 ID₅₀ viru SlaK typu A. Předchozí přípravou získali dárce velmi solidní základní imunitu, takže při kontrolních infekcích neonemocněli, a proto bylo započato s iv hyperimunizací směsí obou typů. Hyperimunizace i odběr byly dělány vždy týž den, a to tak, že vždy po odběru krve asi 1 % živé váhy byla provedena iv infekce 50 ml 10% suspense viru stejným dílem A + O filtrované přes EK Seitzovy filtry. Intervaly mezi procedurami byly zpravidla 1 týden a byly pak opakovány u 1. skupiny 12krát, u 2. skupiny 10krát. Po jejich ukončení byla provedena totální exsanguinace všech zvířat z *A. carotis*.

Odběry krve u 1. skupiny dárců byly zpracovány na tato op. čísla profylaktického séra: 1, 2, 3, 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17, 19, 21, a z exsanguinace byla vyrobena op. č. 23, 24, 25.

Odběry krve u 2. skupiny dárců daly tato op. čísla: 5, 7, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 a exsanguinace 26, 27, 28.

b) *Obchodní rekonvalescentní séra*. Krev byla získávána ve velkém v terénu tam, kde slintavka postihla větší počet ustájených zvířat. Z takových lokalit byl určen v akutním stadiu infekce typ viru, takže byla předem známa typová příslušnost antiséra. Odběr byl prováděn asi 3–4 týdny po zjištění nákazy. Většina rekonvalescentního séra byla typu A, který byl hlavním původcem SlaK epizootie 1952–1953 v ČSR. Na rozdíl od bivalentních hyperimunních sér, byla rekonvalescentní séra monovalentní. V našem případě jsme vyzkoušeli hodnotu op. č. 20.

c) na srovnání kvality našich sér bylo vyzkoušeno též *obchodní hyperimunní sérum maďarské výroby*, a to op. č. 9, dodané nám na přezkoušení dovozní společností Chemapol. O jeho způsobu výroby a kontroly referovali Mészáros et al.

2. Seroneutralizační testy

Byly prováděny tak, že k postupnému 10násobnému ředění viru bylo přidáváno stejným dílem koncentrované sérum, předem inaktivované 30 min. při 56° C. Směs jsme nechali stát 90 min. při pokojové teplotě. Potom byla inokulována pod sliznici hovězího jazyka *Hendersonovou* titrační metodou, upravenou *Barkem* (1), t. j. každým ředěním bylo provedeno 5 vpichů v řadě po 0,5 ml, a to tak, že jeden hovězí jazyk byl použit pro 3 ředění, z nichž 2 řady byly umístěny laterálně na každé straně jazyka blíže místa, kde přechází papilární sliznice v hladkou sublinguální a 3. řada umístěna transversálně napříč dlouhé osy jazyka na hřbetu pod valem.

SN-testy byly provedeny pouze s virem SlaK typu Vallée A. Použitý virus byl výrobní kmen A₅, dodaný nám z ústavu Friedricha Loefflera na ostrově Riems (NDR), a to jeho 164. domácí pasáž. Zhotovili jsme z něho základní suspensi viru, vytitrovali v ní obsah viru, rozplnili ji a uložili do mrazáčního boxu při -40° C. Průměrný titr viru byl 10^{-8,9} ID₅₀. Přesný titr viru byl zjišťován současně s každou sérií SN-testů. K vyzkoušení neutralizační aktivity normálních hovězích sér byly provedeny SN-testy samozřejmě též se séry kontrolních zdravých kusů skotu. Všechny SN-testy byly provedeny v poměrně krátkém časovém úseku, takže podmínky testu byly více méně stálé.

Vyhodnocení SN-testů bylo prováděno 24 hodin po infekci obvyklým způsobem s kalkulací podle *Reeda a Muencha*. Byl vypočítáván titr viru, titr sera, neutralizační index a pro názornost ještě počet ID₅₀ viru zneutralizovaných sérem. Příklad takového vyhodnocení je uveden v tab. I. V zlomcích jako obvykle je u jednotlivých ředění uveden v čitateli počet pozitivních vpichů a ve jmenovateli celkový počet provedených vpichů pro dané ředění.

3. Pokusná zvířata

K SN-testům bylo používáno skotu o průměrné ž. v. 350 kg. Zvířata pocházela z krajů, kde SlaK nebyla dosud zjištěna a kde nebyla provedena vakcinace. Pro každý vzorek séra bylo použito 3–4 pokusných zvířat.

I. Příklad vyhodnocení SN — testů

Ředění	Virus 164. pas. Vallée A	Hyperimunní serum			Rekonval. sérum op. č. 20
		op. č. 11	op. č. 16	maďarské op. č. 9	
10 ⁻¹		5/5	5/5	5/5	5/5
10 ⁻²		15/15	15/15	15/15	15/15
10 ⁻³		1/15	4/20	17/20	13/20
10 ⁻⁴		0/10	1/15	6/15	1/15
10 ⁻⁵		—	0/5	0/5	0/5
10 ⁻⁷	5/5				
10 ⁻⁸	8/10				
10 ⁻⁹	8/15				
10 ⁻¹⁰	0/10				
10 ⁻¹¹	0/5				
Titr viru ID ₅₀	10 ^{-8,93}				
Titr sera		10 ^{-2,54}	10 ^{-2,66}	10 ^{-3,65}	10 ^{-3,3}
Neutralizační index - NI		6,4	6,2	5,2	5,6
ID ₅₀ viru zneutr. virem (antilog NI)		2,512.000	1,585.000	158.500	398.100

Výsledky práce

Vyšetřili jsme celkem 26 op. č. námi vyráběných hyperimunních sér, 1 rekonvalescentní sérum a 1 hyperimunní sérum maďarského původu (Phylaxia).

Dosažené výsledky jsou shrnuty ve dvou tabulkách a jednom grafu. V tabulkách jsou vyznačena jednotlivá op. čísla a dále doba od poslední imunisace k příslušnému odběru. Ve čtvrtém sloupci jsou uvedeny titry séra (t. j. ID₅₀ viru

II. Séra 1. skupiny

Op. č.	Doba od poslední imunisace — dní	Titř viru ID ₅₀	Titř séra	NI	ID ₂₂ viru zneutralisovaných sérem antilog NI
1	7	10-8,9	netitrováno	—	—
2	6		10-3,3	5,6	398.100
3	7		10-3,1	5,8	631.000
4	7		10-2,5	6,4	2,512.000
6	7		10-2,6	6,3	1,995.000
8	7		10-2,5	6,4	2,512.000
11	14		10-2,5	6,4	2,512.000
13	7		10-2,8	6,1	1,259.000
15	7		10-2,7	6,2	1,585.000
17	7		10-2,9	6,0	1,000.000
19	14		10-2,7	6,2	1,585.000
21	7		10-3	5,9	794.300
23	7		10-2,5	6,4	2,512.000
24	11		10-2,8	6,1	1,259.000
25	15		10-3,3	5,6	398.100

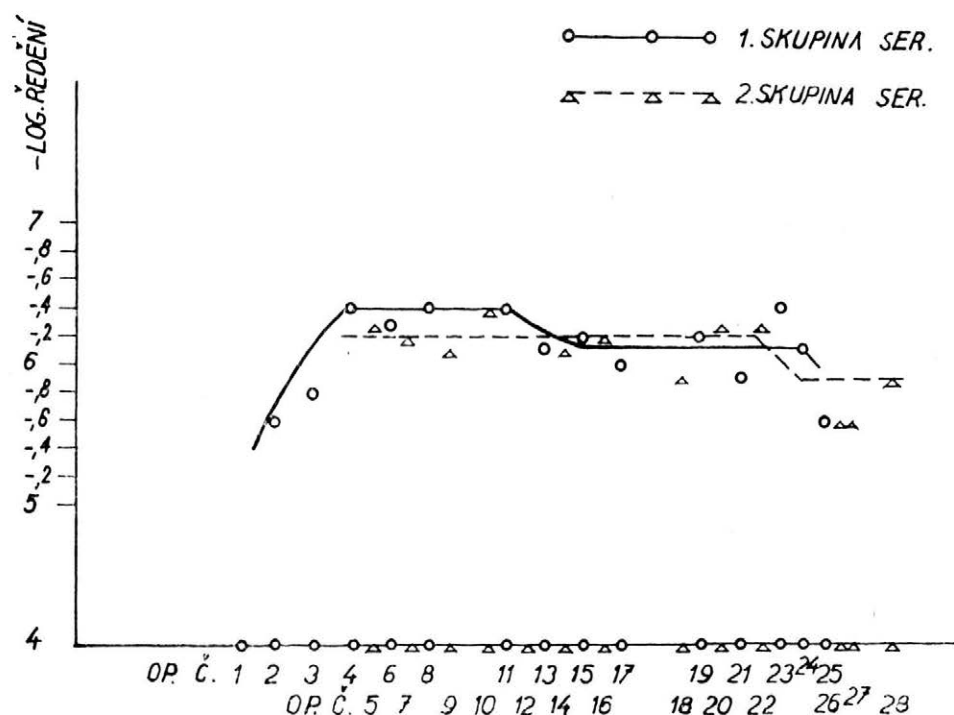
III. Séra 2. skupiny

Op. č.	Doba od poslední imunisace — dní	Titř viru ID ₅₀	Titř séra	NI	ID ₂₂ viru zneutralisovaných sérem antilog NI
5	7	10-8,9	10-2,6	6,3	1,995.000
7	7		10-2,7	6,2	1,585.000
9	7		10-2,8	6,1	1,259.000
10	7		10-2,5	6,4	2,512.000
12	7		netitrováno	—	—
14	7		10-2,8	6,1	1,259.000
16	7		10-2,7	6,2	1,585.000
18	14		10-3	5,9	794.300
20	7		10-2,6	6,3	1,995.000
22	7		10-2,6	6,3	1,995.000
26	14		10-3,3	5,6	398.100
27	16		10-3,3	5,6	398.100
28	23		10-3	5,9	794.300
Rekonval. s. op. č. 20	—		10-3,3	5,6	398.100
Maďarské s. op. č. 9	—		10-3,7	5,2	158.500
Normální serum	—		10-6,3	2,6	398

dosažený inokulací směsi koncentrované sérum + ředěný virus) vyjádřené záporným log ředění viru. Vlastní resultát je vyjádřen neutralizačním indexem (NI), který představuje rozdíl mezi titrem viru a titrem séra (NI = titr viru - titr séra). Udává log počtu zneutralisovaných jednotek viru, který po odlogaritmování uvádíme pro lepší názornost v posledním sloupci.

NI v obou skupinách se pohybuje mezi hodnotami 5,6–6,4. Rekonvalescentní sérum dosáhlo hodnoty, která se rovná kvalitě hyperimunních sér s nejnižším NI. To je v souladu s údajem Brooksbyho, že titr hyperimunního séra se nijak význačně neliší od běžného rekonvalescentního séra. U zkoušeného vzorku maďarského hyperimunního séra byla zjištěna velmi nízká hodnota, která je pod úrovní nejnižších hodnot našich sér. Neutralisuje ani ne polovinu ID₅₀ viru proti našemu séru rekonvalescentnímu a nejslabším sérum hyperimunním.

Dynamika kolísání protilátek během hyperimunisace je patrná z grafu. Na ose X jsou uvedena op. č. v časovém odstupu jak byla získávána. Na ose Y jsou naneseny hodnoty NI.



První skupina dosáhla krátkodobě vyšší hladiny protilátek. Vrcholu křivky je dosaženo mezi 4. a 7. odběrem (op. č. 4–11). V zápětí však hladina protilátek klesá na jakousi střední hodnotu, kde se udržuje až do exsanguinace.

U druhé skupiny je průměrný obsah protilátek s jistými neprůkaznými výkyvy téměř po celou dobu hyperimunisace stálý, pouze op. č. získaná exsanguinací, mají hladinu protilátek nižší.

Rozbor výsledků a diskuse

SN-testy k zjišťování protilátek proti SlaK jsou obecně známou metodou, používanou však spíše pro účely výzkumné nebo diagnostické. K praktickému hodnocení komerčních sér ve výrobních ústavech není však tato metoda všeobecně akceptována. Ke kontrole účinnosti SlaK profylaktických sér se většinou používá protekčních testů (na př. riemský ústav, budapeštská Phylaxia). Tyto testy však nedávají tak kvantitativní výsledky a neodpovídají proto plně dnešní praxi, která chce nejen vědět, že séra jsou dobrá, nýbrž chce znát i přesnější stupeň jejich kvality, t. j. jak jsou dobrá. A to vyjadřují mnohem lépe SN-testy než testy protekční.

Námi dosažené výsledky tento názor podporují. Jak bylo ukázáno, umožňují SN-testy kvantitativní hodnocení obsahu protilátek, jsou rychlé a nikterak mimořádně pracné. V provozu SlaK ústavu nepůsobí ani zvláštních potíží opatřit postačující počet testových zvířat. To vše mluví ve prospěch této metody. Její nevýhodou jsou všechny obecné nevýhody biologických testů, t. j. zejména značné zatížení chybami pro různou individuální vnímavost zvířat, které se ještě znásobují tím, že můžeme přece jen pracovat s omezenějším počtem zvířat a nemůžeme si tak snadno dovolit opakování testů. Tyto nevýhody platí ovšem v plné míře i pro testy protekční. Doporučujeme proto, k dosažení přesnějších výsledků při kontrolách kvality profylaktických anti-SlaK sér doplnit biologickou metodu SN-testů sérologickou metodou *in vitro* pomocí nepřímých KFT, které podle předchozí práce (3) dávají výsledky citlivější.

Nechceme zde však diskutovat o hodnotě a citlivosti SN-testů. Otevřenou ponecháváme však otázku interpretace dosažených výsledků. U SN-testů se bere obecně za měřítko obsahu protilátek neutralizační index (NI), nebo jeho antilog, udávající počet ID₅₀ viru zneutralizovaných sérem. Pro státní kontrolu biopreparátů je však důležité rozhodnutí, jaké hodnoty NI ukazují na vyhovující séra a od které hranice NI je třeba považovat séra za nevyhovující pro použití v praxi. Vcelku jsme uvažovali o trojí možnosti takového hodnocení:

1. v dohodě s OIE zvolit *mezinárodní standard*, k němuž by se zkoušená séra přirovnávala. Zda již takový standard existuje nám není známo.

2. zvolit si určitý *pevný limit* minimální požadované účinnosti, vyjádřený v NI a k němu přirovnávat dosažené hodnoty.

3. za kritérium použitelnosti séra zvolit *pohyblivý limit*, který by odpovídal požadavku, aby sérum zneutralisovalo nejméně polovinu titru viru. Vyjádřeno

obecně: minimálně přípustný limit = $\frac{\text{titr viru (exponent záp. log ředění)}}{2}$

Tedy NI dosažený u zkoušeného séra by se musel alespoň rovnat nebo být vyšší než $\frac{\text{titr viru}}{2}$.

K bodu 1. Máme za to, že t. č. takový standard neexistuje, a proto o této možnosti nebudeme dále uvažovat. Byla by to záležitost mezinárodní dohody.

K bodu 2. Tato metoda se zdá nejjednodušší. Zbývalo by jen rozhodnout se o hodnotě zvoleného pevného limitu. Z naší praxe navrhuje, aby požadavkem pro profylaktická séra byla schopnost neutralisovat minimálně 10.000 (= 10⁴) ID₅₀ viru; obecně: minimálně přípustný NI (M. p. NI) = 4. Zdá se nám, že je to množství viru, se kterým zvíře nemůže přijít do kontaktu ve svém přirozeném prostředí, a že tedy, splní-li sérum tento požadavek, skýtá

záruku, že je schopné ochránit očkovance před infekcí. Sérum, které dosáhlo právě limitu, by mělo účinnost rovnou 1 jednotce. Násobky počtu zneutralizovaných ID₅₀ viru nad limit by udávaly nadlimitní počet jednotek.

K bodu 3. Vzhledem k pohyblivosti titru viru použitého k neutralisaci působí tento způsob určité potíže při srovnávání výsledků z různých titrací. Tyto nesnáze jsou překonatelné matematicko-statistickými výpočty (na př. metodou klouzavých průměrů a j.). Interpretace výsledků je však obtížnější a proto pro běžnou kontrolní praxi méně doporučitelná, i když dosažené výsledky budou asi přesnější než u metody 2.

Otázkou zjišťování protilátek v hovězích sérech se zabýval obšírně Brooksby. Srovnával 2 způsoby provádění SN-testů a zjistil, že jak neutralisace vzestupných ředění viru sérem neměnné koncentrace, tak i druhý způsob, t. j. neutralisace fixního množství viru stoupajícím ředěním séra jsou vhodné pro SlaK imunní systém, že však metody ředění séra proti fixní dávce viru je výhodnější. Této metody bylo pak použito různými autory (5, 12, 13, 7). Méssáros (7) et al. použili metody SN-testů na ssajících myškách podle Skinnera. Virus o zvolené koncentraci inf. jednotek (v jejich případě 10⁷ myších ID₅₀) byl neutralisován postupným ředěním séra od 1:2 až 1:8192. Zjišťovali nejvyšší ředění séra, které ochrání 50 % myšek. Došli k překvapivě vysokému titru 1:3276. O posouzení limitu pro vhodnost séra k praktickému užití neuvažovali.

