

SBORNÍK
ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Veterinární medicína

1-2

ROČNÍK 6 (XXXIV) – PRAHA, ÚNOR 1961

CENA 20 Kčs

Rídí redakční rada: akademik Vincenc Jelínek (předseda), gen. MVDr. Vladimír Chládek, člen korespondent SAV František Nižnánský, MVDr. Jiří Boháč, prof. MVDr. Richard Harnach, doc. MVDr. Jaroslav Dražan, prof. MVDr. Karel Šobra, MVDr. Emanuel Král, MVDr. Ladislav Zima, MVDr. Ladislav Polák, MVDr. František Lehký.
Vedoucí redaktor František Němec.

© Československá akademie zemědělských věd, Praha 1961

Obsah — Содержание — Content — Inhalt

- Jelínek V.: Veterinární medicína k pátému celostátnímu sjezdu jednotných zemědělských družstev
Ветеринария к V Общегосударственному съезду ЕСХК
Die Veterinärmedizin zum V. ganzstaatlichen Kongreß der einheitlichen Landwirtschaftsgenossenschaften 1
- Polák L.: Výsledky, docílené v ČSSR ve zvyšování živočišné výroby, zejména v chovu prasat na úseku ochrany zdraví (výťah z úvodního referátu) 9
- Příbýl E.: Úkoly výzkumu v boji proti nakažlivým chorobám prasat
Задачи научного исследования в борьбе с инфекционными заболеваниями свиней
Die Aufgaben der Forschung im Kampfe gegen die Schweineseuchen 13
- Larski Z., Bieleś P., Sury A.: Vliv krmení na vnímavost prasat k infekci virem Kloboukovy nemoci
Влияние корма на восприимчивость свиней к инфекции вирусом болезни Клобука
Einfluß der Fütterung auf die Empfänglichkeit der Schweine für die Infektion durch den Virus der Klobouk'schen Krankheit
Wpływ karmienia na podatność świń na zakażenie wirusem choroby Klobouka 19
- Kábrt J., Lebeda M., Mesároš E., Oplištil M.: Vliv vyrovnané a deficientní výživy na průběh nakažlivé obrny prasat (Kloboukovy nemoci) (Předběžné sdělení)
Влияние выравненного и дефицитного питания на ход инфекционного энцефаломиелита свиней (болезни Клобука)
The Influence of a balanced and deficient Diet on the Course of the Infectious Swine Paralysis (Klobouk's Disease) 25
- Gralheer H.: Pokusy s purifikací viru nakažlivé obrny prasat (Kloboukovy nemoci)
Опыты с чистым вирусом инфекционного паралича свиней
Experiments concerning the Purification of the Virus of the Infectious Swine Paralysis
Versuche mit Purifikation des Virus der ansteckenden Schweinelähmung 35
- Hannefeld H., Hannefeldová E.: Studie o tvorbě plaků viru nakažlivé obrny prasat (Kloboukova nemoc, těšínská choroba, Encephalomyelitis enzootica suum) na tkáňových kulturách z ledvin selat
Изучение образования бляшек вируса инфекционного энцефаломиелита свиней (Болезни Клобука, Тешенской болезни, Encephalomyelitis enzootica suum) на культурах почечной ткани поросят
Studie über die Bildung von Platten (Plaques) des Virus der ansteckenden Schweinelähme (Klobouk'schen Krankheit, Teschener Krankheit, Encephalomyelitis enzootica suum) auf Gewebeskulturen von Ferkelnieren 39
- Korych B., Patočka F., Hořejší J., Kubelka V.: Biologické vlastnosti viru I. O. vepřů kultivovaného na tkáňových kulturách stabilní linie epithelu vepřových ledvinových buněk (kmen PK)

Veterinární medicína k pátému celostátnímu sjezdu jednotných zemědělských družstev

Ветеринария к V Общероссийскому съезду ЕСХК

**Die Veterinärmedizin zum V. ganzstaatlichen Kongreß der einheitlichen
Landwirtschaftsgenossenschaften**

Akademik Vincenc JELÍNEK

Z oddělení pro patologickou anatomii a fyziologii VÚV ČSAZV v Brně

Pracovníci z oboru veterinární medicíny jsou si vědomi velkého významu pátého celostátního sjezdu jednotných zemědělských družstev, který bude řešit již historický úkol, předstihnout nejvyspělejší kapitalistické státy ve výrobě zemědělské.

Vyrábět více a lépe, a to hodnotnějších a zdravotně nezávadných živočišných produktů a také surovin pro náš spotřební a potravinářský průmysl, to jsou základní úkoly ekonomické, které zajišťují zvyšování životní úrovně pracujících. Tyto úkoly budou řešit delegáti jednotných zemědělských družstev, výkvět našich družstevních pracovníků, za účasti vedoucích představitelů politického života a socialistického zemědělství Československé socialistické republiky.

Úkolů, kterých má dosáhnout naše socialistické zemědělství na úseku živočišné výroby a které budou projednávat nejlepší představitelé naší rozvíjející se socialistické živočišné velkovýroby lze dosáhnout jen podstatným rozvojem a zvyšováním užítkovosti hospodářských zvířat. Podmínkou zvyšování užítkovosti je **ochrana zdraví zvířat**.

Vítězství socialistických výrobních vztahů na vesnici dává možnost rozvoje velkovýrobních forem ve výrobě živočišné za použití nové technologie, které vyžadují prohloubenou a zlepšenou prevenci a ochranu zdraví zvířat před nakažlivými chorobami. Je naléhavě zapotřebí, aby zákonitě předpisy obsáhly v celém rozsahu základní standardní a osvědčené formy a podmínky zdárného chovu a pěstování zvířat, které musí být závazné pro všechny pracovníky ve výrobě živočišné, poněvadž jsou základním předpokladem ochrany zdraví zvířat. Uplatnění socialistické zákonitosti na celém úseku výroby živočišné zaručí úspěchy ozdravování našich chovů při profylaxi a likvidaci nakažlivých chorob zvířecích, z nichž některé ohrožují i zdraví a životy pracujících a narušují plánovaný vzestup užítkovosti a rozvoje výroby živočišné.

Vědečtí a ostatní pracovníci z oboru veterinární medicíny mohou zaručit našim zemědělským družstevníkům, že novou organizací veterinární služby, která odpovídá vítězství socialismu v ekonomice i v nadstavbě, pomohou splnit našim zemědělským družstevníkům jejich velké úkoly ve výrobě živočišné, jak je nám ukládá naše strana a vláda.

