

Hodnotenie antitoxickéj funkcie pečene pomocou skúšky na syntézu hippurovej kyseliny po zaťažení natriumbenzoátom u vysokoproduktívnych kráv

**Оценка антитоксической функции печени при помощи пробы на синтез
гиппуровой кислоты после введения бензойнокислого натрия у высокопродуктивных
коров**

**Evaluation of the Antitoxic Function of the Liver, by Means of Tests of the Synthesis
of Hippuric Acid After Addition of Benzoate of Soda in Highly Productive Cows**

D. P. ČERKASOV

*Z katedry patologickej fyziológie Moskovskej veterinárnej akadémie, vedúci katedry
doktor veterinárnych vied, prof. V. M. Koropov*

Došlo dne 5. VIII. 1958

Úvod

Je všeobecne známe, že pečeň hrá veľmi dôležitú úlohu v premene látok. Za účasti fermentov prebiehajú v pečeni zložité procesy analýzy, syntézy a resyntézy organických látok. V súčasnej dobe je už dostatočne známa funkcia pečene v bielkovinnom, uhľohydrátovom, tukovom a ďalších úsekoch metabolizmu. Je vyjasnená jej úloha ako bariérneho orgánu, ktorá spočíva v detoxikačnej a antitoxickej funkcii pečene. Následkom takej funkcionálnej mnohostrannosti je len prirodzené, že výkyvy v premene niektorých látok odrážajú funkčný stav pečene. Práve preto je dôležité sledovať závislosť rôznych funkcií pečene s poruchami premeny látok.

V humánnej medicíne sa používa celá škála funkcionálnych skúšok, ktoré vo vhodnej kombinácii poskytujú možnosť posúdenia porúch jednotlivých funkcií pečene.

V posledných rokoch je aj vo veterinárnej medicíne sústredená pozornosť mnohých pracovníkov na vypracovanie vhodných skúšok pre zisťovanie funkcionálneho stavu pečene, z ktorých niektoré sa už aj začínajú používať v klinickej diagnostike. Nedostatočne sú zatiaľ preštudované poruchy antitoxickej funkcie a možnosť ich diagnostikovania u domácich zvierat a konkrétne u rožného statku. Ide predovšetkých o určovanie ureosyntetickej funkcie syntézy fenolsirovej a fenolglukuronovej kyseliny a pod.

V humánnej medicíne pre posúdenie porúch antitoxickej funkcie sa používa hlavne skúška Quicka. Jej princíp je v normálnom fyziologickom procese, ktorý prebieha v pečeni za účelom detoxikácie kyseliny benzoovej, ktorá sa tvorí pri rozpade aromatických látok rastlinného pôvodu. Vytvorená kyselina benzoová

sa detoxikuje tým, že sa spolu s glykokolom v pečeni slučuje v kyselinu hippurovú, ktorá je potom vylučovaná močom.

Vo veterinárnej literatúre sa nám podarilo nájsť len dve práce, ktoré sú venované skúške na syntézu hippurovej kyseliny pri chorobách pečene u domácich zvierat.

I. P. Z a p a d ň u k (1947) zisťoval syntézu hippurovej kyseliny pri toxických dystrofiách pečene u koní a u oviec. Z výsledkov autora vysvitá, že u nemocných zvierat bola syntéza znížená na 46—48 %, čo svedčilo o značnej poruche antitoxickej funkcie. Okrem toho autor zistil paralelizmus tejto skúšky s poruchami ureosyntetickej funkcie pečene a s výsledkami galaktózovej skúšky u tých istých zvierat. Na žiaľ v citovanej práci nie je opísaná metodika skúšky na syntézu hippurovej kyseliny, čím sa do istej miery znižuje praktický význam tejto práce.

Väčšej pozornosti zasluhuje práca prof. M e c h t i e v a (1949), ktorý rozpracoval metodiku a navrhoval presný postup prevedenia skúšky na syntézu hippurovej kyseliny u rožného statku. Autor preskúšal túto skúšku na veľkom experimentálnom a klinickom materiáli a potvrdil jej praktický význam pre hodnotenie antitoxickej funkcie pečene.

Nedostatok literatúrnych prameňov o použití vyššie uvedenej skúšky u domácich zvierat je možno vysvetliť snád tým, že dlho existoval názor o tom, že jediným miestom syntézy hippurovej kyseliny v organizme byložravcov sú obličky. Dnes je však zistené, že miestom syntézy kyseliny hippurovej je aj v organizme byložravcov pečeň (V i k t o r o v, K. R., 1948, B r a u n š t e j n, 1949, M e c h t i e v, 1949 a i.).

Našou úlohou bolo zistiť pomocou skúšky na syntézu hippurovej kyseliny zmeny v antitoxickej funkcii pečene u klinicky zdravých vysokoproduktívnych kráv a pri alimentárnej toxémii.

Materiál a metodika

Pokusy boli prevedené na kravách sovchoza „Frjazero“, „Otradnoje“ a kolchoza Kirova Moskovskej oblasti. Skúška sa previedla u 25 kráv, z ktorých 15 kusov bolo klinicky zdravých a ročnou dojivosťou od 4000—7800 a u ostatných 10 (ročná dojivosť 4300—8680) boli zistené klinické príznaky alimentárnej toxémie (K o r o p o v, 1955).

Skúška sa robila priamo v uvedených hospodárstvách nasledujúcim spôsobom.

Od 17—18 hod. večer kravy 12 hod. hladovali. Príjem vody sa neohraničoval. Ráno o 5—6 hod. sa odoberala moč pre stanovenie hippurovej kyseliny pred zaťažením. Ihneď po odbratí moču sa intravenózne aplikoval 5% roztok natriumbenzoátu v množstve 300 ml. Potom v priebehu 6 hodín v intervaloch 1—1,5 hod. sa odoberala moč buď pomocou masáže alebo v krajných prípadoch katetrizovaním.

K stanoveniu hippurovej kyseliny sa bralo z každej porcie moča 100 ml do porcelánovej nádoby v ktorej sa moč zahusťoval na polovicu objemu nad vodným alebo vzdušným kúpeľom. Zahustený moč sa preliat do sklenej banky a odložil do chladničky. Úplné vychladnutie je totiž jednou z nutných podmienok úplného vykrištalizovania hippurovej kyseliny v kyslom prostredí.

Po ochladení sa k moču pridávala po kvapkách koncentrovaná kyselina solná až do výrazne kyslej reakcie. Potom sa obsah banky pretrepal zo začiatku pozorne

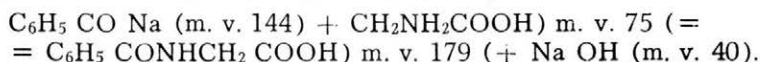
a pozdejšie energicky. Pri vysokej koncentrácii hippurovej kyseliny dochádzalo k jej rýchlemu vykrištalizovaniu.

Po zatrepaní sa okyselený moč postavil do chladničky na 2--3 hod. V niektorých prípadoch, kedy nedošlo k vykrištalizovaniu kyseliny hippurovej po okyselení a zatrepaní a ani po 2--3 hod. stánia v chladničke, čo býva hlavne v prípadoch polyúrie, sme buď viac zahušťovali moč, alebo nechávali v chladničke cez noc. Ak sa ani za týchto podmienok neobjavili kríštale kyseliny hippurovej možno súdiť o jej praktickej neprítomnosti v danej porcii. Je však možné, že tiež prítomnosť bielkoviny zťažuje vykrištalizovanie hippurovej kyseliny a preto v prípade proteonúrii bielkovinu treba odstrániť.

Po úplnom vykrištalizovaní sa obsah filtroval cez papierový filter. Banka sa niekoľkokrát spláchla destilovanou vodou, ktorou sa tiež premyli kríštale na filtračnom papieri. Potom sa kríštale sušili v sušiarňi pri 60°C až do dosiahnutia stálnej váhy. Takýmto spôsobom sme zistili množstvo hippurovej kyseliny v 100 ml moča. Nakoľko sme poznali množstvo vylúčeného moča za každú hodinu a tiež množstvo moča vylúčeného v priebehu 6 hodín mohli sme zistiť kvantum vylúčenej hippurovej kyseliny počas každej 1--1,5 hodiny po aplikovaní natrium benzoátu a tiež celkové množstvo za 6 hodín.

Vylúčené množstvo hippurovej kyseliny možno vyjadriť tiež v hodnotách benzoovej kyseliny násobením množstva kyseliny hippurovej 0,78.

My pokladáme za správnejšie určovať podľa vylúčenej hippurovej kyseliny percento vylúčeného benzoanu sodného v pomere k aplikovanému. Toho dosiahneme tak, že množstvo vylúčenej kyseliny hippurovej násobíme 0,804 a potom úmerou určíme % vylúčeného benzoanu v pomere k aplikovanému. Kvocient 0,804 vyplýva z reakcie syntézy hippurovej kyseliny:



1. Kvocient pre výpočet benzoanu sodného z kyseliny hippurovej — $144 : 179 = 0,804$.

2. Kvocient pre výpočet hippurovej kyseliny z benzoanu sodného — $179 : 144 = 1,243$.

Keď teda poznáme množstvo vylúčenej kyseliny hippurovej ľahko vypočítame % vylúčeného benzoanu sodného. Napr. krava vylúčila za 6 hodín po zaťažení benzoanom 10,0 g hippurovej kyseliny, čo odpovedá 8,04 benzoanu sodného. Nakoľko však krave bolo aplikované 300 ml 5 % benzoanu, teda 15 g, v pomere k vpravenému natriumbenzoátu vylúčené množstvo činí 53,6 % ($15 : 8,04 = 100 : X$).

Pre rýchle prepočítanie sme zhotovili tabuľku, ktorú tiež uvádzame (pozri tab. I).

Vlastné pokusy

I. Výsledky natriumbenzoátovej skúšky u klinicky zdravých kráv

Zaťaženie natriumbenzoátom bolo prevedené u 15 klinicky zdravých kráv z toho u 10 v priebehu laktácie a u 5 kusov v období vysokej gravidity. Tieto pokusy nám dali možnosť zistiť určité rozdiely antitoxickej funkcie pečene za rôznych fyziologických podmienok organizmu.

I.

Kyselina hippurová v g	% vylúčeného nátriumbenzoátu	Kyselina hippurová v g	% vylúčeného nátriumbenzoátu	Kyselina hippurová v g	% vylúčeného nátriumbenzoátu
0,001	0,00536	0,05	0,268	0,9	4,824
0,002	0,01072	0,06	0,3216	1,0	5,36
0,003	0,01608	0,07	0,3752	2,0	10,72
0,004	0,02144	0,08	0,4288	3,0	16,08
0,005	0,0268	0,09	0,4825	4,0	21,44
0,006	0,03216	0,1	0,536	5,0	26,80
0,007	0,03752	0,2	1,072	6,0	32,16
0,008	0,04288	0,3	1,608	7,0	37,52
0,009	0,04824	0,4	2,144	8,0	42,88
0,01	0,0536	0,5	2,68	9,0	48,24
0,02	0,1072	0,6	3,216	10,0	53,6
0,03	0,1608	0,7	3,752	20,0	107,2
0,04	0,2144	0,8	4,288		

Na tabuľke II. sú výsledky nátriumbenzoátovej skúšky u 10 kráv nachádzajúcich sa v štádiu laktácie.

II.

Krava	Moč vylúčený za 6 hod. v ml	Hippurová kyselina v 100 ml moči v g		Hippurová kyselina za 6 hod. v g	% vylúčeného nátriumbenzoátu
		pred zaťažením	po zaťažení		
Lastočka	2625	0,324	0,990	17,483	93,7
Burjonka	1700	0,6403	1,74	17,524	93,93
No 143	1850	0,1935	1,260	19,730	105,75
Samara	1700	0,060	1,060	17,00	91,12
No 410	3900	0,190	0,60	15,99	85,71
No 818	1370	0,250	1,450	16,44	88,11
Dalja	2825	0,284	0,873	16,64	89,19
Muravka	3800	0,234	0,655	15,99	85,71
Milka	3825	0,390	0,7845	15,09	80,88
Ballada	3750	0,233	0,683	16,87	91,42

Z tabuľky vidno, že u klinicky zdravých kráv sa po intravenóznom injikovaní 300 ml 5 % benzoanu nátria syntetizovalo v priebehu 6 hodín 15,09 až 19,73 g kyseliny hippurovej čím sa vylučovalo vo všetkých prípadoch vyše 80 % aplikovaného nátriumbenzoátu.

Na tabuľke III sú uvedené výsledky u 5 kráv, klinicky zdravých, nachádzajúcich sa v poslednom mesiaci gravidity.

U týchto kráv, ako vidno z tabuľky, sa po podaní nátriumbenzoátu syntetizovalo 12,307–13,7 g kyseliny hippurovej a vylúčilo 65,93–73,38 % injikovaného benzoanu nátria.

III.

Krava	Moč vylúčený za 6 hod. v ml	Hippurová kyselina v 100 ml moči v g		Hippurová kyselina za 6 hod. v g	% vylúčeného nátrium- benzoátu
		pred za- ťažením	po za- ťažení		
Kyl'ka	4250	0,140	0,442	12,83	68,9
Gamma	3700	0,1715	0,5068	12,307	65,93
Kruževnica	4825	0,155	0,415	12,54	67,21
Vilka	2700	0,143	0,638	13,37	71,66
Diskusia	1750	0,219	1,007	13,7	73,38

Takým spôsobom bolo zistené, že u klinicky zdravých kráv nachádzajúcich sa v štádiu laktácie bola schopnosť pečene syntetizovať hippurovú kyselinu z nátriumbenzoátu vyššia ako u kráv v poslednom mesiaci gravidity.

II. Výsledky nátriumbenzoátovej skúšky u kráv s alimentárnou toxémiou

Okrem klinicky zdravých kráv bola skúška prevedená u 10 kráv s príznakmi alimentárnej toxémie, ktoré sa vyznačovali zväčšením pečene a jej bolastivosťou pri palpácii alebo perkusii, miernym ikterom slizníc dutiny ústnej, vagíny a konjunktívy, znížením nervo-svalového tónu, oslabením motorickej činnosti bachora, oslabením srdcovej činnosti vyznačujúcim sa zoslabením tonov a zmenou rytmu. U nemocných kráv bolo zistené zrýchlenie pulsu v niektorých prípadoch do 83/min. a zrýchlenie dýchania do 60/min.

Pri laboratórnom vyšetrení boli zistené žľozové pigmenty a kyseliny v moči. Na tabuľke IV. sú uvedené výsledky skúšky u 10 nemocných kráv.

IV.

Krava	Moč vylúčený za 6 hod. v ml	Hippurová kyselina v 100 ml moči v g		Hippurová kyselina v g	% vylúčeného nátrium- benzoátu
		pred za- ťažením	po za- ťažení		
Botanika	5500	0,0	0,0	0,0	0,0
Volna	4240	0,0	0,188	8,07	43,255
Fyzika	1800	0,3735	0,7661	7,067	37,88
Brusnička	4350	0,0	0,1985	8,6378	46,23
Sliva	3650	0,0	0,093	3,51	18,6
Gavanja	1550	0,0	0,508	7,878	42,2
Zadača	2905	0,2135	0,6576	12,903	69,14
Jablonja	1750	0,671	1,108	7,64	40,97
Balerina	6400	0,0893	0,2138	7,968	42,71
Barynja	3000	0,073	0,214	4,23	22,38

Z tabuľky vidno, že v týchto prípadoch množstvo vylúčenej kyseliny hippurovej okrem kravy Zadači nedosahovalo v žiadnom prípade 10 g (0,0–8,63) za 6 hodín v percente vylúčeného benzoanu nátria v pomere k aplikovanému 50 % (0,0–46,23). Okrem toho u kravy Botanika nedošlo k syntéze hippurovej kyseliny.

Takto bolo zistené, že u kráv s výraznými klinickými zistiteľnými hepatálnymi poruchami v porovnaní s klinicky zdravými zvieratami je značne znížená antitoxická funkcia pečene.

Diskusia

Vychádzajúc z výsledkov natrium benzoátovej skúšky u klinicky zdravých vysokoproduktívnych kráv sme stanovili normálne hodnoty antitoxickej funkcie pečene. Tieto hodnoty zodpovedajú 15–19,7 g syntetizovanej hippurovej kyseliny čo odpovedá 80–105 % aplikovaného benzoanu nátria. Nami dosiahnuté výsledky súhlasia s údajami Mechtejeva (1949), ktorý pokladá antitoxickú funkciu pečene u kráv za normálnu ak sa po aplikovaní natriumbenzoátu v priebehu 6 hod. vylúči močou 14–21,0 g hippurovej kyseliny.

Hodnoty získané na klinicky zdravých kravách v štádiu stánia na sucho sú o 7–15 % nižšie ako u kráv počas laktácie. To snád svedčí o tom, že v poslednom štádiu gravidity dochádza k určitému zníženiu antitoxickej funkcie pečene u kráv.

Výsledky získané u vysokoproduktívnych kráv s poruchami premeny látok typu alimentárnej toxémie ukázali na značné narušenie antitoxickej funkcie pečene. U týchto kráv došlo k zníženiu percenta vylúčeného nátria na 40–50 %. V ťažkých prípadoch aj na 20 % a u jednotlivých kusov (krava Botanika) sme vylúčenie nezaznamenali. Tieto výsledky ukazujú, že u kráv s alimentárnou toxémiou je značne znížená detoxikácia, pre organizmus škodlivých látok, čo svedčí o narušení antitoxickej funkcie pečene.

Narušenie antitoxickej funkcie pečene nastáva pravdepodobne následkom nesprávneho krmenia, vyznačujúceho sa nadbytkom bielkovín v krmnej dávke. Následkom toho vzniká porucha trávenia charakterizujúca sa znížením motorickej funkcie bachora a zvýšeným vstrebávaním toxických hnilobných produktov porušenou črevnou bariérou, čo vedie ku vzniku dystofických zmien v pečeni (Koropov, 1956).

Veľký vliv na zníženie antitoxickej funkcie pečene u kráv s alimentárnou toxémiou majú tiež poruchy procesov v bachore vyvolané zmenami činnosti bachorovej mikroflóry (Kolb, 1956, Popov, 1957). Hoflund (1949) zistil, že normálna flóra bachora za prítomnosti ľahkostraviteľných uhľohydrátov syntetizuje z toxických produktov bielkovinového rozpadu súčasti svojho tela a takým spôsobom sa znižuje vstrebávanie toxických látok. To znamená, že nesprávnym kmením zapríčinené zmeny činnosti bachorovej mikroflóry majú veľký význam pre vznik intoxikácie, ktorá je príčinou alimentárnej toxémie.

Z vyššie povedaného možno predpokladať, že pri alimentárnej toxémii následkom zvýšenej tvorby toxických produktov a následných hepatálnych porúch dochádza k zníženiu aktivity fermentov, ktoré katalizujú procesy detoxikácie, následkom čoho sa porušujú obranné syntézy v našom prípade syntéza kyseliny benzoovej a glykokolu v kyselinu hippurovú.

Зда са, же натриумбензоатова скúшка характеризujúца tento процес мýже значне помýчт при вýчасней диагностике алиментárней тохемие, hodnotení terapie i prognýзы tohoto onemocnenie. Detajnejšie vysvetlenie týчhto otázok bude predmetom ďalších nami pripravovaných prác.

Сúһrn

1. Po intravenóznom aplikovaní 300 ml 5 % натриумбензоату klinicky zdravým krávam sa vylúčilo 15—20,0 g hippurovej kyseliny. Toto množstvo odpovedá 80—105 % injikovaného benzoanu nátria.

2. U klinicky zdravých kráv v poslednom mesiaci gravidity bola znížená schopnosť pečene detoxikovať benzoovú kyselinu. Antitoxická funkcia pečene u týchto kráv sa pohybovala v rozpätí 65—73 % aplikovaného натриумбензоату.

3. Syntéza hippurovej kyseliny u kráv s алиментárnou toxémiou bola silno znížená a odpovedala 30—40 % injikovaného benzoanu nátria. Syntéza hippurovej kyseliny bola minimálna alebo úplne chýbala u kráv s ťažkým priebehom choroby.

4. Skúška na syntézu hippurovej kyseliny je vhodným testom pre hodnotenie antitoxickej a syntetickej funkcie pečene u vysoko produktívnych kráv.

Literatúra

1. A. E. Braunštejn: Biochimija aminokislотного обмена Moskva 1949. —
2. S. A. Hoflund: Report of the XIV internat. Veterinary Congress, b II, section 4(b) p. 81-93, Londýn 1949. — 3. S. A. Hoflund, G. Nordström, W. Hallgren: Dtsch. tierärztl. Wschr. 13/14, 125, 1956. — 4. E. Kolb: Mtsh. Veterinärmed. 11, 3, 49, 1956. — 5. V. M. Koropov: Veterinarija 32, 11, 43, 1955. — 6. V. M. Koropov: Trudy Moskov. veter. akad. tom 15, 16, 1956. — 7. M. A. Mechtiev: Dis. Kirovobad 1949. — 8. H. F. Popov: Vestnik sel'skochozjajstvennoj nauki, 6, 56, 1957. — 9. K. P. Viktorov: Fiziologija domašnich životnych Sel'choz'giz 1948. — 10. U. P. Zapadňuk: Veterinarija 10, 34, 1947.

Оценка антитоксической функции печени при помощи пробы на синтез гиппуровой кислоты после введения бензойноокислого натрия у высокопродуктивных коров

1. У клинически здоровых коров после внутривенного введения 300 мл. 5% раствора бензойноокислого натрия выделялось от 15 до 20,0 г гиппуровой кислоты. Это количество гиппуровой кислоты соответствует 80—105% введенного бензойно-кислого натрия.

2. У клинически здоровых коров в последнем месяце стельности была понижена способность печени обезвреживать бензойную кислоту. Антитоксическая функция печени у этих коров в наших опытах колебалась в пределах 65—73 % введенного бензойноокислого натрия.

3. Синтез гиппуровой кислоты у коров с алиментарной токсемией резко понижен и составляет 30—40% введенного бензойноокислого натрия. Это свидетельствует о резком нарушении антитоксической функции печени при данном заболевании. Синтез гиппуровой кислоты доходил до минимума или совершенно отсутствовал у коров с тяжелым течением болезни.

4. Проба на синтез гиппуровой кислоты является хорошим тестом для оценки антитоксической и синтетической функции печени у высокопродуктивных коров.

Evaluation of the Antitoxic Function of the Liver, by Means of Tests of the Synthesis of Hippuric Acid After Addition of Benzoate of Soda in Highly Productive Cows

1. After intravenous injection of 300 ml of 5 % benzoate of soda to clinically healthy cows, 15 to 20 grams of Hippuric acid was secreted. This amount corresponds to 80—105 % of the injected benzoate of soda.

2. In the case of clinically healthy cows in the last month of pregnancy the ability of the liver to detoxicize benzoate of soda was reduced. The antitoxic function of the liver of these cows varied within the range of 65 to 73 percent of the benzoate of soda injected.

3. Synthesis of hippuric acid of cows having alimentary toxemia was strongly reduced and corresponded to 30 to 40 percent of benzoate of soda injected. The synthesis of hippuric acid was at a minimum or completely lacking in cows with serious cases of the disease.

4. Tests of synthesis of hippuric acid are a proper test to evaluate the antitoxic and synthetic function of the liver of highly productive cows.

Hygienické zhodnocení vod používaných k napájení hospodářských zvířat v zemědělských podnicích Gottwaldovského kraje

Санитарно-гигиеническая оценка питьевой воды в сельскохозяйственных
предприятиях Готвальдовской области

Trinkwasserbewertung vom hygienischen Gesichtspunkt aus in den landwirtschaft-
lichen Betrieben des Bezirkes Gottwaldov

Hygienic Evaluation of Drinking Water in Agricultural Enterprises in the Gottwald
Region

K. PROKÚPEK, L. SEDLAŘÍK, F. HOS

Státní vědecký veterinární ústav, Praha, pobočka Gottwaldov

Došlo dne 11. VII. 1958

Úvod

Pro normální činnost zvířecího organismu má značný význam voda. Napájení spolu s krmením má podstatný vliv na celkový zdravotní stav a užitkovost zvířat.

Podle vědeckých a praktických poznatků snižuje nedostatek dobré pitné vody užitkovost zvířat, brzdí váhový přírůstek a zhoršuje odolnost organismu vůči nemocem. Napájení zvířat ze znečištěných vodních zdrojů může způsobit onemocnění trávicího ústrojí, napadení cizopasníky a nakažlivé nemoci. Napájení zvířat příliš studenou vodou způsobuje záněty dýchacích cest a onemocnění zažívacího traktu.

Pitná voda má být čistá a čerstvá, bez cizích příměsí, přiměřené teploty (nejméně 8° C) a tvrdosti (5–25 stupňů německých). Běžně se používá k napájení zvířat vody vodovodní a studniční, ale také vody povrchové (potoční, říční, rybníční a jiné vody). Voda z louží a močálů se k napájení nehodí, protože bývá silně znečištěna a může obsahovat choroboplodné zárodky i vajíčka cizopasníků. Udržování vodních zdrojů v řádném stavu a čistotě má mimořádný profylaktický význam zejména v prevenci parazitárních chorob. Podle zkušeností používá se v některých zemědělských závodech vody k napájení též jako vody pitné. Se zřetelem k těmto okolnostem je nutno na vodu, která slouží k napájení domácích zvířat, klást zvýšené nároky z hlediska hygienického a požadovat, aby měla vlastnosti pitné vody.

Zdá se, že vodě, sloužící k napájení zvířat, se dosud věnuje málo pozornosti. Svědčí o tom také ta okolnost, že v našem odborném písemnictví najdeme o této otázce jen řídké zprávy. Jsme toho názoru, že tomuto neprávem opomíjenému úseku veterinární hygieny a prevence je nutno věnovat více pozornosti.

V nedávné době byla publikována práce Borkovcova, pojednávající o hygienických závadách v pitných vodách zemědělských podniků. Průzkumu bylo podrobeno 180 vodních zdrojů z pěti okresů Brněnského kraje. Mezi nejčastější závady patří blízkost hnojště, což bylo zjištěno v 80 % případů. Po stránce celkového mikrobiálního znečištění bylo průměrně 11 % vod posouzeno jako zdraví nezávadné, 16,7 % podezřelé a 72,3 % jako závadné.

Chemickým rozбором pitných vod v zemědělských podnicích se obírá studie Vítkovičova. Autor se zabýval smyslovým, fyzikálním a chemickým rozбором pitných vod ze 180 studní čtyř moravských okresů z okolí Brna, jakož i zhodnocením studní po stránce zdravotní nezávadnosti a dospěl k závěru, že 46 % vod bylo zdravotně úplně nezávadných, 22 % jich mělo vážné zdravotní závady a 32 % vzorků bylo podezřelých.

Co do množství mají velké nároky na pitnou vodu především prasata a skot. Nejlépe vyhovíme potřebám zvířete, má-li k vodě volný přístup. Zvíře pije, když má žízeň a nepřepije se.

Pravidelné napájení je proto důležitým předpokladem dobrého zdravotního stavu i užitkovosti zvířat. O tom, jak rušivě působí nedostatek vody k napájení na váhové přírůstky, uvádí pěkný příklad Kroutilík. Na jednom hospodářství, kde byla umístěna skupina skotu, nastala porucha vodovodního zařízení. Voda musela být dovážena ze vzdáleného zdroje a nestačila krýt potřebu zvířat. Denní přiděl vody byl zkrácen o jednu třetinu. Ačkoliv tento stav trval pouze 10 dní, projevil se nedostatek vody výrazně na přírůstcích. Průměrný denní přírůstek, který činil 1,34 kg, se snížil o 0,89 kg, tedy o plných 66 %.