Vysvětlení k nápadně vysokým titrům dosaženým při SN-testech na myškách může podat zjištění Skinnerova. Ten při srovnávacích SN-testech na skotu a myškách prokázal až 100násobně vyšší titr protilátek v testech na myškách proti testům na skotu u téhož séra.

K použití opačné metody, t. j. ředění viru proti neměnné koncentraci séra jsme přistoupili proto, že současně pracujeme analogickou metodou hodnocení účinnosti vakciny. V zájmu řádného provedení kontroly je žádoucí, aby zásadní kritéria a definice hodnot námi vyráběných profylaktických biopreparátů proti SlaK byly shodné. Jelikož metoda pro hodnocení vakciny musí vycházet z postupného ředění viru, přizpůsobili jsme tomu i metodu hodnocení séra. Na základě získaných zkušeností se nám zdá, že i tato metoda je k hodnocení sér plně vyhovující.

Rozhodnutí v otázce interpretace výsledků je ovšem záležitostí kompetentních míst, kterým pouze naše návrhy předkládáme k uvážení. Podotýkáme ještě, že navržené požadavky na kvalitu sér jsou velmi vysoké; to, že všechna zkoušená séra tyto požadavky nejen splnila, nýbrž i daleko překročila, svědčí o vysoké kvalitě námi vyráběných sér. Tyto výsledky a tvrzení byla zcela jednoznačně potvrzena i zkušeností z praxe, a to jak za minulé epizootie 1952 až 1953, tak i v současné době.

Souhrn

1. Pomocí SN-testů byla vyhodnocena obchodní profylaktická séra proti SlaK domácího původu, a to jak hyperimunní, tak rekonvalescentní a současně srovnána s účinností jednoho hyperimunního séra maďarského původu (fy Phylaxia).

2. Diskutováno o 3 způsobech interpretace výsledků pro účely státní kontroly.

B. Barek: Některé okolnosti ovlivňující infekční titr a výtěžnost sliznice hovězího jazyka infikované virem slintavky a kulhavky. Dis. práce, Vys. škola veterinární, Brno, 1952. — S. P. Bedson, H. B. Maitland & Y. M. Burbury: Foot- and Mouth Disease Research Committee, 2nd Progress Report, 1927, London, p. 95. — J. Boháč, G. Petr, R. Dombek: Serodiagnosticska slintavky a kulhavky. Sbor prac prednesených na VIII. celošt. sjazdu čs. hyg. Bratislava, 1953, 475-485. — J. B. Brooksby: The Antibodies in Foot- and Mouth Disease. Agricultural Research Council, Report Series No 9, London (HMSO), 1949. — J. B. Brooksby, I. A. Galloway, W. M. Henderson: Strains of Virus of Foot- and Mouth Disease Recovered from Outbreaks in Mexico. Serum Neutralization Tests. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 69, 74-77, 1948. — W. M. Henderson: Agricultural Research Council, Report Series No 8, London (HMSO), 1949. — J. Mészáros, M. Szent- Iványi, U. Takács, T. Bereznay: Herstellung von Hyperimmunserum gegen Maul- und Klauenseuche mit Hilfe von inaktiviertem Virus. Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 5, 281-288, 1955. — G. Petr: Biochemické studie viru slintavky a kulhavky. I. Sledování hladiny fibrinogenu po infekci virem slintavky a kulhavky. Sborník ČSAZV, Vet. med. 28, 597-602, 1955. — G. Petr, J. Boháč: Rekonvalescentní a hyperimunní hovězí sera u slintavky a kulhavky. I-III. Vet. čas. 3, 133-151, 1954. — G. Petr, R. Dombek: Rekonvalescentní a hyperimunní hovězí sera u slintavky a kulhavky. IV. Sledování celkových serových bílkovin. Vet. čas. 3, 151-155, 1954. — Ch. E. Rice, J. B. Brooksby: Studies of the Complement - Fixation Reaction in Virus Systems. V. In Foot- and Mouth Disease Using Direct and Indirect Methods. J. Immunol. 71, 300-310, 1953. — H. H. Skinner: Propagation of Strains Foot- and Mouth Disease Virus in Unweaned White Mice. Proc. Royal Soc. Med. 44, 1041-1044, 1951. — H. H. Skinner, W. M. Henderson, J. B. Brooksby: Use of Unweaned White Mice in Foot- and Mouth Disease Research. Nature, 169, 794-795, 1952.

Реконвалесцентные и сверхиммунные ящурные сыворотки крупного рогатого скота

1. При помощи сывороточного нейтрализационного теста была произведена оценка противоящурной профилактической торговой сыворотки отечественного производства, а именно как сверхиммунной, так и реконвалесцентной, и одновременно произведено сравнение с действием одной сверхиммунной сыворотки венгерского производства (фирмы Phylaxia).
2. Дискуссия относительно 3 способов интерпретирования результатов для целей государственного контроля.

Foot-and-Mouth Disease Convalescent and Hyperimmune Cattle Sera

Serum Neutralisation Tests to Determine Quality of Prophylactic commercial Sera of Pigs and Browns Rats

1. By means of Serum neutralization tests the commercial prophylactic sera for Foot and-mouth disease of domestic manufacture were evaluated, both the hyperimmune and the convalescent, and at the same time the effectiveness of one hyperimmune serum of Hungarian manufacture (firm Phylaxia) was compared.
2. There was a discussion of three methods of interpreting the results for purposes of state control.

Rekonvaleszenz- und hyperimmune Rinderseren bei Maul- und Klauenseuche

Serumneutralisationsteste zur Feststellung der Qualität von prophylaktischen und Handelsseren

1. Mittels SN-Teste wurden die prophylaktischen Handelsseren einheimischer Herkunft ausgewertet, und zwar wie die hyperimmunen als auch die Rekonvaleszenz-Seren und gleichzeitig mit Wirkungskraft eines hyperimmunen Serums ungarischer Herkunft (von Firma Phylaxia) verglichen.
2. Es wird diskutiert über 3 Arten der Interpretation von Ergebnissen für die Zwecke der Staatskontrolle.

Účinek streptomycinu při pokusně vyvolané enzootické bronchopneumonii selat

Действие стрептомицина при вызванной в опытном порядке энзоотической
бронхопневмонии поросят

Effect of Streptomycin in Experimentally Caused Enzootic Bronchial Pneumonia
of Pigs

K. KOUDELA

Z Ústavu mikrobiologie a imunologie veterinární fakulty VŠZ v Brně. Přednosta prof.
MVDr. Richard Harnach, doktor veterinárních věd

Došlo dne 25. V. 1957

Úvod

Etiologie enzootické bronchopneumonie selat (EBp), doposud velmi často označované jako chřipka selat, je komplexního charakteru. V počátku onemocnění se uplatňuje vliv pneumotropního filtrabilního viru, ke kterému se později přidružuje sekundární a komplexní mikroflora, převážně pyogenní, způsobující často ještě vážnější afekce než sám virus. Primární virovou infekci komplikuje sekundární mikroflora; při tom se nejčastěji zjišťuje synergismus viru a *Haemophilus influenzae suis* (Andrejev, Köbe, Waldmann), zatím co Harnach uvádí, že se *H. i. s.* v jeho výzkumech vyskytoval vzácně. Častějšími průvodci viru jsou ubikvitární, převážně podmíněně patogenní zárodky — streptokoky, mikrokoky, pneumokoky, pasteurely, coli, pyocyanus, proteus, corynebakteria, aerobacter (Andrejev, Harnach, Manninger). V poslední době referují Boháč, Bednář, Dombek a Láznicka o L-organismech.

S EBp se setkáváme převážně v chladném a vlhkém ročním období, od pozdního podzimu až po jarní měsíce. Inkubační doba onemocnění trvá 1—3 dny (Klobouk). Komplikace vznikají po mikrobiální infekci.

V praxi je u nás proti polymikrobním zánětům dýchadel používána yellowcaseinová vakcína BVE 67 (Harnach), která velmi často splňuje požadavky kladené na specificky i nespecificky účinkující biopreparát; po její aplikaci dochází k přeladění tkáňového metabolismu, zvýšení opsoninofagocytárního indexu, zmnožení bakteriolytických a urychlení regeneračních a resorpčních procesů. Kromě této byla připravena vakcína čistě virová (adsorbátová) a virusbakterijní (Harnach).

Setkáváme se poměrně často s medikamentosní léčbou EBp; někteří autoři mají důvěru v tuto medikamentosní terapii, jiní se na ni dívají skepticky. Andrejev se zmiňuje o úspěšné aplikaci sulfonamidů (sulfidin, sulfantrol, streptocid), F a d ě j e v referuje o velmi úspěšné léčbě (85 % vyléčených) sulfanthiazolem, urotropinem a kofeinem. T a r a s e n k o v dosáhl úspěchů s urotropinem, *Calcium chloratum* a atoxylem. O dobrých výsledcích se sulfonamidy a antibiotiky píše K a r n ě j e v a G d o v i n. Richard vyzkoušel při virové pneumonii selat, způsobené virem Beveridge-Bettsovým, a sekundárně se přidružující *Pasteurella multocida* a streptokokky (3) chloramfenikol v dávce 25—35 mg na kg ž. v. dvakrát denně po 3 dny. Tento léčebný zákrok se mu plně osvědčil při akutních i chronických formách virové pneumonie i při recidivách, které jsou prý velmi časté po aplikaci penicilinu nebo streptomycinu.

V naší práci se snažíme ověřit pokusy *in vitro* se sekundární nebo komplexní mikroflorou, při kterých byla zjištěna větší či menší citlivost bakteriálních kmenů ke streptomycinu, experimenty *in vivo* na selatech.

Streptomycin je antibiotikum získané v roce 1943 W a k s m a n e m a vytvářené aktinomycetou *Streptomyces griseus*.

Z hlediska klinické praxe je možno rozdělit zárodky zhruba na tři skupiny:

citlivé	}	vůči streptomycinu
středně citlivé		
necitlivé		

Z bakteriálních kmenů, se kterými v našich pokusech budeme pracovat, patří mezi citlivé *Haemophilus influenzae suis* a *Pasteurella multocida*, do skupiny středně citlivých patří *Escherichia coli*, *Micrococcus pyogenes albus*, *Micrococcus pyogenes aureus*, *Micrococcus pyogenes citreus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus alfa haemolyticus* a *Streptococcus beta haemolyticus*, ke streptomycinu je necitlivý chřipkový virus, ačkoliv Herold (16) uvádí, že streptomycin má střední až žádný účinek na virus chřipky lidské.

Streptomycin je v těle rozváděn krví do jednotlivých orgánů, zvláštní afinitu jeví ke tkáni plicní. Z těla je vylučován převážně močí, v menší míře výkaly a žlučí.

Mechanismus působení streptomycinu není prozatím jednoznačně vysvětlen, K r a s i l n i k o v uvádí domněnky mnoha autorů (Ceriotti, Berkman, Henry, Paine, Collins, Finland, Rake), jejich hypotézy však nedávají uspokojující vysvětlení.

Streptomycin se aplikuje intramuskulárně, intratekálně, intrafistulárně, intrakavitárně, intratracheálně, výjimečně aerosolem, lokálně v masti, zřídka perorálně.

Vedlejší účinky při podávání streptomycinu jsou popsány u lidí po dlouhodobé aplikaci a vyšších dávkách a projevovaly se ve formě neurotoxických příznaků, závratí, šelestů, poruch sluchu až ohluchnutí, někdy i alergických reakcí, které zmizely po vysazení streptomycinu. V dostupné literatuře nebyly vedlejší příznaky u zvířat popisovány.

Ve veterinární medicíně se používá streptomycinu u velkých zvířat v kombinaci se sulfonamidy nebo penicilinem, samotný streptomycin se aplikuje u malých zvířat.

Dávkování a indikace streptomycinu ve veterinární medicíně nejsou zatím dostatečně propracovány jako u penicilinu, proto se dosování a aplikace jednotlivých autorů navzájem značně liší.

V našich pokusech jsme použili dávkování, které doporučil Le b d u š k a (24): 0,1 — 1,0 g na 10 kg ž. v., třikrát denně po 4–6 dní, nitrosvalově.

U prasat a také i jiných zvířat se provádějí pokusy (v některých zemích se již v praxi používá — Holandsko, Dánsko, USA, Francie, Finsko) s perorálním podáváním streptomycinu v krmivu (J e r m o l j e v, 17, Turpin, 35). Jako optimální dávka je doporučováno 11 mg streptomycinu na jeden kg krmiva. Po přidávání antibiotika se zvýšily přírůstky o 10–20 %, snížilo se množství spotřebovaného krmiva, zlepšila se kvalita masa, snížila se mortalita, při tom však nedocházelo ke vzniku streptomycinoresistentních kmenů.

Programem práce

kterou mne pověřil prof. Dr. Richard H a r n a c h, byly tyto dílčí úkoly:

1. Sledovat klinický obraz enzootické bronchopneumonie selat, pokusně vyvolané intranasální infekcí virem enzootické bronchopneumonie a sekundární a komplexní mikroflory.

2. Sledovat, do jaké míry lze streptomycinem ovlivnit uměle vyvolanou enzootickou bronchopneumonii u selat.

Metodika práce

1. Isolace bakteriálních kmenů z případů EBp.

Bylo izolováno 11 kmenů sekundární mikroflory. V mikrobiologické laboratoři bylo kultivováno z bronchopneumonických ložisek vyšetřovaných uhynulých selat na masopeptonový agar, krevní agar a Endo agar, inkubace 24 hod. při 37° C, v některých případech byla inkubační doba prodloužena o dalších 16–24 hodin (pro nepatrný nebo nedostatečný růst zvláště hemofilních zárodků). Po inkubaci byla prováděna diagnostika vyrostlých kultur bakteriologicky a biochemicky, eventuálně biologickým pokusem. Čisté kultury byly překultivovány na šikmý krevní agar, označeny a uloženy v lednici.

2. Příprava suspence sekundární a komplexní mikroflory

Čisté kultury jednotlivých bakteriálních kmenů, 24 hodin staré, byly smyty 15 ml sterilního fyziologického roztoku soli a setřeny jemným sterilním štětečkem. Srovnáním s ústavním standardem připravena suspence bakteriálních kmenů o densitě 1600 milionů. Suspence sekundární a komplexní mikroflory byla získána smíšením suspensí (po 100 ml) těchto kmenů: *Micrococcus pyogenes albus*, *Micrococcus pyogenes citreus*, *Micrococcus pyogenes aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli communis*, *Streptococcus alfa haemolyticus*, *Streptococcus beta haemolyticus*, *Haemophilus influenzae suis*, *Pasteurella multocida* a *Aerobacter aerogenes*.

3. Příprava suspence sekundární a komplexní mikroflory a chřipkového viru

Suspence sekundární a komplexní mikroflory byla získána uvedeným způsobem (2.). Suspence viru byla připravena smícháním ústavních chřipkových

virů č. 42, 47, 54 a 55, od každého kmene po 15 ml. Kmeny byly těsně před pokusem vytitrovány Hirst-Salkovou hemaglutinační metodou a zastaveny do koncentrace shodné u všech čtyř kmenů.

4. Intranasální infekce pokusných selat

Infekce klinicky zdravých selat byla prováděna v chloroformové narkose. Na konus injekční stříkačky Record 50 ml byla nasazena pryžová hadička, dlouhá 20 cm, průměru 5 mm. Tato hadička byla zasunuta nozdrou do dutiny nosní a fixována prsty v horizontální poloze. Z naplněné stříkačky byl frakcionovaně vytlačován obsah při inspiriu do dýchacích cest. K infekci jednoho selate bylo použito 10 ml suspence sekundární a komplexní mikroflory, druhá skupina selat byla infikována 10 ml suspence sekundární a komplexní mikroflory a 2 ml suspence čtyř kmenů chřipkového viru.

5. Aplikace streptomycinu

Selatům, která jevila po infekci příznaky EBp, byl aplikován veterinární streptomycin v dávce 0,1 g na 10 kg ž. v. třikrát denně po 4 dny, intramuskulárně. Dvěma selatům, u kterých byly zjištěny velmi těžké příznaky EBp, jsme podávali první dva dny zvýšenou dávku 0,25 g na 10 kg ž. v. třikrát denně, další dny byla dávka snížena na 0,1 g na 10 kg ž. v. třikrát denně, intramuskulárně. V první serii pokusů byl streptomycin aplikován třetí den nemoci, selatům v druhé serii pokusů pátý den nemoci. V pokusech byl použit československý veterinární streptomycin (veterinární streptomycin — n. p. Penicilin, Roztoky) v balení po 1 g a 0,85 g. Roztok streptomycinu byl připraven přidáním 2 ml sterilního fyziologického roztoku k 1 g streptomycinu. Čirý roztok, který nesmí obsahovat nerozpuštěné částičky streptomycinu, byl aplikován nitro-salově.