Splnit třetí pětiletý plán v zemědělství za 4 roky, jak hrdě vyhlásila řada socialistických zemědělských podniků, stává se ústředním problémem pátého sjezdu jednotných zemědělských družstev. Je jasné, že z usnesení pátého sjezdu JZD vy-

plyne pro všechny vědecké pracovníky na úseku zemědělského výzkumu a vědy řada odpovědných úkolů. Socialismus vytváří pro rozvoj vědy a techniky takové podmínky a možnosti o jakých se vědcům v buržoazní republice nikdy ani nezdálo. Je proto čestnou povinností všech vědeckých pracovníků, aby se v tomto historickém období přelomu dějin celého lidstva postavili po bok sovětským vědcům a v těsné spolupráci se všemi pokrokovými vědci zintenzivněli svá bádání a iniciativně zaváděli do praxe ty výsledky vědy a výzkumu, které umožní našim zemědělským pracovníkům v terénu zvyšovat užitek ve výrobě rostlinné i živočišné a tím umožnit další zvýšení životní úrovně pracujících.

Veterinární lékaři a všichni ostatní pracovníci veterinární služby mají konkrétní úkoly v odstraňování závažné příčiny zaostávání naší výroby živočišné v důsledku hromadných chorob; nejdůležitějším úkolem je ozdravení našich chovů a dosažení brzké likvidace nejdůležitějších stájových chorob, to jest tuberkulózy a brucelózy. Rychlá výstavba a dovršení socialismu v našem zemědělství ukládá veterinární vědě a praxi rozvinout preventivní péči a profylaxi nakažlivých chorob hospodářských zvířat, které způsobují snižování užitečnosti a brzdí plánované zvyšování početních stavů.

V současné době se zaměřují úkoly veterinární vědy a výzkumu na komplexní řešení osmi hlavních a stěžejných úkolů: tuberkulózy, brucelózy, nakažlivé obrny vepřů, chřipky vepřů, prevence sterility, prevence chorob mláďat, výzkum léčebných prostředků, chemoterapeutických přípravků, antibiotik, očkovacích látek, které by byly dobrým profylakcím prostředkem proti hromadným nemocem zvířat, a vypracování toxikodiagnostických metod a konečně výzkum zoohygienických předpokladů v chovech hospodářských zvířat s přihlédnutím k technickému rozvoji za využití automatizace a mechanizace prací ve výrobě živočišné a za uplatnění nové technologie. V oblasti nové technologie mají veterinární lékaři v některých okresech již dobré zkušenosti s volným ustájením a využitím hluboké podestýlky, zvláště u mladého skotu. Dobrých zkušeností nabylí pracovníci z oboru veterinární medicíny v nové technologii i pokud jde o žir vepřů na trvalých podestýlkách v adaptovaných stodolách, které při operativní a vhodné prevenci veterinární služby přinášejí značné ekonomické efekty. Na četných okresech přistupuje se k řešení nové technologie i v produkci selat v klecových porodnách, od kterých očekávají veterinární lékaři menší ztrátovost a vyšší produkci selat. Komasační družstev využili namnoze veterinární lékaři k hromadným ozdravovacím akcím v našich velkochovech.

Podle rozhodnutí redakční rady Veterinární medicíny a VII odboru ČSAZV veterinárního lékařství a podle rozhodnutí ředitele Výzkumného ústavu veterinárního ČSAZV byly do předloženého slavnostního čísla Sborníku ČSAZV „Veterinární medicína“, vydaného na počest V. celostátního sjezdu JZD, zařazeny práce z mezinárodního symposia o Kloboukové nemoci (nakažlivé obrně prasat) a o sípavce prasat. Mezinárodní symposium bylo uspořádáno odborem veterinárního lékařství ČSAZV v dohodě s ministerstvem zemědělství za účasti více než sta účastníků, mezi kterými byli docent dr. H. Janovski a dr. Zdislav Larski z veterinárního institutu v Pulawách z Polské lidově-demokratické republiky, dále dr. inž. Heinz Gralheer, vedoucí chemického oddělení výzkumného ústavu Friedricha Löfflera na ostrově Riemsu, MUDr. Horst Hahnefeld a MUDr. M. Hahnefeldová, vedoucí pracovníci mikrobiologického oddělení z téhož ústavu v NDR, Ředitel veterinárně-výšetřovacího a hygienického ústavu v Jeně akademik V. Goertler, dále profesor dr. Čepurov a docent dr. Vachidov z Uzbekké vysoké školy zemědělské v Tamarikandu se omluvili a jejich zasláné referáty byly přečteny a s velkým zájmem vyslechnuty.

Na mezinárodním symposiu bylo během 3 dnů předneseno 26 výsledků vědecko-výzkumných prací, a to jak o Kloboukové nemoci, tak i o sípavce. Do slavnostního čísla Sborníku „Veterinární medicína“, vydaného na počest pátého celostátního sjezdu jednotných zemědělských družstev, je zařazeno 24 vědecko-výzkumných prací o Kloboukové nemoci, 4 vědecko-výzkumné práce o sípavce prasat, a dále referát akademika V. Goertlera z NDR, nadepsaný „Problémy ve výzkumu červenky prasat“. Mezi úvodní články je zařazen výtah z úvodního referátu vedoucího veterinárního odboru MZLVH dr. L. Poláka, který pojednává o dosažených výsledcích ve zvyšování

vání živočišné výroby zejména v chovu prasat na úseku ochrany zdraví v ČSSR, a referát předsedy VII. odboru veterinárního lékařství ČSAZV dopisujícího člena ČSAZV profesora dr. E. Příbyla, který pojednává o úkolech, výzkumu a boje proti nakažlivým chorobám prasat.

Hlavní část slavnostního čísla na počest V. sjezdu JZD tvoří práce o Kloboukově nemoci proto, že nakažlivá obrna prasat je chorobou, která přešla do světové literatury jako historická skutečnost, že tuto chorobu a její příčiny objevili vědci ČSSR v čele s akademikem Kloboukem. Zák akademika Klobouka docent dr. J. Dražan zpracoval zásadní směrnice pro využití výsledků výzkumu nakažlivé obrny vepřů k úplnému vymýcení této nákazy v ČSSR. Dražan uvádí i statistické a ekonomické hodnocení této nákazy. Podle Dražana zdědila v r. 1945 lidově demokratická republika s rozdrobenou zemědělskou malovýrobou i neutěšený zdravotní stav prasat, který našemu národnímu hospodářství způsoboval citelné ztráty. Tehdy byla nejbližší choroba nakažlivá obrna prasat, kterou byla zamořena většina chovů až do doby počínající kolektivizace. Dražan uvádí, že v r. 1950 byla nakažlivá obrna prasat zjištěna ve 14.000 hospodářstvích a ještě v r. 1952 bylo nutně poraženo nebo uhybnulo na tuto chorobu 124.000 prasat, tj. 3,2 % z celkového stavu prasat. V té době byly kromě nakažlivé obrny ještě rozšířeny další nákazy jako červenka, mor a chřipka, které způsobovaly zvláště v soukromém sektoru zemědělském značné ztráty. Nebezpečí těchto nákaz však spočívalo hlavně v té skutečnosti, že se soukromého sektoru jako ohnisek nákaz bylo nebezpečí jejich rozšíření a ohrožení prosperity chovu vepřového bravu v rozvíjející se socialistické velkovýrobě. Za takové neutěšené a nebezpečné nákazové situace bylo veterinární vědě a praxi uloženo vypracovat efektivní systém ochranných opatření proti šíření se nakažlivých chorob prasat, zejména obrny prasat a postupně tyto nákazy v našem státě úplně vymýtit. Likvidace nakažlivé obrny prasat byla nejtěžším a našim specifickým problémem, se kterým jsme se museli v té době vypořádávat v podstatě pouze na základě našich vlastních vědeckých poznatků.