Metodika práce

V akci bylo vyšetřeno 309 vzorků vod používaných k napájení zvířat. Vzorky, odebírané do sterilních nádob, podle předem vypracovaného návodu pracovníky veterinární terénní služby, byly s urychlením dopravovány do ústavu poslem. Za chladného počasí byly některé vzorky posílány poštou. U každého vodního zdroje mělo být provedeno hygienicko-topografické zhodnocení se situačním náčrtkem a zaznamenáno ve formulářích, rozesílaných společně se vzorkovnicemi.

Vyšetření bylo zaměřeno v zásadě na zjištění bakteriologické čistoty a na kvalitativně chemické zkoušky, doplněné stanovením fyzikálně chemických vlastností. Všechna vyšetření byla prováděna podle směrnice a návodu jednotných analytických metod pro posuzování pitných vod (JAM č. 2., I. pitná voda), vydaných ministerstvem potravinářského průmyslu v roce 1953 (Výnos MPP z 23. list. 1953, č. 396/397/53-242 se souhlasem hlavního hygienika).

Při bakteriologickém rozboru bylo prováděno vyšetření na množství zárodků psychrofilních, mesofilních a zárodky skupiny *coli-aerogenes*. Počet psychrofilních zárodků byl zjišťován na želatinoagarových půdách při inkubaci dvou až tří dní a teplotě 20° C. Při stanovení počtu mesofilních zárodků jsme použili jako kultivačního prostředí dvouprocentního agaru. Postup očkování byl obdobný jako při stanovení počtu psychrofilních zárodků, plotny však byly inkubovány v termostatu při 37° C. Vyrostlé kolonie jsme odečítali po 24 a po 48 hodinách. Počet zárodků se přepočítával na 1 ml vyšetřované vody.

Přítomnost mikrobů ze skupiny *coli-aerogenes* jsme prokazovali na tekuté půdě metodou Savageovou a na pevné půdě koncentrační metodou Ficker-Partišovou. Při zjišťování zástupců *coli-aerogenes* ve vodě těmito

metodami jde v podstatě o dvě zásadní věci: zjistit, zda vůbec jsou tyto mikroby ve vodě přítomny a v jakém množství. Zjišťujeme-li nejmenší množství vody, ve kterém mikroby ze skupiny *coli-aerogenes* jsou ještě přítomny, stanovujeme coli-titr.

Koncentrační metodou Ficker-Partišovou zjišťujeme na Endoagaru počet bakterií skupiny *coli aerogenes*. Zjištěný počet typických mikrobů *E. coli* přepočítáváme na 1 litr vody, čímž dostaneme index-coli.

Fyzikálním vyšetřením byly zjišťovány zákal, barva, sediment, pach a někdy i chuť.

Chemické vyšetřování bylo prováděno kvalitativně a v případě potřeby i kvantitativně a omezovalo se na zjišťování několika ukazatelů, které mají hlavní význam při posouzení jakosti vody i z hlediska chemického.

Byly zjišťovány: Koncentrace vodíkových iontů (pH) — orientačně indikátorovými papírky značky „Phan“, amoniak, resp. sloučeniny amonné, draslík, železo, vápník, hořečik, chloridy, dusičnany, dusitany, sírany, fosforečnany.

Dobrá pitná voda nemá obsahovati na 1 litr více než

35 mg/L N_2O_5 — dusičnanů (NO_3^-)

250 mg/L SO_3 — síranů (SO_4^{--})

100 mg/L — chloridů (Cl^-)

0,3 mg/L Fe_2O_3 — sloučenin železa (Fe^{++} a Fe^{+++} z anorg. sloučenin)

Fosforečnany organického původu (PO_4^{--}), dusitany (NO_2^-) a amoniak organického původu (NH_3 , NH_4^+) nemají vůbec být přítomny.

Bližší podrobnosti použité metodiky jsou uvedeny v příslušných kapitolách jednotných analytických metod.

Nezbytným doplňkem vyšetření bylo hygienicko-topografické posouzení vodních zdrojů. Jelikož z technických důvodů jsme je nemohli sami provést, sestavili jsme dotazník, obsahující tyto hlavní body: Druh vody, zdroj a jeho umístění, složení půdy, popis vodního zdroje, zdroje znečištění a jejich vzdálenost, způsob případného ošetření vody, situační náčrtek.

Po skončení jednotlivých dílčích vyšetření po stránce bakteriologické, chemické, fyzikálně chemické a na podkladě místního hygienicko-topografického prošetření, byly výsledky shrnuty a zhodnoceny a stanoven počet a stav vyhovujících a nevyhovujících zdrojů pitných vod v zemědělských závodech podle zásad, uvedených v Jednotných analytických metodách.

Vlastní průzkum

Ze 309 vyšetřených vzorků vod bylo 268 z JZD, 21 z ČSSS, 5 ze školních statků a 15 z ostatních zemědělských závodů.

Vodní zdroje jsme rozdělili do 4 skupin:

1. Vodovody	20
2. Studny v zemědělském objektu	224
3. Zdroje podchycené mimo hospodářský objekt	50
4. Vody povrchové	15

Vodovodů používalo sedmnáct JZD, dva školní statky a jeden hřebčín, studní JZD ve 200, ČSSS ve 14 a ostatní podniky v 10 případech. Zdrojů podchycených mimo objekt používalo JZD ve 44, ČSSS a jiné podniky v 6 případech. Povrchových vod používalo 8 JZD, 3 ČSSS a ostatní podniky ve 4 případech. Povr-

chové vody byly v 11 případech potoky, ve dvou rybníky, v jednom povrchový vodojem a v jednom případě povrchová voda bez určení původu.

U většiny vodních zdrojů byl pořízen hygienicko-topografický popis. I když údaje nebyly vždy úplné, bylo možno ze záznamů vytěžit hodně cenných poznatků.

Bakteriologický rozbor

Bakteriologický rozbor byl prováděn podle směrnic JAM pro vyšetřování pitných vod.

V dobrých pitných vodách nemá počet psychofilních zárodků přesahovati 100 v 1 ml vody; nejvýše přípustná mez je 500 zárodků. Počet mesofilních zárodků nemá přesahovati 20 v 1 ml vody, maximální přípustná mez je 100 zárodků. Mikroflóra ze skupiny *coli-aerogenes*, která v běžné praxi se hodnotí jako indikátor znečištění organickými látkami, nemá být prokázána obvyklými vyšetřovacími metodami ani ve 100 ml vyšetřované vody. Maximální mez přípustnosti u lokálních vodních zdrojů je negativní nález v 50 ml zkoumané vody.

1. Vodovody

Podle stanoveného množství psychofilních zárodků vyhovovalo 12 případů, nevyhovovalo 8. Na jeden vyhovující vzorek připadlo průměrně 29 zárodků v 1 ml, na jeden nevyhovující vzorek průměrně 667 zárodků v 1 ml.

Podle stanoveného množství mesofilních zárodků vyhovovalo 13 vzorků, nevyhovovalo 7. Na jeden vyhovující vzorek připadlo průměrně 5 zárodků v 1 ml, na jeden nevyhovující 310 zárodků v 1 ml.

Na počet zárodků skupiny *coli-aerogenes* na pevné půdě vyhovovalo 16 vzorků, nevyhovovaly 4. Průměrně připadá na jeden nevyhovující vzorek 127 zárodků v 1 litru. V tekuté půdě (S a v a g e) vyhovovalo jen 11 vzorků.

Podle výsledků bakteriologického vyšetření 20 vzorků městských a obecních vodovodů bylo zařazeno 11 vzorků mezi úplně vyhovující zdroje vod. Ze zbývajících 9 vzorků jest 6 vzorků s mírným zvýšením psychofilních zárodků nebo přítomností *coli-aerogenes*, prokázaných v tekuté půdě, nikoliv však na pevné půdě. Zbývajících 3 vzorky, ve kterých byly zjištěny zárodky *coli-aerogenes* i na pevné půdě a vyšší počet psychofilních a mesofilních zárodků, byly zařazeny do skupiny nevyhovujících zdrojů.

2. Studny

Ze 224 vzorků vod ze studní vyhovovalo na přípustný počet psychofilních zárodků 93, nevyhovovalo 131 vzorků. U vyhovujících vzorků činil průměrný počet zárodků 198 v 1 ml vody, u nevyhovujících 1 602.

Na mesofilní zárodky vyhovovalo jen 79 vzorků. Nevyhovujících bylo 144. Průměrný počet mesofilních zárodků vyhovujících vodních zdrojů byl 37 v 1 ml, u nevyhovujících 722.

Coli-aerogenes na pevné půdě: Počet vyhovujících studní 50, nevyhovujících 171 (u 3 vzorků nebyly *coli-aerogenes* na pevné půdě zjišťovány). Průměrný počet zárodků v 1 závadném vzorku byl 6 922 v 1 ml. V tekuté půdě vyhovovalo 37 vzorků.

Ze 224 vzorků studniční vody vyhovovalo toliko 37 vzorků.

3. Zdroje podchycené mimo objekt

Z 50 vzorků vod ze zdrojů podchycených mimo objekt bylo 29 vzorků vyhovujících při vyšetření na počet psychrofilních zárodků. Na počet mesofilních zárodků nevyhovovalo z uvedených 50 vzorků dvaadvacet. Na jeden vyhovující vzorek připadlo v průměru na 1 ml vody 126 psychrofilních a 15 mesofilních zárodků. Na jeden nevyhovující vzorek připadlo průměrně na 1 ml vody 1 482 psychrofilních a 532 mesofilních zárodků.

Coli-aerogenes na pevné půdě: Počet vyhovujících zdrojů byl 16, závadných 33. Průměrný počet zárodků na pevné půdě u nevyhovujících případů byl 7 478 v 1 ml. V tekuté půdě vyhovovalo 15 vzorků.

Celkově z 50 vyšetřených zdrojů podchycených mimo závod, vyhovovalo jen 15. Zbývajících 35 vzorků nevyhovovalo.

4. Vody povrchové

Z 15 vzorků povrchových vod používaných k napájení vyhovovaly 4 vzorky o průměrném počtu 46 zárodků v 1 ml. Nevyhovovalo 11 vzorků s průměrným počtem 1 748 zárodků/ml.

Podle počtu *coli-aerogenes* na pevné půdě vyhovovaly 2 případy a nevyhovovalo 13 případů o průměrném počtu 19 415 zárodků/ml.

Z výsledků zjištění *coli-aerogenes* v tekuté půdě vyhovoval z 15 vyšetřených vzorků jen jeden vzorek. Jde o vodu čerpanou z vodojemu, který je napájen potůčkem ze studánky, vzdálené asi 100 m. Potůček je zčásti chráněn křovím a jinými porosty před znečištěním. Voda v potůčku není nijak znečišťována.

Chemické a fyzikální vyšetření

Při smyslovém posouzení byla věnována hlavní pozornost čirosti, zabarvení sedimentu a zápachu vody.

Z 309 vzorků bylo 47 vod opaleskujících, 36 mělo určité zabarvení (např. zažloutlé, rezavé), u 42 vzorků byl sediment (sloučeniny železa, šedá, hnědá usazenina apod.) a 8 vzorků páchlo (pach bahnitý, zemitý apod.). Měřením pH-papírky pohybovalo se pH téměř výlučně mezi 5,4 a 5,5. V jednom případě 8,3.

Od chemického vyšetření jsme požadovali, aby nás informovalo o povšechné jakosti pitné vody a vyloučilo nebo potvrdilo, zda zkoumaný vodní zdroj obsahuje látky, které jsou ukazatelem znečištění odpadními organickými látkami ve větším množství než je přípustné.

Při chemickém vyšetření 20 vzorků vod z vodovodů nevyhovovalo pro zvýšené množství sloučenin amonných, hořečnatých a síranů po jednom vzorku, dusičnanů 4 vzorky a chloridů 3 vzorky (za současné přítomnosti i ostatních ukazatelů znečištění).

Z vyšetřovaných 224 vzorků vod ze studní bylo nevyhovujících pro překročení přípustného množství iontů NH_4^+ 46 vzorků, iontů Fe^{+++} 13 vzorků, iontů NO_3^- 65 vzorků, iontů SO_4^{--} 4 vzorky, iontů PO_4^{--} 4 vzorky a iontů Cl^- 87 vzorků.

Z celkového množství 50 vzorků vod ze zdrojů podchycených mimo objekt bylo nevyhovujících pro vyšší obsah po 3 vzorcích u iontů NH_4^+ a NO_3^- , 2 vzorky u iontů Fe^{+++} a 4 vzorky u iontů Cl^- .

Při ohodnocení vyšetřených vzorků po stránce chemické vyhovovalo ze skupiny vod z vodovodů 15 vzorků (75 %), ze skupiny vod ze studní v objektu 97 vzorků (43 %), ze skupiny vod ze zdrojů podchycených mimo objekt 40 vzorků (80 %) a ze skupiny vod povrchových 10 vzorků (67 %). Po připočtení vzorků s malými závadami, s vědomím toho, že vhodnost vody nutno posuzovat s přihlédnutím ke všem rozhodujícím okolnostem, bylo možno posoudit jako vyhovující u vodovodů 17 vzorků (85 %), u studní 159 vzorků (71 %), u zdrojů podchycených mimo objekt 44 vzorků (88 %) a ve skupině vod povrchových 11 vzorků (73 %). Vzorky se stopami amoniaku resp. sloučenin amonných byly započítávány vždy mezi vzorky nevyhovující, i když jejich původ nemusel být vždy z organických látek (např. redukci anorganických látek, z umělých hnojiv apod.).

Rozbor hygienicko-topografický

Celkem bylo odevzdáno 260 dotazníků, z nichž část nebyla ve všech rubrikách zodpovězena. Poznatky z této akce jsou stručnou formou uvedeny v textu a v přehledných tabulkách.

I. Umístění vodních zdrojů

Druh vodních zdrojů	V kolika případech		Z toho bez krytu	Umístění zdrojů						
	zatékalo	nezatékalo		na návsi	v zahradě	na nádvori	v lese	v poli	na louce nebo pastvině	jinde
Studny	116	53	5	—	19	155	—	—	—	—
Zdroje mimo objekt	29	21	2	12	—	—	5	12	14	19
Povrchové vody	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9

II. Vzdálenost vodních zdrojů od hnojišť a stájových objektů

Druh vodních zdrojů	Vzdálenost vodních zdrojů v metrech													
	od objektu							od hnojiště						
	do 10	10 až 20	20 až 30	30 až 50	50 až 100	nad 100	neznámo	do 10	10 až 20	20 až 30	30 až 50	50 až 100	nad 100	neznámo
Studny	82	21	5	6	5	12	55	59	32	10	14	9	35	27
Zdroje mimo objekt	—	—	2	—	5	43	—	—	—	1	1	5	43	—
Povrchové vody	—	—	—	4	—	5	6	—	—	—	1	—	8	6
Vodovody	—	—	—	—	—	—	15	—	—	—	—	—	—	15

Z dodaných 186 topografických popisů studní se dalo zjistit, že u 116 studní zatéká povrchová voda nebo jiné nečistoty. Bez jakéhokoliv krytu bylo 5 studní. U 15 případů zůstal dotaz nezodpověděn. 155 studní je na nádvoří, 57 na zahradě nebo nejbližším okolí, 12 na návsi.

Ze 186 případů bylo 69 studní ve vzdálenosti do 6 m od hnojiště nebo stáje, 16 studní ve vzdálenosti od 6 do 10 m, 100 studní ve vzdálenosti nad 10 m. Ve 27 případech nebyly údaje uvedeny. Z uvedeného je patrné, že skoro polovina studní nemá patřičnou vzdálenost od hnojiště nebo stájových prostorů. Z uvedených studní bylo 93 zdrojů označených jako domácí vodovody.

Z 50 zdrojů, podchycených mimo objekt, bylo označeno 29 případů jako zdroje, do kterých zatéká povrchová voda. Z toho byly 2 zdroje úplně bez poklopu. V lese bylo 5 zdrojů, v poli 12, na pastvině nebo louce 14, obecních studní na návsi bylo 12, bez uvedení místa bylo 19 zdrojů.

Ve vzdálenosti do 50 m od objektu byly 2 vodní zdroje, od 50 do 100 m 5 zdrojů, nad 100 m 43 zdrojů.

Ve vzdálenosti do 50 m od hnojiště nebo stáje byly uvedeny 2 případy, od 50 do 100 m 5 případů, nad 100 m 43 případy.

U povrchových vod byly 4 vodní zdroje ve vzdálenosti do 50 m od objektu a 5 nad 100 m. Od hnojiště byl jeden zdroj ve vzdálenosti do 50 m a 8 nad 100 m. Tyto zdroje jsou sice poměrně dosti vzdálené od zřidel znečištění v hospodářských objektech (stáje, hnojiště), avšak možnost znečištění jiného druhu je značná.

Pokud jde o složení půdy, byla uvedena hlína v 59, písek ve 22, směs hlíny a písku v 63, jiný materiál v 5 případech. V 37 případech nebylo složení půdy uvedeno. Vyzděných studní bylo 60, se skružemi 84, 1 vrtaná. U 40 studní nebyla úprava vyznačena.

Diskuse

Provedení průzkumu bylo uskutečněno v našem kraji v roce 1954 a 1955. Průzkumem byl zhodnocen současný hygienický stav 309 vodních zdrojů sloužících k napájení zvířat v zemědělských objektech JZD a ČSSS v Gottwaldovském kraji, a to 20 vodovodů, 224 studní, 50 zdrojů zachycených mimo objekt a 15 vod povrchových. Výsledkem bakteriologického, chemického a hygienicko-topografického vyšetření bylo zjištění, že vodovodů vyhovovalo 17 (85 %), studní 37 (16,8 %), vodních zdrojů mimo hospodářský objekt 15 (30 %); ze skupiny povrchových vod 1 (6,7 %). Celkově bylo shledáno vyhovujících vodních zdrojů jen 23 %.

Amoniak byl prokázán v 21 % vyšetřovaných vzorků, a to buď jen ve stopách nebo nízkých hodnotách. Fosforečnany byly zjištěny pouze v 1,3 %. Pozoruhodné je, že ani amoniak, ani fosforečnany nebyly nalezeny ve vodách povrchových.

V zásadě není tak vysoké procento nevyhovujících vodních zdrojů vždy vodami zdravotně závadnými, neboť v některých případech jde o zdroje, které potřebují určité úpravy a nutné údržby. V porovnání se zhodnocením pitných vod pěti okresů kraje Brněnského, jejichž průzkum byl proveden asi před 8 roky Borokcem, jsou uvedené výsledky obdobné našim.

Nejčastějším vodním zdrojem je studna. Předpokládáme-li, že podzemní voda

sama o sobě je nezávadná, může její znečištění ve studni nastati různým způsobem:

1. Studna není vůbec kryta a tím je dána velká možnost úmyslnému nebo nahodilému znečištění vody. Častou příčinou znečišťování vody je oplachování zevního povrchu nádob při nabírání vody.

2. Studna je kryta, avšak kryt není těsný. Často bývá případ, že dřevěný kryt studny je už chatrný, takže desky k sobě nepřiléhají, anebo dílce betonového krytu netěsní nebo jsou rozpraskané. Vzniklými šterbinami zatéká pak povrchová voda. Zde je nutno upozornit také na špatný zvyk vylévání splašků v okolí studny.

3. Vyzdívka studny je porušena nebo vlastní zdívo je v horní části zřízeno v propustné vrstvě, takže nečistoty a povrchová voda může prosakovat do spodní vody. To je zvlášť možné, není-li okolí studny upraveno.

4. Zdívo studny je sice zřízeno v nepropustné vrstvě, avšak za určitých okolností může povrchová voda proniknouti podél zdíva do hloubky a spárami ve zdívu do spodní vody.

K odstranění výše uvedených závad je třeba dbát následujících zásad při udržování nebo pořizování nových studní v zemědělských závodech:

Nová studna se zřizuje na vhodném místě chráněném před zatékáním dešťových a sněhových vod a dostatečně vzdáleném od zdrojů znečištění (hnojišť, močůvkových jam, stájí apod.).

Podle vyhlášky ministerstva stavebního průmyslu ze dne 28. prosince 1950 o podrobnějších předpisech pro pozemní stavby (Úřední list I. č. 709/1950) je v § 35 stanoveno, že domovní čistírny nebo žumpy musí býti zřizovány podle místních poměrů nejméně 10 m od studní.

Studna má býti vzdálená od cest, úvalů, břehů řek a má být chráněna před zátopou. Dno studny zpevňujeme filtrační vrstvou oblázků a písku, silnou 15 až 20 cm. Při silnějším tlaku vody pokryjeme dno šterkem nebo vrstvou kamene.

Studny mají přesahovat povrch země 30 až 60 cm. Horní část zdíva obkládáme vrstvou upěchovaného jílu zasahující do hloubky 1,5 až 2 m, kolem studny půdu vydláždíme, vyasfaltujeme nebo vybetonujeme se sklonem 1 : 10 směrem od studny.

K odvádění povrchových vod zřídíme odvodní stružky. Studnu ohradíme, abychom zabránili přístup zvířatům. Koryto k napájení zvířat umístíme nejméně 4 m od studny. Vodu do něho přivádíme žlábkem. Studnu je nutno pravidelně čistit a opravovat. Odběrem vody vědry nebo pomocí rumpálů se voda znečišťuje a je třeba upustit od tohoto způsobu čerpání vody. Nahradíme jej hygienickým způsobem odběru pomocí čerpadel. Čerpadla jsou na ruční nebo motorový pohon. Zásadně doporučujeme kovová čerpadla. Dosud hojně používané dřevěné pumpy jsou zdravotně závadné, poněvadž dřevo ve studni rychle hnije, kazí čirost i chuť vody. Otvor v krytu studny, jímž prochází dřevěná trubka, nedá se tak dobře utěsnit. Horní část čerpadla (hlava stojanu) je široce otevřena a umožňuje znečištění vody. Pumpa sama vyžaduje častých oprav. Výhodné je použití automatického čerpacího zařízení, které může samočinně zásobovati napaječky, což ušetří práci ošetřovatelům zvířat. Zvířata mají kdykoliv dostatečné množství čerstvé vody. Takový způsob čerpání vody má také tu výhodu, že studna může býti situována až 50 m od čerpadla, tedy na zahradě nebo v části dvora vzdálené od hnojiště a jiných nečistých míst.

Těsnění krytu je snadno proveditelné a okolí studny je udržováno v náležitých hygienických podmínkách.

Za účelem kontroly zdravotní nezávadnosti vody odebíráme v určitých časových intervalech vzorky k laboratornímu vyšetření.

K desinfekci pitné vody ve studních se zvláště doporučuje přípravek Sagena, obsahující koloidní stříbro, výrobek n. p. Spolana, Neratovice.

Z nepříznivých výsledků hygienického průzkumu vod v zemědělských podnicích v Gottwaldovském kraji nutno vyvodit, že úprava a udržování vodních zdrojů, zejména studní, je nutno věnovat větší pozornost.

Souhrn

Z výsledků bakteriologického a chemického vyšetření, jakož i hygienicko-topografického průzkumu pitných vod v zemědělských podnicích (JZD a ČSSS) Gottwaldovského kraje vyplývá, že hygienickým podmínkám vyhovuje pouze 23 % vodních zdrojů.

Dostatek kvalitní vody je nezbytně nutný k udržování dobrého zdravotního stavu a užitečnosti hospodářských zvířat. Proto na vodu, sloužící k napájení, je nutno klást stejné požadavky, jako na vodu pitnou. Je proto třeba zajistit zásobování dobrou a nezávadnou vodou zemědělské podniky. Toho lze dosáhnout zvýšením hygienické péče o vodní zdroje na venkově. V četných zemědělských podnicích jsou předpoklady k získání dobré pitné vody zachováváním čistoty a řádnou údržbou studní.

Literatura

1. Borkovec, L.: Výzkum některých hygienických závad a mikrobijské nálezy v pitných vodách zemědělských podniků. Veterinární medicína, roč. 3., 1957, 343. —
2. Vítkovič, L.: Zjišťování závad v pitných vodách zemědělských podniků po stránce chemické. Veterinární medicína, roč. 3., (1957), 733. —
3. Kroutilík, S.: Pečujeme o dostatek vody k napájení zvířat. Náš chov, 1958, 104. —
4. Naděždin V. G. a Vinogradov N. V.: Komunální hygiena, Stát. zdrav. nakladatelství, Praha, 1953. —
5. Jednotné analytické metody — VODA, ministerstvo potravinářského průmyslu, Praha 1953 (Výnos MPP z 23. XI. 1953, č. 396/397/53-242). —
6. Soubor článků „Voda — základ života“, knihovna „Péče o zdraví venkova“, Svazek 20, Praha, 1941. —
7. Skorochodko A. K.: Hygiena hospodářských zvířat. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1953. —
8. Landa S. - Karas F.: Jakost a úprava vod. Technicko-vědecké vydavatelství, 1952. Praha. —
9. Topol, V.: Zásobování venkova vodou v republice Československé. Ministerstvo zemědělství, Praha, 1931. —
10. Vyšetřovací metody v hygieně (Ovzduší, půda, voda); redaktor K. Symon, Státní zdravotnické nakladatelství, Praha, 1954.

Санитарно-гигиеническая оценка питьевой воды в сельскохозяйственных предприятиях Готвальдовской области

Из результатов как бактериологического и химического исследования, так и санитарно-топографического обследования питьевой воды в сельскохозяйственных предприятиях Готвальдовской области (единых сельскохозяйственных кооперативах и государственных хозяйствах) вытекает, что только 23 % водных источников отвечают требованиям санитарии.

Достаточное количество качественной воды является необходимым для поддержания хорошего состояния здоровья и продуктивности хозяйственных живот-

ных. Поэтому к воде, которая служит для поения животных, нужно предъявлять такие же требования, как и к питьевой воде. Следовательно, необходимо обеспечить снабжение сельскохозяйственных предприятий хорошей водой. Этого можно достигнуть повышением санитарной заботы о водных источниках в селе. Во многих сельскохозяйственных предприятиях имеются предпосылки для получения хорошей питьевой воды путем поддержания чистоты и правильного содержания колодцев.

Trinkwasserbewertung vom hygienischen Gesichtspunkt aus in den landwirtschaftlichen Betrieben des Bezirkes Gottwaldov

Aus den Ergebnissen der bakteriologischen und chemischen Untersuchung, sowie aus der hygienisch-topographischen Durchforschung von Trinkwasser in den landwirtschaftlichen Betrieben (landw. Produktionsgenossenschaften und Staatsgütern) des Bezirkes von Gottwaldov geht hervor, daß nur 23 % der Wasserquellen den hygienischen Anforderungen entsprechen.

Zur Erhaltung eines guten Gesundheitszustandes und guter Leistungsfähigkeit der Nutztiere ist eine genügende Menge von Wasser guter Qualität unerlässlich. Demzufolge sind an das zum Tränken bestimmtes Wasser dieselben Anforderungen wie an das Trinkwasser zu stellen. Die landwirtschaftlichen Betriebe müssen also mit gutem und einwandfreiem Wasser versorgt werden. Dies kann durch Erhöhung hygienischer Sorge um die Wasserquellen auf dem Lande erzielt werden. In zahlreichen landwirtschaftlichen Betrieben gibt es Voraussetzungen für Gewinnung von gutem Trinkwasser durch Reinhaltung und durch richtige Instandhaltung der Brunnen.

Hygienic Evaluation of Drinking Water in Agricultural Enterprises in the Gottwald Region

The results of bacteriological and chemical tests, as well as hygienic-topographical studies of drinking water in agricultural enterprises (co-operative and state farms) in the Gottwald region show that only 23 percent of the water sources conform to hygienic conditions.