Vlastní práce

V diagnostické laboratoři našeho ústavu jsme isolovali pro první serii pokusů z bronchopneumonických ložisek 8 vyšetřovaných selat tyto bakteriální kmény:

- | | |
|---|--|
| 1. <i>Haemophilus influenzae suis</i> , | 5. <i>Proteus vulgaris</i> , |
| 2. <i>Streptococcus beta-haemolyticus</i> , | 6. <i>Micrococcus pyogenes albus</i> . |
| 3. <i>Streptococcus alfa-haemolyticus</i> , | 7. <i>Aerobacter aerogenes</i> , |
| 4. <i>Escherichia coli</i> , | 8. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . |

Dále byly v pokusech použity ještě tyto ústavní kmény:

- | | |
|---|------------------------------------|
| 9. <i>Micrococcus pyogenes aureus</i> , | 11. <i>Pasteurella multocida</i> . |
| 10. <i>Micrococcus pyogenes citreus</i> , | |

První skupina pokusů

Intranasální infekce pokusných selat suspensí sekundární a komplexní mikroflory

11. března 1955 bylo zařazeno do pokusu 5 selat, která byla označena číselnými ušními známkami č. 53, 54, 55, 63 a 65 po klinickém vyšetření. Selata byla ustájena v oddělení pro pokusná zvířata ústavu. Teplota a relativní vlhkost:

ve stáji vyhovující. Selata bylo pozorována po sedm dní před infekcí. 18. III. byla intranasálně infikována suspenzí sekundární a komplexní mikroflory a klinicky pozorována 30 dní. 15. IV. byla selata z pokusu vyražena a poražena na sanitních jatkách.

Výsledky pokusů

U žádného z pěti pokusných selat (č. 53, 54, 55, 63 a 65) nevyvolala intranasální infekce sekundární a komplexní mikroflorou typické klinické příznaky enzootické bronchopneumonie. Stejně tak nebyly za 30 dní p. i. zjištěny ani žádné patho-anatomické změny na dýchacím ústrojí.

Druhá skupina pokusů

Infekce selat směsí viru EBp a bakteriálního komplexu

11. III. 1955 bylo zařazeno do pokusů 5 selat, která byla označena číselnými ušními značkami č. 66, 67, 68, 70 a 71 a klinicky vyšetřena. Označená selata byla ustájena v oddělení pro pokusná zvířata v ústavu v kotci č. 3 a 4. Mikroklíma, teplota a relativní vlhkost ve stáji byly uspokojivé. Zvířata byla pozorována 7 dní před infekcí.

18. III. 1955 bylo všech 5 selat intranasálně infikováno suspenzí chřipkového viru (kmeny č. 42, 47, 54, 55 o titrech 512, 128, 1024 a 256; jejich titry byly zastaveny na koncentraci shodnou u všech 4 kmenů) a sekundární a komplexní mikroflory. Došlo k onemocnění, která jsou popsána dále v jednotlivých pokusech.

Selata byla klinicky pozorována po třicet dní. Čtyřem pokusným selatům byl aplikován nitrosalově veterinární streptomycin (výrobní šarže 0611154) od třetího dne nemoci v dávce 0,1 g na 10 kg ž. v. třikrát denně po čtyři dny.

15. IV. 1955 byla selata vyražena z pokusu a poražena na sanitních jatkách.

Pokus u selete č. 66

(jako příklad)

Sele, bílé ušlechtilé, prasnička váhy 28 kg, výživného stavu dobrého, T 39,3, P 94, D 22, kůže beze změn, spojivka růžová, hladká, lesklá, vlhká, nozdry a okolí bez výtoků, hrudník souměrný, dýchání kostoabdominální, pravidelné, 22/min., kašel nevydrážděn, poklepový zvuk jasný s tympanickým zabarvením, dýchání vesikulární, puls pravidelný, 94/min., ozvy srdeční čisté, dobře slyšitelné, žere, je čilé, reflexy neporušeny.

Výsledek pokusu

Šestý den po infekci jsme pozorovali první příznaky EBp; třetí den nemoci aplikován vet. streptomycin, po jehož aplikaci jsme pozorovali zlepšení zdravotního stavu, načež za 23 dní nebyly již zjištěny klin. žádné změny na dýchacím aparátu.

Pokus na seleti č. 67

Sele 29 kg, klinicky zdravé, infikováno 17. III. in. směsí viru EBp + bakter. komplexu. První příznaky onemocnění dýchacích cest čtvrtý den, kašel šestý den, kdy aplikován streptomycin, po jehož podání se dostavilo zlepšení zdravotního stavu a za 25 dní p. i. nebylo již klinických příznaků.

Klinický průběh

Datum	T	P	D	Poznámka
11. III.	39,3	94	22	
12. III.	39,2	92	20	
13. III.	39,0	98	20	
14. III.	39,4	102	22	
15. III.	39,1	104	24	
16. III.	39,3	102	24	
17. III.	39,4	100	24	infekce
18. III.	39,2	104	22	
19. III.	39,3	104	20	
20. III.	39,2	102	24	
21. III.	39,3	106	22	
22. III.	39,7	106	26	
23. III.	40,1	114	34	malátnost, nežere
24. III.	40,4	114	40	výtok z nozder, kýčání
25. III.	40,6	118	48	streptomycin
26. III.	39,7	116	36	streptomycin, zesílené a zdrsňené vesik. dýchání
27. III.	39,6	114	36	streptomycin, rachoty nad apik. lal.
28. III.	39,5	118	34	streptomycin
29. III.	39,5	102	34	zdrsňené vesik. dýchání
30. III.	39,6	108	30	čilejší
31. III.	39,5	110	28	
1. IV.	39,4	112	30	dýchací obtíže mírnější
2. IV.	39,3	112	28	
3. IV.	39,5	114	26	
4. IV.	39,3	116	26	
5. IV.	39,2	110	24	slabé vrzoty
6. IV.	39,1	112	24	
7. IV.	39,0	110	22	
8. IV.	39,3	108	22	
9. IV.	39,5	108	22	afekce na dých. ap. nezjištěny
10. IV.	39,5	106	24	
11. IV.	39,3	108	22	
12. IV.	39,4	110	22	
13. IV.	39,2	106	22	
14. IV.	39,5	104	24	
15. IV.	39,4	110	22	klinicky zdravé

Pokus na seleti č. 70

Sele dobrého výživného stavu, klinicky zdravé. Infekce in. provedena 17. III. Třetí den po infekci pozorovány první příznaky EBp, které se v dalším průběhu zesilovaly, čtyřdenní aplikace streptomycinu nezastavila rozvíjející se EBp, nýbrž jenom slabě ztlumila její těžký průběh. Čtrnáctý den nemoci pokusné sele přes noc náhle uhnulo.

Pokus na seleti č. 71

Klinicky zdravá prasnička ž. v. 30 kg byla 17. III. in. infikována směsí virus + bakterie. Pátý den po infekci jsme pozorovali první příznaky EBp, po čtyřdenní aplikaci streptomycinu se zdravotní stav nápadně zlepšil a 10. IV. 1955 nebyly zjištěny na dýchacím ústrojí žádné klinické příznaky EBp.

27,5 kg ž. v., bez klinických příznaků nemoci, proveden in. infekcí uvedené směsi 17. III. 1955. Čtvrtý den po infekci jsme pozorovali první příznaky EBp, průběh onemocnění byl těžký, klinické příznaky výrazné během celého pozorování. Streptomycin nebyl seleti aplikován.

Výsledky pokusů

Jak uvedeno, byla u pěti pokusných selat (č. 66, 67, 68, 70 a 71) provedena intranasální infekce chřipkovými viry (kmeny č. 42, 47, 54, 55) s bakteriálním komplexem. U všech těchto pokusných selat došlo k horečnatému onemocnění s výraznými afekcemi dýchacího ústrojí. Od třetího dne nemoci jsme aplikovali čtyřem selatům streptomycin po čtyři dny za sebou v dávce 0,1 g na 10 kg ž. v. třikrát denně. Páté sele — kontrolní — (č. 68) nebylo streptomycinem léčeno.

Po aplikaci streptomycinu se zdravotní stav tří selat (č. 66, 67 a 71) podstatně zlepšil a za 12–16 dní jsme u nich již nezjistili klinické příznaky onemocnění dýchacích cest. Jen u selete č. 70 s těžkými klinickými příznaky nezastavila aplikace streptomycinu rozvíjející se EBp a sele čtrnáctý den uhynulo.

U kontrolního selete č. 68 byly zjištěny charakteristické příznaky přirozené EBp.

Při prohlídce čtyř selat (č. 66, 67, 68 a 71), poražených po vyřazení z pokusů na sanitních jatcích, byla zjištěna jen u kontrolního selete (č. 68) bronchopneumonická ložiska v apikálních lalocích plic. U ostatních tří selat nebyly zjištěny žádné změny.

Třetí skupina pokusů

Dne 3. 11. bylo do této skupiny zařazeno 5 selat s ušními známkami č. 178, 232, 257, 301 a 311. U selat byl zjištěn dobrý klinický stav. Selata byla ustájena v dobrém prostředí.

Po sedm dní před infekcí byla pozorována, načež 9. 11. bylo každé sele intranasálně infikováno 2 ml suspence 4 kmenů chřipkového viru (kmeny č. 42, 47, 54 a 55, titry 1024, 512, 64, 128, titry zastaveny na koncentraci shodnou u všech 4 kmenů) a současně 10 ml suspence sekundární a komplexní mikroflory.

Infikovaná selata byla klinicky pozorována po 30 dní.

Proti dřívějším pokusům byl aplikován čtyřem selatům veterinární streptomycin teprve pátého dne nemoci. Dvěma selatům jsme injikovali streptomycin v dávce 0,1 g na 10 kg ž. v. třikrát denně po čtyři dny a dalším dvěma selatům, u kterých byly zjištěny těžké klinické příznaky EBp, byla pátý a šestý den dávka zvýšena na 0,25 g na 10 kg ž. v. třikrát denně a další tři dny bylo aplikováno 0,1 g na 10 kg ž. v. třikrát denně im.

8. XII. 1955 byla selata z pokusu vyřazena.

Výsledky pokusů

U všech pěti pokusných selat, která byla intranasálně infikována suspensí chřipkového viru a sekundární a komplexní mikroflory, se dostavily pátý až šestý den p. i. příznaky EBp.

Selata č. 178 a č. 232 byla léčena streptomycinem od pátého dne nemoci. Streptomycin byl aplikován intramuskulárně, dávka 0,1 g na 10 kg ž. v. třikrát denně po čtyři dny. Po aplikaci streptomycinu od pátého dne nemoci jsme

pozorovali nápadné zlepšení zdravotního stavu a za 27–28 dní nebyly u dvou selat již žádné chorobné příznaky na dychadlech.

Selatům č. 304 a 311 s těžkými příznaky EBp byl aplikován streptomycin ve zvýšené dávce (0,25 g na 10 kg ž. v. třikrát denně) pátý a šestý den; další tři dny aplikována dávka 0,1 g streptomycinu na 10 kg ž. v. Dostavilo se zlepšení zdravotního stavu, nikoliv však úplné vyléčení.

U kontrolního selete č. 257, které nebylo léčeno streptomycinem, se vyvinul typický klinický obraz EBp.

Když dne 8. XII. 1955 byla selata poražena na sanitních jatkách, byla u selat č. 304 a 311 a u kontrolního selete č. 257 zjištěna bronchopneumonická ložiska v apikálních lalocích plic, kdežto u selat č. 178 a 232 nezjištěny žádné chorobné změny.

Přehled výsledků a diskuse

V první části této práce byla zkoumána úloha sekundární a komplexní mikroflory jako možného samostatného etiologického činitele při vyvolání enzootické bronchopneumonie selat (EBp).

V první skupině pokusů bylo pět klinicky zdravých selat intranasálně infikováno suspensí sekundární a komplexní mikroflory, izolované z bronchopneumonických ložisek uhynulých selat. Pokusná selata byla klinicky pozorována po dobu jednoho měsíce po infekci. Po celou tuto dobu jsme nezjistili u žádného z těchto pěti selat příznaky svědčící pro EBp a také ani při veterinárně zdravotní prohlídce masa poražených selat nebyly zjištěny žádné patologicko-anatomické změny charakteristické pro pitevní obraz EBp.

Bylo to patrně způsobeno tím, že pokusná selata byla klinicky zdravá a ustájena ve vyhovujících hygienických podmínkách, kde stáj byla vytápěna a permanentně větrána. Ve stájovém ovzduší byla jen nepatrná koncentrace čpavku a sirovodíku, protože kotce byly pravidelně a důkladně čistěny a byla zajištěna neustálá cirkulace vzduchu. Také krmná dávka všech selat byla uspokojující a výživný stav selat velmi dobrý.

K infekčnímu pokusu bylo použito zvířat klinicky zdravých, jejichž obranné procesy nebyly oslabeny ani nepříznivými podmínkami vnějšího prostředí, ani interkurentním onemocněním.

Pokusně se v těchto pokusech neuplatnila sekundární a komplexní mikroflora proto, že zde nepůsobil primárně chřipkový virus, který porušuje epithel dýchacích cest a vyvolává v něm zánětlivé změny, jimiž otevírá cestu sekundární a komplexní mikroflorě. Toto vysvětlení potvrzují další pokusy na pěti selatech infikovaných stejnou suspensí sekundární a komplexní mikroflory, avšak smíšené s chřipkovým virem. U všech těchto selat byla vyvolána typická EBp.

Ve druhé a třetí skupině pokusů byla zkoumána účinnost streptomycinu při pokusně vyvolané EBp a sledován klinický obraz tohoto onemocnění. K tomu sloužila skupina deseti selat (z toho dvě kontrolní, kterým nebyl streptomycin aplikován) intranasálně infikovaných čtyřmi kmeny chřipkového viru a suspensí sekundární a komplexní mikroflory.

Třetí až šestý den po infekci se objevily příznaky celkového onemocnění, jehož první příznaky byly pozorovány nejčastěji čtvrtý a pátý den. Inkubační doba byla tedy tři- až šestidenní, což je ve shodě s údaji Andrejeva (1) a delší než inkubační doba u přirozené EBp, kterou udává Klobouk (19), t. j. 1–3 dny.

Klinický obraz pokusně vyvolané EBp se projevil charakteristicky u dvou kontrolních selat (č. 68 a č. 257), zatím co délka a intensita klinických příznaků u ostatních pokusných selat byly ovlivněny aplikací streptomycinu.

Klinický obraz EBp se u těchto kontrolních selat neliší od příznaků přirozené EBp.

V dalších pokusech byla zkoumána účinnost streptomycinu při pokusně vyvolané EBp.

Čtyřem selatům (č. 66, 67, 70 a 71) byl aplikován im. streptomycin třetí den nemoci v dávce 0,1 g na 10 kg ž. v. třikrát denně po čtyři dny. U tří z těchto selat (č. 66, 67, 71) byl již druhý den aplikace streptomycinu zaznamenán silný pokles horečky (na 39,7—40,0° C), u sele č. 70 byl zjištěn druhý den streptomycinotherapie vzestup tělesné teploty na 41,0° C. Teplota kolísala v dalších dnech u selat č. 66, 67 a 71 v normálním rozmezí. U sele č. 70 poklesla horečka třetí den nemoci na 39,9, další dny se udržovala v rozmezí 39,6—39,9. Čtrnáctý den nemoci teplota náhle stoupla na 40,7° C a přes noc sele č. 70 uhynulo.

Klinické příznaky nemoci u selat č. 66, 67 a 71, typické pro EBp, slably v průběhu a po skončení léčby streptomycinem, takže jsme u nich nezjistili klinické příznaky EBp dvanáctý až šestnáctý den po skončení léčby streptomycinem. Klinické příznaky u těchto selat byly méně výrazné a průběh nemoci mírnější než u kontrolních selat, kterým nebyl streptomycin aplikován. U léčených selat č. 66 a 67, ač byla vystavena neustále možnosti reinfekce od kontrolního sele č. 68 s nimi společně ustájeného, k reinfekci nedošlo.

Klinické příznaky EBp u sele č. 70 byly velmi těžké přesto, že sele bylo infikováno stejným způsobem a dávkou suspence jako ostatní tři selata (č. 66, 67 a 71), u kterých se objevily lehčí příznaky a léčba streptomycinem byla úspěšná. Sele č. 70 bylo infikováno stejnou dávkou jako kontrolní sele č. 68, u kterého byly klinické příznaky také velmi těžkého stupně a přesto, že sele nebylo léčeno streptomycinem, nedošlo k uhynutí.