Domnívám se, že je správné tvrzení Dražanova, že dosavadní výsledky s tlumením nakažlivé obrny prasat potvrzují, že československá veterinární věda i praxe během druhého pětiletého hospodářského plánu úspěšně splnily svůj úkol a úspěšně vyřešily celý systém opatření proti nakažlivé obrně prasat v podmínkách socialistické velkovýroby. V současné době je nakažlivá obrna prasat ještě problémem ve zbyvajících malochovech, v nichž v roce 1959 onemocnělo ještě (podle Dražana) 6.000 prasat, tj. z celkového stavu prasat 0,13 %. Důležité je zjištění, že v socialistických velkochovech se nakažlivá obrna prasat prakticky vůbec nevyskytuje a v našich gigantech, v nichž máme soustředěno až po 20.000 prasatech, se v druhé pětiletce nakažlivá obrna vůbec nevyskytla. Těchto úspěchů v tlumení nakažlivé obrny prasat bylo dosaženo některými preventivními opatřeními, ale hlavně masovou imunoprofylaxí, vakcinací všech prasat v zamořených a ohrožených oblastech. O tom svědčí přednesené a v tomto slavnostním čísle publikované vědecké práce, které prokazují efektivnost profylaxe proti nakažlivé obrně prasat. Stačí jen poukázat na tu skutečnost, že ještě na začátku druhé naší pětiletky bylo třeba k výrobě očkovacích látek proti obrně prasat ročně 20 až 25.000 odstávků ve váze 16—20 kg. Nyní po aplikaci vyřešených výzkumných problémů se sníží výrobní náklady na očkovací látky na $\frac{1}{10}$ původních nákladů a k výrobě nebude vůbec použito odstávků. Očkovací látky se vyrábějí již z viru pomnoženého na tkáňových kulturách. To je hodnotný příspěvek veterinární medicíny k nástupu do třetího pětiletého plánu a vyřešená prevence nakažlivé obrny prasat v podmínkách socialistické velkovýroby je dobrým příkladem správného postupu vědy i praxe pro vytváření maximální efektivnosti ochranných opatření proti nakažlivým chorobám a zajišťování podmínek pro dosahování maximální efektivnosti a vysoké produktivity práce pracovníků živočišné výroby.

Mezinárodní symposium o Kloboukově nemoci a šípacce prasat prokázalo vysokou úroveň a můžeme směle říci, že v otázkách průzkumu nakažlivé obrny prasat bylo zjištěno, že veterinární věda ČSSR stojí na nejpřednějším místě na světě. Na mezinárodním symposiu, kterého se účastnili přední badatelé na úseku Kloboukovy

choroby, byly projednány problémy biologických vlastností obrnového viru, otázky z epizootologie a klinického obrazu této choroby, dále byly projednávány také spolehlivé a standardní laboratorní diagnostické metody a diferenciace Kloboukovy nemoci od jiných chorob, postihujících hlavně CNS. V referátech a ve vědeckých pracích bylo zhodnoceno i použití imunoprophylaktických zákroků a bylo prokázáno, že po masových imunoprophylaktických zákrocích, spojených namnoze s veterinárně-hygienickými opatřeními, došlo k zvládnutí nákazových poměrů a k utlumení nákazy do té míry, že nákaza stává se v ČSSR podružnou nákazou, kterou veterinární služba plně zvládá.

Na podkladě přednesených referátů a diskusních příspěvků byla přijata v otázce nakažlivé obrny prasat následující usnesení: Konference zhodnotila přínos československé vědy v boji proti nakažlivé obrně prasat, zejména zásluhy akademika Klobouka, jehož práce objasnily etiologii, epizootologii, diagnostiku i zásady profylaxe a umožnily tak rozvoj výzkumu této nákazy jak u nás, tak v zahraničí a boj proti této naze na vědecké bázi. Konference oceňující základní objevné práce akademika Klobouka se usnáší nazývat nakažlivou obrnu prasat Kloboukovou nemocí a požádá mezinárodní organizaci, zejména mezinárodní úřad epizootický v Paříži, aby choroba označovaná jako Těšínská nebo též česká nákaza (encephalomyelitis enzootica suum) byla napříště nazývána podle objevitele etiologie „Kloboukovou nemocí“!

Kloboukova nemoc způsobovala našemu národnímu hospodářství v minulých letech největší ztráty ze všech chorob prasat v ČSR. Byla nejvíce rozšířená v malochovech. V posledních letech se podařilo výskyt zjevných onemocnění velmi podstatně snížit a prakticky ve velkochovech vymýtit. Jestliže jsme během první pětiletky evidovali v důsledku Kloboukovy nemoci roční ztrátu na 125.000 prasat, pak v roce 1959 poklesly ztráty již jen na 7.000 prasat, přičemž tyto ztráty byly soustředěny téměř výhradně v malochovech. Příznivé nákazové situace bylo dosaženo dodržováním ochranných opatření proti rozvlékání nakažliviny při porážkách nemocných prasat, soustavným preventivním očkovaním zdravých prasat proti Kloboukově nemoci a hygienickými opatřeními ve velkochovech.

I když došlo v současné době k podstatnému snížení ztrát způsobovaných klinicky zjevným onemocněním KN, zůstává tato choroba stále ještě jednou z nejrozšířenějších nákaz prasat u nás, o čemž svědčí výskyt v průměru 200 nových ohnisek nákazy během 1 měsíce. Tak vysoký přírůstek nově evidovaných ložisek nákazy dokumentuje značnou promořenost v terénu, která byla prokázána i podrobným vyšetřováním prasat ve třech okresech českých krajů. Tak v okrese Čáslav prodělalo např. 20—23 % z namátkově vybraných prasat inaparentní formu nemoci již v prvních dvou měsících života. V okrese Olomouc bylo v témže věku nakaženo dokonce až 30 % běhounů. Výsledky tohoto vyšetření svědčí tedy ještě pro stále značné rozšíření nakažliviny v terénu a poukazuje na nutnost důsledného provádění všech preventivních a profylaktických opatření právě v tomto období, které je výhodné pro brzkou likvidaci nákazy na celém území našeho státu.