Sufficient good quality water is essential for maintaining a good state of health and productivity of farm animals. Therefore the same requirements must be set for water serving farm animals as for human beings drinking water. Therefore farm enterprises must be assured a supply of good, untainted water. This can be attained by increasing hygienic care given water sources in rural areas. In numerous agricultural enterprises the prerequisites for obtaining good drinking water are the maintenances of cleanliness and proper care of wells.

Studie o devitalizačních faktorech, zvláště o antagonismu vůči viru EBp (chřipky) prasat

Изучение факторов девитализации и, в частности, антагонизма к вирусу EBp
гриппа свиней

A Study of Devitalization Factors, Particularly Antagonism to the Virus of EBp
or Hog Cholera

MVDr. ZD. KOŽUŠNÍK

Z ústavu mikrobiologie a imunologie Veterinární fakulty VŠZL v Brně,
přednosta prof. dr. Harnach

Došlo dne 21. VII. 1958

Úvod

Vitální antagonismus

Při soužití dvou nebo více bakteriálních druhů dochází v podstatě ke dvěma úkazům. Jestliže se bakterie navzájem nepoškozují, pak mluvíme o bakteriálním synergismu. Tento vztah se vyskytuje i mezi bakteriemi a viry, jako například u viru chřipky prasat v synergismu s *Haemophilus influenzae suis*.

Opakem komplexních a symbiotických mikrobů je bakteriální antagonismus. Tento se projevuje tím, že některé bakteriální kmeny, mnohdy úplně nepatogenní, mají tlumivý vliv na jiné, omezují je ve vzrůstu a případně je ničí, a to i mikroby silně patogenní. Je známa celá řada mikrobiálních antagonistů. Tak Vaerst (22) dokázal, že výtažek pyocyanáza působí nejen tlumivě na růst *Bac. anthracis*, nýbrž jej i rozrušuje. Harnach (6) našel řadu mikrobů, které tlumily anthrax ve vodách. Tak *proteus*, *coli*, *pyocyaneus*, *staphylococcus pyogenes aureus* a *albus* jevíly silný antagonistický účinek na bacily anthraku. Práce Kocha a Krämera (14) potvrdily tlumivý vliv a antagonistické účinky kmene *b. coli* vůči tyfovým bakteriím. Známý je antagonismus mezi zárodky červenkovými a anthraxem, mezi salmonellami a kmeny *coli*.

Z celé řady jasně prokázaného antagonismu mezi mikroby možno usuzovat také na jistý antagonismus i u virů. Tak Muromcev (17) poukazuje na možnost antagonismu mezi ultraviry a mikroby. Soudí, že by bylo účelným prozkoumat mikroorganismy nacházející se v organismu lidí a zvířat, dále ty, s nimiž mají viry možnost přicházet do styku venku, např. ve hnoji. Výzkumy M. S. Dunina a M. I. Goldina byl potvrzen vitální antagonismus u ultravirů rostlin. Harnach (9) uvádí, že jistý druh antagonismu možno pozorovat u viru slintavky proti viru neštovic u morčete (cit. podle Dahmena).

Četnými pokusy bylo dokázáno, že hnůj, který bývá často nositelem infekčního agens, má schopnost toto ničit, případně oslabovat nebo omezovat jej v jeho vzrůstu. Je to způsobováno jeho vlastnostmi fyzikálními i biologickými. Vysoká teplota hnoje, která dosahuje v optimálních podmínkách teploty 70° C, případně i vyšší, již sama ohrožuje život nebo usmrcuje značný počet bakterií a virů. K ní se řadí hnilobné pochody, vliv fermentů a enzymů a bakteriální antagonismus. Na důležitost mikroorganismů a fermentů poukazuje i Roček (19). Teprve komplex těchto složek může plně uplatnit svou bakteriocidní a virocidní schopnost. Ovšem záleží dále i na kvantitě a kvalitě hnoje. Odolnost mikrobů a virů vůči biologické sterilizační schopnosti hnoje je různá. Je závislá na fyzikálních a biologických poměrech ve hnoji, na rezistenci vůči těmto podmínkám a na virulenci mikrobů a virů. Proto také výsledky pokusů konaných v tomto směru se mnohdy rozcházejí. Löffler (16) uvádí, že doba 2 až 3 dny stačí k usmrcení všech nesporegenních mikrobů ve hnoji. Borkovec (2) uvádí, že v koňském hnoji zanikaly salmonelly průměrně za 8 dnů. Podle Gallie (5) stačí 7 dní, aby ve hnoji 60° C teplem byly zničeny zárodky vožřivky a červenky.

Pokusy Harnachovy (8) ukázaly, že anthraxové kultury hynou za 4 dny. Virus infekční obrny vepřů hyne během 10 dnů [Černovský (3)]. Harnach (9) uvádí, že virus moru vepřů hyne v hnoji během 2—4 dnů.

Význam viru chřipky prasat a komplexních bakterií

Virus chřipky je původcem choroby, označované jako chřipka prasat. Názory na etiologii tohoto onemocnění nebyly v minulosti jednotné a pojem chřipky prasat zahrnoval v sobě více onemocnění, které se projevovaly chorobami dýchacího aparátu, horečkou a kašlem. Tak Waldman (23) je označuje jako chřipka selat, Pokorný (18) jako zánět plic a pohrudnice, Hutýra a Marek (13) jako enzootickou pneumonii selat.

Příčinu choroby se podařilo objasnit teprve Schopemu a Lewisovi (21) ve filtrovatelném pneumotropním viru. Těmto badatelům se podařilo současně izolovat průvodní zárodek, který označili jako *Haemophilus influenzae suis*. Jejich práce potvrdily výzkumy Waldmanna a Köbeho (15).

Současně však působí ještě řada dalších komplexních mikrobů; jsou to pyogenní strepto-stafylokoky Harnach (7), pak pasteurely, *pyocyaneus*, *coli* a jiné, jež dávají vznik smrtelným akutním a septickým bronchopneumoniím. Důležitost sekundární infekce je však nesporná, což potvrzují Hutýra - Marek (13), Dahmen (4), Harnach (7), Waldman (23), Köbe (15).

Pro průkaz viru chřipky má velký význam objev Hirstův (10, 11), který poznal, že virus lidské chřipky má schopnost vázat se na červené ptáčí krvinky, čímž dochází k aglutinaci. Séra, která obsahují specifické protilátky, mají schopnost aglutinaci zabránit. Na tomto principu je možno provádět titraci kmenů chřipkových virů a udávat titr protilátek.

Virus chřipky je patogenní i pro laboratorní zvířata, např. pro bílé myšky, křečky a fretky. Po intranazální infekci dochází zpravidla v prvních pasážích jen k bronchopneumoniím, které jsou zjistitelné při pitvě. Klinické příznaky jako

malátnost, netečnost, nechut ke žrádлу, výtok z očí jsou při prvních pasážích málo patrné. Adaptací viru pasážováním se patogenita zvyšuje, takže dochází k uhynutí.

Virus možno pěstovat na alantochoriu kuřecích embryí 11 dní starých, které nezabíjejí [Beller, Bieling (1), Ruska (20)].

Program práce

Ve své práci jsme se zabývali otázkou bakteriálního antagonismu vůči chřipkovému viru ve hnoji, který bývá snadno nositelem virulentní nakažliviny. V této souvislosti jsem zkoumal zánik chřipkového viru v hnoji. Předpokládat jsem, že zánik vitality viru a účinek hnojní mikroflóry má určitou závislost na antagonistických kmenech, které by bylo třeba poznat a v terénu využít proti šíření chřipky alespoň prevenčně.

Úkolem bylo — podle návrhu prof. Harnacha — zjistiti:

1. zda a v jaké době zaniká virus ve hnoji
2. zda ve vepřovém hnoji jsou bakteriální kmeny, které mají výrazný antagonistický a devitalizující účinek na virus chřipkový.

Metodika práce

1. Zjištění, zda se podaří prokázat antagonistický účinek bakteriálních kmenů vůči viru chřipky prasat

a) Kmeny zkoušených antagonistů

K tomu účelu jsem izoloval z běžné hnojné mikroflóry 5 kmenů bakterií. Z nich byly 1. *Escherichia coli*, 2. *Staphylococcus albus*, 3. *Bac. mycoides*, 4. *Bac. mesentericus*, 5. *Proteus vulgaris*.

Tyto kmeny byly zvoleny právě z hnoje proto, že lze předpokládat, že virus chřipky, který by měl podléhat destruktivnímu účinku antagonistů, je ve stáji v pravidelném styku s flórou hnoje.

K pokusům byl přibrán ještě kmen č. 6 *Pseudomonas aeruginosa* (*B. pyocyaneum*) pro své známé antagonistické vlastnosti antibakteriální.

K vlastním pokusům jsem používal 24 hod. bujónových kultur jednotlivých izolovaných kmenů.

b) Virus chřipkový

K pokusům jsem použil viru chřipky kmene č. 55, který patří ke čtyřem kmenům, jež se podařilo v ústavě izolovat Hubíkovi, Harnachovi, Chvátalovi (12).

Virus byl v allantoidní tekutině z infikovaných kuřecích embryí, 11 dní starých. Dva dny po infekci byla allantoidní tekutina odebrána a po 48 hod. vyzkoušena na sterilitu. Takto připraveného viru bylo použito k infekci.

Jako pokusná zvířata sloužily klinicky zdravé bílé myšky. Jejich infekce byla prováděna intranazálním způsobem v éterové narkóze, poněvadž touto formou očkování dosáhneme nejspolehlivějších výsledků. Intranazální dávka očkovací látky byla 0,2 ml.

Poněvadž chřipkový virus ve formě allantoidní tekutiny nezpůsoboval v první pasáži na bílých myškách ani klinické příznaky onemocnění ani uhynutí, přistoupil jsem k jeho pasážování. K infekci bylo užíváno 10 % plicní emulze vyzkoušené vždy předem kultivačně, aby se sterilitou vyloučila možnost druhotné infekce. Plíce myšek páté pasáže obsahovaly chřipkový virus, který byl schopen zabíjet myšky téměř stoprocentně. Byl uchováván v mrazicím pultu při teplotě minus 8° C. Ukázalo se, že ještě po třech týdnech nijak neutrpěl na virulenci. Tohoto viru bylo ve vlastních pokusech užíváno v 10 % emulzi plicního materiálu.

c) Provádění pokusů

Pokusy s kmeny předpokládaných antagonistů jsem prováděl ve zkumavkách, do kterých byly dány jednotlivě 2 ml 10 % plicní emulze a 1 ml 24 hod. bujónové kultury bakteriálních kmenů.

Tak vznikly suspenze chřipkového viru I.–VI. Jako kontrola sloužily 2 ccm 10 % plicní emulze, ke které byl přidán 1 ml sterilního bujónu.

Všech 7 směsí suspenzí (6 s bakteriemi, 1 s bujónem) bylo ponecháno při teplotě kolem 14° C v temnu, aby byl vyloučen ničivý vliv světla, zvláště slunečních paprsků na virus.

Vždy za 5 a 10 dnů byla provedena infekce bílých myšek virem EBp.

Potřebné množství směsi, tj. viru EBp s bakteriální suspenzí, bylo odstředováno po 30 minut při 1 500 obrátkách, aby se tak vyloučily bakterie ze směsi a případně sekundární infekce jimi vyvolaná. Pro kontrolu vyloučení bakterií byla prováděna ze supernatantu, který obsahoval čistý virus, kultivace na obyčejný a krevní agar. Ukázalo se, že odstředování po 30 minut dostačilo k odstranění zkoušené bakteriální mikroflóry, která by mohla zkreslit obraz případné chřipky.

Touto vyčištěnou suspenzí viru jsem pak očkoval v hluboké éterové narkóze bílé myšky, vstřikováním 0,2 ml látky intranazálně pro každou myš.

Za kontrolní myšky sloužily ty, které byly infikovány stejnou 10 % plicní emulzí, obsahující virus smíchaný se sterilním bujónem. Tento virus byl uchováván při stejných podmínkách jako virus smíchaný s bakteriálním kmenem. Případný účinek této směsi s virem dával měřítko virulence viru, smíšeného s kmeny hledaných antagonistů a současně ukazoval, zda některými fyzikálními vlivy, např. teplotou nebo i delší dobou, po kterou virus byl v nepříznivých podmínkách, nezanikla jeho životnost a virulence.

2. Zjištění devitalizace viru ve hnoji

V pokusech jsem používal čerstvého vepřového hnoje, poněvadž v něm lze chřipkový virus nejspíše předpokládat. Vzorky hnoje byly dány do skleněné nádoby o výšce 30 cm, šířce 20 cm a do něho byly uloženy plíce z myšek, obsahující plně virulentní virus, obalené do několika smotků sterilní gázy. Na smotek byl připevněn drát, který vyčníval z hnoje. Tímto způsobem bylo možno vytáhnout smotek v určený den, aniž by bylo nutno vrstvu hnoje silněji porušit.

I. Nádoba s hnojem byla umístěna v místnosti s teplotou 18° C. 10 % emulze z plic, obsahující chřipkový virus, umístěná ve stejné místnosti, sloužila jako kontrola.

Po 3, 4, 5 a 10 dnech byly jednotlivé smotky vyňaty, z plic zhotoveny 10% emulze a infikovány dvě myšky. Pokus byl vždy prováděn ve dvou skupinách se dvěma různými vzorky trusu. Myšky, které neuhynuly ani po 10 dnech, byly usmrceny chloroformovými parami a podrobeny pitvě. Kontrolní myšky byly očkovány ve stejných časových intervalech.

Dávky pro všechny myšky byly podávány intranazálně, v dávce 0,2 ml.

II. Pro zjištění účinku sirovodíku a amoniaku na chřipkový virus byl proveden následující pokus: vepřový hnůj byl sterilizován varem a kultivačně vyzkoušen na běžných živných půdách na sterilitu s negativním výsledkem. Byl probublán směsí amoniaku a sirovodíku, vložen s plícemi myšek, obsahujícími virulentní virus, do neprodyšně uzavřených lahví o výšce 30 cm, šířce 20 cm, které byly obaleny spleným igelitovým obalem, aby bylo zabráněno unikání NH_3 a H_2S , a chován v místnosti s teplotou $20^0 C$. Po 3, 4, 5 a 10 dnech byly smotky z jednotlivých lahví vyňaty a očkovány 4 myškám obdobným způsobem, jako u pokusu předešlého.

III. Účinek vyšší teploty, H_2S a NH_3 na virus EBp byl zkoumán stejným způsobem jako pokus předešlý, pouze s tím rozdílem, že láhve byly chovány ve vodní lázni o teplotě hnoje $50-55^0 C$.

Směsi pro všechny myšky byly podávány intranazálně v dávce 0,2 ml.

Zhodnocení pokusů

A) Devitalizace viru chřipky prasat v hnoji

1. Myši plice s virulentním virem chřipkovým, chované ve vepřovém hnoji, kde podléhaly devitalizujícím vlivům po 3–10 dní, ukázaly tyto účinky:

Virus po třech dnech jevil dosti značné oslabení. Ze 4 infikovaných myšek uhynula jen jediná; pitevní nález: bronchopneumonie. Další dvě myšky jevily slabé klinické příznaky onemocnění, pitevní nález u usmrcených myšek byl negativní. Zbývající čtvrtá myška zůstala zdravá, beze změn na plicích.

Virus po čtyřech dnech byl ještě více oslaben, jak ukazují výsledky na myších. Pouze jedna myška jevila příznaky onemocnění, zatím co ostatní tři zůstaly zdravé. Pitevní nález na plicích všech myšek byl negativní.

Virus po pěti dnech: virulence viru byla úplně potlačena, neboť všechny čtyři myšky zůstaly celou dobu po očkování zdravé. Pitevní nález na plicích usmrcených myšek byl negativní.

Virus po deseti dnech: nebyl schopen vyvolat onemocnění ani uhynutí myšek.

2. Účinek amoniaku a sirovodíku na virus EBp

Po třech dnech působení na virus nedošlo k oslabení. Všechny 4 myšky uhynuly. Pitvou zjištěny u všech rozsáhlá bronchopneumonická ložiska.

Po čtyřech dnech projevilo se oslabení viru ve velmi malé míře: 3 myšky uhynuly, 1 myška jevila příznaky onemocnění, neuhynula však a po deseti dnech byla usmrcena. Pitvou zjištěna u všech bronchopneumonie.

Po pěti dnech došlo k pronikavějšímu oslabení: 1 myška uhynula, pitevní nález — bronchopneumonie; 3 myšky jevily příznaky onemocnění, pitevní nález u usmrcených myšek byl však negativní.

Po deseti dnech nevyvolal virus klinické onemocnění ani bronchopneumocnické změny v plicích.

3. Účinek amoniaku, sirovodíku a vyšší teploty na virus EBp

Po třech dnech působení na virus jevílo se dosti značné oslabení: uhynula pouze 1 myška, pitevní nález: bronchopneumonie. Ostatní 3 myšky zůstaly zdravé, pitevní nález negativní.

Po čtyřech dnech došlo ke klinickému onemocnění 1 myšky, aniž tato uhynula. U všech usmrcených myšek byl pitevní nález negativní.

Po pěti a deseti dnech byla virulence viru úplně potlačena. K onemocnění ani k uhynutí nedošlo, pitevní nález na plicích usmrcených myšek byl negativní.

Souhrn poznatků

Virus chřipky prasat se v hnoji během pěti dnů postupně oslabuje a hyne mezi pátým až desátým dnem.

Doba zániku je závislá na souhře celkového rozkladného pochodu, na hnilobě, amoniaku, sirovodíku a teplotě. Zvlášť výrazně se uplatnil vliv vyšší teploty.

B) Výzkum o antagonistických vlastnostech šesti bakteriálních kmenů vůči viru chřipky

Escherichia coli

Byl zkoušen antagonistický účinek kmene č. 1 — *Escherichia coli*. Pokus byl prováděn ve dvou skupinách celkem na 30 myších.

Infekce virem, na který po pět dní působil kmen *Escherichia coli*, projevila se onemocněním a posléze uhynutím všech infikovaných myšek. Pitvou zjištěna u všech bronchopneumonická ložiska a hepatizace.

Rovněž u myšek infikovaných virem, na který po 10 dní působila *Escherichia coli*, došlo po dvou až třech dnech ke klinickým příznakům onemocnění a k hynutí. V plicích nalezena rovněž bronchopneumonie a hepatizace.

V ý s l e d e k :

Pokusy ukázaly, že kmen *Escherichia coli* nemá na umělých živných půdách vitálně antagonistický účinek na virus chřipky prasat.

Staphylococcus albus

Zkoušky o antagonistických vlastnostech kmene č. 2 — *Staphylococcus albus*.

Pokus byl prováděn ve dvou skupinách.

Infekce virem, na který po pět dní působil *Staphylococcus albus*, projevila se výraznými klinickými příznaky onemocnění všech čtyř myšek a jejich uhynutím během 3—5 dnů. Pitvou zjištěna u všech bronchopneumonie.

Čtyři myšky infikované virem, na který působil *Staphylococcus albus* po 10 dní, rovněž onemocněly a uhynuly. U všech zjištěna pitvou bronchopneumonie.

V ý s l e d e k :

Zkoušený kmen *Staphylococcus albus* neprokázal antagonistických vlastností vůči viru chřipky prasat. Vzhledem k bouřlivým klinickým příznakům onemocnění a rychlému uhynutí se naopak ukázalo, že suspenze viru + stafylokoková bujónová kultura má pro myšky zhoubnější následky, než čistý virus kontrolní; *Staphylococcus* působí přímo synergicky.

Bac. mycoides

Zkoušen antagonistický účinek kmene č. 3 — *Bac. mycoides*.

U 15 myšek, infikovaných virem, na který působil *Bac. mycoides* po 5 i 10 dnů (15 myší), docházelo vesměs k uhynutí ve 4 až 10 dnech po infekci. U pitvaných myšek byla zjištěna v plicích bronchopneumonická ložiska.

V ý s l e d e k :

Bac. mycoides se neprojevil jako vitální antagonist a viru chřipky. Ani po 10 dnech nedošlo k pronikavějšímu oslabení virulence viru vlivem tohoto kmene.

Bac. mesentericus

Do pokusu vzat kmen č. 4 — *Bac. mesentericus*.

Myšky očkované virem, na který působil *Bac. mesentericus* po 5 a 10 dnů rovněž onemocněly a uhynuly po 5—7 dnech. Pitevní nález — bronchopneumonie.

V ý s l e d e k :

Zkoušený kmen *Bac. mesentericus* sám neprojevil rovněž antagonistických vlastností vůči viru chřipky prasat.

Proteus vulgaris

Byly zkoumány antagonistické vlastnosti kmene č. 5 — *Proteus vulgaris*.

Myšky infikované virem, na který působil *Proteus vulgaris* po 5 až 10 dnů, uhynuly do pěti dnů po infekci za příznaků bronchopneumonie.

V ý s l e d e k :

Ani kmen *Proteus vulgaris* neprojevil za daných podmínek zřetelné antagonistické schopnosti vůči viru chřipky.

Pseudomonas aeruginosa

Dalším zkoumaným bakteriálním kmenem byl kmen č. 6 — *Pseudomonas aeruginosa* (*B. pyocyaneum*).

Tento mikrob byl vzat do pokusu pro své známé antagonistické účinky vůči jiným bakteriím a byla tudíž nasnadě otázka, zda projeví antagonistické vlastnosti vůči viru chřipky.

I v tomto pokusu docházelo u myšek, infikovaných virem, po 5 a 10denním působení *Pseudomonas aeruginosa* k onemocnění a k uhynutí. Pitevním nálezem byla prokázána bronchopneumonie.

V ý s l e d e k :

Pseudomonas aeruginosa nemá na umělých živných půdách antagonistických vlastností vůči viru EBp.

Kontrolní myšky, infikované čistým virem, ve všech šesti pokusech většinou uhynuly za příznaků bronchopneumonie. Malá část, která neuhynula do 14 dnů, byla usmrcena chloroformovými parami a podrobena pitvě. U všech zjištěna bronchopneumonická ložiska a hepatizace.

Souhrn výsledků a diskuse

Úkolem této práce bylo prostudovat problém zániku viru EBp (chřipky) prasat, chovaného ve hnoji, a zjistit, zda ve hnoji nejsou některé bakteriální kmeny, které mají antagonistické vlastnosti vůči uvedenému viru.

Poněvadž jsme zjistili, že virus v allantoidní tekutině způsobuje v prvních pasážích u bílých myšek jen velmi slabé subklinické onemocnění, použili jsme chřipkového viru adaptovaného na myšky pěti pasážemi. Tento virus vyvolal klinicky zřetelné onemocnění; všechny myšky vesměs uhynuly na bronchopneumonické změny.

Zkoušeli jsme antagonistický účinek šesti kmenů, z nichž pět bylo izolováno z hnoje: byl to *E. coli*, *Staphylococcus albus*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus*, *Proteus vulgaris* a kmen *Pseudomonas aeruginosa*. Tyto měly ukázat vitální antagonismus na chřipkový virus.

K vlastním pokusům o zjištění antagonismu jsme používali chřipkového viru v 10% emulzi, kterou jsme mísili s 24hod. bujónovou kulturou zkoušených bakteriálních kmenů v poměru 2 : 1. Tyto směsi byly ve zkumavkách chovány v temnu při 8–10° C.

Jako kontrola sloužila čistá 10% emulze, smíchaná ve stejném poměru se sterilním bujónem, která se nacházela ve stejných podmínkách.

K pokusům jsme používali bílých myšek, očkovanych intranazálně. Aby byl vyloučen účinek možné antagonistické mikrobiální infekce, byla očkovací směs zbavena mikrobů delším odstředěním a ze supernatantu před očkováním provedena kultivace na agar obyčejný a krevní. Negativní nález na plotnách zajistil nezávadnost látky.

Předem jsme zkoušeli, zda a za jakou dobu hyne virus chřipky ve hnoji. K tomu bylo použito virulentního viru v myších plicích. Tyto byly zabaleny do smotku sterilní gázy a vloženy do vepřového hnoje.

Pro zjištění účinků amoniaku, sirovodíku a teploty byly pokusy obdobné, mikroflóra byla však odstraněna z hnoje sterilizací a virus vystaven jejich účinku. Poněvadž při sterilizaci hnoje amoniak a sirovodík vypřchal, musel být hnůj jimi znovu uměle nasycen. Rovněž vyšší teplota byla udržována uměle.

Výsledky těchto pokusů o devitalizaci viru chřipky prasat v hnoji ukázaly, že v hnoji skutečně jsou činitelé, kteří způsobují zánik viru. Předpokládáme, že hlavním devitalizujícím činitelem je vyšší teplota, tvorba amoniaku a sirovodíku, hnojně hnilobné mikroby, jejich fermenty a enzymy a snad i bakteriofágy a jiní.

Po třídenním působení devitalizačních faktorů ve hnoji na virus byl tento tak oslaben, že ze čtyř infikovaných myšek uhynula na chřipku jen jedna. Další dvě myšky jevily jen slabé příznaky onemocnění. Čtvrtá myška zůstala zdráva.

Po čtyřech dnech byl virus oslaben natolik, že ze čtyř pokusných myšek onemocněla pouze jedna. U tří ostatních byl po usmrcení nález na chřipku negativní.

Po pěti a desetidenním působení devitalizačních faktorů na virus došlo k úplnému potlačení jeho virulence, takže virus nebyl schopen v žádném případě vyvolat ani uhynutí, ani onemocnění myšek.

K oslabení virulence chřipkového viru docházelo tedy již třetího dne, pátý den byl virus již usmrcen.

Po vyloučení mikroflóry se ukázalo, že sám amoniak a sirovodík počínají oslabovat virus počínajíc pátým dnem; po očkování tímto virem uhynula jedna myška ze čtyř infikovaných. U ostatních tří došlo sice ke klinickému onemocnění, pitevní nález byl však negativní.

Virus, chovaný 10 dní ve sterilním hnoji jen pod účinkem amoniaku a sirovodíku, nevyvolal ani uhynutí, ani onemocnění myšek.

Účinek amoniaku, sirovodíku a teploty 50° – 55° C se projevil v citelném oslabení virulence viru již po třech dnech, kdy docházelo k uhynutí a bronchopneumonickým změnám pouze u jedné infikované myšky, ostatní myšky zůstávaly zdravé a pitevní nález byl negativní.

Čtvrtý den jevil virus velmi slabou virulenci: onemocněla pouze jedna myška. Všechny čtyři usmrcené myšky měly negativní pitevní nález.

Po pěti a deseti dnech působení amoniaku, sirovodíku a teploty 50 – 55° C byla virulence viru úplně potlačena, neboť všechny čtyři infikované myšky zůstávají zdravé.

Z izolovaných pěti kmenů bakteriálních z hnoje jsme zkoušeli izolovaně *E. coli*, *Staphylococcus albus*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus*, *Proteus vulgaris* a sbírkový kmen *Pseudomonas aeruginosa*. Žádný z uvedených kmenů sám o sobě neprokázal antagonistický účinek vůči chřipkovému viru.

Celkový souhrn

Studiem devitalizačních faktorů v hnoji vůči chřipkovému viru, který se sem dostává z kašlajících nemocných prasat, jakož i v umělých půdách, ve kterých jsme zkoušeli pět mikrobiálních kmenů izolovaných z hnoje a jeden kmen *Pseudomonas aeruginosa* na vitální antagonismus vůči viru chřipkovému, jsme došli k těmto poznatkům:

1. Virulentní virus EBp, chovaný po deset dní ve hnoji v podmínkách blízkých terénním, byl již třetího dne zřetelně oslaben na virulenci a uhynul pátého dne.

2. Zkoušky po eliminaci hnojně mikroflóry ukázaly, že

- a) amoniak a sirovodík začíná oslabovat virus počínajíc pátým dnem; po deseti dnech je virulence viru úplně potlačena;
- b) amoniak, sirovodík a teplota 50° – 55° C silně snižují jeho virulenci již třetí den a bezpečně jej ničí pátý den.