Všechna selata byla ustájena a krmena stejným způsobem, můžeme proto tyto vlivy vyloučit jako predispoziční faktory uhynutí sele č. 70. V tomto případě snad mohlo jít o individuálně sníženou odolnost sele nebo o oslabení obranných procesů organismu klinicky nezjištěnou interkurentní chorobou, které umožnily infekčnímu materiálu uplatnit se v plné míře.

Dalším dvěma pokusným selatům (č. 178 a 232) byl aplikován streptomycin pátý den nemoci v dávce 0,1 g na 10 kg ž. v. třikrát denně po 4 dny, nitrosvalově. Po aplikaci streptomycinu horečka klesla již druhý den léčby, na normální hodnoty klesla třetí a čtvrtý den aplikace streptomycinu.

Klinické příznaky (malátnost, inapetence, výtok z nozder, prodloužené expirium, zdrsňelé vesikulární dýchání, kašel) postupně slably a u sele č. 178 nebyly zjištěny chorobné příznaky sedmáctý den, u sele č. 232 šestnáctý den po skončení léčby streptomycinem. U sele č. 232 byl aplikací streptomycinu zastaven během jednoho dne silný průjem.

Selatům č. 304 a 311 s těžšími klinickými příznaky byla pátý a šestý den nemoci zvýšena léčebná dávka streptomycinu na 0,25 g na 10 kg ž. v. třikrát denně, im., sedmý, osmý a devátý den jsme aplikovali 0,1 g na 10 kg ž. v. třikrát denně im. Po aplikaci streptomycinu horečka klesla, dýchací potíže se zmírnily, přesto u obou selat až do konce pozorování byly zjišťovány příznaky na dýchacím aparátu — kašel u sele č. 304 a slabě slyšitelné vrzoty u sele č. 311.

Slabší účinek streptomycinu možno vysvětlit sníženou odolností selat a patrně možnou přirozenou reinfekcí selat č. 304 a 311 od kontrolního selete č. 257, které bylo s nimi ustájeno společně v jednom kotci.

Rozdíly v klinickém obrazu, vzniklé po aplikaci streptomycinu třetí nebo pátý den nemoci, se projevíly intenzivnějšími klinickými příznaky před započtím léčby streptomycinem a zpožděným vymizením klinických příznaků EBp u selat, kterým byl aplikován streptomycin pátý den nemoci.

Zvýšená dávka streptomycinu 0,25 g na 10 kg ž. v., aplikovaná pátý až šestý den nemoci selatům č. 304 a 311, nevyvolala nápadné zlepšení zdravotního stavu.

Recidivy, o kterých uvádí Richard (30), že se často dostavují po léčení EBp streptomycinem nebo penicilinem, jsme během třicetidenního pozorování nezjistili u žádného z našich devíti pokusných selat; jakýsi náznak recidivy možno spatřovat toliko v pokuse se selem č. 70, ve kterém došlo čtrnáctý den nemoci k uhynutí selete.

Rozborem účinku streptomycinu u jednotlivých selat zjišťujeme, že u sedmi pokusných selat jsme dosáhli zlepšení celkového zdravotního stavu, z toho u pěti selat dokonce nápadného zlepšení, neboť již dvanáctý den po skončení léčby streptomycinem jsme nepozorovali klinické příznaky EBp; u dvou selat s těžkou formou plicního onemocnění bylo zjištěno rovněž zlepšení zdravotního stavu. Jen u jednoho selete došlo čtrnáctý den nemoci k uhynutí.

Tak jsme si úspěšné pokusy na citlivost bakteriálních kmenů ke streptomycinu *in vitro* ověřovali i pokusy na selatech. Lze z nich uzavírat, že ovlivněním komplexní a sekundární mikroflory při EBp streptomycinem lze velmi často dosáhnout zlepšení až i úplného zastavení procesu bronchopneumonického, při kterém vedle viru se uplatnila tato bakteriální mikroflora.

Souhrn

V této experimentální práci s 15 selaty jsme získali tyto výsledky:

1. U skupiny pěti klinicky zdravých pokusných selat, u nichž nepředcházela virová infekce, se nezdařilo vyvolat umělou pokusnou intranasální infekci čistě sekundární a komplexní mikroflorou žádné klinické příznaky ukazující na enzootickou bronchopneumonii selat.

2. Nasální aplikací suspense čtyř kmenů viru enzootické bronchopneumonie se sekundární a komplexní mikroflorou jsme pokusně vyvolali u všech desíti selat enzootickou bronchopneumonii, která se nelišila od klinického obrazu přirozené nákazy.

3. Streptomycinovou léčbou v dávkách 0,1–0,25 g na 10 kg ž. v. třikrát denně osmi pokusně infikovaným selatům bylo u sedmi selat zjištěno zlepšení celkového zdravotního stavu a u pěti z nich bylo dosaženo dvanáctý až sedmáctý den po skončení léčby streptomycinem úplné vyléčení z enzootické bronchopneumonie selat.

Literatura

- Andrejev P. N., Andrejev K. P.: Infekcionnyje bolezni sviněj, Moskva 1954.
— Beller, Bieling: Die Viruskrankheiten der Haus- und Laboratoriumstiere, Leipzig 1950. — Beveridge, Betts: Virová pneumonie prasat, referát na XV. vet. kongresu, Stockholm 1953. — Boháč, Bednář, Dombek, Lázníčka: Nebakteriální onemocnění

zúčastněné na komplexu tzv. chřipky prasat, I. II. sdělení (Sborník ČSAZV, Živočišná výroba a veterinární medicína 1955, s. 91 a 109). — Doyle: Praxisversuche mit Streptomycin gegen die Schweinedysenterie, Journal. Amer. vet. med. Assoc. 1954, Vol. 124, 195, cit. z Monatshefte für Veterinärmedizin 1955, 381. — Faddějev: Kombinované léčení enzootické bronchopneumonie prasat, Veterinářství III, 1953, 44. — Gdovin: Preventivne a liečebné opatrenia používané v boji proti chrípke prasiat, Za socialistické zemědělství 1955, 1229. — Grim: Prevence v chovu prasat prostřednictvím výživy, Veterinářství V, 1955, 13. — Harnach, Hubík, Chvátal: Isolace viru chřipky v ČSR, Časopis čs. veterinářů 1950, 289. — Harnach: Boj proti chřipce prasat, Veterinářství III, 1953, 178. — Harnach: Chřipka vepřů, Veterinářství III, 1953, 98. — Harnach: Nakažlivé nemoci hospodářských zvířat, Praha 1953. — Harnach: Profylaxe infekční bronchopneumonie, referát na semináři o chřipce selat, Brno 1955. — Harnach: Způsoby boje proti enzootické bronchopneumonii (chřipce) selat, Veterinářství V, 1955, 100. — Hečko: Výskum o pathogenných a antigenných vlastnostiach štyroch čs. kmeňov viru chřipky ošípaných, Dis. Brno 1951. — Herold: Antibiotika, Praha 1952. — Jermoljev (redaktor sborníku): Antibiotiki v selskom chozjajstve, Moskva 1954. — Karnějov: Primeněniye sulfadimezina pri paratife i bronchopnevmonii porosjat, Veterinarija 1955, 11, 32. — Klobouk: Klinické příznaky enzootické bronchopneumonie selat, referát na semináři o chřipce selat, Brno 1955. — Köbe: Die Aetiologie der Ferkelgrippe, Zentralblatt für Bakteriologie 1933, 129, 161. — Koljakov: Veterinarnaja mikrobiologija, Moskva 1952. — Krasilnikov: Aktinomycety - antagonisty i antibiotičeskije veščestva, Moskva 1950. — Lannek, Boernfors: Profilaktyczne lecenie enzootycznej (wirusowej) pneumonii świń przy pomoci tetracykliny i oksytetracykliny terramycyny, Vet. Record 1955, 56, cit. z Medycyny weterynarnaja XII, 1956, 183. — Lebduška: ústní sdělení. — Manning, Mócsy: Liečenie vnútorných chorob, diel I, Bratislava 1954. — Marek, Mócsy: Lehrbuch der klinischen Diagnostik der inneren Krankheiten der Haustiere, Jena 1951. — Menšík: Stájová hygiena a chřipka prasat - návrh směrnice na tlumení enzootické bronchopneumonie selat, Veterinářství V, 1955, 244. — Neubert, Vasil, Tirčo: Izolácia kmeňov vírusu chřipky ošípaných na Slovensku, Veterinářství IV, 1954, 235. — Pokorný: Komplexní virová onemocnění prasat, referát na semináři o chřipce selat, Brno 1955. — Richard: Léčeniye virusnoj pnevmonii porosjat chloramfenikolom, Veterinary Record 1954, 66, 47, 730, cit. z Antibiotiki 1955, 6. — Sokol: Problém chřipky ošípaných z imunologického hlediska, referát na semináři o chřipce selat, Brno 1955. — Sokol, Szakall, Špeník: Efektivnosť protimorového gamma-globulinu v komplexu s antibiotikami u bronchopneumonických zakrpatělých prasiat, Veterinářství VI, 1956, 23. — Szakall: Aplikácia gamma-globulinu u zakrpatělých prasiat, referát na semináři o chřipce selat, Brno 1955. — Tarasenkov: Léčení enzootické bronchopneumonie selat, cit. z 1. — Turpin: Les antibiotiques dans l'alimentation du porc, Dis. Alfort 1955. — Valenta, Veselá: Příspěvek k enzootické bronchopneumonii selat, Veterinářství V, 1955, 296. — Waksman: Streptomycin, Nature and practical Application, Baltimore 1949. — Waldmann: Die Aetiologie des Ferkelkümmerens - die Ferkelgrippe, Berliner Tierärztliche Wochenschrift 1933, 693. — Youmans, Fisher: Action of Streptomycin on Microorganisms in vitro, cit. podle 37.

Действие стрептомицина при вызванной в опытном порядке энзоотической бронхопневмонии поросят

В настоящей экспериментальной работе, произведенной на 15 поросятах, были получены следующие результаты:

1. У группы 5 клинических здоровых подопытных поросят, у которых не предшествовала вирусная инфекция, в результате искусственной внутриносовой

инфекции чистой, секундарной и комплексной микрофлорой не удалось вызвать каких — либо клинических признаков, указывающих на энзоотическую бронхопневмонию поросят.

2. Носовое применение суспензии четырех штаммов вируса *enz. bronchopneumonia* с секундарной и комплексной микрофлорой вызвало в опытном порядке у всех 10 поросят энзоотическую бронхопневмонию, которая не отличалась от клинической картины естественного заражения.

3. Путем применения лечения стрептомицином в дозах 0,1—0,25 на 10 кг живого веса три раза в день восьми подопытным инфицированным поросётам у семи поросят было установлено улучшение общего состояния здоровья, а у пяти из них на 12—17 день после окончания лечения стрептомицином было достигнуто полное излечение поросят от энзоотической бронхопневмонии.

Effect of Streptomycin in Experimentally Caused Enzoootic Bronchial Pneumonia of Pigs

The following results were obtained in this experiment on 15 piglets:

1. In the group of five clinically healthy experimental piglets having had no virus infection there was no success in causing any clinical symptoms pointing to enzoootic bronchial pneumonia of pigs, by artificial intranasal infection with purely secondary and complex microflora.

2. Nasal application of a suspension of four strains of virus of enzoootic bronchopneumonia with secondary and complex microflora caused, experimentally, enzoootic bronchial pneumonia in all ten pigs, differing in no way from the clinical picture of natural infection.

3. When treatment was made with streptomycin in dosages of 0,1—0,25 g per 10 kg live weight, three times a day, seven out of eight experimental piglets showed improvement in their over-all state of health, and five of them were completely cured of enzoootic bronchial pneumonia by the twelfth to seventeenth day after completion of treatment with streptomycin.

Zhodnocení nálezů „*Pneumocystis Carinii*“ v humánní a veterinární medicíně

Значение обнаружения «*Pneumocystis Carinii*» в медицине и ветеринарии

Evaluation of Finding “*Pneumocystis Carinii*” in Human and Veterinary Medicine

Z oddělení pro patologickou morfolologii a fyziologii Výzkumného ústavu veterinárního
ČSAZV v Brně, přednosta doktor veterinárních věd prof. V. Jelínek

R. BONDY

Došlo dne 22. VII. 1957

Úvod

V naší i ve světové odborné medicínské literatuře jsou v posledních letech stále častěji publikovány práce, poukazující na patologické afekce, způsobené *Pneumocystis Carinii*. Jsou to práce, které pojednávají o intersticiální pneumonii, vyvolané *Pneumocystis Carinii*.

Pneumocystis Carinii je patologický faktor, u kterého lze prokazovat přírodní ohniskovost v pathogenesi, respektive v epidemiologii a epizootologii intersticiální pneumonií.

Přírodní ohniskovost nákaz, infekčních i invazivních, byla prostudována velmi podrobně samotným zakladatelem koncepce přírodní ohniskovosti vzniku nákaz akademikem Pavlovským a jeho školou. Práce akademika Pavlovského a jeho žáků ukazují nové cesty k posuzování dynamiky vývoje celé řady infekčních a invazivních chorob, a současně umožňují využít tento poznatek pro účelnou prevenci a likvidaci zmíněných chorob.

Podobně jako u celé řady virových chorob bylo možno s naprostou exaktností prokázat experimentálně přírodní ohniskovost těchto chorob. Také u některých bakteriálních chorob se podařilo prokázat přírodní ohniskovost, na příklad u ekonomicky důležité červenky vepřů a anthraxu.

Průkaz přírodní ohniskovosti protozoárních chorob byl celkem obtížnější, a některé z nich vyžadují ještě důkladnějšího studia po stránce ohniskovosti. Mezi tyto choroby protozoární náleží nemoc vyvolaná *Pneumocystis Carinii*.

Pneumocystis Carinii jako původce intersticiální pneumonie vyžaduje další studium také z hlediska ekonomického, aby se dal přesně zhodnotit jeho hospodářský význam ve výrobě živočišné.

V humánní medicíně byla otázka intersticiálních pneumonií, vyvolaných *Pneumocystis Carinii*, značně rozpracována; této chorobě, vyskytující se hlavně v dětském věku, přikládá se značný zdravotně veřejný význam. Naproti tomu ve veterinární medicíně nebyla dosud *P. C.* jako patologický faktor pneumonie, zvláště u mladých hospodářských zvířat, nijak zhodnocena. Je ku

podivu, že se tak dosud nestalo, třebaže interstitiální pneumonie, vyvolané *P. C.*, náleží mezi vyložené anthropozoonosy. Jejich přechovateli jsou drobní hlodavci, žijící v přírodě, z nichž se nemoc přenáší nepřímo přes domácí zvířata na člověka.

Mimo masožravců, u kterých také byla *P. C.* prokázána, jak bude dále uvedeno, pro ekonomii výroby živočišné je důležitý nález u selat, případně u odstávčat. Jestliže byla u nově narozených dětí prokázána intrauterinní infekce, lze tím spíše očkovat intrauterinní infekci u selat. Je známo, že nejen krmivo u prasat bývá potříšněno exkrementy krys a hlavně potkanů, ale dospělí vepři také často pozřou celého potkana. Záněty plic u selat a odstávčat nejsou morfologicky a etiologicky jednotné ani v poměru k chřipce prasat.

Po prostudování literárních záznamů možno řadit záněty plic u vepřového bravu do několika skupin:

1. skupina: — virové pneumonie:

Jsou vyvolané primárně pneumotropními viry, mezi které se řadí influenza Shopeho, a jí velmi blízká chřipka selat, vyvolaná virem *Waldmann-Köbeho*.

Virové enzootické bronchopneumonie u vepřového bravu jsou komplikovány celou řadou druhů bakteriální flory; na příklad *Haemophilus suis*.

Problém etiologie enzootické bronchopneumonie u selat je komplikován řadou dalších virů, které se uvádějí jako etiologické faktory samostatných nosologických jednotek; na příklad je to virus *Beveridge-Betts*, který neaglutinuje slepičí krvinky, netvoří protilátky a způsobuje chronickou bronchopneumonii.

V poslední době byl izolován další virus *Čupíkem* a *Pokorným*. Tento virus údajně vyvolává enzootickou bronchopneumonii u odstávčat a liší se průběhem a morfologickým nálezem od chřipky vepřů. Virová pneumonie prasat se dále vyskytuje u moru vepřů, u Aujezského choroby atd.

Z výše uvedeného je zřejmo, že virové pneumonie tvoří komplex chorob, které nejsou ještě přesně diferencovány jak po stránce klinické, tak po stránce pathologicko-morfologické.