Konference proto v zájmu vymýcení nákazy doporučuje:

a) Vypracovat směrnice, podle nichž by bylo dosaženo likvidace ztrát během třetí pětiletky.

b) V zájmu prevence Kloboukovy nemoci i ostatních nákaz dodržovat důsledně opatření, aby všechna nemocná prasata byla porážena jen na sanitních porážkách, které je třeba k tomuto účelu řádně vybavit, aby se staly skutečně sanitárním filtrem v boji proti nákazám.

c) V boji proti Kloboukově nemoci uplatnit zásadně v okresech i se sporadickým výskytem nákazy důsledné očkování všech selat v období již před odstavem.

d) K umožnění profylaxe v potřebném rozsahu doporučuje se zavést do praxe sdruženou očkovací látku proti července i Kloboukově nemoci a v nejkratší době prověřit účinnost perorální vakcinace apatogenním živým virem KN.

e) Konference doporučuje věnovat i ve třetí pětiletce zvýšenou pozornost výzkumu Kloboukovy nemoci a studium zaměřit zejména k otázkám patogenese, promoření terénu a systematické a prohloubené účinnosti vakcinace.

f) Konference doporučuje zřídit v pobočce Biovety v Opavě středisko pro výzkum Kloboukovy nemoci.

Druhá náказа, kterou se zabývali vědci pracovníci na mezinárodním sympoziu, byla sípavka prasat, která se v posledních letech u nás i v cizině značně rozšířila. Správně uvedl kandidát veterinárních věd dr. Čanecký, že je třeba naše zemědělské pracovníky ve výrobě živočišné obeznámit v první řadě s příznaky této nákazy, poněvadž je překvapující, jak klinicky již zjevné onemocnění sípavkou prasat uniká pozornosti našich chovatelů a nákaza se často diagnostikuje až v době, kdy již je v celém chovu rozšířená a patologické změny jsou již v takovém stupni vývoje, že jsou již ireparabilní. Je nutno proto klásti důraz na veterinární osvětovou činnost, ve které se musí naši zemědělské pracovníci ve výrobě živočišné obeznámit nejen s příznaky, ale i se zhoubnou účinností této nákazy a s jejím velkým nebezpečím pro naše chovy, zvláště někdy svým skrytým průběhem; musí se seznámit s tou skutečností, že sípavka prasat zdecimovala plemenné chovy v celých oblastech některých severských států již před II. světovou válkou. V té době např. muselo východní Prusko s obrovskou národohospodářskou škodou zlikvidovat všechny plemenné chovy prasat, aby se sípavky zbavilo.

Sípavka prasat byla u nás známá jako samostatná nosologická jednotka již v buržoasní republice; byla však často zaměňována za jiné nakažlivé choroby zvláště chřipku (nejčastěji u zakrslíků). V pokročilých případech atrofie a deformace obličejové části hlavy (prohnutím, stočením rypáku apod.) byla tato afekce zaměňována za chondrodystrofii, achondroplasií anebo za dysontogeneze označované jako „*contorsio sive curvatura maxillae superioris congenita*“ anebo za *campylognathii*.

Je proto velmi důležitá diferenciální diagnostika sípavky od celé řady patologických afekcí v dutině nosní jiné etiologie, jak tuto na sympoziu vyzvedl Prokůpek; tento od sípavky rozlišuje hlavně tyto afekce:

a) Katarální rinitidu s benigním průběhem, při které nedochází k atrofii skořep a ke změnám v konfiguraci obličejové části hlavy.

b) Rinitidu s cytomegalií a inklusivními tělísky v epitelálních buňkách sliznice nosní, při které nedochází k atrofii skořep nosních.

c) Nekrotická rinitida, jejíž původcem je bacil nekrózy; při této chorobě podléhají tkáně dutiny nosní nekrotickému rozpadu a výtok z dutiny nosní má odporný zápach (ozaena).

d) Osteodystrophia fibrosa je choroba v dutině nosní, jejíž počáteční rozlišení od sípavky může činit obtíže. Kýčání, svědění krajiny nosní a sípavé šelesty se při ní nepozorují a nedochází k atrofii skořep. Deformace postihuje všechny kosti hlavy, takže prase nabývá hroší podoby. Kostí jsou zesílené, demineralizované a přeměněné ve vazivovou tkáň.

e) Malformace vrozené a získané.

V předneseném referátu na sympoziu zhodnotil Čanecký ekonomický význam sípavky prasat. Při hodnocení ekonomiky sípavky prasat použil Čanecký následujících parametrů:

1. Předčasné vyřazování plemenic stížených sípavkou, a to na jatky, a v důsledku toho snížení průměrného stáří plemenných zvířat.

2. Zvýšení výrobních nákladů u zvířat stížených sípavkou v důsledku snížení masné produkce a vyšší spotřeby krmiv na jednotku přírůstku.

3. Snížení produkce selat nejčastěji v důsledku interkurentních chorob v chovech zamořených sípavkou; v těchto chovech zvyšuje se úmrtnost selat na 7,5 %.

4. Zvýšení nákladů vynaložených na likvidaci sípavky prasat a znemožnění ekonomického využití investic a účelného použití mechanizace ve výrobě živočišné.

Čanecký uvádí, že k 15. dubnu t. r. bylo zamořeno sípavkou 383 zemědělských podniků a vypočítává ekonomické ztráty v našem zemědělství. Domnívá se, že při hodnocení každé nákazy a tudíž i sípavky prasat musí veterinární ekonomika komplexně hodnotit nákazu postižené chovy zvířat a vedle hodnocení ztrát ve vlastních chovech stížených určitou nákazou musí se přihlídnout ke genotypické potenci postiženého chovu zvířat, ke konstituci a z této vyvěrající hereditární nebo congenitální

resistenci, dále nutno analyzovat všechny vlivy prostředí (fyzilogické i patologické faktory prostředí), ve kterém zvířata žijí a ve kterém se naše socialistické velkochovy formují. To znamená, že veterinární ekonomika musí přihlížet k výrobní technice našich velkochovů hospodářských zvířat, k vlivům přírodních podmínek výrobních na živočišnou výrobu, dále musí přihlížet ke klimatickým faktorům, k vlivům vegetačních prvků, k organizaci výrobní techniky, k odtahům všeobecně zoonologickým a epizootologickým, které jsou dány kupř. krájinými typy, které jsou součástí geografické patologie a jsou vymezovány teritoriálním rozdělením přírodních ohnisek každé nady, a které jsou zakladem k vytvoření nosogeografie každé nady a tudíž i sítavky prasat.