3. Tento devitalizační účinek je výsledkem souhry řady činitelů v hnoji: jsou to hnilobné bakterie hnojně, fermentace a bakteriální enzymy, vyšší teplota, účinek amoniaku a sirovodíku, jakož i dalších rozkladných produktů.

4. Ke zkoušce vitálního antagonismu proti chřipkovému viru jsme izolovali z vepřového hnoje pět bakteriálních kmenů: *E. coli*, *Staphylococcus albus*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus*, *Proteus vulgaris* a dále použili kmen *Pseudomonas aeruginosa*, byl přibrán do pokusů pro své známé antagonistické vlastnosti antibakteriální. Všechny tyto kmeny byly zkoušeny v bujónu na devitalizační účinek. Podle výsledků pokusů na myších se žádný z nich sám o sobě neprojevil jako antagonista vůči viru EBP., nýbrž jen v souhrě s jinými činiteli rozkladu, fermenty, enzymy, plyny a vyšší teplotou.

5. Pokládáme za žádoucí další zkoušky hnojných a vzdušných mikrobů na antagonistický účinek proti chřipkovému viru.

Literatura

1. Beller - Bieling: Die Viruskrankheiten der Haus- und Laboratoriumstiere (Leipzig 1950). — 2. Borkovec: O otázce zániku salmonell ve hnoji a močůvce procesem biologickým (Disertační práce VŠV Brno). — 3. Černovský: Studie biologické devitalisace viru infekční obrny vepřů v moči a hnojůvce. (Disertační práce VŠV Brno 1952). — 4. Dahmen: Chřipka selat a influenza vepřů. (Lehrbuch der Veterinär-Mikrobiologie, Berlin 1949.) — 5. Gallia: Hnojiště a hnojení se zřetelem ke zdravotním poměrům venkova. (Čas. čs. veterinářů III. č. 8.) — 6. Harnach: Studie anthrakové infekce v odpadních vodách a význam bakt. antagonistů pro hygienu vodní. (Klinické spisy 1930/31.) — 7. Harnach: Boj proti chřipce prasat. (Veterinářství č. 8, 1953.) — 8. Harnach: O způsobu zneškodňování infekčního hnoje a urinu. (Zvěrolék. obzor r. 1931, č. 24, 1938.) — 9. Harnach: Veterinární mikrobiologie. (Část obecná 1952.) — 9a. Harnach - Černovský: Studie o zániku viru Kloboukovy nemoci v odpadních hmotách pochodem fermentačním (VII. Sjezd čs. mikrobiologů v Brně, září 1952). — 10. Hirst: Journal Exp. Med. 78/407/1943. — 11. Hirst: Journal Exp. Med. 75/49/1942. — 12. Hubík, Harnach, Chvátal: Isolace domácích kmenů viru influenzae suum. (VI. sjezd. čs. mikrobiologů Praha 1950). — 13. Hutýra, Marek, Maninger: Enzootische Lungenentzündung junger Tiere. (Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere.) — 14. Koch, Krämer: Über den Antagonismus von Colibakterien gegen Typhusbakterien, Stafylokokken und Streptokokken, Untersuchungen in vitro. (Zblt. f. Bakt. Orig. Bd. 123.) — 15. Köbe: Die Ätiologie der Ferkelgrippe. (Zblt. f. Bakt. 1933-129.) — 16. Löffler: Versuche über die Abtötung d. Ansteckungstoffes d. Maul- und Klauenseuche in vorschriftsmäßiggepackten Düngern. (Berlin. Tztl. Wschr. 1913.) — 17. Muromeev: Filtrovatelné formy mikroorganismů a ultraviry. (Sovětská věda - Biologie č. 6.) — 18. Pokorný: Časopis čs. veterinářů II. č. 1, str. 2. — 19. Roček: Hygienu obecná I-III (Brno 1933, 1939). — 20. Ruska: Virus. (Postdam 1952.) — 21. Shope - Lewis: Journal of Experimental Med. 1931/361. — 22. Vaerst: Immunisierung gegen Milzbrand mit Pyocyanase und Kombinationen derselben. (Zblt. f. Bakt. Orig. Bd. 31.) — 23. Waldman: Die Ätiologie der Ferkelkummerens, die Ferkelgrippe. (Berliner Tzt. Wochenschrift 1944/639.)

Изучение факторов девитализации и, в частности, антагонизма к вирусу ЕВр гриппа свиней

Изучение факторов девитализации, действующих на вирус гриппа, как в навозе, куда он попадает из больных и кашляющих свиней, так и в искусственных средах, в которых мы испытывали на витальный антагонизм против вируса грип-

па пять микробиальных штаммов, изолированных из навоза и один штамм *Pseudomonas aeruginosa*, привело нас к следующим результатам:

1. Вирулентный вирус ЕВр, сохранявшийся 10 дней в навозе в условиях близких природным, вирулентность которого уже на третий день была явно ослаблена на пятый день погиб.

2. Опыты, проведенные после устранения навозной микрофлоры, показали, что:

а) аммиак и сероводород ослабляют вирус уже начиная с пятого дня; после 10 дней вирулентность вируса совершенно подавлена;

б) аммиак, сероводород и температура 50—55° Ц сильно снижают вирулентность вируса уже на третий день и безусловно уничтожают его на пятый день.

3. Этот уничтожающий эффект является результатом совместного действия в навозе ряда факторов: гнилостных навозных бактерий, ферментации и бактериальных энзимов, более высокой температуры, аммиака и сероводорода, также как и остальных продуктов разложения.

4. Для испытания витального антагонизма к вирусу гриппа свиней мы изолировали из свиного навоза пять штаммов бактерий *E. coli*, *Staphylococcus albus*, *B. mycoides*, *B. mesentericus*, *Proteus vulgaris* и, кроме того, использовали штамм *Pseudomonas aeruginosa* вследствие его известных антибактериальных свойств. Все эти штаммы были испытаны на эффективность девитализации в бульоне. Согласно результатам опытов, проведенных на мышах, ни один из этих штаммов в отдельности не проявил себя в качестве антагонизма вируса гриппа ЕВр и являлся эффективным только совместно с другими факторами разложения, ферментами, энзимами, газами и более высокой температурой.

5. Мы считаем желательным проведение дальнейших испытаний навозных и воздушных микробов к антагонистическому действию к вирусу гриппа свиней.

A Study of Devitalization Factors, Particularly Antagonism to the Virus of EBp or Hog Cholera

A study of the devitalization factors in manure, in regard to the cholera virus which comes from the coughing of diseased pigs, as well as in artificial cultures in which we tested five microbial strains isolated from manure and one strain *Pseudomonas aeruginosa*, for their vital antagonism to the cholera virus, led us to the following conclusions:

1. The virulent virus EBp, preserved for ten days in manure under conditions approximating those in the barn, had visibly weakened in virulence on the third day and died out on the fifth.

2. Tests after elimination of the manure microflora showed that (a) ammonia and hydrogen sulphide begin to weaken the virus beginning with the fifth day; after ten days the virulence of the virus had been completely suppressed; (b) ammonia, hydrogen sulphide and a temperature of 50—55° C strongly reduce its virulence as early as the third day and completely destroy it on the fifth.

3. This devitalizing effect is the result of a number of factors in the manure: the decay-producing bacteria in the manure, fermentation and bacterial enzymes, higher temperature, the effect of the ammonia and hydrogen sulphide, as well as further products of decay.

4. For testing for vital antagonism to cholera virus we isolated from the pig manure five bacterial strains: *E. coli*; *Staphylococcus albus*, *Bac. Mycoides*, *Bac. me-*

sentericus, *Proteus vulgaris* and furthermore utilized the strain *Pseudomonas aeruginosa*, chosen for the tests because of its well-known antagonistic antibacterial properties. All these strains were tested in a bouillon for their devitalization effect. According to the results of experiments with mice, none of these taken alone was shown to be an antagonist to the virus of hog cholera EBp, but only in combination with other factors of decay, fermenting, enzymes, gases and higher temperature.

5. We consider it desirable to make further tests of manurial and atmospheric microbes for their antagonistic effect toward the cholera virus.

Přírodní ohniska a rezervoáry leptospir v okolí Vodňan v roce 1957

Природные очаги и резервуары лептоспир в окрестностях Воднян в 1957 г.

**Natürliche Leptospirosenherde und Leptospirenträger in der Umgebung von Vodňany
im Jahre 1957**

B. POKORNÝ, Fr. LEHKÝ, Zd. ŠEBEK, Jar. VOŠTA

*Státní vědecký veterinární ústav, Praha; Veterinární výzkumné středisko, Praha;
KHES Jihlava; KHES České Budějovice*

Došlo dne 21. VII. 1958

Úvod

V posledních létech byly značně prohloubeny naše vědomosti o výskytu leptospiroz v Československu. Nynější studium se zaměřuje hlavně na onu základní etapu leptospirologického výzkumu, v níž si doplňujeme své znalosti o etiologii, klinice a geografickém rozšíření leptospiroz a řešíme základní otázky epidemiologické, jako jsou otázky jejich rezervoárů. Ve smyslu tohoto programu jsme přistoupili v roce 1955 k systematickému studiu přírodních ohnisek a rezervoárů leptospir v českých zemích a věnujeme svoji pozornost především endemické jihočeské oblasti a přilehlým krajům, které pro svoji vlhkost a geologicko-klimatické poměry mají předpoklady pro vznik a udržování leptospirózních ohnisek. Naše studie v okolí Vodňan v roce 1957 navazují na výzkumy, které jsme konali v předchozích letech v pánvi česko-budějovické a v kotlině třeboňské. I tu jsme postupovali stejnou metodou a zaměřili se k týmž cílům, které uvádíme ve svých předchozích pracích (Veterin. medicína, roč. 2 a 3) a proto podáváme v dalších odstavcích přímo výsledky svých pozorování.

Vlastní práce

Prvním naším úkolem bylo zjištění stupně epidemického a epizootického zamoření populace lidí a zvířat, žijících trvale ve studovaném území. Vyšetřovali jsme proto na přítomnost leptospirózních protilátek krevní séra lidí a zvířat zjevně zdravých nebo stížených takovými chorobami, které nepoukazovaly na leptospirozu. Krevní séra lidí z Vodňan a širokého okolí jsme získávali ze zásilek, které přicházely na sérologickou laboratoř KHES v Táboře k vyšetření na BWR, krevní vzorky zvířat nám zasílal hlavně okresní hygienik ve Vodňanech MUDr. Mil. Li ba. Krevní séra jsme vyšetřovali metodou mikroaglutinace-lyse s použitím 12 druhů leptospir běžně užívaných v diagnostice. Podle možnosti jsme používali vždy domácích kmenů leptospir.

Ze zmíněné oblasti jsme vyšetřili 205 krevních vzorků lidí a 100 vzorků sér zvířat. Z uvedených vzorků sér lidí jsme zaznamenali reakce s leptospirami u 12 sér, tj. 5,8 %. Z nich 6 vzorků reagovalo s kmeny *L. grippo-typhosa*, a to třikrát v titru 1 : 100, jednou v ředění 1 : 800 a dvakrát v titru 1 : 5 000. S *L. sejroe* jsme zjistili reakce ve 2 případech v titrech 100 a 200. Také s Weilovou leptospirou reagovala 2 séra v ředění 1 : 200 a 1 : 500. Zbývající dva vzorky dávaly reakce s kmeny *L. pomona* a *L. australis* A v nejnižším ředění 1 : 100 (viz tab. I). Z domácích zvířat jsme vyšetřili celkem 100 krevních vzorků, a to z koní, skotu, koz, ovcí a psů. Z nich jsme zaznamenali pozitivní reakce v signifikantní hodnotě, tj. v rozmezí titrů 500 až 12 800, u 39 sér, tj. v 39 %. Na tomto vysokém procentu mají hlavní podíl koně, neboť ze 14 vyšetřených sér jsme u 11 zjistili pozitivní reakce většinou ve vysokém ředění. Tu se objevují velmi časté koaglutinace s různými kmeny leptospir bez jakékoliv zákonitosti. Na druhém místě v procentu pozitivních případů stojí kozy, za nimi pak skot a ostatní druhy zvířat (viz tab. I). Z reagujících druhů leptospir stojí na prvním místě domácí kmeny *L. grippo-typhosa*, s níž reagovala 32 séra, tj. 82 % všech pozitivních vzorků. Reakce byly vždy provázeny koaglutinací s *L. bovis* v nižším ředění. Reakce s *L. icterohaemorrhagiae* jsme pozorovali hlavně u psů a v jednom séru kozy. Reakce s ostatními druhy, jmenovitě s *L. sejroe*, *australis* A a *ballum*, jsme zjistili pouze ojediněle v sérech koní. Za zmínku stojí, že jsme zjistili u jednoho ze tří vyšetřovaných srnců a též u jednoho ze čtyř zajíců ze studované oblasti protilátky na *L. grippo-typhosa* ve vysoké hodnotě 1 : 5 000.

S použitím zkušeností z předešlých let jsme provedli ve studované oblasti průzkum, zaměřený na vyšetřování rezervoárových zvířat, která hrají v epidemiologii leptospiroz hlavní úlohu. Za tím účelem jsme podnikli na jaře a na podzim roku 1957 v okolí Vodňan dvě terénní akce, při nichž jsme nachytali do pastí celkem 263 drobné savce, hlodavce a hmyzožravce a jednu sýkorku — *Parus ater*. Přehled o druhovém složení drobných savců podává připojená tabulka

I. Přehled sérologického vyšetření populace vodňanského ohniska v roce 1957

	Lidé zdraví	Lidé nemocní	Domácí zvířata				
			koně	skot	kozy	ovce	psi
Počet vyšetření	205	111	14	41	32	4	9
Leptospira:							
1. <i>icterohaemorrhagiae</i>	2	—	—	—	1	—	3
2. <i>grippo-typh.</i>	6	6	8	12	12	—	—
3. <i>sejroe</i>	2	1	2	—	—	—	—
4. <i>pomona</i>	1	—	1	—	—	—	—
5. <i>australis</i> A	1	—	1	—	—	—	—
Celkem	12	7	11	12	13	—	3

II. Přírodní rezervoáry leptospir Vodňany, 1957

Druh zvířete	<i>Neomys fodiens</i>	<i>Sorex araneus</i>	<i>Sorex minutus</i>	<i>Talpa europaea</i>	<i>Erinaceus europaeus</i>	<i>Mus musculus</i>	<i>Apodemus sylvaticus</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	<i>Clethrionomys glareolus</i>	<i>Pitymys subterraneus</i>	<i>Microtus arvalis</i>	<i>Microtus agrestis</i>	<i>Arvicola terrestris</i>	<i>Parus ater</i>	Celkový počet
Počet	9	28	1	1	1	2	10	2	11	4	164	21	9	1	264
Metoda	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
1. Kultivační							1				1	1		3	
2. Serologic.	—	1	—	—	1	—	2	—	1	1	23	2	—	—	31
3. Histolog.	—	1	—	—	—	—	2	—	—	—	13	2	—	—	18

II. Mezi 13 druhů savců je opět nejpočetněji zastoupen hraboš polní (*Microtus arvalis*), početně daleko za ním stojí rejsek obecný (*Sorex araneus*) a hraboš mokřadní (*Microtus agrestis*). Zajímavý jest v uvedeném území výskyt hrabošika podzemního (*Pitymys subterraneus*), se kterým jsme se v dosud prostudovaných oblastech jižních Čech ještě nesetkali.

Složení fauny drobných savců je vůbec ve studovaném území prakticky stejné jako v oblastech, v nichž jsme pracovali v minulých letech (Českokubějovicko, Třeboňsko). Stavby drobných savců byly na jaře i na podzim roku 1957 velmi nízké, procento úlovků (přepočítáno na počet nakladených pastí) činilo v průměru jen asi 3 %. Stanoviště, na nichž jsme lovili, lze zhruba shrnout do těchto typů: A. bez stromového porostu; 1. mokré louky, mokřadla a vlhké břehy rybníků, 2. suché louky, úhory a pole. — B. se stromovým porostem; 1. mokřadla, bažiny a močály, 2. suché stráně v listnatém lese. Z druhů, které jsme na uvedených biotopech lovili, vyskytuje se hojně či obecně: hraboš polní, rejsek obecný, krtek, hryzec vodní, normík rudý, myšice křovinná, hraboš mokřadní, rejsek vodní; vzácnější se zdá být hraboš podzemní. Myška drobná je z Vodňanska známa, nám se však nepodařilo ulovit ani jeden exemplář. Také stavy ježků jsou tu poměrně nízké.

Ulovené savce jsme vyšetřovali na přítomnost leptospir způsobem, který je popsán v našich dřívějších sděleních. Od přímého mikroskopického vyšetření suspenze z ledvin jsme však upustili, jelikož tento způsob vyžaduje mnoho času, jehož při práci v terénu není nikdy nazbyt a je-li leptospir v ledvině málo, není ani dosti spolehlivý. Omezili jsme se proto na vyšetření kultivační, sérologické a histologické. Kultivace jsme zakládali opět v Korthofově půdě a kultury chovali při laboratorní teplotě. Z 263 kultivačních pokusů byly pozitivní kultury pouze ve třech případech; jedna pocházela z hraboše polního (*Microtus arvalis*), jedna z hraboše mokřadního (*Microtus agrestis*) a jedna z myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*). Tak jako v ostatních oblastech jižních Čech, šlo i zde vesměs o druh *L. grippotyphosa*.

Sérologickým vyšetřením metodou mikroaglutinace-lyse byly zjištěny z 264 zvířat z okolí Vodňan specifické protilátky v 31 případech, tj. v 11,8 %. Zaznamenali jsme reakce pouze s kmeny *L. grippo-typhosa* v různých titrech, od ředění 1 : 100 až do 1 : 12 800. Téměř všude jsme pozorovali koaglutinace s *L. bovis* v nižším titru. Mezi pozitivními zvířaty převládá hraboš polní vysoko nad ostatními druhy, u nichž jsou pozitivní nálezy pouze ojedinělé (viz tab. II). Některé z nich však stojí za zmínku. U jednoho ježka západního (*Erinaceus europaeus*) jsme zaznamenali pozitivní reakci s *L. grippo-typhosa* ve vysokém titru 1 : 12 800 a současně koaglutinace s *L. bovis* (1 : 3 200) a s *L. pomona* (1 : 800). Také u jednoho hrabošika podzemního (*Pitymys subterraneus*) jsme zjistili protilátky na *L. grippo-typhosa* v ředění 1 : 400 (*L. bovis* 1 : 100). Bohužel ani v jednom z těchto případů jsme neprokázali leptospiry ani kultivačně, ani histologicky.

Histologickým vyšetřením ledvin impregnovaných stříbrem metodou Levaditiho modifikovanou podle Dobella jsme zjistili leptospiry v 18 případech, tj. téměř u 7 % ulovených zvířat. Nálezy histologické se plně shodovaly s výsledky sérologického a kultivačního vyšetření. V ledvinách hrabošů (*Microtus arvalis* a *M. agrestis*) a jedné myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*) jsme nalézali většinou mohutné shuky leptospir, které téměř vyplňovaly lumen v *tubuli contorti*. V četných případech, v nichž jsme zaznamenali pozitivní sérologické reakce, jsme však leptospiry v ledvinách nenalezli, což se shoduje s naším pozorováním z minulých let i z jiných oblastí. I tentokrát nám nejvíce pozitivních zvířat odhalila metoda aglutinace-lyse, kterou proto považujeme za základní vyšetřovací metodu a z níž vycházíme při dalším vyšetřování, jmenovitě histologickém.

Dalším naším úkolem bylo zjištění, jak se projevovала přítomnost leptospir u rezervoárových zvířat v chorobnosti lidí, bydlících ve sledované oblasti. Vyšetřovali jsme proto krevní séra pacientů trpících horečnatým onemocněním nebo očními komplikacemi nejasné etiologie. Vyšetřili jsme sérologicky 67 vzorků sér z OÚNZ — inf. odděl. nemocnice v Písku a 44 krevní séra z KÚNZ — inf. odděl. nemocnice v Čes. Budějovicích, tedy celkem 111 vzorků sér, která nám byla zasílána pod diagnózami *encephalitis*, *meningitis*, *typhus abdominalis*, *hepatitis epidemica*, *iridocyclitis*, někdy prostě *status febrilis* nebo *susp. leptospiroza*. Měli jsme bohužel možnost sledovat jenom malý počet těchto sér opakovaně. Z celkového počtu jsme zjistili pouze u 7 pacientů (6,3 %) specifické protilátky na leptospiry v signifikantním titru; z nich 6 reagovalo pozitivně s kmeny *L. grippo-typhosa* v ředění 1 : 1 600 až 1 : 6 400 a pouze jeden vzorek s *L. sejroe* v hodnotě 1 : 800. Reakce s ostatními použitými druhy leptospir jsme nezaznamenali. Z koaglutinací jsme opět pravidelně pozorovali reakci s *L. bovis* v nižším ředění.

Za zmínku stojí případ K. S., rybářského hajného, který byl hospitalizován na infekčním odděl. KÚNZ v Čes. Budějovicích s diagnózou *iridocyclitis chronica*. Vyšetřením vzorku krve byly zjištěny protilátky proti *L. grippo-typhosa* ve vysokém titru 1 : 6 400. Oční onemocnění se tedy projevilo jako komplikace po prodělané leptospiroze nejspíše profesionálního charakteru.

Podobně jako v ostatních oblastech jihočeské krajiny jest i v okolí Vodňan hlavním rezervoárem leptospir hraboš polní, mnohem řidčeji již hraboš mokřadní a myšice křovinná; u ostatních druhů vyšetřovaných savců jsme zjistili pouze ojediněle sérologickou pozitivitu na *L. grippo-typhosa*, leptospiry jsme však u pozitivních zvířat až na jeden nález u rejška obecného neprokázali ani kultivačním, ani histologickým vyšetřením. I tyto reakce byly zcela ojedinělé a jako hlavní nosič leptospir se tu jeví hraboš polní, klasický rezervoár polní horečky. Ojedinělý nález leptospir u rejška obecného jest dokladem styku tohoto druhu hmyzožravců s polním hrabošem na společném biotopu, kde dochází k předávání patogenního

agens. Na základě tohoto zjištění můžeme charakterizovat prostor v okolí Vodňan jako leptospirózní ohnisko ve fázi jeho latence.

Pokud jde o jednotlivé typy stanovišť, tu ze všech kromě suchých strání v listnatém lese jsme měli pozitivní kusy.

Uvedený stav se projevil i v chorobnosti lidí v dotyčném roce. Srovnáme-li počet sérologicky zjištěných případů leptospirózy u lidí hospitalizovaných z okolí Vodňan s výsledky získanými v r. 1956 z kotliny třeboňské, vidíme, že na Vodňanskou byly případy onemocnění leptospirózou u lidí v r. 1957 nepoměrně řidší. Naproti tomu u domácích zvířat byly pozitivní sérologické nálezy, jmenovitě reakce s kmeny *L. grippo-typhosa* velmi četné. Tu ovšem nelze z hlediska epizootologického mluvit o zvířatech zdravých či nemocných, neboť nákaza *L. grippo-typhosou* se u těchto zvířat neprojevuje zjevným onemocněním, nýbrž jen tvorbou protilátek. Nákaza se tu dostává do slepé uličky, z níž se již dále nedostane.

Jako v ostatních oblastech již. Čech, jest i v okolí Vodňan hlavním patogenním agens *L. grippo-typhosa*, kterou jsme zachytili v čistých kulturách a proti níž jsme zjistili specifické protilátky jak v rezervoárových zvířatech, tak v sérech lidí a domácích zvířat (kromě psů) ze studovaného prostoru. Kromě toho jsme však v menší míře prokázali v krvi lidí protilátky i na *L. sejroe* a lze tudíž předpokládat, že i tento druh leptospir bude zastoupen ve vyšetřovaném prostoru. V rezervoárových zvířatech jsme leptospiry tohoto typu neprokázali ani přímým nálezem, ani sérologicky. Příčina toho tkví nejspíše ve skutečnosti, že jsme neměli možnost vyšetřit větší počet domácích myší (*Mus musculus*), které jsou u nás hlavním rezervoárem *L. sejroe*.

Ke konci považujeme za milou povinnost poděkovat okresnímu hygienikovi ve Vodňanech MUDr. Mil. Libovi za ochotu, s jakou nám propůjčil laboratoř ke zpracování našeho materiálu, za obětavé zasílání krevních vzorků a za veškerou podporu naší práce.

Souhrn

V rámci výzkumu přírodních ohnisek a rezervoárů leptospir v Čechách vyšetřili autoři v roce 1957 263 drobné savce z okolí Vodňan na přítomnost leptospir. Specifické protilátky byly zjištěny v krvi 31 zvířat, tj. v 11,8 %; u 18 z nich byly prokázány leptospiry v ledvinách histologickým vyšetřením. Pozitivní kultury jsme získali jen ve třech případech a izolované kmeny byly určeny opět jako *L. grippo-typhosa*. Za hlavní rezervoár leptospir v oblasti Vodňan nutno považovat hraboše polního (*Microtus arvalis*), jen v řídkých případech hraboše mokřadního (*Microtus agrestis*) a myšici křovinnou (*Apodemus sylvaticus*). Nálezy u ostatních druhů zvířat byly jen ojedinělé.

Přestože autoři zjistili specifické protilátky v sérech zdravých lidí (u 5,8 %) a domácích zvířat (u 39 %) ze studované oblasti, neprojevila se přítomnost leptospir v uvedených ohniscích v r. 1957 nijak výrazně v chorobnosti lidí. Na základě tohoto zjištění, jakož i druhově úzkého okruhu rezervoárových zvířat charakterisují autoři prostor v okolí Vodňan jako leptospirózní ohnisko v období jeho latence.

Literatura

1. Combiescu D., Studza N.: Les types de Leptospires dépistés en Roumanie. Journ. of Hyg. Epid. Microb. and Im., I. 1957, s. 205. — 2. Fűzi M. et col.: Die Leptospiren. Infektion d. Feldnagetiere im Gebiet v. Westungarn. Acta microb. Ac. scient. Hunga-

riae, IV, 2, 1957. — 3. Havlík O., Frühbauer Z., Zástěra M.: Nové reservoáry leptospiroy *L. grippo-typhosa*. Čsl. epid. mikrob. imunol. VI, č. 6, 1957, s. 361. — 4. Hloucal L., Cvrček Z.: Leptospirosy na Strakonicku. Prakt. lékař, 24, 1944, s. 121. — 5. Kathel J.: Die Leptospirosen und ihre Verbreitung in der DDR. Ztschr. f. die gesamte Hyg. u. ihre Grenzgebiete. I. Jg., No 1, 1955. — 6. Kmetý E.: Weitere Ergebnisse der Leptospirosenforschung in der Slowakei. Ztrbl. f. Bakter., I. Orig., 167, 1956, s. 224. — 7. Kmetý E., Pleško I.: Niektoré poznatky z výzkumu prírodného ohniska leptospiróz v oblasti Dunaja. Biologia, XI, 1956. — 8. Kmetý et col.: Prípád ochorenia na poľnú horúčku prenesenú z ondatry. Bratisl. lek. listy, XXXVII, 8, 1957. — 9. Mittermayer T., Kmetý E.: Klinické a epidemiologické poznatky z epidémie leptospiróz na vých. Slovensku. Bratisl. lek. listy, XXXVI, 1, 1956. — 10. Pokorný B., Lehký F., Šebek Z., Vošta J.: Přírodní reservoiry leptospir v okolí Čes. Budějovic. Sborník ČSAZV - Veterin. medicina, roč. 2, č. 9, 1957, s. 647. — 11. Pokorný B., Lehký F., Šebek Z., Vošta J.: Přírodní ohniska a reservoiry leptospir v kotlině třeboňské v r. 1956. Sborník ČSAZV - Veterin. medicina, roč. 3, č. 4, 1958, s. 263. — 12. Pokorný B., Lehký F., Šebek Z., Vošta J.: Weitere neue Leptospirenträger in Böhmen. Ztrbl. f. Bakter., I. Orig. 172, 1958, s. 135. — 13. Rezek V., Vošta J.: Úloha leptospir v etiologii uveitid. Čs. oftalm. XIV, č. 3, 1958, s. 204. — 14. Šebek Z.: Spontánní výskyt *L. sejroe* v chovu bílých myší. Čs. epid. mikrob. imunol., VI, č. 5, 1957, s. 325. — 15. Šebek Z.: K poznání leptospir v Jihlavském kraji. Čs. epid. mikrob. imunol., VI, č. 6, 1957, s. 365. — 16. Šebek Z.: Přírodní ohniska poľní horečky *L. grippo-typhosa* ve Žďárských vrších. Vlastivěd. sborník vysociny, I, Jihlava 1957, s. 153. — 17. Zwierz J.: Leptospirozy. Varšava, 1957.