2. skupina: — bakteriální pneumonie:

Pro praxi jsou dnes v popředí enzootické bronchopneumonie salmonellovního původu. *Bacterium suisepiticum* je stále důležité v různých distriktech, kde *Pasteurella suisepitia* jeví zvýšenou virulenci. Celá řada bakterií, zvláště hnisotvorných, je v podstatě sekundární florou, která se přidružuje k primárním alteracím respiračního aparátu.

3. skupina: — parazitární pneumonie

Enzootické bronchopneumonie u vepřového bravu této etiologie je možno rozdělit do dalších dvou skupin:

a) *helminzární bronchopneumonie*, vyvolané především vývojovými stadii askarid, které obligátně prodělávají svůj vývoj v parenchymu plicním. Jejich masová invaze migrujících stadií do plic způsobuje často hromadně se vyskytující pneumonie až haemorrhagického charakteru. Tyto se neoprávněně zaměňují za virové bronchopneumonie.

b) *protozoární enzootické bronchopneumonie*, jsou poměrně málo propracovány po stránce klinické, pathologicko-morfologické a diferenciálně-diagnostické.

U vepřového bravu vyskytují se protozoární enzootické bronchopneumonie poměrně dosti často (toxoplasmosa), poněvadž vepři přicházejí ve styk s nejdůležitějšími donátory těchto protozoárních invazí, t. j. s drobnými hlodavci, zvláště s potkany.

V nejasných případech hromadně se vyskytujících zánětů plic u vepřového bravu je zapotřebí také uvažovat o *Pneumocystis Carinii*, jako etiologickém faktoru zánětů plic.

Bylo proto studium *P. C.* pro veterinární účely zdůvodněno praktickou potřebou při diferenciální diagnostice etiologicky nejasných enzootických bronchopneumonií, zvláště u vepřového bravu.

Domnívám se, že jest zprvu důležité zabývat se vlastní morfologií *P. C.*, která může být východiskem k zjišťování tohoto protozoárního onemocnění u hospodářských zvířat.

Morfologie *Pneumocystis Carinii*

Pneumocystis Carinii vystupuje v podobě drobných cyst obsahujících zprvu mnohojaderné plasmodium, později se rozpadajících v osm i více zárodků.

Jírovec uvádí o morfologii *P. C.* ve vztahu k interstitiální pneumonii toto:

„mimo buněčné elementy nalézá se při obdukcích v alveolách ještě pěnovitá masa, vytvořená z parazitů.

Jednotlivá pěnovitá očka (mašličky) — velikosti 5 až 10 krát 7,5 až 12 *mi*, jsou nepravidelného tvaru a rovněž měnivé velikosti a v jejich vnitřku leží různá stadia parazita *P. C.* Nejmladší parasitární stadia jsou jednozrná, kulatá až podlouhlá, mnohdy také nepravidelné podoby. Tato stadia měří přibližně 2 až 4 *mi*. Parazity si představujeme jako kulaté, oválné nebo nepravidelné jednozrné obrazce rozmnožující se dělením, které jsou obklopeny jemnou hlenovitou blanou. Celý obraz mohl by se snad srovnat s uložením žabích vaječných buněk ve hlenovité hmotě.

Mimo tato malá parasitární tělíska nalézají se ještě další stadia. Jsou to 5 až 10 *mi* velké kulovité obrazce. Jsou nejdříve jednozrné, v průběhu vývoje však dvou až čtyřzrné a konečně osmizrné. Pravidelně v osmizrném stadiu rozpadá se jejich plasma v osm sporogenních obrazců, každý s jedním zrnem. Toto stadium pokládáme za sporogonii, a osm uvnitř uložených obrazců za spory. Tyto měří asi 2krát 1 *mi*. Všechny tyto obrazce parazitů vyznačují se velkou jemností. Na nátěrových preparátech najdeme parazity pokud leží jednotlivě, vždy bez původní, je obklopující pěnovité masy. Intracellulárně ležící parazité nebyli nalezeni.

Po prvé byla pneumocystis viděna Chagasem (1909) v plicích morčat. Jírovec a jiní zařazují *P. C.* provisorně k primitivním Haplosporidiím.

Kritické zhodnocení literárních záznamů o etiologii interstitiální pneumonie

V literatuře najdeme řadu námitek, které vyvracejí názor Jírovcův a Vaňkův, že jde o protozoární útvary a které zařazují zjištěné útvary při interstitiální pneumonii mezi protofyty.

Celá řada literárních údajů dále napadá názor, že *P. C.* jest etiologický faktor interstitiální pneumonie a uvádí jako etiologii také choroby:

1. hypovitaminosu,
2. poruchu hormonální činnosti,
3. primitivní reakci nevyzrálého organismu,
4. chybu ve smyslu hospitalismu,
5. „pulmonální plasmacyton“ (Feyrter).
6. virové onemocnění,
7. blastomykosu (Giese).

I. Literární záznamy, které řadí útvary zjištěné u interstitiálních pneumonií k protofytům

Giese (1953) určuje etiologii interstitiální plasmacellulární pneumonie u kojenců houbovitou infekci. Pathologickým faktorem jsou prý kvasinky, jejichž uspořádání se nepodařilo ještě zařadit. „Infekce je pravděpodobně aerogenní. Vniknuvši do plic jsou fagocytovány alveolárním epitelem, v těchto buňkách se rozmnožují a po zániku fagocytů jsou vytlačeny do alveolárního lumina. Zdá se zde, že husté houbovité kolonie mohou naplnit alveoly, alveolární kapiláry a bronchioly. Část kvasinek prostupuje skrze septa do lumina alveol, odkud se mohou dostat do bronchů a z bronchů mohou být vykašlány a tím se dále mohou dostat do vnějšího prostředí. Jiná možnost je ta, že kvasinky tvoří konglomeráty, na které organismus reaguje organizačními pochody, kterými se vytváří granulomy, připomínající tuberkule.“

Giese uvádí, že nelze souhlasit s názory Jírovce a Vaňka, že v alveolách nalezené změny jsou protozoiny. Giese definuje tedy interstitiální plasmacellulární pneumonii u kojenců jako blastomykosu a navrhuje, aby byla označena jako „kvasinková pneumonie kojenců“ (*Blastomycetes pneumonie infantum*). Köhler (1953) se k názoru Gieseho připojuje.

Oponenty tohoto názoru jsou Diekmann, Bruns, Sedlmeier a Dahme.

II. Literární záznamy, které popírají *Pneumocystis Carinii* jako etiologický faktor interstitiální pneumonie

1. Ammich, Hamperl, Wiscot, Brieger, a jiní zastávají názor, že interstitiální pneumonie u kojenců je primitivní reakce nevyzrálého organismu. Všechny poznatky však dosvědčují, že interstitiální plasmacellulární pneumonie se vyskytují až v pozdější době postuterinního života. Jírovec a Vaňek zaznamenávají vznik interstitiální pneumonie v převážné většině případů u tříměsíčních dětí.

2. Fanconi, Freudenberg a jiní považují za rozhodující pro vznik interstitiální pneumonie nedostatky, zvláště v ošetření pacientů během jejich hospitalisace. Toto pojetí etiologie interstitiální pneumonie neobjasňuje regionální a endemický výskyt choroby, jakož i její sezónní výskyt hlavně v období letní (červenec až září) a její kontagiosní charakter.

3. Feyrter označuje interstitiální pneumonii jako „pulmonální plasmacyton“. Proti tomuto pojetí choroby svědčí však negativní nález granulocytů při interstitiální pneumonii. Röpké správně podotýká, že u této choroby chybí také vylučování granulocytů, zvláště neutrophilních v moči.

4. Weisse uvádí jako příčinu interstitiální pneumonie virovou etiologii. Proti tomu se staví Hallauer a zdůrazňuje, že virová etiologie u in-

terstitiální pneumonie toho času není potvrzena; Weisse ji také neprokázal a nepodařilo se mu izolace specifického virusu s antigenními vlastnostmi a také se mu nepodařilo onemocnění experimentálně vyvolat a přenést na pokusná zvířata.

5. Podle Leibera vzniká interstitiální pneumonie na základě nezralosti hormonů. Autor obšírně rozvádí fyziologickou oestrogenní činnost u donošených novorozenat (reakce těhotenství). V porovnání s hormonální situací předčasně narozených dětí, stížených interstitiální pneumonií odstranit dysharmonii hormonální. Názory Leiberovy nebyly ve světové literatuře potvrzeny.

6. Brieger a jiní mluví o hypovitaminose D v pathogenesi interstitiální pneumonie. Gleiss, Nitschke, a dětská klinika v Tübingen na podkladě experimentálních pokusů nemohli kladně zhodnotit názory Briegerovy o hypovitaminosní etiologii interstitiální pneumonie.

7. Cohrs, Flir, Schulte a Köhler (jak uvádí Sedlmeier) se přiklání k názoru, že interstitiální pneumonie jest v podstatě toxoplasmosa. Domnívám se, že tento názor lze snadno vyvrátit, a to jak odlišným klinickým průběhem, tak i pathologicko-morfologickými nálezy, které jsou u toxoplasmosy diferenciatně diagnostikovatelné.

III. Literární záznamy o *Pneumocystis Carinii* v humánní medicíně

V roce 1938 popsal Ammich zvláštní formu pneumonie u dětí, jako „interstitiální zánět plic“. Docela podobný názor vyzvedl ve svých sděleních Benecke, Roulet a Asteroth.

Etiologie u t. zv. „interstitiálního zánětu plic“ byla různě vykládána. Ammich ji popisuje jako zvláštní reakci předčasně narozených dětí na banální pathogenní mikroorganismy. Roulet naproti tomu se domníval, že v etiologii se uplatňují opakované aspirace s drážděním a poškozením plicního parenchymu bílkovinami a tuky.

Od roku 1945 až do března 1951 pozoroval Vaněk celkem 16 dětí, které zemřely na pneumonii a shledal stejný makroskopický a mikroskopický obraz, jak jej Ammich jako první popsal. V řezech z plic a přímých nátěrech označil Jírovec nalezené parasity jako *Pneumocystis Carinii*.

Jírovcem a Vaňkem prokázání parazitů byli určeni jako *P. C.* tak, jak je popsal v roce 1912 Delanoë. Po prvé byla *Pneumocystis*, jak už jsem dříve uvedl zjištěna Chagasem (1909) v plicích morčat, která byla infikována *Trypanosoma cruzi* a byla zařazena omylem do vývojového cyklu této *Trypanosomy*. Stephenson (1915) se domníval, že to jsou schizogonická stadia Klossiel, která se dosti často vyskytují u myši a morčat. Aragao upozorňoval na podobnost pneumocystis s několika stadii *Cryptosporidium miris*, která parazituje v žlučedních žlázách myši. Provisorně byla pneumocystis zařazena ke Coccidům (Wenyon a jiní). Protože však se zde nedá prokázat žádné pohlavní stadium, zdá se Vaňkovi a Jírovcovi mnohem správnější (také jen provisorně) zařadit tyto k primitivním Haplosporidiím.

V plicích člověka, zemřelého na Chagasovu nemoc (Brasílie) našel Chagas (1911) osm sporogenních stadií pneumocystis. Další důkaz pneumocystis u člověka podařilo se teprve po 30 letech. Van der Meer a Brug (1942) našli ji v plicích tříměsíčního dítěte z Amsterdamu, které mělo kongenitální srdeční vadu. Byla popsána kulovitá stadia asi 5 μ velká, s 1, 2, 4 a 8 zrny, která se rozpadávají v osm zárodků.

Podle sdělení Ammicha (1938) a Beněckého (1939) je docela zřetelně vidět na mikrofotografii pěnovitá masa v alveolách a místy také parazité v nich ležící.

Pokud jde o epidemiologii infekce pneumocystis, autoři (Jírovec a Vaněk) uvádějí, že vlastními nositeli pneumocystis zdají se býti povšechně domácí hlodavci, právě tak jako pes a kočka. Meer a Brug, kteří první popsali infekci pneumocystis u člověka, nedefinují průkaz přenosu.

U 12 případů, uváděných Jírovcem a Vaňkem se vyvinula pneumonie během pobytu v nemocnici z jiných důvodů. Čtyři děti se zjevně nakazily doma a byly přijaty do nemocnice již s pneumonií. Tři děti pocházely z malé epidemie v dětském domově, kde děti byly ubytovány, a kde se čtyřleté dítě, současně onemocnělé, uzdravilo. V bezprostřední blízkosti suterénu v dětském domově, kde byly děti v době epidemie pneumonie, bylo vyhubeno hnízdo krys. Avšak tehdy nebyly krysy parazitologicky vyšetřeny.

Autoři také u mnohých hlodavců různého původu (domácí, polní a lesní myši) nemohli objevit pneumocystis.

Materiál Jírovcův a Vaňkův sestává ze $2\frac{2}{3}$ z výsledků vyšetřování předčasně narozených dětí, které byly dystrofické a trpěly dlouhotrvajícími průjmy. Jde tedy o děti, jejichž obranná síla byla zeslabena buď následkem předčasného porodu, nebo onemocněním.

Pokud jde o terapii (podle Jírovce a Vaňka), jsou Penicilin, Streptomycin, Aureomycin a Sulfonamidy úplně neúčinnými. Při podezření na parasitární pneumonii by bylo snad vhodné doporučit účinná antiparasitika (Attebrin, Plasmochin, Paludrin, Chinin, Neosalvarsan, Fuadin atd.).

Vaněk (1953) zjistil chronickou ložiskovou parasitární pneumonii, způsobenou *Pneumocystis Carinii* u šedesátileté ženy, která zemřela na abdominální formu maligního lymfogranulomu.

Na základě mikroskopického vyšetření autor se domnívá, že chronické stadium parasitární pneumonie jest způsobeno *P. C.*

P. C. byla zjevně pathogenní proto, že u pacientky šlo o kachektisující základní nemoc, lépe řečeno o maligní lymfogranulom.

Diekman (1954) uvádí nálezy u interstitiálních plasmacellulárních pneumonií. Společně s Lindnerem a Stopkou vyšetřili orgány 32 zemřelých novorozenat a u všech interstitiálních pneumonií zjistili pneumocysty v plicích a v lumen malých bronchů, nikoliv však v jiných orgánech.

K přesnému studiu pneumocyst, zvláště jednotlivých forem, použili mimo řezů a otiskových preparátů též výtěry ze sedimentu tkáňového moku plic.

Na mikropreparátech z řezů jsou pneumocysty gramopositivní nejčastěji ve formě miskovitě a srpovitě, asi 2 až 6 μ . Nám se ukázala jako nejvhodnější Weigertova metoda barvení fibrinu. Pneumocysty se zabarvily slabě vínově červeně, okolí nikoli. Pochybujeme, že tyto formy na preparátu z řezu jsou identické s *P. C.*, protože zejména na otiskových preparátech Herzberga, Stopky a jiných se vyskytují jen zřídka jako typické osmizrné formy s okrajovým uspořádáním. Nelze je jasné rozeznat, protože jsou nahloučeny převážně ve změněné formě. Záměna se zrny granulocytů nebo alveolárního epithelu není možná. Tato se nikdy fialově nebarví tak, jako pneumocyt v preparátu zbarveném podle Grama. Při barvení podle Lepehna mohli jsme vyloučit, že jde o nahloučení změněných erythrocytů nebo haemoglobinu.

V řezech a otiskových preparátech ukazují pneumocyt vřdy zrnité uspořádání. Všechny přechody vykazují formy miskovité nebo srpovitě až k for-

mám osmizrným. Vždy lze rozeznat jemný vnější obal, který je často jasněji konturován.

Často jsme zjišťovali i opticky prázdné pneumocysty, takže jsme pozorovali ve fázovém kontrastním mikroskopu jen jejich „stín“. Elektromikroskopicky se jeví pneumocysty jako jasné útvary, ležící ve svazcích v tmavé masě. Domníváme se, že osmizrné formy jsou nosiči spor. Dále se domníváme, že gram-positivní parazité jsou sporogonie a gramnegativní, jako prázdná skořápka, je schizogonie.

Má-li býti pathogenetický vztah mezi *P. C.* a interstitiální pneumonií ještě průkaznějším, pak souhlasím s návrhem prof. Dr. J. H o v o r k y, aby název „Interstitiální plasmacellulární pneumonie“ byl nahrazen názvem „pneumocystární pneumonie“, kteréžto označení ještě lépe vyznačuje vlastní etiologii a patologický proces, nežli mnou označený název „Pneumocystispneumonie“. Zdůvodňujeme tento návrh tím, že topografické označení plicních afekcí, zjišťovaných při *Pneumocystis Carinii* jako interstitiální pneumonie, odporují skutečnosti. Pathologicko-histologické afekce, zjišťované většinou autorů jak v humánní, tak ve veterinární medicíně, neomezují se na interstitium, ale zachvacují i ostatní plicní parenchym, kde zvláště v alveolách dochází k desquamaci výstelkových elementů buněčných a k exsudaci do alveol. Podobné afekce exsudativního rázu nacházejí se i v bronchiolách.