Při provádění preventivní, léčebné a veterinární hygienické činnosti nutno bezpodmínečně vycházet z materialistické biologie I. V. Mičurina a z materialistické fyziologie I. P. Pavlova, podle kterých tvoří organismus a prostředí dialektickou jednotku. Nelze proto při řešení veterinární ekonomiky sítavky vepřů vycházet a přehlízet v odtazkách prevence, léčebné a veterinární zdravotní činnosti jen k organismu, ale současně nutno přihlížet k mnohotvárným poměrům prostředí, má-li veterinární ekonomika vycházet ze správných hledisek.

Na podkladě přednesených referátů a diskusních příspěvků vědeckých badatelů, kteří se zúčastnili mezinárodního symposia, bylo přijato v odtaze sítavky prasat následující usnesení:

Na konferenci byla projednána problematika sítavky v našem státě, způsob boje proti sítavce, navržená opatření k ozdravení zamorených chovů prasat a vylíčení úkolů ve výzkumné této nady.

Sítavka prasat se v našich chovech ve větší míře rozšířila po druhé světové válce. V současné době (i když nejsou k dispozici přesné údaje) je skutečně rozšíření této nady značně větší než vykazují statistická data. V důsledku nynějšího rozšíření sítavky dochází ke značným nárůstům hospodářských zvířat, které jsou způsobovány zhodnocováním plemených chovů, špaliním využíváním krmiv a horší schopností růstu nemocných prasat, zvyšujícím hygiením selat, zvyšováním předispozici pro nemoci dýchacích cest a konfiskaci masa. Prasata onemocnělá sítavkou potřebují v průměru o 1½ kg škrbových hodnot na 1 kg přírůstku více než prasata zdravá. Výkrm nemocných prasat se prodává v průměru o 1 měsíc a celková spotřeba krmiv je asi o 150 kg jaderných krmiv vyšší než u prasat, která sítavkou postížena nejsou. Při onemocnění 50.000 prasat dochází tedy asi k znehodnocení již 5000 tun krmiva. Rozšíření sítavky zvyšuje nady na výrobu masa, snižuje produktivitu prase lidí a způsobuje značné poškození při ozdravování nakazených chovů, které se zveštlují úměrně s rozšířením nady.

Vzhledem k těmto nárůstům hospodářským škodám a značnému rozšíření nady v chovech konference nadechne doporučení zahájit ihned 2—3letou ozdravovací akci, která bude spočívat:

1. v trvalé prověrce zdravotního stavu všech plemených chovů a povolování produkce plemených zvířat jen z chovů, které získaly osvědčení, že jsou prostá sítavky;
2. z užitkových chovů vyřadit do šesti měsíců (konce roku 1960) všechny prasnice a kance postižené sítavkou a v souladu s výrobními úkoly je co nejdříve vyřadit na porážku;
3. do užitkových chovů zařazovat k plemenitbě jen zdravé prasnice bud z vlastního chovu při nízkém zamoreni; při silném zamoreni pak přesunem z chovu zdravých. Tato opatření nutno dodržet i u tak zvaných přeměných prasnic a bude v práci vyžadovat kooperaci družstev zamorených s hospodářskými nezamorenými, přitom ale chovatelský úspěšnými. Zdravé prasnice a jejich potomstvo je nutno chovat odděleně od zvířat nakazených. Tuto akci, jejíž základem bude ozdravení zamorených chovů, je nutno využít současně k zlepšení hygienických podmínek při ustájení prasnic i selat, k celkovému ozdravení prasat a k celkovému zveštlění užitkových chovů.

4. ozdravení silně zamořených chovů si vyžádá na přechodnou dobu množství ustájovacích prostorů, zejména jednoduchých bud, které si mohou zemědělské závody pořídit ve vlastní režii. Aby bylo možno využít co nejvíce provizorních izolovaných bud, bude nutno ozdravovací akce soustředit hlavně na teplejší roční období;

5. k zajištění ozdravovací akce bude nutno rozvinout potřebnou propagační kampaň;

6. plemenářsky velmi hodnotný materiál je nutno postupně ozdravit tak, aby byly zachovány linie zdravého potomstva, a to zejména odstavem selat ihned po narození, a jejich odchov u zdravých prasnic;

7. k diagnostice sípavky využít v daleko větší míře prohlídek poražených zvířat na jatkách;

8. na úseku výzkumném věnovat v třetí pětiletce pozornost zejména studiu etologie, diagnostiky a ozdravovacích postupů a na tyto úkoly soustředit potřebný počet pracovníků.

*

Literatura k jednotlivým pracem nemohla být zařazena proto, že rozsah prací věnovaných konferenci značně překročil stanovený rozsah čísla. Literatura je k nahlédnutí u autorů.

*

Pracovníci z oboru veterinární medicíny přejí pátému celostátnímu sjezdu JZD a celé třídě družstevních zemědělců mnoho zdaru a úspěchu v jejich sněmování. Realizované usnesení V. sjezdu JZD bude znamenat historický mezník ve vývoji našeho socialistického zemědělství, neboť položí základy krásné a šťastné budoucnosti našeho národa v komunistické společnosti.

S o u h r n

1. V předložené práci byl zhodnocen politický a odborný význam pátého celostátního sjezdu jednotných zemědělských družstev.

2. V práci byl podán přehled o vědecko-výzkumných úkolech veterinární vědy v Československé socialistické republice.

3. V práci byly zhodnoceny výsledky výzkumu 24 vědeckých prací o Kloboukové nemoci (encephalomyelitis enzootica suum), přednesených na mezinárodním sympoziu a publikovaných ve slavnostním čísle Sborník ČSAZV „Veterinární medicína“ na počest V. celostátního sjezdu JZD.

4. V práci bylo uveřejněno usnesení o Kloboukové nemoci (encephalomyelitis enzootica suum), přijaté na mezinárodním sympoziu, které dává směrnice pro vymýcení této nákazy na území Československé socialistické republiky.

5. V práci jsou nastíněny základní směrnice pro komplexní hodnocení nálezů z hlediska veterinární ekonomiky.

6. V práci je uvedena diferenciální diagnostika sípavky prasat.

7. V práci je uvedeno usnesení mezinárodního symposia o sípavce prasat.

Ветеринария к V Общегосударственному съезду ЕСХК

1. В предложенной работе оценено политическое и специальное значение Пятого общегосударственного съезда единых сельскохозяйственных кооперативов.