Природные очаги и резервуары лептоспир в окрестностях Воднян в 1957 г.

В рамках изучения природных очагов и резервуаров лептоспир в Чехии авторы в 1957 г. исследовали наличие лептоспир 263 мелких млекопитающих в окрестностях Воднян. Специфические антитела были обнаружены в крови 31 животного, т. е. 11,8 %; у 18 из них путем гистологического исследования были доказаны лептоспиры в почках. Позитивные культуры авторы получили только в 3 случаях, и изолированные штаммы определили опять как *L. grippo-typhosa*.

Главным резервуаром лептоспир в области Воднян необходимо считать полевку обыкновенную житную (*Microtus arvalis*), лишь изредка полевку земляную (*Microtus agrestis*) и мыш лесную (*Apodemus sylvaticus*). У остальных видов животных лептоспиры были обнаружены лишь в единичных случаях.

Вопреки тому, что в исследуемой области авторы установили специфические антитела в сыворотке здоровых людей (у 5,8 %) и домашних животных (у 39 %), наличие лептоспир в указанных очагах в 1957 г. никаким образом выразительно не отразилось на заболеваемости людей. Исходя из этого установления, а также из узкого видового круга резервуарных животных, авторы характеризуют территорию в окрестностях Воднян как лептоспирозный очаг в период его латентного состояния.

Natürliche Leptospirosenherde und Leptospirenträger in der Umgebung von Vodňany im Jahre 1957

Im Rahmen der Untersuchung der natürlichen Leptospirosenherde und der Leptospirenträger in Böhmen untersuchten die Verfasser in der Umgebung von Vodňany i. J. 1957 263 Kleinsäuger auf Leptospiiren. Spezifische Antikörper wurden im Blute von 31 Tieren (d. i. 11,8 %) festgestellt; von diesen wurden bei 18 Tieren in den Nieren die Leptospiiren histologisch nachgewiesen, Reinkulturen haben die Verfasser nur in drei Fällen gewonnen; alle drei Stämme wurden wieder als *L. grippo-typhosa* bestimmt. Als Hauptreservoir der Leptospiiren in der Umgebung von Vodňany muß man die Feldmaus (*Microtus arvalis*) ansehen, nur in selteneren Fällen die Erdmaus (*Microtus agrestis*) und die Waldmaus (*Apodemus sylvaticus*). Die Befunde bei anderen Tierarten waren nur ganz vereinzelt.

Trotzdem die Verfasser spezifische Antikörper in Seren der gesunden Menschen (5,8 %) und der Haustiere (39 %) in der untersuchten Gegend festgestellt haben, kamen im Jahre 1957 in den erwähnten Herden die Menschenerkrankungen an Leptospirose nicht offenbar zum Ausdruck. Diese Ergebnisse, sowie auch der enge Kreis der Reservoirarten führen die Verfasser dazu, den Raum in der Umgebung von Vodňany als einen Leptospirosenherd im Zeitraume der Latenz zu charakterisieren.

Příspěvek k výskytu a patogenези žaludeční červivosti u kachen

К обнаружению и патогенезу желудочных гельминтоз у уток

Beitrag zu Vorkommen und Pathogenese der Magenwurmkrankheit bei Enten

[Nematoda: *Echinuria uncinata* (Rudolphi 1819), *Tetrameres fissispina* (Diesing 1861)]

MVDr. D. ZAJÍČEK

Státní vědecký veterinární ústav, Praha, ředitel MVDr. A. Klauz

Došlo dne 25. VI. 1958

Úvod a literární přehled

Parazitární onemocnění žaludku kachen nebyla u nás dosud soustavně sledována, i když jejich původci jsou již dosti dlouho známi. Podle našich zjištění na SVVÚ v Praze i na krajských pobočkách našli jsme jako původce nematody z podřádu *Spirurata* Railliet 1914, a to druhy *Echinuria uncinata* [Rudolphi, 1819] a *Tetrameres fissispina* (Diesing, 1861). Oba druhy nematodů způsobují při silnějších invazích v žaludku i jícnu kachen patologicko-anatomické změny v různém rozsahu.

Z čeledi *Acuariidae* Seurat 1913 a rodu *Echinuria* Soloviev 1912 cizopasí u kachen jediný druh *Echinuria uncinata* (Rudolphi, 1819). Ostatních devět druhů se vyskytuje u nejrůznějších ptáků. *Echinuria uncinata* (Rudolphi, 1819) jsou cizopasníci bílého vřetenovitého těla. Na hlavovém konci mají mimo malých pysků kutikulární lem na okrajích zřasený, který jde po dorzální a ventrální ploše do poloviny žlaznaté části jícnu a zde se stáčí zpět k ústní části. Laterálně se po celé délce těla samice táhnou dvě řady ostnů až k ocasnímu konci. Samec velikosti 8–10 mm a 300–500 μ široký má naznačenou burzu kopulatrix malými křídélky a na ní jsou charakteristickým způsobem rozmístěny pohlavní papily. Spikuly jsou nestejně dlouhé, poměrně silné a levá delší spikula měří 618 μ , pravá 216 μ . Gubernakulum chybí. Samice velikosti 12–18 mm a 500 až 600 μ široká má vulvu umístěnou blízko ocasního konce před řití. Ocasní konec je tupě zakončený. U dospělých nematodů vyplňuje děloha většinu těla. Vajíčka jsou tlustostěnná velikosti 30–37 $\times$ 20–22 μ . Cizopasníci jsou ovoviparní.

Ze 42 druhů cizopasníků rodu *Tetrameres* Creplin 1846 z čeledi *Tetrameridae* Travassos 1914 byly u kachen zjištěny 4 druhy: *Tetrameres fissispina* (Diesing, 1861), *T. americana* Cram 1927, *T. gigas* Travassos 1919, *T. crami* Swales*1933. U našich kachen je popisován prozatím jeden druh.

Tetrameres fissispina (Diesing, 1861) jsou cizopasníci, u nichž je znatelný pohlavní dimorfismus. Samci jsou mikroskopicky drobní, bílé barvy a dosahují velikosti 3–6 mm při 90–200 μ šířky. Ústa jsou charakteristicky utvářená a od nich se po celé délce těla táhnou čtyři postranní řady ostnů, vždy dvě řady po jednom boku. Spikuly jsou tenké, levá délka 280–490 μ , pravá 80 až 150 μ . Samice jsou jasně červené barvy, oválného těla, které je podélnými rýhami rozděleno na čtyři kvadranty a ještě příčně pruhováno. Dosahuje velikosti 1,6 až 6,0 mm při šířce 1–3,5 mm. Tělo je u dospělé samice zcela vyplněno dvěma navzájem se proplétajícími dělohami naplněnými vajíčky. Vajíčka velikosti 48 až 56 $\times$ 26 až 30 μ mají pólová víčka a obsahují embrya.

Oba cizopasníci jsou typičtí biohelminté. Mezihostiteli bývají perloočky (*Daphnia pulex* a *Daphnia magna*) nebo blešivci (*Gammarus pulex*), jak u tetramerózy zjistili v. Linstow, Rust a Garkavi, u echinuriózy Hamann, Romanová.

Zdá se, že tetrameróza je u kachen častější než echinurióza. Podle našich zjištění z pitev 144 uhynulých kachen našli jsme během jednoho roku tetramerózu ve 24%, zatím co echinuriózu pouze ve 2%. Nikdy jsme nenalezli společné invaze, takže je možné, že mezi oběma cizopasníky existuje pravděpodobně druhový antagonismus. Tetramerózy ptáků jsou rozšířeny po celém světě. Tetrameróza slepic, krocanů a holubů je způsobována obvykle druhem *T. confusa* Travassos 1919 a zřídka druhem *T. fissispina* (Diesing, 1861), která naopak vyvolává téměř vždy onemocnění u kachen. Tento poslední jmenovaný druh zjistil u nás v divokých kachnách Ryšavý (1957), z Maďarska jej popisuje Kotlán (1954), v Rakousku Fiebiger (1947), v Anglii Owen (1951). V SSSR je často zjišťován jak u divoce žijících ptáků, tak i u domácích. V poslední době se o něm zmiňují Kurašvili (1956) z Gruzie a Kasimov (1957) z evropské části SSSR ve svých souborných pracích. Vývojem se v SSSR zabýval Garkavi (1949) a zjistil, že dospívání larev probíhá v 8–18 dnech v mezihostiteli a cizopasník v hostiteli dospívá za 18 dnů po nakažení. Z klinického hlediska se tetramerózou zabývali Barber a Cramová v USA, histopatologicky Lange (1938) v Německu a u nás Willomitzer a Gilka (1957).

Echinurióza se vyskytuje u kachen méně často, což by ukazovalo na enzootické rozšíření a do určité míry na její jistou ohniskovost. Podle literárních údajů jest *Echinuria uncinata* všeobecně rozšířena v Evropě. V Německu ji zjistil Hamann (1893) jako epizootii u kachen, Klee (1905) a Schirrmeister (1938) u labutí, Eisenblätter (1907) u husy. Ve Francii ji u kachen zjišťuje Raymond (1911), u jiných vodních ptáků blíže neuvedených Marotell (1927). V Anglii zjistili echinuriózu Buxton, Ford a Munro (1952), dále Field a Gibson (1954). V SSSR ji uvádí Sobolev (1912), Skrjabin (1915), Panova (1927), Ljubimov (1927), Akhtar (1936), z Maďarska Kotlán (1954), z USA Cramová (1928). Jest zajímavé, že v poslední práci Kurašviliho (1956) a Kasimova (1957) z SSSR není tento nematód uveden. U nás jej našel Bogdan (1949) a zjistil, že se vyskytuje v jedné velkovýkrmně na Slovensku v 8%. Vývojem cizopasníka se v Německu zabýval Hamann (1893–1895), v SSSR Romanová (1945). Oba autoři se shodují na stejném mezihostiteli a uvádí perloočky – *Daphnia pulex*. V jejich tělní dutině se již za 10 dní vyvine invazijní larva velikosti 1–2 mm. Podle pozorování Romanové celý vývojový cyklus probíhá v 65 dnech. Patogenézou a samotným onemocněním se podle dostupné literatury zabýval Hill (1941) v Německu a v SSSR Cvětajeva (1953). Klinické

příznaky popisuje většina výše citovaných autorů. O rozšíření tohoto cizopasníka mezi divoce žijícím ptactvem na území naší republiky není zatím zpráv, i když je možné předpokládat, že právě toto je rezervoárovým hostitelem a hlavním vektorem u obou zmíněných helmintůz.

Vlastní práce

V práci hodnocený materiál pochází z pitev na SVVÚ v Praze. Kachny byly dodány z různých lokalit pražského kraje, většinou z velkochovů a výkrmných farem. Pro účely parazitologického vyšetření byl materiál zpracován helmintologickou pitvou podle akademika Skrjabina. Mikroskopické preparáty byly připraveny parafinovou technikou po fixaci Zenkerovým roztokem nebo 10% formalinem. Histologické řezy byly barveny hematoxilin-eosinem a podle van Giesona.

I když obě invaze popisovaných cizopasníků vyvolávají téměř shodné, klinické příznaky, liší se zřetelně svými patologicko-anatomickými nálezy.

Při echinurióze vykazuje stěna žaludku značné makroskopické změny. Celý žláznatý žaludek je zvětšený a dosahuje při silných invazích velikosti až slepičího vejce. Stěna je ztlustělá, tuhá a v pokročilém stadiu prosvítají serózní nekrotická ložiska vytvářená nematody. Sliznice zprvu nebývá poškozena (v počátečních stadiích invaze), ale později nekrotizuje, rozpadá se a do lumina žláznatého žaludku se otevírají hluboké vředy naplněné nekrotickými masami, z nichž vyčnívají konce cizopasníků. Ložiska jsou různě veliká, nepravidelných tvarů podle síly invaze. Nacházeli jsme tento rozpad až v průměru 1–1,5 cm, a to ponejvíce při přechodu jícnu ve žláznatý žaludek a blíže k žaludku svalnatému. Střed žláznatého žaludku bývá napadán jen při silných invazích. Z počátku onemocnění bývají nekrotické masy promíseny krví, v pozdějších stadiích jsou žlutavé až špinavě bílé, suchého charakteru. Cizopasnici jsou v ložiscích volně uloženi, takže vytažení nečiní velké obtíže. Reakci sliznice v okolí ložisek jsme neměli možnost dobře makroskopicky prověřit, protože povrch byl částečně autolyzován. Na průřezu stěnou vidíme, že ložisko prostupuje až ke svalovině a v pokročilejších případech až k seróze.

Histologicky zjišťujeme přesnou lokalizaci cizopasníků a jejich působení na okolní tkáň. Nematodi jsou uloženi vždy na rozhraní nekroticky změněné tkáně, a to tak, že většinou svou podélnou osou směřují od povrchové vrstvy sliznice k *lamina muscularis*. V počátečních stadiích napadení vnikají do pojivové tkáně mezi hlubokými žlázkami, kde působí jednak mechanicky svým pohybem a pravděpodobně i chemicky svými toxiny, takže tkáň rozrušují. Zprvu dochází v okolí usídleného nematoda k reaktivnímu zánětu s nahloučením mnoha jaderných elementů. Hlístice takto infiltrovanou tkáň rozrušují, poškozují krevní cévy v intersticiu a svým pohybem směrem k ještě neporušené tkáni zvětšují objem ložiska a vyvolávají další a další okrajové zánětlivé procesy. Odumřelá demarkovaná tkáň částečně nekrotizuje a v preparátech barvených HE nalezneme amorfní růžově až slabě červeně se barvící masy, které nepravidelně prolínají shluky lymfocytů, leukocytů a tkáňového detritu. Tato neuspořádaná masa postrádá celistvost. Na preparátech nadržuje v celku a snadno při manipulaci za barvení vypadává. Barvením van Giesonem zjišťujeme, že nekrotické masy jsou chudé na kollagenní vlákna, která představují zbytky destruovaného interstitia. Ve svém bezprostředním okolí vytváří cizopasník tkáňovou reakci, která se projevuje mírnou

leukocytární infiltrací. Tato nabývá značné intenzity směrem ke středu ložiska, zatím co ke zdravé neporušené tkáni vytváří pouze úzký infiltrační lem. Na styčné ploše kutikuly cizopasníka a základní tkáň vzniká úzký vazivový lem kompaktního charakteru. Zprvu cizopasnici napadají pouze vmezežené a pojivové tkáň. Hluboké žlázy přímo nenapadají, nýbrž je rozrušují až svým delším působením v orgánu. Žlaznatý epitel podléhá pravděpodobně nepřímému působení nematodů, a to přerušením cévního systému v hlubších vrstvách stěny žaludku. Výstelkové buňky hlubokých žlázek vylučují větší množství sekretu, zduřují, jádra buněčná přiléhají k bázi a později celý žlaznatý epitel odumírá. Podobný proces nastává i na povrchovém epitelu žlaznatého žaludku. I zde v místě, kde je pod povrchem sliznice parazitární ložisko, buňky žlaznatého epitelu ztrácejí svoje kontury, vylučují větší množství hleny, který se v preparátech HE barví slabě bledě modře a má amorfní strukturu bez jakýchkoliv buněčných elementů. Později buňky epitelu podléhají nekrobióze zároveň i s podložím. Jistě zde značně působí i sekret okolních žlázek, takže se málo vyživovaná a částečně odumřelá sliznice natráví a ložisko se provalí do lumina žlaznatého žaludku. V okolní tkáni je něco vmezeženého vaziva, které se tam při postupujícím procesu vytváří. Vazivová vlákna vytváří naznačený val a vymezují tak celý proces od okolních hlubokých žlázek.

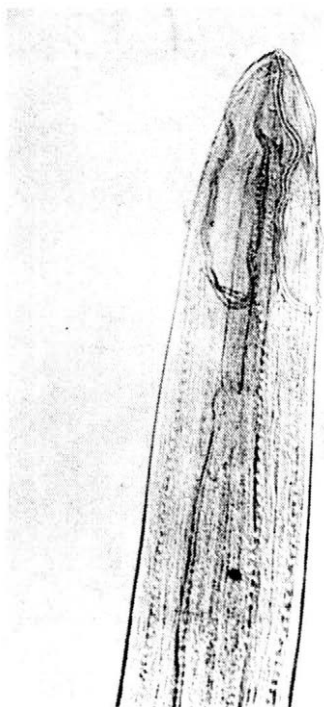
V buněčných infiltracích převládají leukocyty, z nichž eosinofilních není mnoho a jsou spíše vzácné. Ložisko vytváří tlak na ostatní tkáň, deformuje hluboké žlázy a tím znemožňuje jejich správnou funkci. Má tendenci šířit se od serózy k povrchové sliznici mezi hlubokými žlázkami. *Muskularis propria* nebývá poškozena, ale na styčných místech s ložiskem se zmnožují vazivová vlákna a někdy dochází k reaktivnímu zánětu. Nejvíce cizopasníků nalézáme blíže slizniční vrstvy povrchové, která bývá poškozena v různém rozsahu, jak je uvedeno výše.

Celkově je možno proces hodnotiti jako chronickou nekrotickou ložiskovou proventriculitis.

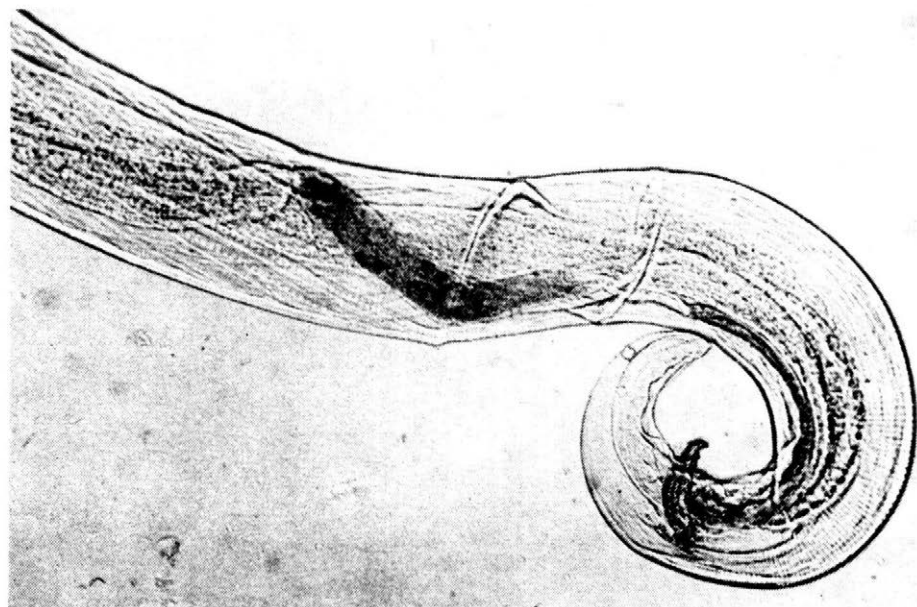
Tetrameróza nevyvolává tak bouřlivé procesy jako echinurióza. Ovšem podílí se stejnou měrou na disfunkci žlaznatého žaludku, neboť cizopasnici napadají hlavně hluboké žlázy. Cizopasník zde vyvolává zprvu reaktivní zánět žlaznatého epitelu, který se s přibývajícím objemem samičky mění v tlakovou nekrózu. V hlubokých žlázkách tlakem parazita a za pohybů žaludku dochází k alteraci epitelu, jeho nekrobióze, nekróze a sekundárně k reaktivnímu proliferativnímu zánětu. Za dlouhotrvajícího působení nematodů našli jsme úplnou atrofii spojenou s nekrotickými procesy na žlaznatém epitelu a zmnožení vaziva při jeho bázi. Mimo parazitů usídlených ve žlázkách, našli jsme i cizopasníky v povrchové slizniční vrstvě. Zde usídlená samička byla opouzdřena silným vazivovým lemem, ve kterém jsou shluky leukocytů, u nichž převládají neutrofilní polynukleáry, zatím co eosinofilních leukocytů je poměrně málo nebo vůbec chybí. Tyto buněčné infiltráty jsou buď ložiskové nebo řazeny do podélných pruhů, zejména podle cév. Samička je proti ostatním nematodům usídleným v hlubokých žlázkách značně menšího průměru. Nejde o shluky vajíček, neboť na průřezu je zřetelně patrný jednak jícen, střevo, kutikula a vajíčka jsou v různém stupni vývoje. Blíže popis ostatních histopatologických změn byl shodný s nálezy publikovanými Willomitzerem a Gilkou (1957).

Makroskopicky jsme na sliznici žlaznatého žaludku nenalezli žádné nápadné změny. Pouze v místech usídlení cizopasníků ve žlázkách prosvítají přes vrstvu sliznice jako tmavá ložiska a dají se tlakem vytlačit. Je-li pitva prováděna delší dobu po uhynutí hostitele, snaží se samičky opustit žlázy, částečně se protáhnou

Obr. 1. *Echinuria uncinata* (Rudolphi 1819)
— hlavová část

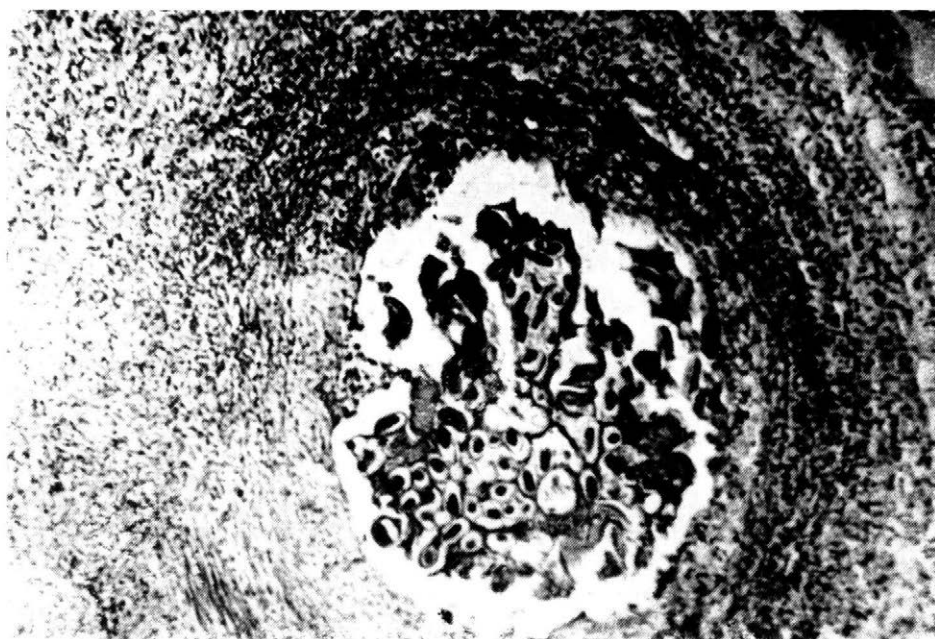


Obr. 2. *Echinuria uncinata* (Rudolphi 1819)
— ocasní konec samce (obr. dole)





Obr. 7. Tetrameróza — počáteční stádium tlakové atrofie žlaznatého epithelu vlivem cizopasníka



Obr. 8. Tetrametóza — usídlená samička v povrchové slizniční vrstvě vytváří v okolní tkáni zánětlivý proces

jejich otvorem a budí dojem malých krvavých kapének na vrcholcích žlázových papil. Samečci žijící v hlenu žaludku nepůsobí žádné větší inzulty, které by byly makroskopicky pozorovatelné. Ani histologicky jsme nezachytili stopy po jejich působení na povrchové sliznici.

Celkově lze hodnotit proces při onemocnění tetramerózou jako ložiskovou chronickou katarální a později proliferativní proventriculitis.

Rozprava

Srovnáme-li naše nálezy při echinurióze s popisem změn uváděných Cvětajevou (1953) zjišťujeme, že parazitóza u kachen probíhá poněkud odchylně než u labutí, u nichž autorka prováděla vyšetření. Měli jsme rovněž možnost diagnostikovat toto chronické onemocnění žláznatého žaludku u labutě z pražské zoologické zahrady. Parazitární ložiska byla uložena na přechodu žláznatého žaludku ve svalnatý, byla silně obdána vazivovým valem a obsahovala několik cizopasníků (až 15 exempl.). Ložiska postrádala tkáňového detritu a hlístice byly v jejich luminu volně uloženy, případy uzly navzájem spolu komunikovaly. U kachen jsme našli rozdíl v tom, že ložiska nevytvářela vazivový val a ač byla značně rozsáhlá, nebyla spolu v interstitiu spojena i při značném počtu cizopasníků (v ložisku 25 a více). Uzly byly vždy vyplněny nekroticky změněnou tkání, jak bylo výše popsáno. Na rozdíl od citované autorky, nacházeli jsme cizopasníky pouze při okraji ložiska a nikoliv uprostřed. Histologicky jsme nenašli v nekroticky změněné tkáni volně uložená vajíčka obklopená shluky buněk a také eosinofilie nebyla v preparátech příliš průkazná. Jde tedy u kachen o proces, který probíhá daleko rychleji, takže u nich nebývají vyvinuty příznaky dlouhotrvajícího, částečně již reparovaného onemocnění, jak je popsala Cvětajeva u labutí moskevského zooparku. Jest ovšem možné, že bychom podobný nález jako u labutí našli u kachen, které hostí pouze malý počet těchto hlístic a jsou skrytými hostiteli a šířiteli tohoto onemocnění.

Podobně i při tetrameróze jsme nezjistili makroskopicky viditelné změny, i když se někteří autoři (Lange, 1938) zmiňují o vředovitých změnách na sliznici. Měli jsme možnost sledovat silné inváze *T. fassispinga*, kdy bylo napočteno deset dospělých samic na 1 cm² plochy žláznatého žaludku a přesto jsme podobné změny ani makroskopicky, ani histologicky nepozorovali.

Otevřenou otázkou nadále zůstává způsob pronikání cizopasníků do tkáně žláznatého žaludku. Různí autoři uvádějí dvě hlavní teorie. První se domnívá, že oba druhy hlístic dosahují svého usídlení cestou přímého zavrtávání se larev přes sliznici žaludku po jejich uvolnění z invadovaného korýše, zatím co druhá připouští zanesení larev pomocí krevního oběhu. Objasnění tohoto problému by značně dopomohlo k účinnému zásahu proti oběma cizopasníkům.