Diekmann (1954) popisuje další případy interstitiální pneumonie u kojenců. U všech těchto případů bylo obdukcí nalezeno zahuštění plicní tkáně.

V mikroskopickém rozboru plicní tkáně postižené zánětlivým procesem, vyzveduje Diekmann nápadné rozšíření sept a interstitia, které jest viditelné již lupou. Interstitium jest infiltrováno buněčnými elementy, mezi kterými mají převahu histiocyty. Právě na podkladě tohoto zjištění domnívá se Diekmann, shodně s Boemkem, Pirothem a Pliessem, že ve většině případů jde o reticulosu. V preparátech impregnovaných dusičnanem stříbrným podle metody G ö m ö r i h o je nápadné pomnožení argyrofilních vláken v interstitiu.

Shodně s Ammichem, Rouletem, Pliessem, Weberem a jinými popisuje Diekmann ložiskové regresivní změny ve tkáni plicní, napadené *P. C.*

V naší práci věnujeme zvláštní pozornost technice barvení masy, obsažené v alveolách. Plně potvrzujeme nálezy, získané Pliessovou barvicí technikou. Jak již bylo podotknuto, byly identifikovány v masě nacházející se v alveolách, protozoiny *P. C.*, ve formě cystické a voštinovité. Poměrně malé množství bezbuněčné oedematózní infiltrace bylo nalezeno v alveolách.

Došli jsme k poznatku, že voštinové formy *P. C.* lze nejlépe zobraziti barvením azanem, zatím co k zobrazení cystické formy je tato metoda nevhodná. Pro pozorování cystické formy *P. C.* uvádíme barvicí metodu, která je kombinací anilin-oleje, methylvioletě, jodjodkalcia, kterážto kombinace má za základ barvení podle Grama a Weigertovo barvení fibrinu.

Zvláště u barvení azanem se ukazují voštinovité formy *P. C.* bohatými na kontrasty, při čemž ektoplasma se dá zbarvit jako hustší zona modravě, zatím co endoplasma se zdá, opticky prázdná. U Weigertovy metody barvení fibrinu se ukazují cystosní formy v pozměněné hustotě. Dalekosáhle pozměněná forma těchto cyst nechá se společně s Hamperlem, Herzbergem a Pliessem určití podle vnějšího obrazu jako ošatkovitá, kuželovitá a srpovitá forma.

Důkaz této cystoidní formy se podařil výhradně u struktury voštinové. Přes zvláštní pozornost se nepodařil nálezy v interstitiu, zatím co bylo možné pro-

kázat v alveolárním epithelu *Pneumocystis Carinii*. Tyto útvary však neukazovaly ony formy, které mohly být viděny stále při struktuře voštinové. Vaněk a Jírovec nepozorovali žádné formy *pneumocystis intercellulárně*, naproti tomu Hamperl, Herzberg, Giesse a Pliess dokázali v alveolárním epithelu jak voštinové, tak i cystoidní formy. Zdá se pozoruhodným, že ve všech případech se častěji vyskytují formy voštinové než uvnitř usazené cysty, i když seskupení cyst v jednotlivých partiích napadených plic je též značně měnlivé. Souvislost mezi počtem cyst a intenzitou tkáňové reakce nenechá se naproti tomu s jistotou stanovit. Ve všech preparátech nacházejí se pneumocysty v menších rozvětvených bronších, aniž je viditelná nápadná zánětlivá reakce bronchiálních stěn.

Diekmann popisuje případ vyšetření plicního moku dítěte fázovým mikroskopem. Dítě zemřelo na interstitiální pneumonii. V tomto moku byly pozorovány četné cystické útvary, které: „jsou absolutně identické s nálezy Vaňka a Jírovce, Hamperla, Herzberga a jejich spolupracovníků“. Pokusy přenést tyto útvary na zvířata nebyly úspěšné.

Skutečnost, že protozoon se vyskytuje ve dvou rozličných formách, to jest forma voštinová a cystická, a že u cystické formy mohou být poznány bez námitek různé stupně vývoje, je nepopíratelné.

Je důležité vyzvednout nález u jednoho případu pozitivní *pneumocystis* u *interstitiální pneumonie*, u kterého byla typická carnifikace, jak ji Asteroth a Giesse již jednou spatřili. Proces carnifikace ve vyšetřovaném materiálu nebyl autorem pozorován.

Diekmannovy výzkumy jsou velkým přínosem pro poznatek morfologie *Pneumocystis Carinii*, neboť Diekmann jako první poukázal na dvojí formu *Pneumocystis Carinii*.

Nálezy *Pneumocystis Carinii* ve veterinární medicíně

Jak již bylo dříve řečeno, byla *pneumocystis* po prvé zjištěna Chagasem v plicích morčat, která byla indifikována *Trypanosoma cruzi*. Mr a Mme Delanoe (1912) našli potom *pneumocystis* v plicích pařížských krys, které nehostily žádnou *Trypanosomu* a tak dokázali neodvislost obou parazitů. Objevitelé pojmenovali parazita názvem *Pneumocystis Carinii*. Brzy nato množila se oznámení o výskytu *P. C.* v plicích různých laboratorních zvířat. Až do roku 1952 to byla následující zvířata: morčata, *Cavia rufescens*, bílé krysy, divoké krysy, králíci, pes, kočka, ovce a koza. *Pneumocystis* je doposud známá v následujících zemích: Brazílie (Chagas) — 1909, 1911, 1913, (Carini) — 1910, (Vianna) — 1911 (75), (Aragao) — 1913, (Carini-Maciel) — 1914, Francie (Delanoe) — 1912, 1914, Anglie (Coles) — 1914, 1915—1916, (Porter) — 1915, Švýcarsko (Galli-Valerio) — 1916, 1918, Holandsko (Meer-Brug) — 1942 a další.

Podle Cariniho a Maciela neměla *P. C.* u zvířat žádného pathogeního významu. Ve vnitřních orgánech nebylo vidět žádných pathologických změn mimo lehkou plicní hyperaemii. Carini a Maciel pokusili se přenést infekci na psa, morčata, krysy a králíky, ovšem bez výsledku. Novější výzkumy ovšem již daleko pokročily a názory Cariniho a Maciela vyvrátily.

Sedlmeier a Dahme (1955) popisují infekci *P. C.* u mladého ovčáckého psa.

Při pitvě byl zjištěn následující pathologicko-anatomický nález:

Plice: povrch hladký, v parenchymu miliární šedobílé uzlíčky, které zčásti konfluují ve větší ložiska. Tato ložiska vykazují homogenní strukturu na řezné ploše. Lymfatické uzliny plicních hilů mají homogenní strukturu, jsou šedobílé barvy, velikosti lískového oříšku.

Srdce: pod epicardem a ve svalstvu jsou homogenní uzlíčky barvy šedobílé, velikosti špendlíkové hlavičky, zvláště v dosahu srdečního hrotu, v ostatním svalstvu nebyla zjištěna žádná pozoruhodná reakce.

Střeva: jejich obsah hlenovitý a mírná zánětlivá reakce. V obsahu ojedinelý výskyt *Toxocara canis*.

Slezina: zvětšená se zřetelnými folikuly.

V nátěrovém preparátu plic, zbarveném podle Ziehl-Nielsen a bakterie shledány nebyly, ale byly zjištěny pseudocystové obrazce, které připomínaly toxoplasmové cysty: mimo to byly v plasmě buněk zjevné volné organismy a vícezrnné cysty.

Histologické nálezy

Po provedeném hodnocení řezů zjistili autoři nevšední podobnost svého nálezu s popsány histologickými změnami u interstitiální plasmocellulární pneumonie člověka.

Alveolární lumina se ukazovala prázdná nebo, častěji, naplněná pěnovitou voštinovou masou. V nátěrových preparátech dokázané mikroorganismy ležely buď rozptýlené nebo ve voštinové struktuře, anebo jako vícezrnné cysty ve větším nebo menším množství v plasmě buněk.

Nejpřesvědčivější důkaz se podařil autorům v řezu při použití Weigertovy metody barvení fibrinu, ve kterém se vyzvedlo zřetelně modrofialové parazitní zrno od často ovoidně formovaného okraje plasmy. Preparáty při barvení podle Giemsy ukazovaly zrno červenavě fialové a plasmu světlemodrou.

Z popsaného vyplývá, že se vyskytují mnohé stejnoznačné momenty u interstitiální pneumonie zvířat a člověka. Můžeme je dokazovat srovnáváním pathologicko-anatomických změn. Mnohoznačné souhlasnosti v nálezech u lidí a zvířat ve tkáních, napadených *P. C.*, jsou vyjádřeny jak v nálezech cizopasníků, tak i v reaktivních pochodech napadených organismů. Mnohými autory stále citovaná charakteristika pneumocystis zdá se být opodstatněna, když mluví o pěnovité voštinovém vyplnění alveol. Někteří autoři zastávají názor, že také cysty parazitů a buňky napadené parazity, vedou k vytvoření pěnovitosti. Rozličný počet cystových zrn dá se vysvětlit různým stářím vývoje. Objevují-li se v plicích ještě vztah mezi výskytem parazitů a zánětlivou reakcí, potom srdeční nález podle názoru Sedlmeierova a Dahmeho mluví jednomyslně pro pathogenní charakter *P. C.* Předpokladem pro poškození tkáně, respektive pro rozpad tkáně, zdá se být rozpad parazitárních cyst ve vlákních srdečního svalu. Nedá se totiž nikde nalézt jakákoliv reakce tkáně, dokud jsou vícezrnné cysty ještě uzavřené a nedošlo k rozpadu vývojových stadií. Pathologicko-histologické změny zjištěné v srdečním svaly připomínají částečně nálezy, popsané americkými autory Robinsonem, McVickarem a jinými u histoplazmosy.

K popsanému případu autoři připisují pneumocystosu, protože intercellulární výskyt etiologického činitele bohatě dokumentuje protozoární charakter. Tím je vylučována houbovitá infekce. Proti toxoplasmose mluví jednak negativně proběhlé pokusy na zvířatech a málo charakteristické plicní nálezy pro tuto infekci.

Weller (1957) podává zprávu o vyšetření experimentální pneumocystosy u krys se zřetelem na interstiální pneumonii u předčasně narozených.

Klinické chování zvířat onemocnělých na pneumocystosu bylo nenápadné a neposkytovalo (podle Wellera) žádného kritéria pro začátek onemocnění.

Při hodnocení nálezů *P. C.* ve veterinární medicíně jest zvláště důležité zjistit pathogenitu tohoto protozoárního cizopasnika u hospodářských zvířat. V tomto ohledu bylo dosud vykonáno ve výzkumu *P. C.* poměrně málo.

Z literárních záznamů mohou poukázat jen na sdělení Jelínkova o nálezech *P. C.* u selat spontánně onemocnělých na exsudativní formy zánětu plic. Považuji za stěžejní úkol ve veterinární medicíně ověřit a prokázat *P. C.* jako etiologický faktor při tak často se objevujících plicních afekcích u vepřového bravu. Teprve po standartisaci morfologických změn, vyvolaných *P. C.* u vepřového bravu bude možno řešiti pro praxi tak důležitý úkol, jako jest diferenciální diagnostika protozoárních afekcí u vepřového bravu od jiných plicních afekcí, způsobených celou řadou virů.

Studie významu nálezů *Pneumocystis Carinii* v humánní a veterinární medicíně má proto značný ekonomický význam a může vésti k ozdravení našeho chovu vepřového bravu, jehož výnosnost jest nejvíce ohrožena afekcemi plicními různé etiologie.

Souhrn

1. V práci byly kriticky zhodnoceny nálezy *Pneumocystis Carinii* v humánní a veterinární medicíně.

2. Pro prevenci, profylaxi a likvidaci „*Pneumocystis pneumoniae*“ bylo v práci poukázáno na přírodní ohniskovost vzniku této protozoární choroby.

3. V práci byly přehledně seřazeny záněty plic u vepřového bravu a prokázána důležitost diferenciální diagnostiky afekcí plic u selat, způsobených *P. C.* od enzootických bronchopneumonií vyvolaných viry, bakteriemi a jinými parazitárními příčinami.

4. V práci bylo provedeno kritické zhodnocení literárních záznamů o různé etiologii interstiálních pneumonií.

5. V práci bylo přihlédnuto k elektivnímu barvení *Pneumocystis Carinii* a jako nejlepší doporučena metoda perjodkyselinou-leucofuchsin podle Horkisse a Mc Manuse za postupu barvení polysacharidu jako pravděpodobného základu obalu parazitů. Barvení histologických řezů podle Giemsy se pro zjišťování *P. C.* nedoporučuje.

6. V práci bylo provedeno srovnání pathologické morfologie *P. C.* u lidí a zvířat. Na podkladě pathologicko-histologických srovnávacích studií afekcí plic, způsobených *P. C.* u zvířat a lidí navrhuji označit tyto afekce plicní jednotně v humánní a veterinární medicíně názvem „*Pneumocystis pneumoniae*“ (pneumocystární pneumonie).

Literatura

Ammich J. M.: Virchows Arch. 302, 539 (1938). — Aragao H. de Bearepaire: Brasil. Med. 1913, 271. — Asteroth H.: Frankf. Z. Path. 60, 364 (1949). — Benecke E.: Verh. dtsch. Path. Ges. 31, 402 (1939). — Boemke - Piroth: Frankf. Z. Pathl. 63, 593 (1953). — Brieger: Arch. Kinderheilk. 137, 9 (1939). — Brieger: Kinderärztl. Praxis, 17, 39 (1949). — Bruno G.: Zbl. Path. 90, 341 (1953). — Bruns G.: Zbl. Path. 91, 168 (1954). — Carini Maciel A.: Ann. paul. Med. e Cir. (Bras.) 2, 170 (1914). —

Chagas C.: Men. Inst. Cruz, Rio 1, 159 (1909). — Chagas C.: Mem. Ins. Cruz, Rio 3, 219 (1911). — Coles C.: Parasitology 7, 17 (1914). — Coles A. C.: Parasitology 8, 184 (1956/16). — Delanoe M et M me: Bull. Soc. Path. exot. 7, 271 (1914). — Delanoe M et M me: C. r. Acad. Sci., 1955, 658 (1912). — Diekmann H.: Zbl. Path. 91, 224 (1954). — Diekmann H.: Zbl. Path. 91, 267 (1954). — Diekmann H. - Lindner E. - Stopka E.: Beitr. path. Anat. 114, 48 (1954). — Fanconi: Schweiz. med. Wschr. 1945, 202. — Feyrter: Zbl. inn. Med. 1, (1941). — Freudenberg: Ann. pediatrici 175, Nr. 1/2 (1950). — Galli - Valerio B.: Zbl. Bakter. I. Orig. 79, 41 (1917). — Galli - Valerio B.: Schweiz. arch. Tierheilk. 1919, Nr. 7/8. — Giese W.: Zbl. Path. 90, 54 (1953). — Giese W.: Verh. dtsh. Ges. Path. 36, 284 (1952). — Giese W.: Wschr. f. Kinderheilk. 101, 147 (1953). — Gleiss: Verh. dtsh. Ges. d. Kinderheilk., Kissingen 1953. — Gömöri: 16, Tagg. d. unger. path. Ges. in Pésc. Zbl. f. allg. Path. und Anat. 69, 264. — Hallauer: Schweiz. med. Wschr. 82, 409 (1952). — Hamperl H.: Klin. Wschr. 30, 820 (1952). — Harnach R.: Sbornik ČSAZV, Vet. med. XXIX, 6 (1956). — Herzberg K. - Herzberg - Kremmer H. - May G.: Klin. Wschr. 30, 822 (1932). — Herzberg K. - Herzberg - Kremmer H. - May K.: Zbl. Bakt. I. Orig. 160, 661 (1954). — Nitschke Z.: Kinderheilk. 62, 2 (1940), 64, 4 (1944). — Pliess G.: Frankf. Z. Path. 46, 185 (1953). — Porter A.: Proc. zool. Soc. Lond. 1908, 703. — Porter A.: Parasitology 8, 255 (1915/16). — Röpke: Z. f. Kinderheilk., 73, 601 (1953). — Robinson V. G. - Mc Vickar D. L.: Amer. J. Res. XIII, 214 (1952). — Roulet F.: Schweiz. med. Wschr. 71, 1313 (1941). — Sedlmeier H.: Zbl. f. Path. 93, 318 (1955). — Sedlmeier H. - Dahme: Zbl. Path. 93, 150 (1955). — Stephenson A. G.: Quart. J. microsc. Sci. 61, 127 (1915). — Stopka E.: Kinderärztl. Praxis 20, 529 (1952). — Vaněk J.: Zbl. Path. 90, 424 (1953). — Vaněk J. - Jírovec O.: Zbl. Bakter. I. Orig. 158, 120 (1952). — Vianna: Brazil-Med. 1911, 61; 1911, 103; 1912, 52. — Weber H. W.: Frankf. Z. Path. 64, 3 357. — Weisse: Erg. d. in. Med. u. Kinderheilk., 2, 610. — Weller R.: Berichte ü. d. allg. u. spez. Path. 33, 2 Heft, 207 (1957). — Wenyon: Protozoology, London 1926, 1079.