2. В работе дан обзор научно-исследовательских заданий ветеринарной науки в Чехословацкой Социалистической Республике.

3. В работе были оценены результаты исследования 24 научных докладов о болезни Клобука (Encephalomyelitis enzootica suum), прочитанных на Международном симпозиуме и опубликованных в юбилейном номере Сборника ЧСАХН - Ветеринария в честь V Общегосударственного съезда ЕСХК.

4. В работе публикуется резолюция о болезни Клобука (*Encephalomyelitis enzootica suum*), принятая на Международном симпозиуме, дающая указания для уничтожения этой болезни на территории Чехословацкой Социалистической Республики.

5. В работе намечены основные указания для комплексной оценки инфекционных болезней с точки зрения ветеринарной экономики.

6. В работе приведена дифференциальная диагностика атрофического ринита свиней.

7. В работе приведена резолюция Международного симпозиума об атрофическом рините свиней.

Die Veterinärmedizin zum V. ganzstaatlichen Kongreß der einheitlichen Landwirtschaftsgenossenschaften

Die Arbeit enthält:

1. eine Würdigung der politischen und fachlichen Bedeutung des V. ganzstaatlichen Kongresses der einheitlichen Landwirtschaftsgenossenschaften (ELG),

2. eine Übersicht über die Forschungsaufgaben der Veterinärwissenschaft in der Tschechoslowakischen sozialistischen Republik,

3. eine Auswertung von 24 wissenschaftlichen Arbeiten über die Klobouk'sche Krankheit (*encephalomyelitis enzootica suum*), die auf dem internationalen Symposium zum Vortrag kamen und in der Festnummer der Publikation der tschechoslowakischen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften Veterinärmedizin, gewidmet dem V. ganzstaatlichen Kongreß der ELG, veröffentlicht wurden,

4. die vom internationalen Symposium angenommene Resolution über die Klobouk'sche Krankheit (*encephalomyelitis enzootica suum*), enthaltend Richtlinien zur Tilgung dieser Seuche auf dem Gebiete der Tschechoslowakischen sozialistischen Republik,

5. ein Entwurf grundlegender Richtlinien zur komplexen Beurteilung von Seuchen vom Standpunkt der Veterinärökonomik,

6. die Differenzialdiagnostik der Schnüffelkrankheit der Schweine,

7. die Resolution des internationalen Symposions über die Schnüffelkrankheit der Schweine.

Výsledky docílené v ČSSR ve zvyšování živočišné výroby, zejména v chovu prasat na úseku ochrany zdraví

(Výtah z úvodního referátu.)

MVDr. Ladislav POLÁK, Praha

Úloha našeho zemědělství a živočišné výroby je zvláště významná proto, že rozvoj socialistické společnosti je podmíněn nutným zajištěním vhodné a stále kvalitnější výživy lidu. Proto se v uplynulém období výrazně uplatňovala snaha po kvantitativním a kvalitativním rozvinutí produktivnosti našeho zemědělství na všech úsecích jeho výroby na úroveň odpovídající potřebám racionální výživy lidu.

Při hodnocení výsledků ve zvyšování živočišné výroby v naší socialistické republice vidíme rychlý růst mechanizace a automatizace, který pronikavě snižuje potřebu těžké a namáhavé fyzické práce a klade stále větší nároky na práci duševní. Naše rozvíjející se zemědělská velkovýroba stále zřetelněji a rychleji zajišťuje plnohodnotnou výživu všeho obyvatelstva vyšším podílem lehce stravitelného masa při možnosti výběru jeho různých druhů. Také podíl lehce stravitelných tuků, především másla, a větší množství zeleniny, ovoce, mléka a vajec výrazně sleduje požadavky základních podmínek zdraví pracujícího lidu a rozvoje mladé generace.

Spotřeba masa činila u nás v roce 1936 v průměru na jednoho obyvatele 30,4 kg a v roce 1958 již 51 kg. Z celkového množství spotřebovaného masa připadalo na jednoho obyvatele vepřového masa v předválečných letech 11 kg a v roce 1956 již 23 kg. Spotřeba vepřového masa stoupla tedy za posledních 20 let více než dvojnásobně. Během 3. pětiletky se zvýší zemědělská výroba nejméně o 21 % a na 1 ha zemědělské půdy se počítá s produkcí 175 kg živé váhy masa včetně jatečné drůbeže, 730 l mléka a 407 vajec při celkovém zvýšení produktivity práce v zemědělství o 50 % proti plánu na rok 1960.

Z historie našeho chovu prasat vidíme, že 2. světová válka jej v jednotlivých oblastech republiky různě ovlivňovala. Do historických zemí bylo dováženo jednostranně vyšlechtěné bílé ušlechtilé prase, které nepříznivě ovlivnilo zdravotní stav našich chovů. Slovensko pak trpělo úplným nedostatkem plemenného materiálu, který rovněž zhoršil celkový jeho chov. Drancování našich chovů fašistickými okupanty mělo za následek pokles stavu prasat, téměř na úroveň z roku 1921. Stav prasat v celém státě klesl ze 3,712.428 kusů ke dni 1. července 1938 na 2,125.764 ke dni 1. července 1945, to znamená pokles asi o 1,500.000 prasat, z toho v českých krajích o 1,015.588 kusů a na Slovensku asi o 50 % stavu z roku 1938. Tato skutečnost měla samozřejmě vliv i na snižování výroby jatečných prasat pro veřejné zásobování.

Snahou naší první poválečné vlády bylo proto odstranit škody, způsobené našemu národnímu hospodářství válečnými událostmi.

V zemědělské výrobě byla situace pro roztržičnost do statistik soukromých malovýrobních hospodářství velmi obtížná. Teprve po únorovém vítězství našeho pracujícího lidu v roce 1948 byly položeny pevné základy k socialistické výstavbě našeho hospodářství. Strana a vláda uskutečnila řadu zásadních opatření, z nichž pro rozvoj chovu prasat bylo důležité usnesení vlády ze dne 25. října 1948 o zřizování velkovýkrmenných prasat v socialistickém sektoru. V souladu s tímto opatřením byl zajišťován potřebný počet a zvyšování stavů plemenných prasnic a kanců s přihlédnutím ke zvýšeným užitkovým vlastnostem. Za neustálé péče strany a vlády byla budována plemenářská a chovatelská hospodářství v chovu prasat, takže jejich počet stoupl v roce 1958 na 385 s produkcí 16.018 plemenných prasat, což činí 60,1 % z celkové produkce plemenného materiálu. Stav prasat ze 2.565.901 kusů v roce 1948 se k 1. 1. 1960 zvýšily na 5.686.747 a prasnic z 295.247 na 521.100 kusů, při průměrném odchovu 9,08 selat na 1 prasnici v roce 1952 a na 11,55 v roce 1959. V letech 1930 až 1936 odchovalo se na 1 prasnici nad 6 měsíců pouze 8,99 selat. Vepřového masa bylo v roce 1936 vyrobeno 295.473 tun, v roce 1949 299.133 tun a v roce 1958 už 542.431 tun.