Ze získaných patologicko-anatomických a patohistologických poznatků je možno vyvodit závěr, že napadené kachny jsou postiženy těžkou dysfunkcí žlázek žaludku a tím i zmenšením přívodu trávicích enzymů a také i značnou bolestivostí při průchodu pevnější stravy. Dále je patrné, že i účinek podávaných a dosud užívaných léčiv bude velice malý, poněvadž léčivo bude působit pouze na malý počet cizopasníků. Dojde-li k dehelmintizačnímu účinku léčiva, zůstanou značné orgánové afekce, těžko léčitelné a irreparabilní zvláště při echinurióze. Rovněž preventivní podávání léčiva při vypouštění na rybník nemusí být vždy

účinné, neboť dospívající stadia nematodů jsou ve stěně žláznatého žaludku tak hluboko, že je léčivo nezastihne. Proto jedinou ochranou před zavlečením těchto cizopasníků je přerušení biologického cyklu cizopasníka. Nejvhodnějším způsobem je zimování rybníka, neboť žijící generace korýšů uhynie a jejich vajíčky se larvy cizopasníků nepřenášejí. Během letního období je každý zásah proti meziphostitelům velmi obtížnou záležitostí, zvláště tam, kde na biocenóze rybníka je závislý chov ryb. Rozhodně je nutné, aby dorost nebyl odchováván na stejné vodě jako dospělé kachny.

Souhrn

Jako původci žaludeční červivosti u našich kachen byli zjištěni nematodi *Echinuria uncinata* (Rudolphi, 1819) a *Tetrameres fissispina* (Diesing, 1861). Během jednoho roku jsme zjistili, že tetramerózou bylo napadeno 24 % vyšetřovaných kachen a kachňat, zatím co echinuriózou jen 2 %. Klinické příznaky u obou onemocnění jsou téměř shodné, zatím co patologicko-anatomický nález je značně rozdílný.

Echinurióza vytváří nekrotická ložiska v různém rozsahu a velikosti. Ložisko se do lumina žaludku otevírá po odumření povrchové vrstvy sliznice, jakmile tato ztratí výživu porušením krevního oběhu působením nematodů a je posléze natrávena enzymy hlubokých žlázek. Vcelku je možné proces působený nematodem *Echinuria uncinata* hodnotit jako chronickou nekrotickou ložiskovou proventriculitis.

Tetrameróza nevytváří makroskopicky viditelných změn. Samička svou přítomností ve žlázkách vyvolává alteraci epitelu, jeho nekrobiózu, nekrózu a sekundárně i reaktivní proliferativní zánět. Nalezli jsme dospělé samičky i v povrchové slizniční vrstvě, kde vytvářely ložiska silně opouzdřená vazivovým lemem, ve kterém byla značná leukocytární infiltrace. Ve shodě s nálezy Wilkomitzera a Gilky jest proces ložiskovou chronickou katarální a později proliferativní proventriculitis.

U obou procesů nebyly ve větší míře nalezeny eosinofilní leukocyty. Napadené kachny jsou postiženy disfunkcí žlázek žaludku a tím i zmenšením přívodu trávicích enzymů a také i značnou bolestivostí při průchodu pevnější stravy.

Literatura

1. Biester H. E., Schwarte L. H.: Diseases of Poultry. Ames-Iowa 1948. —
2. Bogdan J.: Parasitárny priezrkum parazitov zaživadel husí a kačíc vo veľkovýkrmni DHPV Šala n. V. Diss. práce. Brno 1949 (rukopis). — 3. Buša V.: Predbežná zpráva o rozšíření gastrohelmintov vodnej hydiny v geografických pásmách Slovenska. Helminťológia SAV. Bratislava 1957. — 4. Cramová, Barber: citováno podle Diseases of Poultry. — 5. Cvěťajeva N. P.: K patologii echinurioza vodoplavajúcich ptic. Trudy VIGIS - T. V. — 150-157, 1953. — 6. Dubinina M. N.: Parasitologičeskoje issledovanije ptic. Moskva 1955. — 7. Dyk V.: Obecná parasitologie. Skriptta vet. fak. Brno 1956. — 8. Dyk V., Klimeš B., Zavadil R.: Cizopasníci a invazijní choroby drůbeže. Praha 1957. — 9. Hill W.: Starker Befall von Enten mit *Echinuria uncinata*. Tierärztl. Rundschau 47:211, 1941. — 10. Kasimov G. B.: Gelmintofauna ochotniče-promyslovych ptic otrjada kurinyh. Moskva 1956. — 11. Ku-

chařová F., Baštář M., Zajíček D.: Nález některých neobvyklých parazitů u kachen. Vet. čas. SAV VI(5), 408-415, 1957. — 12. Kurašvili B. E.: Gelminty ochotniče-promyslových ptic Gruzii v faunističeském i ekologičeském osvěščeniji. Moskva 1957. — 13. Lange H.: Über eine durch *Tropisurus fissispinus* Diesing hervorgerufene Magenwurmseuche bei Enten. Ztschft. f. Infektionskht. LIII /1/2/:1-8, 1938. — 14. Richard K.: Parazitární invaze u kachen v brněnském kraji. Veterinářství III /2/:29, 1953. — 15. Ryšavý B.: Další poznatky o helmintofauně ptáků v Československu. Čs. Parasitologie IV, 299-329, 1957. — 16. Romanova N. P.: Izučeniye cikla razvitiya *Echinuria uncinata* Rudolphi 1819 - vzbuditelja echinurioza želudka vodoplavajuschich ptic. Diss. 1945. cit. podle Cvětajeva 1953. — 17. Skrjabin K. I. a kol.: Opredelitel' paraziticheskikh nematod. Spiruraty i filjarijaty. Tom I. Moskva 1949. — 18. Štefflová-Leiská M.: Výzkum endoparasitů drůbeže v Čechách. Čs. Parasitologie IV, 337-350, 1957. — 19. Willomitzer J., Gilka F.: Příspěvek k výskytu hlístice *Tetrameres fissispina* u kachen. Vet. med. (Sborník ČSAZV) 2 (XXX), 11:825-828, 1957.

К обнаружению и патогенезу желудочных гельминтозов у уток

В качестве возбудителей желудочных гельминтозов были установлены у наших уток нематоды *Echinuria uncinata* (Rudolphi 1819) и *Tetrameres fissispina* (Diesing 1861). В течение одного года было установлено, что тетрамерозом были поражены 24 % исследуемых уток и утят, затем как эхинуриозом — лишь 2 %. Клинические признаки у обоих заболеваний почти одинаковы, однако результаты патолого-анатомического исследования значительно отличаются.

Эхинуриоз образует некротические очаги разных объемов и величины. Очаг открывается в просвет желудка поле омертвения поверхностного слоя слизистой оболочки, как только последней не достается питательных веществ вследствие нарушения кровообращения, вызванного нематодами, и когда слизистая оболочка разрушается энзимами глубоких железок. В общем можно процесс, вызванный нематодой *Echinuria uncinata* считать хроническим некротическим очаговым провентрикулитом.

Тетрамероз не образует макроскопически видимых изменений. Самка своим присутствием в железках вызывает альтерацию эпителия, его некробиоз, некроз, а вторично также реактивное пролиферативное воспаление. Автор обнаружил взрослых самок и в поверхностном слое слизистой оболочки, где самки образовали очаги, сильно окутанные соединительнотканной каймой, в которой замечалась значительная лейкоцитарная инфильтрация. В согласии с обнаружениями Вилломитцера и Гильки процесс представляет очаговый хронический катаральный, и позже пролиферативный провентрикулит.

В обоих процессах не были в большей степени обнаружены эозинофильные лейкоциты. У пораженных уток проявляется дисфункция железок желудка, в результате чего в меньшей мере доставляются пищеварительные энзимы; значительную боль также вызывает прохождение более твердой пищи.

Beitrag zu Vorkommen und Pathogenese der Magenwurmkrankheit bei Enten

Als Erreger der Magenwurmkrankheit bei unseren Enten wurden die Nematoden *Echinuria uncinata* (Rudolphi 1819) und *Tetrameres fissispina* (Diesing 1861) festgestellt. Im Laufe eines Jahres haben wir festgestellt, daß 24 % der untersuchten

Enten und Jungenten mit Tetramerose, während nur 2 % mit Echinuriose, befallen wurden. Die klinischen Symptome sind beinahe dieselben, während der pathologisch-anatomischer Befund erheblich verschieden ist.

Die Echinuriose bildet nekrotische Herde von verschiedenem Umfang und verschiedener Größe. Der Herd öffnet sich in das Lumen des Magens nach Absterben der oberflächlichen Schicht der Schleimhaut, sobald diese durch die Störung des Blutkreislaufes durch den Einfluß der Nematoden ihre Ernährung verloren hat und zuletzt wird sie durch die Enzyme der tiefen Drüsen verdaut. Im Ganzen ist es möglich den durch den Nematoden *Echinuria uncinata* verursachten Prozeß als chronische nekrotische herdartige Proventriculitis anzusehen.

Die Tetramerose bildet keine makroskopisch sichtbare Veränderungen. Das Weibchen ruft durch seine Anwesenheit in den Drüsen Epithelalterationen hervor, Nekrobiose desselben, Nekrose und sekundär auch reaktive proliferative Entzündung. Erwachsene Weibchen wurden auch in der oberflächlichen Schleimhautschicht gefunden, wo sie die mit einem Gewebesbaum stark gekapselte Herde ausbildeten, in dem sich eine reiche Leukozyteninfiltration befand. Übereinstimmend mit Willomitzer's und Gilka's Befunden ist der Prozeß eine chronische katarrhale, und später proliferative Proventriculitis.

In beiden Prozessen wurden eosinophile Leukozyten im größeren Maße nicht gefunden. Die erkrankten Enten leiden an Magendysfunktion und dadurch auch an herabgesetzte Zufuhr der Verdauungsenzyme und auch an große Schmerzlichkeit beim Durchgang solider Nahrung.

Biochemické studie o července vepřů

II. Metabolismus argininu a peptidu B u bakterií červenky vepřů

Биохимическое изучение рожи свиней

II. Метаболизм аргинина и пептида В у бактерий рожи свиней

The Biochemical Studies on the Swine Erysipelas

II. The Metabolism of Arginine and Peptid B in Erysipelothrix rhusiopathiae suis

Eine biochemische Studie über Schweinerotlauf

II. Arginin und B-Peptid Metabolismus der Rotlaufbakterien

D. KALÁB

Bioveta n. p., Ivanovice na Haně, ředitel MVDr. K. Rašín

Došlo dne 21. VII. 1958

Úvod

Při studiu chemické povahy růstového faktoru *Erysipelothrix rhusiopathiae* z Hottingerova bujónu zjistili Zimmerman a Kludas (25), že jde o peptid obsahující kromě větších množství alaninu, glycinu a kyseliny glutamové hlavně arginin. Autoři jej nazvali peptid B a popsali jeho vliv na růst červenkových bakterií, avšak blíže se jeho metabolismem nezabývali.

V našem prvním sdělení (11) jsme popsali biochemickou metodu kmenové diferenciacie červenkových bakterií, založenou na rozdílném využití peptidu B z masopeptonového bujónu s normálním koňským krevním sérem a glukózou, při čemž jsme poukázali na nutnost hlubšího objasnění jeho metabolismu u červenkových bakterií.

Arginin, jenž je hlavní součástí růstového peptidu *Erysipelothrix rhusiopathiae* má velký význam nejen u savců, kde je základní složkou tzv. malého Krebsova cyklu tvorby močoviny, jako konečného produktu štěpení bílkovin, ale je neméně důležitý též v metabolismu bakterií. Štěpení argininu hnilobnými mikroby popsali již počátkem tohoto století Ackermann a Ellinger (1, 4). Autoři předpokládali, že štěpení argininu probíhá podobně jako u živočichů enzymem arginázou, jež katalyzuje rozklad argininu na močovinu a ornithin. U streptokoků a stafylokoků popsal později Hills (8) enzym arginindihydrolázu, štěpící arginin hydrolyticky na ornithin, amoniak a kysličník uhličitý. Na-

proti tomu zjistili Horn (9) a Tomota (24) u *Pseudomonas aeruginosa* a *Salmonella enteritidis* přeměnu argininu v citrullin. Autoři předpokládají, že jde o hydrolytickou desimidaci argininu za vzniku ekvimolárních množství citrullinu a amoniaku. Enzym katalyzující tuto reakci nazvali arginindesimidázou. Sekine, Akamatsu a Knivett (23, 2, 13) sledovali v novější době štěpení argininu u *Strept. faecalis*. Proti Hillsovi (8) došli autoři k závěru, že arginindihydroláza je směsí nejméně dvou enzymů, jež nazvali metarginázou a citrullinázou a že citrullin je meziproduktem štěpení argininu na ornithin. Enzym metarginázu autoři ztotožňují s Hillsovou arginindihydrolázou. Enzymatickým systémem arginindihydrolázy *Strept. faecalis* se dále zabývali Oginski a Gehring (20). Potvrdili, že citrullin je meziproduktem přeměny argininu na ornithin a popsali izolaci a biochemické vlastnosti arginindesimidázy. Zmíněný enzym získali též Schmidt, Logan a Tytell (22) z lyofilizovaných buněk *Cl. perfringens* (BP 6 K) extrakcí fyziologickým roztokem. Tvorbu citrullinu u *Staph. aureus* v syntetické živné půdě obsahující arginin popsali Lominsky, Morrison a Porter (14). Náhrada argininu norleucinem nebo ornithinem nevedla k tvorbě citrullinu. Vznik citrullinu z argininu v suspenzi buněk *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*, sušených acetone, zjistili Jackson a Pasieka (10). Štěpení citrullinu na ornithin za vzniku amoniaku a kysličníku uhličitého našli Fleming a Foshay (5) u silně virulentních kmenů *Pasteurella tularensis*. Slabě virulentní nebo nevirulentní kmeny citrullin neštěpily. Žádný z kmenů *Pasteurella tularensis* neštěpil samotný ornithin. U *Serratia marcescens*, ozařovaného UV paprsky nezjistil Glasziou (6) ani arginázu, ani desimidázu argininu. Kmen naopak syntetizoval citrullin z ornithinu a karbamylfosfátu a měl též schopnost měnit citrullin v arginin. V našem sdělení popíšeme metabolismus peptidu B a argininu u bakterií červenky vepřů.

Metodika

Pracovali jsme se dvěma kmeny bakterií červenky vepřů, B₆₄ a O 3/56, jejichž vlastnosti jsme blíže popsali ve svém prvním sdělení (11). Červenkové bakterie kmene B₆₄ vyvolávají silnou haemaglutinaci slepičích erytrocytů, zatímco kmen O 3/56 tuto schopnost nemá. Růst uvedených kmenů červenky jsme sledovali jednak v koňském masovém bujónu obohaceném 2 % Bactopeptonu (Organofarma, původ pankreatický), při čemž základní bujón bez přísad obsahoval 170 mg % celkového dusíku, jednak v bujónu připraveném trávením hovězího masa pankreatinem, o obsahu 450 mg % celkového dusíku a konečně v 4 % vodném roztoku kyselého hydrolyzátu kaseinu obsahujícím 250 mg % celkového dusíku. Půdy jsme upravili přísadou 0,3 % NaCl a 0,2 % Na₂HPO₄. Do všech tří druhů půd jsme přidali po sterilizaci asepticky 10 % normálního koňského krevního séra a 0,5 % glukózy. Optimální výchozí pH půd činilo 7,7.

Zmíněné kmeny červenkových bakterií jsme kultivovali 48 hodin při 37° C ve zkumavkách obsahujících 10 ml bujónu. Porosty bakterií jsme oddělili na odstředivce a čistou živnou půdu analyzovali papírovou chromatografií. Metodiku kruhové papírové chromatografie jsme popsali již v prvním sdělení (11). Jedno-rozměrnou papírovou chromatografií jsme prováděli na filtračním papíře Whatmann č. 1 sestupnou metodou „na přetečení“ ve vyvíjecí směsi n-butanolu, kyseliny mravenčí a vody v poměru 75 : 15 : 10, jež se dobře osvědčuje pro dělení aminokyselin a peptidů. Dvourozměrnou chromatografií jsme prováděli vzestupně na papírech Whatmann č. 1 a Reve Angel č. 201, 82 % fenolem, za současného sycení chromatografické komory parami amoniaku. V druhém směru jsme chromatografovali směsí n-butanolu, kyseliny octové a vody, v poměru 40 : 10 : 50. Chromatogramy jsme detekovali 0,1 % acetonovým roztokem ninhydrinu. Pokusy konané na uvedených živných půdách jsme doplnili sledováním vlivu promyté suspenze červenkových bakterií na čistý 1 — arginin a d,1 — citrullin. Bakterie jsme kultivovali v 2 % masopeptonovém koňském bujónu, porost po oddělení na odstředivce třikrát promyli 10 ml fyziologického roztoku a inkubovali 60—120 minut při 37° C ve 2 ml m/15 Michaelisova fosfátového ústoje s 0,1 % 1-argininu nebo d,1-citrullinu při pH: 4,5, 7,0 a 8,0. Reakční směs jsme pak analyzovali dvourozměrnou papírovou chromatografií v popsané úpravě. Veškeré pokusy jsme opakovali nejméně dvakrát. Zjištěné výsledky byly reprodukovatelné.

Pokusná část

I.

Přeměny peptidu B a argininu, k nimž dochází na různých živných půdách pod vlivem enzymatické činnosti červenkových bakterií jsou patrné z uvedených chromatogramů.

1. Z 2 % masopeptonového koňského bujónu s 10 % séra a 0,5 % glukózy eliminují červenkové bakterie kmene B₆₄ po 48 hodinách růstu veškerý peptid B a na dvourozměrném chromatogramu současně vzrůstá plocha a temnost skvrny odpovídající svou polohou citrullinu. U kmene O 3/56 k těmto změnám prakticky nedochází (obr. 1 a 2).

Důkaz citrullinu a jeho rozlišení od interferující skvrny glutaminu jsme provedli specifickou barevnou reakcí s p-dimethylaminobenzaldehydem, v úpravě H a i s e a M a c k a (7). Činidlo dává s citrullinem intenzívně žluté zbarvení. Popsané jevy jsou patrné též na kruhových chromatogramech (obr. 3).

2. Vznik citrullinu z argininu vázaného do peptidu B jsme pozorovali též v bujónu připraveném z hovězího masa trávením pankreatinem. Citrullin zde produkují oba použité červenkové kmeny; kmen B₆₄ poněkud více než kmen O 3/56 (obr. 4 a 5). Do 48 hodin spotřebovávají oba kmeny peptid B pouze částečně.

3. V obou předešlých živných půdách rostly červenkové bakterie velmi mo-

hutně, naproti tomu v 4% kaseinovém hydrolyzátu tvoří makroskopicky sotva patrný porost. K úplné přeměně argininu v citrullin zde dochází pouze u kmene B₆₄. Kmen O 3/56 arginin prakticky nemění (obr. 6 a 7).

Průběh reakce po 24 hodinách růstu jsme sledovali též jednorozměrnou chromatografií (obr. 8).

Ve všech třech uvedených živných půdách jsme pozorovali vedle citrullinu též vznik stop ornithinu. Slabá skvrna ornithinu téměř splývá se skvrnou aminokyseliny lysinu, od níž se na čerstvě vyvolaných chromatogramech liší jen fialovějším barevným odstínem.

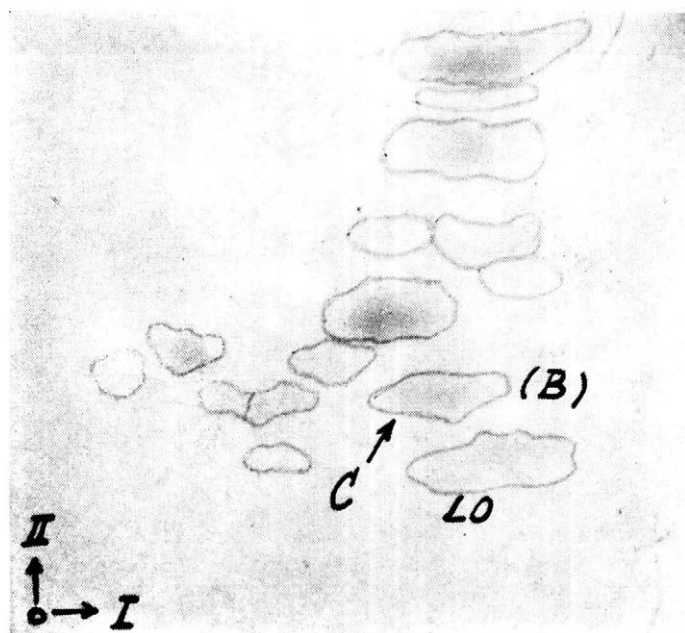
II.

V druhé části pokusů jsme sledovali enzymatickou činnost promyté suspenze červenkových bakterií v Michaelisově fosfátovém ústoji s 1-argininem a d,l-citrullinem při pH : 4,5, 7,0 a 8,0. Suspenze bakterií kmene B₆₄ přeměňuje 1-arginin na citrullin v rozmezí pH : 7,0 až 8,0. Při pH : 4,5 vzniká zde citrullin jen ve stopách (obr. 9). Červenkové bakterie kmene O 3/56 přeměňují 1-arginin v citrullin kvantitativně jen při pH : 7,0. V alkaličtějším prostředí kolem pH : 8,0 vzniká citrullin jen ve stopách a v kyselém prostředí při pH : 4,5 již nevzniká vůbec (obr. 10).

Poloha skvrn citrullinu a argininu z analyzované suspenze souhlasila s polohou skvrn těchto látek na chromatogramu standardní směsi. Sama suspenze bakterií nedávala na chromatogramech žádné rušivé skvrny. Glukóza v koncentraci 0,5 % nerušila u použitých kmenů červenkových bakterií přeměnu 1-argininu v citrullin. Další štěpení citrullinu v ornithin jsme za popsaných podmínek nezjistili. Rovněž náhrada 1-argininu d,l-citrullinem nevedla v promyté suspenzi červenkových bakterií při pH : 7,0 k žádné další změně.

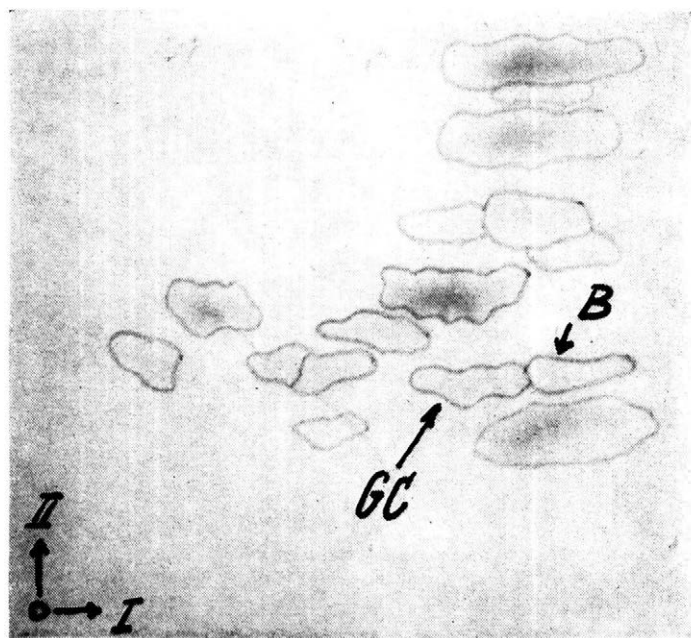
Diskuse

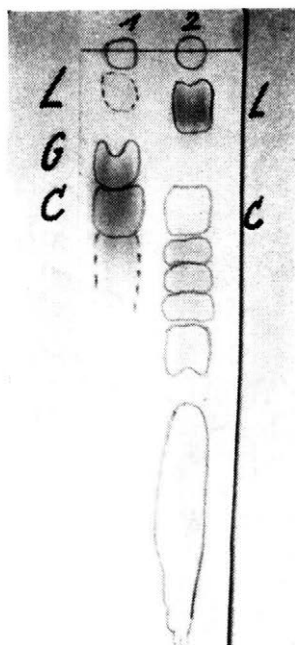
Chromatografickým rozbořením různých druhů živných půd během kultivace červenkových bakterií jsme zjistili přímý vztah mezi spotřebou peptidu B nebo argininu a vznikem citrullinu a ornithinu. Přeměnu 1-argininu v citrullin jsme pozorovali též v promyté suspenzi červenkových bakterií v Michaelisově fosfátovém ústoji, s výraznou závislostí na pH . Optimum reakce je v neutrálním prostředí při pH : 7,0. Ve slabě alkalickém nebo kyselém prostředí probíhá přeměna argininu v citrullin jen omezeně. Stimulující účinek peptidu B na růst červenkových bakterií je tedy možno vyložit mechanismem využití jeho argininové složky. Vznik citrullinu v kulturách červenkových bakterií probíhá pravděpodobně hydrolytickou desimidací 1-argininu za katalytického působení enzymu arginindesimidázy (Horn, Tomota, 9, 24), čemuž nasvědčuje i optimum aktivity pro-



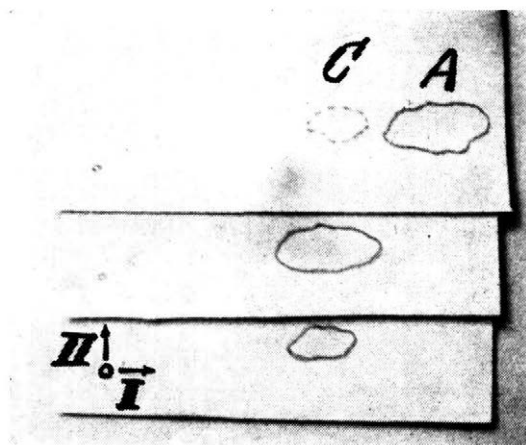
Obr. 1. Dvourozměrný chromatogram supernatantu 48hodinové kultury červenkových bakterií kmene B₆₄ v 2% masopeptonovém koňském bujónu se sérem a glukózou. Skvrna citrullinu — C. Peptid B zcela vymizel (B). Skvrna lysinu s ornithinem — LO. I — fenol s amoniakem, II — n-butanol, kys. octová, voda

Obr. 2. Dvourozměrný chromatogram 2% masopeptonového koňského bujónu se sérem a glukózou, bez porostu červenkových bakterií. Peptid B je zřetelně patrný — B. Skvrna vlevo patří směsi glutaminu a stop citrullinu — G C. — I a II — jako na obr. 1.