Значение обнаружения «*Pneumocystis Carinii*» в медицине и ветеринарии

1. Автор критически анализирует обнаружение «*Pneumocystis Carinii*» в медицине и ветеринарии.
2. Статья указывает на естественную очаговость возникновения «пневмоцистиспневмонии» с точки зрения превенции, профилактики и ликвидации этого протозоарного заболевания.
3. В статье приведен наглядный перечень воспалений легких у свиней и доказывается важность дифференциальной диагностики заболеваний легких у поросят, вызванных *Pneumocystis Carinii* в отличие от энзоотических бронхопневмоний, вызванных вирусами, бактериями и другими паразитарными факторами.
4. Автор критически анализирует литературные данные о различной этиологии интерстициальных пневмоний.
5. В статье обращается внимание на элективное окрашивание *Pneumocystis Carinii* и как самый лучший способ рокомендуется окрашивание периодическим лоейкофуксином по *Horchkiss* и *McManus*, придерживаясь способа окрашивания полисахарида как предполагаемой основы оболочки паразитов. Окрашивание гистологических срезов по *Giemsa* с целью определения *Pneumocystis Carinii* не рокомендуется.
6. В работе сравнивается патологическая морфология *Pneumocystis Carinii* у людей и животных. На основе патологическо-гистологического сравнительного изучения болезней легких, вызванных *Pneumocystis Carinii* у животных и у людей, автор предлагает ввести для этих болезней легких как в медицине, так и в ветеринарии одинаковое название «пневмоцистиспневмония» (пневмоцистарная пневмония).

Evaluation of Finding «*Pneumocystis Carinii*» in Human and Veterinary Medicine

1. In the paper the findings of *Pneumocystis Carinii* in both human and veterinary medicines were critically evaluated.
2. For the purposes of prevention, prophylactics and control of *Pneumocystis pneumonia* the natural focal character of this protozoal disease was referred to.

3. A survey of inflammations of lungs in swine was made and the importance of differentiating the lung lesions in piglets due to *Pneumocystis Carini* from enzootic bronchopneumoniae caused by viruses, bacteria and other parasitic factors was demonstrated.

4. Bibliographical notes on different etiology of interstitial pneumonias were criticized and evaluated.

5. Attention was paid to elective staining of *Pneumocystis Carinii* in Horchkiss' and McManus' method using periodine-leucofuchsin for staining the polysaccharide as probable basis of parasite cuticle, was recommended as the most suitable. Staining histological sections by Giemsa method is not recommended for detecting *Pneumocystis Carinii*.

6. A comparison of pathologic morphology of *Pneumocystis Carinii* in man and animal was made. On the basis of patho-physiological comparative studies of lung-affections due to *Pneumocystis Carinii* in animals and men it is suggested that the same term should be applied for lung affections both in human and veterinary medicine, viz. *Pneumocystis-pneumonia* (pneumocystic pneumonia).

K otázce hepatikolozy u našich zajíců

К вопросу гепатиколоза у наших зайцев

On the Question of Hepaticolosis in Hares in ČSR

Zur Frage der Hepaticolosis bei unseren Hasen

MVDr D. ZAJÍČEK

Státní vědecký veterinární ústav, Praha, přednosta: MVDr A. Klauz

Došlo dne 19. XII. 1957

Úvod

Invasi cizopasníků v játrech nejsou u lovné zvěře tak časté jako invase v zažívacím traktu. Pro hostitele jsou však nebezpečnější, poněvadž narušují jeho výměnu látkovou nejen poškozováním tkáně, ale i lokálními změnami zá-
nětlivými nebo degeneračními. Při běžném vyšetřování uhynulé lovné zvěře na SVVÚ v Praze, nalézal jsem nejčastěji cysticercosu, méně často dicrocoeli-
osu a někdy zbloudilé zárodky tasemnic. I přes značný počet uhynulých a pit-
vaných zajíců z různých krajů (za 4 roky asi 600 kusů), měl jsem možnost
zachytit invasi cizopasníka *Hepaticola hepatica* (Bancroft, 1893, Hall,
1916) z čeledi *Capillariidae*, podřád *Trichocephalata* pouze jedenkrát.

Tento červ žije v jaterní tkáni, je velmi jemný, nitkovitý, a proto se ho
málokdy podaří vyjmout celého. Podle popisu Pavlova (1955) samec do-
sahuje délky 17,28–32 mm při šířce 0,04–0,08 mm. Samička je 98 mm dlouhá
při maximální šířce 0,19 mm. Při mikroskopickém prohlédnutí dospělých je-
dinců nalézáme kutikulu jemně příčně pruhovanou a hřbetní a břišní podélný
pruh. Samčí pohlavní ústrojí (spikula) je uloženo v protažené membranosní
pochvě v části ocasní. Samičí pohlavní ústrojí (vulva) uložené v části jícnové
vyčnívá membranovými obaly nad povrch těla. Ocas u samičky je velmi krátký,
tupý a konický.

Pro diagnostické určení jsou charakteristická vajíčka uložená ve žlutavých
uzlicích v jaterním parenchymu. Vajíčka jsou typická pro tento rod cizopasníků.
Jsou tvaru oválného, citronovitého, opatřená pólovými zátkami. Barvy jsou
žluté. Stěna vajíčka je rozdělena ve tři vrstvy, z nichž vnější je bezbarvá a pro-
stoupená drobnými póry, takže vcelku má tečkovaný vzhled a na průřezu pru-
hovaný. (Obr. 1.) Druhá vrstva stěny je celistvější, má žlutou barvu, která
prosvítá první vrstvou a dodává zbarvení celému vajíčku. Od vnitřního obsahu
je oddělena tmavě konturovanou slupkou. Tato vrstva vybíhá na pólech ve
vzájemně protilehlé zátky, světlejší než druhá vrstva stěny a dodávají tak cha-

rakteristického tvaru celému vajíčku. Vnitřek je vyplněn granulovanou nažloutlou hmotou, základem příštího embrya. Rozměry nalezených vajíček se pohybovaly od 0,051—0,066 mm délky a 0,030—0,055 mm šířky.

Hepaticola hepatica (Bancroft, 1893) je cizopasník se širokou stupnicí hostitelů. Nejrozšířenější je u hlodavců (*Rodentia*), ale zasahuje i do řádu masožravců (*Carnivora*), do řádu *Artiodactyla*, také do řádu opic (*Primates*) a v neposlední řadě byly popsány i invase u člověka s různými pathogenními důsledky. Byly zjištěny některé případy úmrtí následkem invase, jindy byla invase zjištěna při pitvě pouze jako přidatný nález.

Literární přehled

První případ popsal Mac Arthur (1924) a stal se na 30 let parasitologickou kuriozitou. Při pitvě britského vojáka zemřelého v Indii, našel v játrech velký počet bělavých uzlíčků, jež byly masami vajíček *Hepaticola hepatica*. Jiný případ z USA popsal Mc. Q u o w n (1950), u něhož šlo o 17měsíční černošské děvčátko ze samoty blízko New Orleansu. Třetí případ popsali Otto et al. (1954) rovněž z USA. Pacientem byla sedmiletá černošská dívka ze Sev. Karoliny. Vajíčka byla nalezena po dvojnásobně provedené biopsii. Při první biopsii byli nalezeni červi a vajíčka, při druhé jejich zbytky. Autoři sdělují, že vajíčka parazita nebyla nikdy nalezena ve stolici, ačkoliv během hospitalizace bylo provedeno 21 vyšetření. Několik roků po nález u Mc Arthura popsal nález vajíček ve stolici domorodců na řece Amuru (Již. Sibiř) K. I. Sk r j a b i n (1929) při 60. parasitologické expedici AV SSSR. V roce 1931 Fausta a později spolu s Martinezem popsali 9 případů v republice Panama, k nimž přidal Wright (1938) dalších 16 případů výskytu *Hepaticola hepatica* u člověka. Stejně nálezy z Panamy byly popsány B r o s i u s e m a E n g l e r e m. Mimo případy z USA byly popsány ještě z francouzské Guiney V o g e l e m (1932) a ze západní Rhodesie S a n d g r o u n d e m (1933).

Z uvedené literatury je zřejmo, že i když jde o případy výjimečné, nelze jim i u nás nevěnovat pozornost. U nás popsal nález tohoto cizopasnika M o k o š i a k (1956) u potkanů při parasitologickém průzkumu v Brně a okolí. Ze 300 vyšetřovaných potkanů zjistil cizopasnika u dvou, t. j. 0,67 %. V nedávné době popsal L u b i n s k y (1956) jako nové hostitele *Thomomys talpoides* (R i c h a r d s o n) a *Peromyscus maniculatus* (W a g n e r) v Kanadě. Uvážíme-li, že cizopasník má tak široký okruh hostitelů a podobně jako ostatní kapillarie jednoduchý vývoj, mohli bychom se s tímto onemocněním setkat i v našich chovech kožešinových zvířat.

Vývoj *Hepaticola hepatica* jest přímý, ačkoliv má svoje zvláštnosti, podle nichž jej Skrjabin rozlišuje od ostatních kapilárií. Vajíčka bývají pozřena s játry masožravcem při ulovení napadeného hostitele a projdou jeho zažívacím traktem bez porušení, nebo při uhynutí hostitele jsou pozřena hmyzem (*Coleoptera*) živícím se padlinami a rovněž procházejí střevem beze změn. Na volném vzduchu zrají za 4—6 neděl a dostávají se deštěm do potoků a kaluží, případně na traviny a z nich jsou přijata novými hostiteli. Larvy podle pozorování Füllebornova pronikají ze střeva do portálního oběhu a jím jsou zaneseny do jater, kde dochází k usídlení cizopasníků.

Vlastní práce

Toto onemocnění jsem měl možnost diagnostikovat u jednoho uhynulého zajíce. Makroskopicky byla játra poseta a prostoupena četnými drobnými, suchými uzlíčky, bělavě nebo žlutě zbarvenými. Ložiska nejsou s parenchymem jaterním pevně spojena, je možné je oddělit tlakem, takže na nich nelpí žádné zbytky parenchymových buněk.

Na řezu byly uzlíky kompaktní, vyplněny bělavou nebo žlutavou sýrovitou tužší hmotou a velikosti od špendlíkové hlavičky po velikost prosa. Při silných invasích cizopasníků a značném množství nakladených vajíček dochází až k cirrhose jater.

Histologicky (preparáty byly barveny hematoxilin-eosinem) byly v jaterním parenchymu nalezeny průřezy cizopasníků se sytě modře se barvícími orgány těla (kapilaroidní jícen, obr. 2). V blízkém okolí cizopasníka můžeme sledovat aktivaci buněk endothelu intertrabekulárních kapilár. Mimo tyto změny nalézáme okrsky, v nichž buňky jaterních trámců ztrácejí svoje výrazné kontury, jejich plasma je eosinofilní a jádra se jen slabě přibarvují. Jaterní trámce v těchto místech probíhají nepravidelně nebo vůbec ztrácejí charakter trámčiny. Mezi skupinami takto degenerovaných buněk je serosní slabě se barvící hmota a výrazné zmnožení buněk s protáhlými jádry. Takovému nekrobiotické ložisko přechází poměrně ostře ve zdravou jaterní tkáň. Některé z jaterních buněk v blízkosti nekrobiotického ložiska jeví známky zvýšené aktivity (regenerace).

Ložiska nakladených vajíček jsou různé velikosti a jsou umístěna jak v parenchymu, tak i v interstitiálních prostorech. Uzlík je opouzdřen vazivem. Na počátku tvorby uzlíků je stěna slabá a složena z neorganizovaných vazivových snopců. Vajíčka jsou uložena sporadicky v granulační tkáni z buněk lymfoidního typu a z převládajících fibroblastů bez výraznější tvorby kolagenních vláken. (Obr. 3.) Ve větších uzlicích převládají převážně vajíčka cizopasníka. Granulační tkáň je poměrně buněčně chudá, což je zvláště výrazné při periférii, kde přímo naléhá na silný vazivový lem. Vazivo je ostře ohraničeno od parenchymu a způsobuje částečnou atrofii okrajových buněk. Velké uzlíky mají stěnu tvořenou z kruhovitě podélně uspořádaného vaziva, slabě růžově se barvícího s málo jadernými elementy. Přechází v buňky rovněž zprvu podélně uspořádané, mající tendenci k intensivnímu barvení jader (zbytky granulační tkáně). Ve starších uzlicích leží vajíčka v slabě růžově se barvících masách, vytvořených z nekroticky změněných buněk granulační tkáně (obr. 4). Zde zevní vrstva vazivového obalu jeví příznaky hyalinisace, což svědčí o chronicitě procesu. Vlákná nabobtnávají, ztrácejí jasné kontury a přecházejí v homogenní masy. V místech, kde je více velkých uzlíků s mnoha vajíčky, nacházíme v okolí žlučodů a na periférii acinů výrazné zmnožení vaziva. Z těchto míst vybíhá směrem k centru acinu, takže acinosní stavba je rozrušena plošnými vazivovými jizvami — cirhotisujícím procesem. V ostatní tkáni je výrazné zmnožení zralého vaziva na periférii acinů. Je nápadné, že v procesech nejsou eosinofilní nukleáry jako u jiných ložiskových parazitárních onemocnění. Eosinofilní buňky byly nalezeny poměrně v malém počtu přimísené do buněčného infiltrátu chronického charakteru, který nalezneme místy v okolí ložisek s vajíčky.

Tento nález může být zaměněn s pathologicko-anatomickým nálezem při jaterní kokcidiose nebo vede k podezření na pseudotuberkulosu hlodavců. I při histologickém vyšetření může svědět neznalost vajíček *Hepaticola hepatica* k mylné diagnóze. V krátkosti proto uvedu diferenciální diagnózu jaterní kokcidiosy a pseudotuberkulosy.

Jaterní kokcidiosa je lokalisována hlavně v epitelu žlučovýchodů. Na místě lokalisace a rozmnožení způsobují kokcidie ložiskové změny — kulaté šedo-bílo-žlutavé, měkké uzlíky. Často jsou uspořádány do různě dlouhých pruhů. Na řezu obsahují těstovitou, hnědou podobnou masu, v níž mikroskopicky můžeme najít množství oocyst. Histologicky zjišťujeme, že uzlíky jsou rozšířené žlučovody, mající stěnu změněnou chronickým zánětem (*cholangitis catarrhalis chronica coccidiosa*). Epitel žlučovýchodů bují ve formě papilárních výběžků do lumina, následkem mechanického a chemikotoxického dráždění kokcidií. Výběžky sestávají z vazivového základu a jsou pokryty epitelem a tím se podobají papiliformnímu cystadenomu. Propria je zesílena zbujelem, více nebo méně silně infiltrovaným vazivem. V epitelu nacházíme kokcidie v různém stupni vývoje. Často zasahuje proliferace vaziva ještě na sousední interlobulární vazivo, ve kterém bují žlučovody a jsou také stejným způsobem změněny. Tím se vytvoří konglomeráty ložisek, které jsou rozděleny jenom tenkou atrofickou stěnou.

Pseudotuberkulosa hlodavců má podobné drobné uzlíky jako při hepatikolose, ale mimo játra nacházíme je i ve slezině, v mízních uzlinách a diseminovaně i v plicích. Všechny uzlíky mají stejnou strukturu a barví se do žluta. Histologicky: chybí specifická granulační tkáň obvyklá při TBC. V zánětlivém výpotku převažují leukocyty.

Je možné, že podobných případů invaze *Hepaticola hepatica* je u našich zajíců i jiných hlodavců více, ale snadnou záměnou za patologicko-anatomický obraz při výše popsaných onemocněních unikají pozornosti. Nutno připomenout, že invaze tohoto cizopasníka budou velice úzce lokalisovány, a proto jsou dosud řídkým zjevem v našich poměrech. Bylo by proto zapotřebí užší spolupráce parazitologických pracovišť a upozornit na tyto invaze, zvláště jde-li o takové, které mohou ohrozit zdraví lidí.

Souhrn

Je popsán případ invaze *Hepaticola hepatica* u zajíce jako příčina uhynutí. Jde o sporadické onemocnění v našich krajích v terénu úzce lokalisované. Cizopasník byl na SVVÚ Praha diagnostikován pouze jedenkrát v bohatém pitevním materiálu uhynulých i odstřelených zajíců z různých krajů Čech a Moravy. Makroskopicky jsou změny na játrech podobné jaterní kokcidiose nebo pseudotuberkulose hlodavců. Diagnosu možno spolehlivě stanovit histologickým vyšetřením při znalosti specifického tvaru vajíček. Patologický proces je chronické povahy a má sklon k cirrhose jater, ve kterou při silných invasích přechází. V okolí ložiskových změn nebyly nalezeny eosinofilní nukleáry, jako je tomu u jiných ložiskových afekcí parazitárního původu.