Na tomto rozvoji kromě práce našich chovatelů a zootechniků se nemalou měrou podíleli svou účastí a aktivitou i veterinární lékaři. Zdůrazňujeme, že hospodárnost chovů hospodářských zvířat nezávisí jen na zachování plánovaného počtu, nýbrž, že především vyžaduje zdravé a plodné jedince, zdravé celé chovy a soustavné, vědecky domyšlené a cílevědomé řízené zvelebování a rozšiřování. Všichni pracovníci naší služby jsou si plně vědomi toho, že bez zajištění zdravotního stavu hospodářských zvířat nemůže být jejich chov hospodárny a že nemůže být také zachován požadovaný pravidelný a plánovaný rytmus výroby.

Jsem toho názoru, že v soc. velkochovech je správné, rozumnější i hospodárnější bojovat proti nemocem preventivně, než přicházet s kurativní intervencí již k nemocným zvířatům. To však vyžaduje kvalitativní přeměnu celé organizace a způsobu práce veterinárních lékařů. Z pasivního činitele, který byl volán ke kurativním zásahům, stává se v našem státě aktivní, pokrokový, socialistický veterinární lékař, který prvořadě řídí plánovitě komplexní veterinární prevenci v chovech. Nová organizace služby proto směřuje k tomu, aby se stala vysoce organizovanou, specializovanou složkou, která ve spolupráci s pracovníky státních statků, družstevníky a ostatními odborníky bude nejen chránit zdraví hospodářských zvířat, ale i zajišťovat růst intenzity výroby a produktivity práce v našem zemědělství.

V první etapě po osvobození v květnu 1945 byl vypracován plán na zdolání tzv. „válečných nákaz“: vozňovky, hřebčí nákazy, vztekliny a svrabu, který byl úspěšně zakončen jejich likvidací. V celé službě byla dále zintenzivněna opatření k likvidaci slintavky a kulhavky, k omezení chřipky a Kloboukovy nemoci, které se u nás za fašistické okupace nežádoucně rozšířily.

Nákazová situace v našich chovech ve srovnání s minulými léty se podstatně zlepšila.

Na červenku v roce 1952 uhynulo nebo bylo nutně poraženo 31.493 prasat, v roce 1956 11.081 a v roce 1959 již jen 2.337. Při srovnání s rokem 1958 byly ztráty v min. roce nižší o 39 %, bylo však provedeno o 41,8 % více očkovacích úkonů. Proti července jich bylo v roce 1959 celkem provedeno 7.406.194.

U Kloboukovy nemoci činily ztráty v roce 1952 celkem 124.417 kusů, v roce 1958 20.346 a v roce 1959 již jen 7.091 kusů. Snížil se i počet ohnisek. Tak v průběhu roku 1958 bylo během 14denního období maximálně zamořeno 2.123 dvorců, zatímco v roce 1959 jen 704 dvorce. Při ochranném očkování bylo provedeno v roce 1959 2.788.700 úkonů.

Mor prasat zůstává ve srovnání s rokem 1958 přibližně na stejné výši, i přesto, že jen v českých krajích se zvýšil počet profylaktických úkonů o 89 %. V roce 1958 bylo provedeno 1.248.429 úkonů a v roce 1953 3.752.241. Lepší výsledek nepříznivě ovlivnil výskyt moru v jedné velkovýkrmně.

Sípavkou onemocnělo v roce 1959 5.231 prasat.

Aujeszkýho choroba byla zjištěna u 2.267 kusů.

K lepšímu pochopení snahy o zajištění dobrého zdravotního stavu zvířat uvedu několik dalších ukazatelů za rok 1959, ve kterém bylo provedeno:

tuberkulací	4,972.644 ks
vyšetření krevních vzorků na brucelózu	2,317.411
ochranná vakcinace proti slintavce u	1,342.740
profylaktických úkonů proti moru drůbeže	21,596.430
diagnostických vyšetření u skotu na mastitidy, trichomoniasis, vibriózu a helmintózy	377.431
diagnostických vyšetření u prasat	344.683
u drůbeže	9,389.899
léčebných zákroků infekčních, porodnických a gynekologických, interních, parazitologických a chirurgických	5,973.743

Uvedl jsem jen některé údaje. Celkem pak bylo provedeno pracovníky veterinární služby 69,797.031 úkonů, přičemž na jednu veterinární dobytčí jednotku připadlo průměrně 6,12 úkonů a na jednoho pracovníka za rok 21.273 úkonů.

Kromě diagnostické, profylaktické a léčebné činnosti bylo v českých krajích veterinárními lékaři předneseno 33.616 přednášek a publikováno 2.392 článků. Veterinární lékaři se zúčastnili celkem 26.316 schůzí v JZD a ostatních zemědělských závodech. Z uvedeného vyplývá značné zatížení a vysoká produktivita práce celé veterinární služby, která ovlivňuje dosavadní úspěchy v naší živočišné výrobě.

Ve 3. pětiletce dosáhne se vysokého stupně komplexní mechanizace a automatizace i na úseku zemědělské výroby, která se nemalou měrou bude podílet na vytvoření podmínek pro postupný přechod ke komunismu.

Je zapotřebí si uvědomit, že nejde jen o prostý rozvoj techniky a novou technologii v živočišné velkovýrobě, ale že jde o nástup do období nové technické revoluce, která velmi podstatně změní nejen podmínky materiální výroby, ale i existenční podmínky lidské společnosti vůbec.

Při zajišťování ochrany zdraví našich velkochovů nemůžeme ve veterinární medicíně již nadále jít takovými cestami, které vyhovovaly a odpovídaly malovýrobním způsobům. Musíme především prosazovat zavádění nejnovějších vědeckých poznatků světové úrovně. To ovšem vyžaduje potřebnou organizaci služby, její specializaci a změnu celého jejího charakteru jak v provozní praxi, tak i ve vědecké práci. Je třeba hledat, zkoumat, ověřovat další nové formy práce, využívat nových objevů vědy a techniky a široce za pomoci socialistického soutěžení rozvinout zlepšovatelé hnutí.

Přechod k novým formám veterinární práce musí znamenat rovněž její zvýšenou aktivitu, kvalitativní přeměnu a zavedení, novým velkovýrobním podmínkám odpovídající, profylaktická opatření.