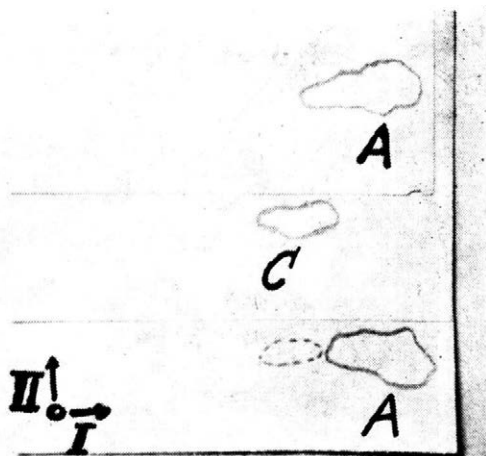




Obr. 8. Jednorozměrný sestupný chromatogram supernatantu 24hodinové kultury červenky, kmene B₆₄ v 4% roztoku kyselého hydrolyzátu kaseinu se sérem a glukózou (vzorek 2) a srovnávací směs lysinu — L, glutaminu — G a citrullinu — C (vzorek 1). Vyvíjeno 52 hodin ve směsi n-butanolu, kyseliny mravenčí a vody



Obr. 9. Vznik citrullinu z argininu v promyté suspenzi červenkových bakterií kmene B₆₄, při pH = 4,5, 7,0 a 8,0 (shora dolů). — Citrullin — C, arginin — A. — I a II — jako v obr. 1



Obr. 10. Vznik citrullinu z argininu v promyté suspenzi červenkových bakterií kmene O 3,56, při pH = 4,5, 7,0 a 8,0 (shora dolů). — Citrullin — C, arginin — A. I a II — jako v obr. 1

myté suspenze červenkových bakterií při pH : 7,0, jež se dobře shoduje s optimem aktivity arginin-desimidázy *Strept. faecalis* u pH : 6,8 (O g i n s k y, G e h r i n g, 20). Kromě citrullinu jsme zjistili na chromatogramech bujónových živných půd po kultivaci červenkových bakterií ještě stopy ornithinu. Předpokládáme proto, že obdobně jako u *Strept. faecalis* a *Cl. perfringens*-BP 6 K, je citrullin i zde mezi-produktem v přeměně argininu na ornithin (O g i n s k y, G e h r i n g, S c h m i d t a spol., 20, 22). Jak zjistili zmínění autoři, štěpí acetone m sušené buňky *Strept. faecalis* citrullin i arginin stejně rychle, zatím co intaktní buňky štěpí citrullin proti argininu velmi pomalu. Tím lze též vysvětlit značné nahromadění citrullinu v živých kulturách červenky, kde převládají intaktní buňky. Racemický d,1-citrullin nepodléhá v promyté suspenzi intaktních červenkových bakterií žádné změně, což lze vyložit jeho smíšenou optickou izomérní formou molekuly, nevhodnou pro fyziologické reakce. Brzdivý vliv glukózy na využití peptidu B, patrný v bujónových kulturách jsme nezjistili v promyté suspenzi červenkových bakterií s čistým l-argininem, při pH : 7,0. Tuto skutečnost lze vyložit stimulací glykolýzy čistým argininem, jak ji popsali u *Strept. pyogenes* P i e r c e a W h i t e (21). Brzdivý vliv glukózy na využití argininu v bujónových kulturách některých střevních bakterií zjistily B l o c h i n o v á, P e r o v o v á a L a v r o v s k á (3). Inhibiční účinky glukózy na vznik některých enzymů působících v metabolismu aminokyselin popsali též N e i d h a r d t a M a g a s a n i k (17, 18, 19). Tak lze vyložit i brzdivý vliv glukózy na využití argininu a peptidu B v bujónových kulturách červenky, jež jsou komplexem různých látek podmiňujících daleko složitější průběh enzymatických reakcí, než je tomu v promyté suspenzi bakterií s čistým argininem. V této souvislosti nelze vyloučit ani brzdivý vliv glukózy na aktivitu bakteriálních peptidáz. Rozdíly v metabolismu haemaglutinujících a nehaemaglutinujících kmenů bakterií červenky vepřů, popsané v našem prvním sdělení, jsme našli i v této práci, jež přispěla k jejich bližšímu biochemickému objasnění. Slabý růst červenkových bakterií v živné půdě založené na kyselém hydrolyzátu kaseinu lze vysvětliti m. j. tím, že obsahuje po úplné kyselé hydrolýze pouze volné aminokyseliny, nikoliv peptidy, jež jsou pro četné mikroby lepšími zdroji aminokyselin. Významem různých peptidů, jako růstových faktorů pro mikroby, se zabývá řada autorů. Fermentativní systémy mikroorganismů štěpí peptidy obsažené v živných půdách až na aminokyseliny nebo jejich amidy, jež se pak začleňují do metabolismu snáze, než jsou-li již předem v živné půdě ve volné formě. Práce tohoto druhu shrnuje do roku 1954 monografie H a i s e a M a c k a (7). Z novějších prací o chemické stabilitě a využití peptidů v metabolismu mikrobů uvádíme ještě studii M i l l e r o v u se spolupracovníky (16) a práce K i h a r y, S n e l l e, M a r s h a l l a a W o o d s e (12, 15), jež objasňují též úlohu některých peptidů při vzniku rezistence mikrobů vůči jejich antimetabolitům. Výsledky našich pokusů objasňujících vztahy mezi metabolismem argininu a peptidu B u bakterií červenky vepřů souhlasí s pracemi uvedených autorů, neboť nejlepší porosty červenkových bakterií jsme

pozorovali v bouillonech s peptidicky vázaným argininem. Celkový ráz metabolismu argininu u bakterií červenky vepřů je za popsaných pokusných podmínek charakterisován procesy degradace.

Souhrn

Práce objasňuje metabolismus argininu a peptidu B u bakterií červenky vepřů.

1. Bakterie červenky vepřů přeměňují l-arginin v citrullin, při čemž v bujónových živných půdách probíhá další štěpení citrullinu až na ornithin. Promytá suspenze intaktních buněk červenkových bakterií v Michaelisově fosfátovém ústoji přeměňuje l-arginin v citrullin optimálně při pH: 7,0. Brzdivý vliv glukózy (0,5 %) na využití argininu a peptidu B patrný v bujónových kulturách jsme v promyté suspenzi červenkových bakterií nezjistili.

2. Přeměna l-argininu na citrullin probíhá u červenkových bakterií pravděpodobně cestou hydrolytické desimidace l-argininu, katalyzované enzymem arginindesimidázou.

3. Stimulující účinek peptidu B, jenž je růstovým faktorem pro *Erysipelothrix rhusiopathiae* v řadě bujónových živných půd, spočívá tedy v mechanismu využití jeho argininové složky.

*

Poděkování

Dr. Z. Pechanovi z Onkologického ústavu v Brně a Dr. E. Palečkovi z Biofyzikálního ústavu ČSAV v Brně, děkuji za laskavé opatření některých čistých preparátů a literatury.

Literatura

1. Ackermann D.: Z. physiol. Chem., 56, (1908), 305. — 2. Akamatsu S., Sekine T.: J. Japan. Biochem. Soc., 38, (1951), 349. — 3. Blochina I. N., Petrova R. S., Lavrovskaja V. M.: Žurnal mikrobiol., epidemiol., imunobiol., 27, (1956), 12-18. — 4. Ellinger A.: Ber. dtsch. chem. Ges., 31, (1899), 3183. — 5. Fleming D. E., Foshay L.: J. Bacteriol., 70, (1955), 345-349. — 6. Glasziou K. T.: Austr. J. Biol. Sci., 9, (1956), 117-124. — 7. Hais I. M., Macek K.: Papírová chromatografie, I. vyd., Nakl. ČSAV, Praha (1954). — 8. Hills G. M.: Biochem. J., 34, (1940), 1057. — 9. Horn F.: Z. physiol. Chem., 216, (1933), 224. — 10. Jackson A. W., Pasieka A. E.: Canad. J. Microbiol., 1, (1955), 339-345. — 11. Kaláb D., Novotná S.: Sborník ČSAZV, Veterinární medicína, 3, (1958), 149-160. — 12. Kihara H., Snell E. E.: J. Biol. Chem., 212, (1955), 83-94. — 13. Knivett V. A.: Biochem. J., 50, (1952), XXX. — 14. Lominsky I., Morrison R. B., Porter I. A.: Biochem. J., 51, (1952), XVII. — 15. Marshall J. H., Woods D. D.: Biochem. J., 51, (1952), II. — 16. Miller A., Neidle A., Waelsch H.: Arch. Biochem. and Biophys., 56, (1955), 11-21. — 17. Neidhardt F. C., Magasanik B.: Nature, 178, (1956), 801-802. — 18. Neidhardt F. C., Magasanik B.: J. Bacteriol., 73, (1957), 253-259. — 19. Neidhardt F. C., Magasanik B.: J.

Bacteriol., 73, (1957), 260-263. — 20. Oginsky E. L., Gehring R. F.: J. Biol. Chem., 198, (1952), 791-799. — 21. Pierce W. A., White A. G. C.: J. Bacteriol., 69, (1955), 230-231. — 22. Schmidt G. C., Logan M. A., Tytell A. A.: J. Biol. Chem., 198, (1952), 771-783. — 23. Sekine T.: J. Japan. Biochem. Soc., 19, (1947), 79. — 24. Tomota S.: Fokoku. J. Exptl. Med., 41, (1941), 319. — 25. Zimmermann G., Kludas K. H.: Arch. f. Exp. Vet. Med., 10, (1956), 237-245.

Биохимическое изучение рожи свиней

II. Метаболизм аргинина и пептида Б у бактерий рожи свиней

Работа объясняет метаболизм аргинина и пептида Б у бактерий рожи свиней.

1. Рожистые бактерии превращают L-аргинин в цитруллин и в бульонных питательных средах реакция завершается появлением орнитина. Отмытая суспензия рожистых клеток превращает L-аргинин в цитруллин лучше всего в нейтральном буферном растворе Михаелиса, pH = 7,0.

Негативное влияние 0,5% глюкозы на полное использование аргинина или пептида Б, проявляющиеся в бульонных питательных средах, отсутствовало в отмытой суспензии рожистых клеток.

2. Превращение аргинина в цитруллин вероятно протекает путем гидролитической десимидации под влиянием энзима аргининдесимидазы.

3. Стимулирующее влияние пептида Б, который является фактором роста рожистых бактерий в многочисленных мясных питательных средах, объясняется использованием аргининового компонента этого пептида.

Eine biochemische Studie über Schweinerotlauf

II. Arginin und B-Peptid Metabolismus der Rotlaufbakterien

In der Arbeit wurde der Arginin- und B-Peptid Metabolismus der Rotlaufbakterien aufgeklärt.

1. Die Rotlaufbakterien metabolisieren den Arginin in den Citrullin und den Ornithin nämlich in verschiedenen Bouillonkulturen. Die durchgewaschene Suspension der Rotlaufbakterien mit Arginin gibt den Citrullin am meisten im Phosphatpuffer nach Michaelis beim pH: 7,0.

Der hemmende Einfluß der 0,5 % Glukose auf die Utilisation des B-Peptids oder des Arginins, der sich in den Bouillonkulturen zeigt, wurde in der durchgewaschenen Zellsuspension der Rotlaufbakterien nicht beobachtet.

2. Die Änderung des Arginins in Citrullin geht wahrscheinlich über die katalytische Desimidation unter dem Einfluß der Arginindesimidase.

3. Den Stimulationseffekt des B-Peptids auf das Wachstum der Rotlaufbakterien in verschiedenen Bouillonnährböden können wir mittels der Utilisation der Arginin-komponente des B- Peptids aufklären.

The Biochemical Studies on the Swine Erysipelas

II. The Metabolism of Arginine and Peptid B in Erysipelothrix rhusiopathiae suis

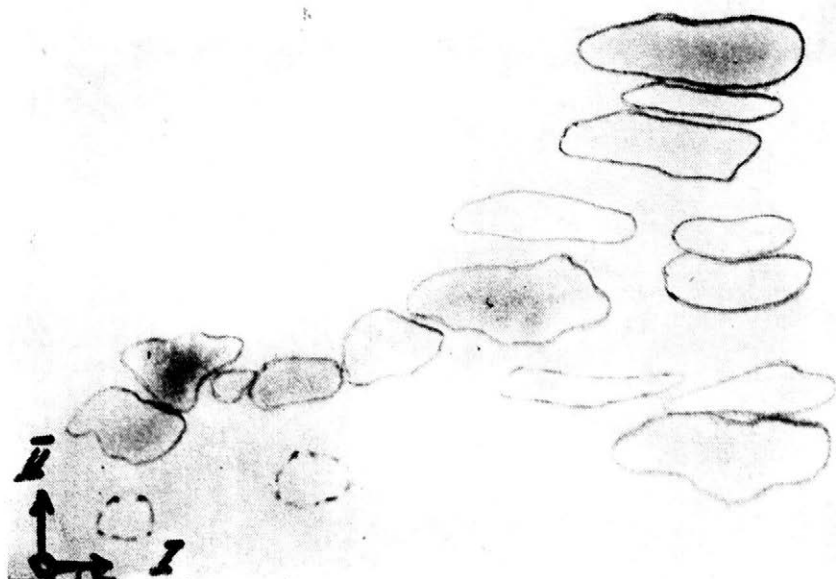
The study explains the metabolism of arginine and peptid B in Erysipelothrix rhusiopathiae suis.

1. The swine erysipelas bacteria change arginine to citrulline by following de-

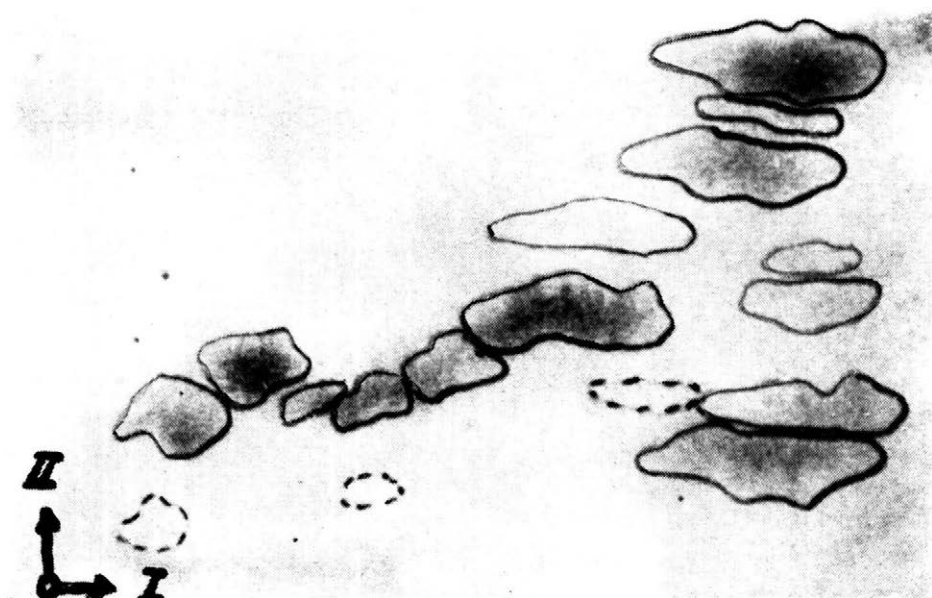
gradation of the last compound to ornithine under the broth culture conditions. The washed suspension of the intact cells of swine erysipelas converted arginine to citrulline best at the pH 7,0 in the Michaelis phosphate buffer solution. The inhibitive effect of 0,5 percent of glucose on the utilisation of arginine or peptid B which is remarkable in the broth cultures, in the washed suspension of erysipelas cells with pure arginine quite disappeared.

2. The conversion of arginine to citrulline passed in erysipelas cultures in all probability via hydrolytic desimination under the catalytic influence of the enzyme arginin-desimidase.

3. The stimulative effect of peptid B which is the growth factor for *Erysipelothrix rhusiopathiae suis* in a great number of meat broth cultures consists consequently in the mechanism of utilisation of its arginine component.



Obr. 1.



Obr. 2.

Dvourozměrné chromatogramy kyselých hydrolyzátů somatických bílkovin bakterií červenky vepřů, kmene B₆₁ a O 3/56. Aminokyseliny odleva zdola vpravo nahoru: cystin (čárkovaný obrys), kyselina asparagová, glutamová, glycin, serin, threonin, α -alanin, nad ním tyrosin, pod ním histidin (čárkovaný obrys), nad tyrosinem valin a methionin, fenylalanin a nejvýše vpravo leucin s isoleucinem. Směrem dolů: kyselina γ -aminomáselná a prolin, dole pak arginin a lysin. Vpravo od cystinu je kyselina α -E-diaminopimellová (čárkovaný obrys). I — fenol s amoniakem, II — n-butanol, kys. octová, voda.

Biochemické studie o července vepřů

III. Aminokyselinové složení somatických bílkovin bakterií červenky vepřů

Биохимическое изучение рожи свиней

III. Аминокислотный состав соматических белков бактерий рожи свиней

The Biochemical Studies on the Swine Erysipelas

III. The Amino Acid Composition of the Somatic Proteins of *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Eine biochemische Studie über Schweinerotlauf

III. Die Aminosäurezusammensetzung der Eiweißstoffe der Rotlaufbakterien

D. KALÁB

Bioveta n. p., Ivanovice na Haně, ředitel MVDr. K. Rašín

Došlo dne 21. VII. 1958

Úvod

Jednou z metod biochemického studia antigenní struktury mikrobů je určení aminokyselinového složení jejich bílkovin papírovou chromatografií. V popředí zájmu je převážně výzkum chemického složení antigenů patogenních mikrobů, působících různá onemocnění u lidí. Méně prací se zabývá těmito problémy u původců zvířecích nálezů.

Vyčerpávající přehled mikrobiologických aplikací metod papírové chromatografie do roku 1954 uvádějí ve své monografii H a i s a M a c e k (1). O aminokyselinovém složení hydrolyzátů třiceti kmenů bakterií, náležejících k různým taxonomickým skupinám pojednává novější systematická studie K a n d l e r a a Z e h e n d e r a (2). Z posledních prací tohoto druhu se zmíníme jen o těch, jež mají přímý vztah k původcům nejrozšířenějších atropozoonóz. R a o, W a d h w a n i (3), G i n s b u r g, L o v e t t a D u n n (4) sledovali aminokyseliny somatických bílkovin různých mykobakterií, P a r n a s, M i e r z e j e w s k i (5) a D u b r o v s k a j a (6) popsali aminokyseliny bílkovin brucell a pasteurell a chromatografickou analýzou hydrolyzátů *S. paratyphi* A a B se zabýval S a v o i a (7).

V naší práci uvedeme výsledky chromatografické analýzy hydrolyzátů somatických bílkovin bakterií červenky vepřů.

Metodika

K pokusům jsme použili tři kmenů bakterií červenky (B₅ a B₆₄, jež slouží k výrobě adsorbátové vakcíny proti července vepřů a terénního nehaemaglutinujícího kmene O 3/56). Kmeny jsme kultivovali v 10 ml koňského bujónu s 2 % Bactoseptonu (Organofarma, původ pankreatický) při 37° C. Po 48 hodinách růstu jsme porosty ve zkumavkách odstředili a promyli třikrát 10 ml fyziologického roztoku. Takto získanou hmotu bakterií jsme hydrolyzovali 24 hodin ve 4 ml 6N- HCl. Hydrolyzát jsme odpařili na vodní lázni do minimálního objemu, zbavili filtrací sraženiny huminových látek a vysušili v exikátoru nad pevným NaOH. Zbytek po opětovém rozpuštění v 1 ml destilované vody jsme ponechali znovu odpařit do sucha v exikátoru. Po rozpuštění v 0,25 ml destilované vody jsme hydrolyzát nanášeli skleněnou kapilárkou na chromatogram.

Vzorky byly analyzovány dvourozměrnou vzestupnou chromatografií na papíře Whatmann, č. 1 v 82 % vodném roztoku fenolu (při současném sycení chromatografické komory amoniakem) a po vysušení byl chromatogram vyvíjen druhým směrem ve směsi n- butanolu, kyseliny octové a vody (40 : 10 : 50). Aminokyseliny jsme detekovali 0,1 % roztokem ninhydrinu v acetonu. Velikost, barvu a intenzitu skvrn aminokyselin jsme posuzovali na čerstvě vyvolaných chromatogramech.

Pokusná část

Vzhled dvourozměrných chromatogramů hydrolyzátů somatických bílkovin bakterií červenky vepřů zachycují obr. 1 a 2.

Podle velikosti a intenzity skvrn jednotlivých aminokyselin na čerstvě vyvolaných chromatogramech jsme provedli též kvantitativní odhady jejich koncentrace. Znaménkem plus + jsme označili stopy a číslicemi 1 až 5 vzrůstající koncentrace aminokyselin. Výsledky shrnuje tabulka I.

I. Aminokyselinové složení hydrolyzátu somatických bílkovin bakterií červenky vepřů

Aminokyselina	Odhad koncentrace	Aminokyselina	Odhad koncentrace
α - alanin	4	histidin	+
arginin	3	leucin, isoleucin	4
asparagová kys.	3	lysin	3
γ - aminomáselná kys.	1	prolin	3
cystin	+	serin	3
α - ε - diaminopimelová kys.	+	threonin	3
fenylalanin	2	tyrosin	2
glutamová kys.	5	valin, methionin	4
glycin	3		

Rozdíl v aminokyselinovém složení somatických bílkovin haemaglutinujících a nehaemaglutinujících kmenů červenkových bakterií jsme nezjistili. Každý rozbor jsme pro kontrolu provedli nejméně dvakrát. S výjimkou stop kyseliny α-ε-diaminopimelové jsme nenalezli v hydrolyzátech bakterií červenky vepřů žádné neobvyklé aminokyseliny. Kyselina α-ε-diaminopimelová hraje v metabolismu bakterií úlohu předchůdce aminokyseliny lysinu.

Souhrn

1. V hydrolyzátu somatických bílkovin bakterií červenky vepřů jsme dokázali papírovou chromatografií následující aminokyseliny: α -alanin, arginin, asparagovou kyselinu, γ -aminomáselnou kyselinu, cystin, α - ϵ -diaminopimelovou kyselinu, fenylalanin, glutamovou kyselinu, glycin, histidin, leucin s isoleucinem, lysin, prolin, serin, threonin, tyrosin, valin a methionin.

2. Kvalitativní rozdíl v aminokyselinovém složení somatických bílkovin haemagglutinujících a nehaemagglutinujících kmenů bakterií červenky vepřů jsme nezjistili.

Literatura

1. Hais I. M., Macek K.: Papírová chromatografie, I. vyd. N ČSAV, Praha, (1954). — 2. Kandler O., Zehender C.: Arch. Mikrobiol., 24, (1956), 41-48. — 3. Rao N. A. N., Wadhvani T. K.: J. Bacteriol., 72, (1956), 1612-1615. — 4. Ginsburg B., Lovett S. I., Dunn M. S.: Arch. Biochem. and Biophys., 60, (1956), 164-170. — 5. Parnas J., Mierzejewski T.: Acta mikrobiol. Polonica, 5, (1956), 353-370. — 6. Dubrovskaja I. I.: Biochimija, 22, (1957), 924-928. — 7. Savoia F.: Bol. Soc. ital. biol. sperim., 32, (1956), 226-228.

Биохимическое изучение рожи свиней

III. Аминокислотный состав соматических белков бактерий рожи свиней

1. В кислотных гидролизатах соматических белков рожистых бактерий определены методом бумажной хроматографии следующие аминокислоты:

α — аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, γ — аминomásляная кислота, цистин, α - ϵ — диаминопимелловая кислота, фенилаланин, глутаминовая кислота, глицин, гистидин, лейцин, изолейцин, лизин, пролин, серин, треонин, тирозин, валин и метионин.

2. Качественного отличия между аминокислотным составом гемагглютинирующих и негемагглютинирующих штаммов бактерий рожи свиней не было.

The Biochemical Studies on the Swine Erysipelas

III. The Amino Acid Composition of the Somatic Proteins of *Erysipelothrix rhusiopathiae*

1. In the acid hydrolysates of the somatic proteins of *Erysipelothrix rhusiopathiae* suis there were the following amino acids demonstrated using partition paper chromatography:

α -alanine, arginine, asparic acid, γ -aminobutyric acid, cystine, α - ϵ -diaminopimelic acid, phenylalanine, glutamic acid, glycine, histidine, leucine, isoleucine, lysine, proline, serine, threonine, tyrosine, valine and methionine.

2. Any qualitative difference between the amino acid composition of the somatic proteins of haemagglutinating and non-haemagglutinating erysipelas strains had not been established.

Eine biochemische Studie über Schweinerotlauf

III. Die Aminosäurezusammensetzung der Eiweißstoffe der Rotlaufbakterien

1. In den Säurehydrolysaten der somatischen Eiweißstoffe der Rotlaufbakterien wurden mittels der Papierchromatographie die folgende Aminosäuren festgestellt: α -Alanin, Arginin, Asparaginsäure, γ -Aminobuttersäure, Cystin, α - ϵ -Diaminopimelsäure, Phenylalanin, Glutamsäure, Glycin, Histidin, Leucin, Isoleucin, Lysin, Prolin, Serin, Threonin, Tyrosin, Valin und Methionin.

2. Keine qualitative Differenz in der Aminosäurezusammensetzung der haemagglutinierenden und nichthaemagglutinierenden Rotlaufstämme wurde gefunden.

Imunizační dynamika adsorbátových polyvakcin proti enzootické bronchopneumonii (chřipce) selat

Иммунизирующая динамика адсорбированных поливакцин против энзоотической
бронхопневмонии (гриппу) поросят

Imunisationsdynamik von polyvalenten Formalinadsorbatvakzinen gegen enzootische
Bronchopneumonie (Grippe) der Ferkel

V. PALEC, promováný veterinární lékař
Z ústavu mikrobiologie a imunologie Veterinární fakulty VŠZL v Brně,
přednosta prof. dr. R. Harnach, doktor veterinárních věd

Došlo dne 28. V. 1957

Úvod

Velmi důležitým problémem v chovech prasat je tč. enzootická bronchopneumonie (chřipka), která decimuje naše velkochovy. Aby se jí mohlo čelit, je nutný komplexní boj, kterým odstraňujeme celou řadu příčin, vedoucích ke vzniku enzootické bronchopneumonie (EBp). Je nutno zlepšit hygienické podmínky ustájení, zajistit biologicky plnohodnotné krmení, zlepšit výběr plemenného materiálu, chránit chovy před zavlečením nákazy a posílit je vnitřní ochranou. Nutno tudíž zajistit optimální podmínky pro organismus a zaměřit boj přímo proti samotnému původci, a to hlavně posílením odolnosti ohrožených kusů dostatečnou specifickou i nespecifickou ochranou.

Zvláště specifická imunita se dobře osvědčuje vedle jiných faktorů v boji s enzootickou bronchopneumonií selat. Nutná je ovšem souhra obou složek, tj. odolnosti zvířete a hygieny.

Omezením a zlikvidováním této nákazy vepřového bravu snížíme ztráty na selatech o 30—80 %, zvláště v podzimním, zimním a předjarním období.

Původcem EBp. je specifický pneumotropní filtrovatelný virus (*Terpeia alpha* Holmes 1948), velikosti 80—120 m μ , po centrifugaci jen 80—99 m μ . Virus byl izolován S h o p e m a L e w i s e m v USA v r. 1931 z onemocnění, nazvaného Influenza vepřů (Swine influenza), a W a l d m a n e m a K ö b e m v Německu v roce 1933 z onemocnění, nazvaného chřipka selat (Ferkelgrippe). G l ä s s e r (20) později zjistil vnímavost všech prasat — nikoliv jen selat a zavedl pro toto onemocnění označení „Schweinegrippe“.

Virus má schopnost adsorbovat se na červené slepičí krvinky a aglutinovat je. Virus je pokládán za blízký typu A — lidské chřipky (A n d r e j e v, 1).

Tato souvislost nebyla ale zjištěna u jiných kmenů (Jirán, 36). Nověji byl prokázán vedle převažujících typů shodných s typem viru Shope také virus, který se množí v kuřecích embryích, ale neaglutinuje červené slepičí krvinky [Čupík a spol. (13), Polyusik (43)].

Guljaranimu a Beveridgovi (21) se nepodařilo během epizootií pneumonických chorob prasat v roce 1949–1950 v Anglii a Austrálii ani jednou zjistit jako původce virus, který by měl vlastnosti virů skupiny „Influenza“. Izolovali však jiný filtrabilní virus, vyvolávající chronické pneumonie.

Betts (3) a Betts - Beveridge (6) potvrdili v roce 1953 tyto nálezy. Podařilo se jim izolovat rovněž virové agens s předchozím asi totožné, které nazvali „Virus Pneumonia of Pigs“; pokusně byli tímto virem vyvolány rozsáhlé pneumonie. Tento virus také neaglutinuje slepičí červené krvinky, je neschopný růstu v kuřecím embryu a množí se jen v organismu prasete.

Hjärre - Dinter - Bakos (30) izolovali v roce 1952 ve Švédsku z chronických pneumonických procesů jako původce virus tzv. enzootické pneumonie prasat. Konečně i v USA byla zjištěna virová pneumonie prasat Fultonem a spol. (17) v roce 1953.

Bednář, Dombek, Boháč a Lázníčka (10) zjistili, že v etiologii komplexu tzv. chřipkovitých onemocnění vepřů hrají velmi významnou roli pleuropneumonické organismy — borreliomycety.