Literatura

MacArthur W. P.: A case of infestation of human liver with *Hepaticola hepatica* (Bancroft 1893) Hall 1916; with sections from the liver. — Proc. Roy. Soc. Med. Sectn. Trop. Dis. and Parasit. 17: 83-84. 1924. — Baylis H. A.: Manual of Helminthology Med. and Vet. — London 1929. — Baylis H. A.: On the structure and relationships of the nematode *Capillaria (Hepaticola) hepatica* (Bancroft). Parasito-

logy 23 : 533-543, 1931. — Brosius O. T., Thomas E. E., Brosius B.: Capillaria hepatica. A case report. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 42 : 95-97, 1948. — Engler G., Sanchez G.: Capillaria hepatica (Bancroft 1893). A case report. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 43 : 443-444, 1950. — Faust E. C.: Investigation in Panama during the summer of 1930. Science 73 : 43-45, 1931. — Faust E. C.: Martinez W. H.: Notes on helminths from Panama. II. Rare human nematode eggs in the faeces of individuals from the Chagres River, Panama. - J. Parasit. 21 : 332-336, 1935. — Fiebiger J.: Die Tierischen Parasiten der Haus- u. Nutztiere, sowie des Menschen. - Wien 1947. — Graig Ch. F., Faust E. C.: Clinical Parasitology. Philadelphia 1945. — Hall M. C.: Nematode parasites of mammals of the orders Rodentia, Lagomorpha and Haracoidea. - US Nat. Mus. 50 : 1-258, 1916. — Hutyrá - Marek - Mocsy: Spezielle Pathologie u. Therapie d. Haustiere II. Band. Jena 1952. — Hovorka J.: Helminthologická diagnostika. Bratislava 1954. — Lubinsky G.: On the Probable Presence of Parasitic Liver Cirrhosis in Canada. Can. J. of Comp. Med. 20 : 457-465, 1956. — Mokošiak J.: Parazitárne vyšetrenie potkanov v Brně. Vet. Med. (Sborník ČSAZV) 29 : 7, 1956. — Neveu-Lemaire M.: Traité d'Helminthologie méd. et vét. Paris 1936. — Nieberle u. Cohrs: Lehrbuch der speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere. Jena 1949. — Palaske G.: Pathologische Histologie der Haustiere. Jena 1955. — Pavlovskij E. N.: Učebnik parazitologii čelověka. Leningrad 1951. — McQuown A. L.: Capillaria hepatica report of genuine and spurious cases. Amer. J. Trop. Med. 30 : 761-767, 1950. — McQuown A. L.: Capillaria hepatica. Amer. J. Clin. Path. 24 : 448-452, 1954. — Sandground J. H.: Parasitic nematodes from East Africa and Southern Rhodesia. Bull. Mus. Comp. Zool. (Harvard) 15 : 263-293, 1933. — Skrjabin K. I., Podjapolskaja V. P., Šichobalova N. P.: Neue Fälle der Hepaticolosis beim Menschen. Ruskij Žurnal Trop. Med. 7 : 449-450, 1929. — Skrjabin K. I., Šichobalova N. P., Orlov N. B.: Osnovy nematodologii. — Tom VI. Moskva 1957. — Skrjabin K. I. a spol.: Opredelitel paraziticheskikh nematod. Tom IV. Moskva 1954. — Vogel H.: Beiträge zur Epidemiologie der Schistosomiasis in Liberia und Französisch Guinea. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene. 36 : 108, 135, 1932. — Wright H. E.: Further observations on the incidence of Hepaticola (Capillaria) hepatica ova in human feces. Amer. J. Trop. Med. 18 : 329-330, 1938.

К вопросу гепатиколоза у наших зайцев

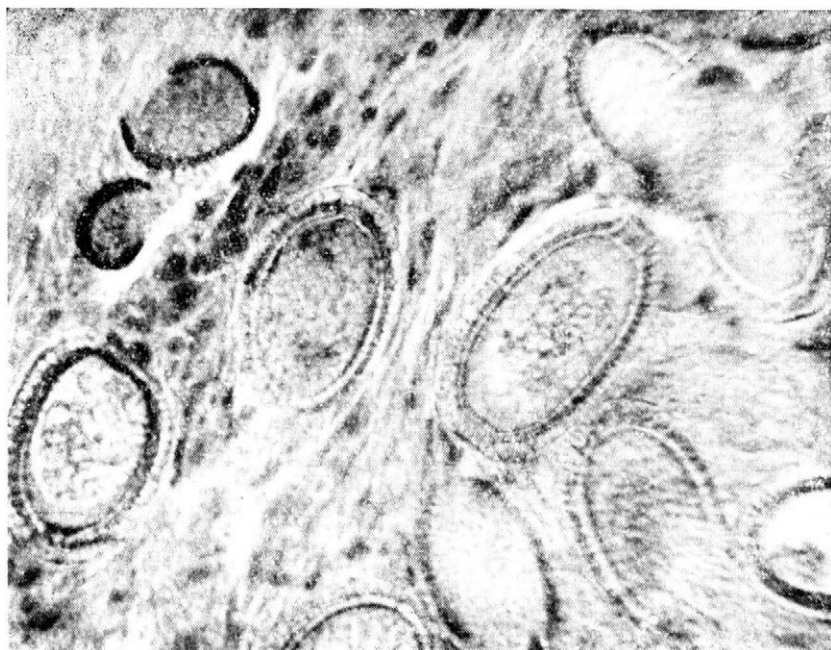
Автор описывает случай инвазии *Hepaticola hepatica* у зайца как причину смерти. Вопрос касается спорадического заболевания в наших областях на весьма ограниченной территории. Возбудитель заболевания был только один раз установлен путем анализа Государственным научным ветеринарным институтом в Праге на основании богатого патологического материала, взятого у погибших и отстреленных зайцев в различных областях Чехии и Моравии. Макроскопические изменения в печени аналогичны почечному кокцидиозу или псевдотуберкулезу грызунов. Диагноз можно точно установить путем гистологического исследования, если будет известна специфическая форма яиц. Патологический процесс имеет хронический характер и склонность к циррозу печени, в который он переходит при сильных инвазиях. Около очаговых изменений не были обнаружены эозинофильные нуклеары, как это наблюдается при иных очаговых поражениях паразитарного происхождения.

On the Question of Hepaticolosis in Hares in CSR

A description is given of a case of *Hepaticola hepatica* as cause of death of hares. It was a question of sporadic illness in narrowly localized area of CSR regions. The parasite was diagnosed only once by our State Scientific Veterinary Institute in Prague, in abundant autopsy material of hares which had died a natural death or had been shot in various regions of Bohemia and Moravia. Macroscopically the changes in the liver are similar to liver coccidiosis or pseudotuberculosis of rodents. The diagnosis can be established reliably by histological examination, with knowledge of the specific shape of the eggs. The pathological process is of a chronic nature and is inclined to cirrhosis of the liver which it goes through in severe attacks. In the area of localized changes there were found no eosinophil nuclears, as in the case of other localized affections of parasitic origin.

Zur Frage der Hepaticolosis bei unseren Hasen

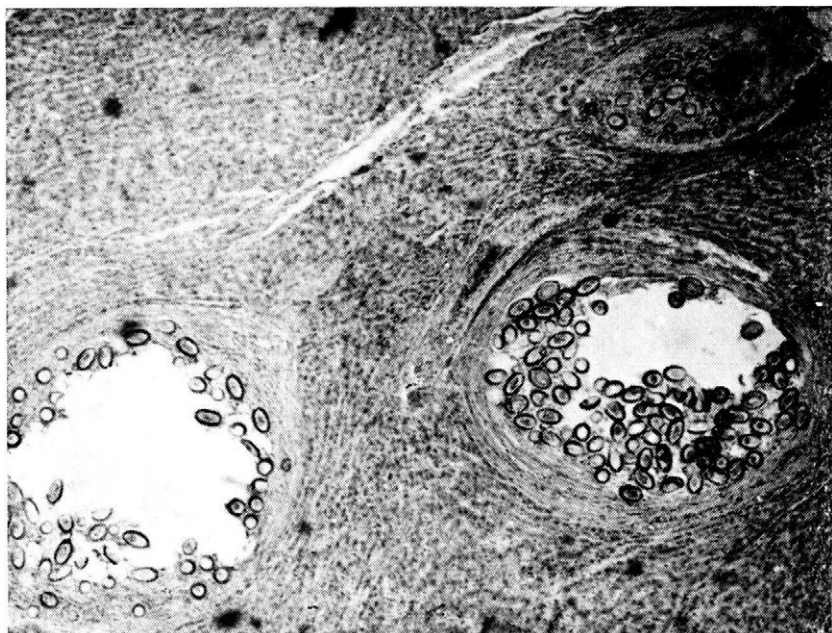
Es wird ein Fall von Invasion *Hepaticola hepatica* bei einem Hasen als Todesursache geschildert. Es handelt sich um eine in unseren Bezirken in eng umgrenztem Gelände sporadische Erkrankung. Der Parasit wurde am Staatlichen wissenschaftlichen Veterinärinstitut in Prag nur ein einziges Mal im reichen Sezierungsmaterial der in verschiedenen Gegenden Böhmens und Mährens eingegangenen und geschossenen Hasen diagnostiziert. Makroskopisch ähneln die Veränderungen an der Leber der Kokzidiose bzw. der Pseudotuberkulose der Nagetiere. Die Diagnose kann verlässlich durch histologische Untersuchung bei Kenntnis der spezifischen Eierform bestimmt werden. Der pathologische Prozeß ist chronisch und neigt zu Leberzirrhose, in die er bei starken Invasionen auch übergeht. In der Umgebung der Focalveränderungen wurden keine eosophilen Nukleare gefunden, wie das bei anderen Focalbefunden parasitären Ursprungs vorkommt.



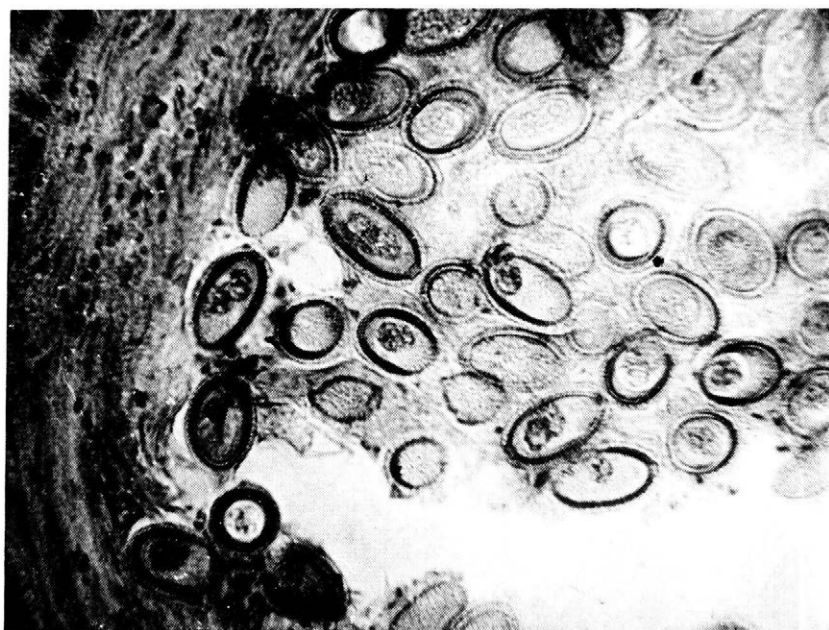
1. Vajíčka *Hepaticola hepatica* (orig.) — Foto: V. Kupka



2. Průřezy cizopasníkem ve tkáni jater (orig.) — Foto: V. Kupka



3. Ložiska v jaterním parenchymu. 1. Uzlík v počátečním stadiu; 2. Starší uzlíky (popis v textu). (Orig.) — Foto: V. Kupka



4. Starší uzlík. Vajíčka v masách nekroticky změněných buněk granulační tkáně (orig.) — Foto: V. Kupka

Zlepšení péče o stavy hospodářských zvířat vyžaduje pomoc veterinární vědy vnitřnímu veterinárnímu lékařství

zejména v diagnostice chorob kožních, jaterních, parazitárních, poruch ve výměně látkové a infekční anemie. Těmto otázkám je věnováno 5. číslo Sborníku ČSAZV Veterinární medicína, které je kolektivním dílem vědeckých pracovníků kliniky vnitřních chorob veterinární fakulty v Brně a interního oddělení Krajské veterinární nemocnice v Českých Budějovicích.

Tématické číslo Sborníku ČSAZV Veterinární medicíny jest zpracováno k 65. narozeninám seniora československé veterinární vědy prof. dr. K. Šobry, vedoucího katedry pro vnitřní choroby veterinární fakulty v Brně.

Číslo obsahuje tyto práce:

Lub. Šlesinger: Xanthydrolová reakce v seru koní a psů

J. Zakopal: Heinzova tělíska v erytrocytech v diagnostice infekční anaemie koní

St. Husák: Kožní choroby psů a podkožní mizní uzliny

M. Brož: Význam vitaminu A pro drůbež a naměřené hladiny v játrech drůbeže a v některých koncentrátech vitaminu A

B. Klimeš: Použití některých sulfonamidů a meziproduktů při jejich výrobě k terapii experimentální kokcidiosy kuřat vyvolané E tenella

A. Šanda: Výzkum motorické činnosti žaludku u psa rentgenem

J. Konrád: Intravitální punkce (biopsie) jater u koní z hlediska klinické diagnostiky.

Toto číslo bude významným pomocníkem pro veterinární praxi, pro Státní vědecké veterinární ústavy a krajské veterinární nemocnice. Potřebný počet lze objednat v Administraci časopisů Československé akademie zemědělských věd, 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-18130

NĚKTERÉ VÝZNAMNĚJŠÍ PRÁCE V PŘÍŠTÍM ČÍSLE SBORNÍKU

VETERINÁRNÍ MEDICINA

Páté číslo veterinární mediciny je věnováno otázkám interní medicíny a přinese zejména tyto práce, mající význam pro diagnostiku a vnitřní terapii: Lubomír Schlessinger — Xanthydrolová reakce v séru koní a psů. Josef Zakopal — Heinzova tělíska v erythrocytech v diagnostice infekční anaemie koní. Alexej Šanda — Výzkum motorické činnosti žaludku u psa rentgenem. Jaroslav Konrád — Intravitální punkce (biopsie) jater u koní z hlediska klinické diagnostiky.

CO JE UVEŘEJNĚNO V OSTATNÍCH SBORNÍCÍCH Č. 4

ROSTLINNÁ VÝROBA

Dr. inž. E. Jermoljev: Bramborový virus S. — Inž. J. Zadina: Výskyt rzivosti hlíz u brambor. Studium dědičnosti náchylnosti k rzivosti. — Inž. J. Zemánek: Studium mořidel proti prašné sněti ovesné.

ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA

Čtvrté číslo Sborníku ČSAZV Živočišná výroba je věnováno nejnaléhavějším problémům našeho rybářství a přináší tyto práce: F. Volf a J. Havelka: Použití antibiotik v léčení infekční vodnatelnosti kaprů. — N. D. Borodičová: Přezimování vodních organismů v bahně vypouštěných rybníků. — Marcel Truelle: Vliv odpadních vod z výroby syntetického kaučuku na ryby. — V. a V. Janeček: Využití chovu kachen k prohojování menších rybníků. — F. Havlena: Planktonové rybníky. — V. Dyk: Vliv měkkých porostů na prohřívání vody aj.

LESNICTVÍ

Inž. Kolubajiv: Boj se smrkovými pilatkami pozemním a leteckým poprašováním a s použitím aerosolů. — Inž. Cvrkal: Příspěvek k rozlišování odrůd borovice lesní. — Prof. Matyáš: Ekonomický dosah různé hustoty lesních cest pro lesní hospodářství. — Inž. Krontorád: Formy vody v některých lesních půdních typech.

ZEMĚDĚLSKÁ EKONOMIKA

Čtvrté číslo Sborníku je věnováno tématice státních statků a obsahuje rozsáhlou práci Karla Čížka „Výzkum a ekonomický rozbor hospodaření státních statků v horských a podhorských oblastech“ a inž. L. Vrány „K organizaci práce v dopravě na státních statcích“.

MECHANISACE A ELEKTRIFIKACE ZEMĚDĚLSTVÍ

Ing. Pázral: Využití elektrické energie v polních pracech - II. — Doc. Štefl a kol.: Zkoušky drhlíku kukuřice MDK-35 a pro praxi přináší práci Ing. Ljubomírské: Perspektivní potřeba elektrické energie při komplexní mechanizaci výroby v JZD.