Klinická vleklá forma EBp je způsobena nejčastěji teprve součinností sekundární pyogenní a komplexní mikroflóry (*Stafylococcus pyogenes albus*, *Stafylococcus pyogenes flavus*, *Stafylococcus pyogenes citreus*, *Haemophilus influenzae suis*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli intermedium*, *Escherichia coli varietas acidilactici*, *Bacterium proteus*, *Stafylococcus haemolyticus alpha*, *Stafylococcus haemolyticus beta*, *Diplococcus pneumoniae*, *Pasteurella suis septica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacterium aerogenes* aj.).

Superinfekční mikroflóra je hodnocena souhlasně s ostatními autory (Shope, Lewis, Andrejev, Hjärre, Glässer) tak, že virus, ať již aglutinuje či neaglutinuje slepičí červené krvinky, poruchou epitelů zhusta otevírá cestu pyogenním nebo i septickým bakteriím.

Imunoprofylaxe EBp

Zajištění spolehlivé imunity pomocí vhodně připravené vakciny a získání hodnotných hyperimunních sér — to jsou základní problémy imunologické praxe.

Pro aktivní imunizaci proti EBp nebylo dlouho porozumění. Nebyl vhodný materiál k výrobě vakcin a chřipkové viry byly izolovány poměrně velmi pozdě. Ihned po izolaci chřipkových virů byly na Mikrobiologickém ústavu VF zahájeny práce s výrobou a zkoušením vakcin (Harnach a kolektiv).

Selata mohou být chráněna proti EBp imunizací matek a tak vlastně mateřským mlékem přijímají dostatečné množství protilátek. Při infekci bereme v úvahu jak virus, tak i komplexní a sekundární mikroflóru. Imunizujeme-li však jen proti virovému vyvolavateli choroby, nemůže nastoupit bakteriální infekce v těle. Vlastní vleklé příznaky EBp jsou působeny hlavně touto sekundární mikroflórou, která způsobuje hromadné hynutí.

Bakteriální vakciny mají účinek jak imunizační, tak vakcinotherapeutický, především proti bakter. komplexu při chřipce, zatím co protivirové vakciny působí jen imunizačně (H a r n a c h, 28); je ovšem možno kombinovat oba druhy. Imunizace v praxi je požadována hlavně v zamořených chovech.

Při sestavování vakcin vycházel Harnach z těchto reálných zkušeností a bylo použito jednak domácích čtyř kmenů virů EBp, jednak virus + komplexní mikroflóra. Byla též připravena vakcína z komplexních a sekundárních bakteriálních kmenů, která s yellon-kaseinovou složkou vytvořila známou Harnachovu vakcínu BVE 67, zaměřenou proti polybaktériálním afekcím plicním, včetně „chřipkovým“.

Při výrobě vakcin se používá různých adjuvancií. Tak např. bylo francouzskou školou použito těchto látek: tapioky, solí kalcia, magnesia, lipidních látek, želatiny, agaru, aluminium-hydroxydu, inulinu a tanninu. My jsme použili při výrobě polyvalentní vakciny aluminium-hydroxydu a formalinu, který se dobře osvědčil i v Sovětském svazu.

Program práce byl stanoven takto:

1. Vyzkoušet imunizační dynamiku formalin-adsorbátové polyvakciny virové a virus bakteriální.
2. Sledovat vzestup HI protilátek v séru zdravých selat, jakož i po aplikaci polyvalentních formalin-adsorbátových vakcin.
3. Vyzkoušet odolnost imunizovaných selat vůči umělé intranazální infekci směsí chřipkových virů a komplexní superinfekční mikroflóry.

Sestavení ústavních vakcin

Sestava polyvalentní formalin - adsorbátové vakciny virové a virus bakteriální.

1. Složení: Polyvalentní adsorbátová virová vakcína byla složena z 5 dílů tří virů (č. 42, 47, 54) + čtyř dílů aluminium-hydroxydu + 1 dílu 1 % formalinu. Vakcína měla $\text{pH} = 8$.

2. Složení polyvalentní adsorbátové vakciny virus-bakteriální: 2,5 dílů virů, 2,5 dílů bakterií, 4 díly aluminium-hydroxydu, 1 díl 1 % formalinu.

3. Složení polyvalentní adsorbátové virové vakciny: 50 % aluminium hydroxydu 2 %, 40 % virů (směs 4 kmenů), 2 % destilované vody, 1 % formalinové vody, 1 % glykokolového pufru o $\text{pH} = 9,5$. Vakcína měla $\text{pH} = 8,4$.

K přípravě vakcin bylo použito alantoidní tekutiny infikovaných kuřecích embryí s HA titrem 1024. Alantoidní tekutina byla smíchána se směsí bakterií. Tato směs byla protřepávána 30 min. na strojní třepačce. Pak byl přidán aluminium-hydroxyd a opět třepán po 30 min. za účelem adsorbce viru na aluminium-hydroxyd.

Takto získanou směs jsme nechali stát 48 hodin při teplotě 25°C . Po dozrání jsou vakciny stočeny, lahvičky opatřeny nálepkou a dány do chladničky s teplotou 4°C , kde jsou vyzkoušeny na sterilitu. Ta se zkouší přeočkováním na běžné živné půdě a umělou intranasální infekcí myšek.

Směs bakterií, obsažená ve vakcině se inaktivuje při teplotě 75°C po dobu 30. min. a vyzkouší se její sterilita. Pak se přidává v takovém množství, aby

1 ml konečné formy vakciny obsahoval (=měl densitu) 400 milionů zárodků v 1 ml.

K přípravě bakteriální suspenze bylo použito těchto kmenů: *Stafylococcus pyogenes albus*, *St. pyogenes flavus*, *St. pyogenes citreus*, *Haemophilus influenzae suis*, *Escherichia coli*, *Bacterium proteus*, *St. haemolyticus alfa*, *St. haemolyticus beta*, *Diplococcus pneumoniae*, *Pasterella suis septica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacterium aerogenes*.

Vakcinace byla prováděna vždy 2krát, a to dávkami 3 ml v intervalu 14 dní sc. za ucho. Zároveň byla selatům za 14 dní po vakcinaci odebírána krev z ocasní věny.

Vysycení bylo provedeno tak, že každé sérum bylo zahříváno ve vodní lázni při teplotě 56° C po dobu 30 min. a pak do každé zkumavky se sérem napipetovány 2 kapky 10% suspenze červených slepičích krvinek a séra byla ponechána ve zkumavce po 24 hod. v chladničce nebo 2 hod. při laboratorní teplotě. Po této době byla séra odpipetována do sterilních zkumavek.

K HI bylo vždy použito jako antigenu viru č. 42, č. 47, č. 54, č. 55. Bezprostředně před prováděním HIT testu bylo nutno vytitrovat jednotlivé virové kmeny.

Průkaz protilátek byl prováděn Hirst-Salkovou metodou zavedenou na ústavě; je dán v kladném případě útlumem hemaglutinace; současně probíhají příslušné kontroly s červenými krvinkami, antigenem a sérem. Výsledky se odečtou za 90 minut. V případě pozitivním se vytvoří na dně zkumavky ostře ohraničený sediment, neboť protilátky v séru se váží na virus (antigen) a zabrání slepení červených slepičích krvinek.

Při negativním výsledku dochází k aglutinaci, neboť v séru již nejsou protilátky, které by se vážaly s virovým antigenem, který slepuje červené slepičí krvinky.

Vlastní pokusy

Imunizační pokusy u prasat byly provedeny u dvou skupin.

I. skupina pokusů v letním období:

- a) sledování imunizační dynamiky polyvalentní adsorbátové vakciny virové I. (3 kmeny),
- b) sledování imunizační dynamiky polyvalentní adsorbátové vakciny virus-bakteriální,

II. skupina pokusů:

- a) sledování imunizační dynamiky polyvalentní adsorbátové vakciny virové II. (4 kmeny a varianta).

Pokusy byly provedeny celkem na 30 selatech, z nich 15 sloužilo jako kontrola. Selata byla 6 týdnů stará, bílého plemene, dobrého výživného stavu. Před vlastními pokusy byla vyšetřena na celkový zdravotní stav a týden před započtím pokusů byla u nich sledována teplotní křivka. Jejich zdravotní stav byl bez nálezu a teploty v normálních mezích. Po této zkoušce byly vyzkoušeny ještě na 225 selatech v terénu.

Časový program

V první skupině plán pokusu byl proveden tak, že 5 selat bylo očkováno polyvirovým adsorbátem, dalších 5 sloužilo jako kontrola.

Druhá skupina selat celkem v počtu 15 selat byla vakcinována polyvalentním adsorbátem — vakcinou virus-bakteriální. Jako kontrola sloužilo 5 selat. Před imunizací byl proveden odběr krve od všech selat obou skupin včetně kusů kontrolních.

Po vyšetření sér na HI-protilátky, které vyznělo negativně, byla provedena imunizace zkoušenými vakcinami o dávce 3 ml sc.

Za 14 dní po imunizaci byla odebrána krev od imunizovaných selat obou skupin včetně kontroly. Zároveň byla provedena i revakcinace, a to za 14 dní po první vakcinaci.

Vyšetřením krevního séra na HIT-protilátky byly titry:

- a) u skupiny imunizovaných virovou vakcinou HIT byly negativní,
- b) u skupiny imunizovaných virus a bakteriální adsorbát byly zjištěny titry 512.

Za další 3 dny byla selata obou skupin podrobena intranazální infekci spolu s kontrolními kusy.

Infekční směs obsahovala jednak polymikrobní suspensi (použitou k výrobě polybakt. vakciny), jednak směs virů (42, 47, 54, 55).

Infekce imunizovaných selat

Infekce selat byla provedena v narkóze.

Infekční materiál byl aplikován gumovou hadičkou, nasazenou na stříkačku, v dávce 5 ml na 1 prase.

Zdravotní stav a trias byl u 4 selat skupiny a) dobrý; u 1 selete teplota stoupla 3. den na 40,5° C, 4. až 5. den byla opět normální, později však uhynulo.

U ostatních 5 selat skupiny b) očkovaných polyvirovou a bakt. adsorbátem nebyly zjištěny žádné změny.

Pitvou jednoho vakcinovaného selete (ze skupiny a) byla zjištěna bronchopneumonická ložiska na obou plicních lalocích.

Infekce kontrolních selat

Jako kontroly bylo použito 10 selat z obou kontrolních skupin, u nichž bylo zjištěno toto:

Druhý den po umělé intranazální infekci u tří selat teplota vystoupila na 40,4° C, 4. den na 40,8° C. Taktéž byl pozorován hlenovitý výtok z nosních otvorů, který se změnil 5. den ve hlenově hnisavý. Selata často kýchala, na plicích se zjistilo zastřeně vestikulární, místy bronchiální dýchání. Změny na plicích zůstaly a stejně i kašláním bylo častější. Za měsíc byla tato 3 selata poražena.

Též u dalších 20 kontrolně infikovaných selat vystoupila teplota 4. den po infekci na 41,1° C, 5. den na 41,5° C. Dech byl u nich značně zrychlený, 8. až 10. den měla teplota klesající tendenci.

Pitvou kontrolních selat byla zjištěna bronchopneumonická ložiska většího nebo menšího rozsahu, ostře ohraničená od zdravého plicního parenchymu. U dvou selat se zjistila *gastroenteritis catarrhalis acuta et haemorrhagica*, degenerace jater a dilatace srdce.

Druhá skupina pokusů

Sledování imunizační dynamiky polyvalentní adsorbátové virové vakciny II.

Složení vakciny bylo již popsáno.

Pokusy byly provedeny na 10 selatech 6 týdnů starých, 5 selat bylo kontrolních. Imunizace byla provedena zkoušenou vakcinou v dávce 3 ml sc.

Před vlastním pokusem, jakož i po každé imunizaci (celkem 2krát) byla odebrána krev. Séra byla vyšetřena na HI titr protilátek. Po dvojnásobné vakcinaci provedena umělá infekce intranazálně infekčním materiálem stejného složení jako u skupiny I.

Krevní séra vyšetřená na HI protilátky před imunizací dala výsledky negativní.

Dne 14. III. 1956 byla provedena první imunizace zkoušenou vakcinou. Dne 26. III. 1956 byla provedena druhá vakcinace a zároveň vyšetřena krevní séra na HI protilátky. Zjistilo se, že krevní séra mají titr HI protilátek 128 až 512.

Dne 9. IV. 1956 byl proveden druhý odběr krve od všech imunizovaných selat včetně kontrol. U imunizovaných selat dosahovaly HI protilátky titrů až 1 024; u kontrol bylo vyšetření negativní.

Dne 10. IV. 1956 byla provedena umělá intranazální infekce již popsanou infekční směsí v dávce 5 ml na kus v pentotalové narkóze.

Před vlastním infekčním pokusem byla imunizovaná prasata klinicky vyšetřena; nezjistily se u nich žádné změny na dýchacím aparátě; rovněž trias byl ve fyziologických mezích.

U kontrolních neimunizovaných selat bylo zjištěno: u jednoho selete vystoupila teplota 3. den na 41,2⁰ C. Klinicky byly zjištěny změny na dýchacím aparátě, 4. den byla teplota 40,9⁰ C, změny na dýchacím aparátě byly výraznější; selet začalo pokašlávat, objevoval se hlenovitý výtok z nosních otvorů a mírný otok víček. Dýchání bylo zrychlené, chuť k žrádlu snižena.

Podobné reakce byly i u druhého selete; teplota vystoupila 4. den na 41,0⁰ C, 5. den vystoupila na 41,2⁰ C, 8. den znovu poklesla.

U ostatních tří selat byla zjištěna dvojlázovost teplotní křivky. Dech byl u všech zrychlený, selata polehávala, chuť k žrádlu byla snižena. Často kašlala.

Pitvou imunizovaných selat nebyly zjištěny patologicko-anatomické změny na dýchacích orgánech.

U kontrolních selat byly zjištěny bronchopneumonické změny různě velké, ostře ohraničené od zdravé plicní tkáně, často lokalizované na obou plicních lalocích. Zpětná izolace viru EBp nebyla prováděna.

Zhodnocení pokusů a diskuse

Při sledování imunizační dynamiky tří ústavních polyvalentních formol-adsorbátových vakcín, a to 1. virové vakciny I., 2. virové vakciny II., 3. virus-bakteriální vakciny 1955, jsme zjistili, že všechny tyto vakciny podněcují organismus selat ke tvorbě protilátek. Vakciny nemají škodlivých účinků na organismus selat a jsou snášeny bez lokálních i celkových reakcí. Formalin neměl ve vakcinách dráždivého účinku; aluminiumhydroxyd se osvědčuje jako vhodné adjuvans.

Podle dosažených výsledků se potvrzuje u uvedených vakcín jejich schopnost

vyvolávat dobrou imunitu, trvající u vakcinovaných selat nejméně po dobu kritickou pro příp. vznik EBp; a prokázanou jak umělou infekcí, tak i ochranou před EBp terénní.

Vakciny byly vyzkoušeny na 30 selatech, z toho 15 sloužilo jako kontroly. Později byly znovu zkoušeny ještě na 225 selatech a běhounech.

a) U selat vakcinovaných polyvalentní formol-adsorbátovou vakcinou I. se nezjistily za 14 dní po první vakcinaci žádné HI protilátky. Za 14 dní po druhé vakcinaci vystoupily titry HI protilátek na 256.

b) U selat vakcinovaných polyvalentní formol-adsorbátovou vakcinou virové II. byly prokázány v séru imunizovaných selat za 14 dní po první imunizaci HI protilátky v titru 256. Vzestup titru protilátek za 14 dní po druhé imunizaci, tj. za 28 dní po první vakcinaci dosáhl hodnoty 512.

c) U skupiny selat imunizovaných polyvalentní formol-adsorbátovou virovou vakcinou (1956) byly prokázány v séru imunizovaných selat HI protilátky o titru 1 024 po revakcinaci.

U kontrolních selat nevakcinovaných a u selat, která dostala injekci adsorbátu s alantoidní tekutinou normálních vajec, nedosáhl titr HI protilátek ani nejnižších hodnot.

d) Všechna selata imunizovaná polyvirovým formol-adsorbátem — až na jedno — u kterého vystoupila teplota 3. dne po intranazální infekci na $40,5^{\circ}\text{C}$, nevykazovala žádné klinické změny. Rovněž pitvou nebyly zjištěny žádné patologicko-anatomické změny dýchacího aparátu, které by svědčily pro EBp. Pouze u selate, u něhož po infekci došlo k zvýšení teploty, se zjistila bronchopneumonická ložiska na obou plicních lalóciích.

U kontrolních selat neimunizovaných, podrobených infekci, byly zjištěny výrazné klinické příznaky a patologicko-anatomické změny, svědčící pro onemocnění EBp.

e) Značné potíže nám činila vepřová séra svými nespecifickými inhibitory, jejichž účinku jsme bránili jednak inaktivací sér ve vodní lázni při 56°C po 30 min., jednak vysycením dvěma kapkami 10 % červených slepičích krvinek po dobu 24 hod. v ledniče.

f) Dosavadní výsledky s vakcinací virovou a virus-bakteriální vakcinou nás opravňují k jejich kladnému hodnocení; z toho vyplývá nutnost, aby dosavadní výsledky byly ještě dále ověřeny v terénní praxi na velkém počtu prasat.

Souhrn

1. Na mikrobiologickém ústavě veterinární fakulty VŠZL v Brně byly vyrobeny polyvalentní formol-adsorbátové vakciny proti EBp enzootické bronchopneumonií selat a vyzkoušeny v nezašouřeném prostředí. Ukázaly úplnou neškodnost pro organismus zdravých selat.

2. Tyto vakciny vyvolávají po 2 podkožních injekcích v dávce 3 ml a v intervalu 14 dní vzestup specifických protilátek a vydatnou imunitu vůči přirozené i umělé infekci.

3. Vysoké titry HI protilátek byly dosaženy za 28 dní po první imunizaci (za 14 dní po revakcinaci).

4. Vydatná imunita po revakcinaci selat byla prokázána umělou intranazální směsí všech 4 kmenů viru chřipky a sekundární mikroflóry, na kterou kontrolní selata onemocněla chřipkou.

5. Na základě dosavadních výsledků pokládáme za žádoucí, aby tyto vakciny byly dále ověřeny ve velkém měřítku v terénní praxi.

*

P o z n á m k a : Do tabelárního a grafického materiálu k práci lze nahlédnouti na Mikrobiologickém ústavě Veterinární fakulty v Brně (prof. dr. Harnach).

Literatura

1. Andrejev P. N.: Nakažlivé nemoci prasat. (Brázda, Praha 1951.) — 2. Beale A. J.: A comparison of the soluble antigen production by tissues infected with preparations of extracellular and intracellular influenzae suis. (The Journal of Hygiene, vol. 52, No. 2 - 1954.) — 3. Betts A. O.: Respiratory diseases of Pigs. (Vet. Rec. 64, str. 283-288, 1952.) — 4. Betts A. O. - Beveridge W. I.: Virus pneumonia of Pigs. (Proc. XVth. Int. vet. Congr. Stockholm, 1953, Part I, vol. 1.) — 5. Betts A. O. - Whittlestone P. Beveridge W. I. - Taylor J. H.: Clinical and epidemiological aspects of virus pneumonia of Pigs. (Vet. Rec. 64, 1952.) — 6. Betts A. O. - Beveridge W. I.: Virus pneumonia of Pigs. (Proc. XVth Int. vet. Congr. Stockholm, 1953, Part II, 240.) — 7. Bieling - Heinlein: Die Grippe. (Leipzig 1949.) — 8. Blaškovič - Liebigová: Kvalita protilátek proti viru chřipky v různém intervalu po očkování vakcinou. (VI. sjezd čs. mikrobiologů, Praha 1950.) — 9. Boháč - Bednář - Lázníčka - Dombek: Nebakteriální infekční onemocnění zúčastněné na komplexu tzv. chřipky prasat. (Živ. výroba a vet. med. XXXVIII, 1955, čís. 2, 91-99.) — 10. Boháč - Bednář - Lázníčka - Dombek: Identifikace agens vyvolávajícího infekční polyserositis prasat. (Živ. výroba a vet. med. XXXVIII, 1955, čís. 2, 101-106.) — 11. Campbell R. C.: Virový zápal plic prasat - účinek choroby na rychlost růstu a zužitkování krmiv (překlad). (The Vet. Rec. 1955, vol. 67, No. 36, 661-665.) — 12. Černý L. - Menšík J.: Zoohygiena, část speciální. (Skripta, Praha 1955.) — 13. Čupík J. - Müller A. - Pokorný V.: Chřipka vepřů jako jedna z příčin hynutí selat. (Veterinářství č. 2, str. 91, 1952.) — 14. Derner A.: Účinnost yellowových vakcin při polybakteriálních infekcích prasat. (Čas. čs. vet. č. 18, 1950.) — 15. Hjärre - Dinter - Bakos: Vergleichende Untersuchungen über eine influenza-ähnliche Schweinekrankheit in Schweden und Shoppes Schweineinfluenza. (Nord. med. vet. 4, 1952.) — 16. Dmitrijev: K otázce etiologie bronchopneumonií u prasat po očkování krystalvioletovou vakcinou proti moru. (Veterinaria, 1956, č. 3, 51-52.) — 17. Fulton J. S. - Burton A. N. - Miller J. N.: Virus pneumonia in Swine. (JAVMA 123, 221, 1953.) — 18. Franěk: Zkušenosti s protichřipkovou vakcinací u jednotek I. voj. okruhu. (Voj. zdrav. listy XXV, č. 1, 1956, 4-6.) — 19. Frais: Příprava protichřipkové fenol-adsorbátové vakciny a její vyzkoušení na laboratorních zvířatech. (Dis., Brno 1951.) — 20. Glässer K.: Die Krankheiten des Schweines. (Hannover 1944.) — 21. Guljarani T. S. - Beveridge W. I.: Infectious Pneumonia of Pigs. (Nature 167, 856-857, 1951.) — 22. Harnach R.: Specifická imunoprofylaxe enzoot. bp. selat a vepřů virovými a polyvalentními vakcinami. (Veterinářství č. 2, 151, 1952.) — 23. Harnach R.: Chřipka vepřů. (Veterinářství III, č. 5, 1953.) — 24. Harnach R.: Boj proti chřipce prasat. (Vet. III, č. 8, 1953.) — 25. Harnach R.: Nakažlivé nemoci hospodářských zvířat. SZN, Praha 1953. — 26. Harnach R.: Veterinární mikrobiologie. (Skripta, Praha 1953.) — 27. Harnach R. - Hubík R. - Chvátal O.: Isolace chřipkových virů v ČSR. (Čas. čs. vet. č. 2, 151, 1952.) — 28. Harnach R. - Vařejka F.: Gama-globulin a dynamika chřipkových adsorbátů v jeho produkci. (Ref. I. konf. vet. fak. VŠZ v Brně, září 1955.) — 29. Harnach R.: Způsoby boje proti enzoot. broncho-

pneumonii selat. (Veterinářství č. 4, 1955.) — 30. Hečko: Výzkum o patogenných antigenných vlastnostiach štyroch čs. kmeňov vira chřipky ošípaných. (Dis. Brno, 1953.) — 31. Hruška K.: Chřipka vepřů. (Čas. čs. vet. 1948, 50.) — 32. Hubík R.: Isolace a studie domácích virů chřipky vepřů. (Spisy VŠV, Brno XXI, 1952.) — 33. Chváta O.: Výzkum o protilátkách proti viru chřipky Hirst-Salkovou seroneutralizační reakcí. (Dis. Brno 1950.) — 34. Jirán E.: Pokus o antigenní rozlišení viru chřipky vepřů a jejich vztah k typu A a B chřipky lidské. (Dipl. Brno 1955.) — 35. Jirků L.: Srovnávací studie adsorbátové vakciny virové a vakciny BVE 67 proti inf. bp. prasat. (Dis. Brno 1953.) — 36. Lázníčka F.: Účast pleuropneumonických organismů na etiologii chřipkových onemocnění prasat. (Vet. V, 1955, č. 7.) — 37. Petr G. - Machytka V.: O stanovení yellonu ve vakcině BVE 67. (Živ. výr. a vet. med. XXVII, 1955, č. 2, 121-124.) — 38. Pokorný V.: Nákazy vepřového bravu. (Čas. čs. vet. II, č. 1, str. 2.) — 39. Pokorný V.: Příspěvek k existenci jedinců odolných proti virovým onemocněním. (Vet. VI, 1956, str. 35.) — 40. Polyusik: Výzkumy o etiologii enzootické pneumonie selat. (Acta vet. acad. sc. Hg. 1953, III, str. 63.) — 41. Remedia veterinaria, 1949. — 42. Röhrer H.: Problém variability virusů. (Veterinářský čas., č. 2, roč. 4, 1955.) — 43. Smorodincev: K otázce etiologii, epidemiologii a specifické profylaxie chřipky. (Bratisl. lék. listy, SAV, 1956, separátní výtlaček.) — 44. Vasil - Neubert - Tirčo: Izolácia kmeňov chřipky ošípaných na Slovensku. (Vet. IV, 235, 1954.) — 45. Veverka: Výzkum o imunizační dynamice polyvalentní, fenol-adsorbátové vakciny proti chřipce vepřů. (Dis. Brno, 1952.) — 46. Zaksfelskaja Ja.: Toksičnost virusa grippa. (Moskva 1953.)

Иммунизирующая динамика адсорбированных поливакцин против энзоотической бронхопневмонии (гриппу) поросят

1. В микробиологическом институте ветеринарного факультета были изготовлены многовалентные формол-адсорбированные вакцины против ЕВр — энзоотической бронхопневмонии поросят и испытаны в незараженной среде, причем была установлена полная безвредность вакцин для организма здоровых поросят.

2. Эти вакцины после 2 подкожных инъекций в дозе 3 мл, произведенных в промежутке 14 дней, вызывали увеличение количества специфических антител и создали прочный иммунитет против естественной и искусственной инфекции.

3. Высокие титры Н1 антител были получены через 28 дней после первой иммунизации (через 14 дней после ревакцинации).

4. Прочный иммунитет, возникающий после ревакцинации поросят, был подтвержден путем искусственной внутриносовой инфекции смесью всех 4 штаммов вирусов гриппа и секундарной микрофлоры, от которой заболели гриппом контрольные поросята.

5. На основании результатов до сих пор произведенных опытов, автор считает желательным провести дальнейшую проверку этой вакцины в более широком масштабе при практическом применении на местах.

Imunisationsdynamik von polyvalenten Formalinadsorbatvakzinen gegen enzootische Bronchopneumonie (Grippe) der Ferkel

1. Im mikrobiologischen Institut der Veterinärfakultät hergestellte und dort in einem nicht verseuchten Stalle geprüfte polyvalente Formalinadsorbatvakzinen gegen enzootische Bronchopneumonie der Ferkel erwiesen sich als absolut unschädlich für den Organismus gesunder Ferkel.

2. Diese Vakzinen rufen nach zwei subkutanen Injektionen von 3 ml in einem Intervall von 14 Tagen den Anstieg von spezifischen Gegenstoffen und eine ausgiebige Immunität gegenüber der natürlichen und künstlichen Infektion hervor.

3. Ein Höchststand von Gegenstofftitern (HIT) wurde 28 Tage nach der ersten Vakzination erzielt.

4. Eine ausgiebige Immunität nach einer Revakzination von 8 Ferkeln wurde durch künstliche Intranasalinfektion einer Mischung aller 4 Grippevirusstämme + komplexe und sekundäre Mikroflora erzielt, wobei 5 Kontrolltiere an „Grippe“ erkrankten.

5. Auf Grund der biologischen Ergebnisse erachte ich es für zweckmäßig, diese Vakzinen in der Terrainpraxis zu erproben.