Referáty přednesené na sympoziu o Kloboukové nemoci i celé jednání jistě přispějí i k řešení uvedených úkolů.

I když ve výzkumu Kloboukovy nemoci je jistě dosti otázek neobjasněných, vytvořili jsme v posledních letech v praxi již podmínky pro úplné vymýcení této nákazy. Z hlediska potřeb praxe však bude třeba urychleně zhodnotit a dořešit zejména nové imunoprofylaktické metody a vyjasnit některé otázky epizootologické tak, aby veškerá opatření proti této nákaze mohla býti navrhována jen na základě dobrých znalostí celé problematiky Kloboukovy nemoci a aby soubor všech opatření přitom odpovídal novým velkovýrobním podmínkám.

Úkoly výzkumu v boji proti nakažlivým chorobám prasat

Задачи научного исследования в борьбе с инфекционными заболеваниями свиней

Die Aufgaben der Forschung im Kampfe gegen die Schweineseuchen

Dopisující člen ČSAZV prof. MVDr. Emil PŘIBYL
předseda odboru veterinárního lékařství ČSAZV, veterinární fakulta, Brno

Jedním z předních úkolů výzkumu je ochrana a zajišťování zdraví prasat, které v podmínkách velkochovů a nové technologie chovu prasat je jedním ze základních předpokladů rentability chovu. Právě ve velkochovech prasat se nejúčinněji uplatňují základní zásady prevence chorob, tj. správnou výživou a vytvářením vhodného zevního prostředí. Chřipka prasat je výstižným příkladem choroby, jejíž vznik, průběh a ztráty, které vyvolává, i metody ozdravení úzce souvisí s podmínkami ustájení a výživy.

Metody zdolávání hromadných onemocnění prasat jsou založeny na výsledcích výzkumu ve vztahu k etiologii, symptomatologii a diagnostice, profylaxi a prevenci. Mnoho bylo již objasněno a také se účinně uplatnilo při zajišťování zdravotního stavu prasat ve velkochovech, četné problémy vyžadují dalšího řešení. V dalším uvedu ve stručném přehledu, jaké jsou bezprostřední úkoly výzkumu v boji proti některým nakažlivým chorobám prasat, tj. Kloboukově chorobě (nakažlivá obrna prasat, *encephalomyelitis enzootica suum*) a chorobě Aujeszkého, jakožto virovým chorobám, jichž původci mají převážně neurotropní vlastnosti, dále chřipce prasat a virové pneumonie, jichž původci mají převážně pneumotropní vlastnosti, moru prasat jakožto virovému onemocnění s převážně septikemickým charakterem a ko-nečně sípavce (*rhinitis atrophicans infectiosa suum*), jejíž etiologie není dosud zcela objasněna.

Tak jako jsou rozdílná virová onemocnění prasat, tak rozdílné jsou přirozeně i metody ochrany a zdolávání. I když u některých těchto viros jsou vypracovány účinné metody imunoprofylaxe, jsou nezbytným předpokladem pro zábranu, potírání a vymýcení virových nákaz u prasat i obecná veterinárně zdravotní opatření. Přitom je rozhodující zejména způsob infekce a biologické vlastnosti původce nákazy.

Kloboukova choroba (nakažlivá obrna prasat, *encephalomyelitis suum*)

Tato choroba, objasnění její etiologie, prozkoumání biologických vlastností viru, patogenese, klinická, patologicko-anatomická a histologická diagnostika a možnosti imunizace, zůstane navždy spojena se jménem akademika Antonína Klobouka. Výzkumem této choroby zabýval se akademik Klobouk téměř 30 let a výsledky jeho

soustavně prováděných objevných prací poskytly základ pro další výzkum této choroby našim i zahraničním vědeckým pracovníkům.

Pokud jde o patogenezi a způsob infekce, ukazuje se, že za přirozených podmínek infekce lze přičíst drahám nervu olfactoriu jako vstupní bráně infekce jen podřadný význam. Mnohem pravděpodobnější je možnost orální infekce, jak to prokázal Klobouk již v roce 1935 v publikaci „K otázce perorální infekce vepřů orgány z vepřů obrnou nemocných“.

Při Kloboukově chorobě lze počítat s obdobou patogenese jako při poliomyelitidě u člověka. S a b i n v poslední době zastává názor, že poliomyelitida vzniká po orální infekci s počátečním množením viru v epiteliálních buňkách zažívacího ústrojí. Odtud proniká virus do regionálních lymfatických uzlin, kde se může pomnožit a proniknout do oběhu krevního. Z krve je resorbován buňkami RES a jiných tkání, které představují centra extraneurálního pomnožení viru. Teprve při dostatečném pomnožení viru v mimonervových centrech dojde k infekci CNS, a to cestou invaze do vegetativních periferních ganglií.

Výsledky výzkumu Kloboukovy choroby budou předneseny v dalších referátech. Jsou zaměřeny k biologickým vlastnostem viru Kloboukovy nemoci, k metodám imunoprofylaxe a diagnostiky.

I když nakažlivá obrna prasat je v ČSSR od roku 1952 na zřetelném ústupu, a vyskytuje se jen sporadicky, v důsledku systematické imunizace a změnou podmínek v chovech prasat přechodem na formy živočišné velkovýroby, zasluhuje i další pozornosti ve výzkumu. Bude nutno pokračovat především ve výzkumu biologických vlastností viru nakažlivé obrny prasat, množeného na tkáňových kulturách, dále využít viru z tkáňových kultur k přípravě účinných vakcín inaktivovaných, sledovat možnosti přípravy avirulentní živé vakcíny a konečně vypracovat metody serologické diagnózy.

Aujeszkého choroba (bulbární paralýza pseudorabies)

Toto onemocnění se v posledních letech rozšířilo v některých oblastech Slovenska, v ostatních krajích ČSSR je výskyt méně častý. Zavinuje hospodářské ztráty hromadným hynutím selat, občasným hynutím odstavčat a prasat ve výkrmu i ztrátami na plemenných zvířatech (potraty u prasnic). Výskyt Aujeszkého nemoci u skotu, ovcí a kozešinových zvířat je ojedinělý.

Klinické příznaky Aujeszkého choroby se velmi podobají příznakům nakažlivé obrny vepřů. Diagnóza Aujeszkého choroby se provádí na VVS biologickým pokusem na králících, diferenciální diagnóza infekční obrny vepřů a Aujeszkého choroby histologickým vyšetřením centrálního nervstva je dobře propracována.

Ochranné očkování hyperimunním koňským sérem, rekonvalescentním sérem z prasat, která prodělala onemocnění, a konečně i adsorbátovou orgánovou vakcínou nemá jednoznačné a uspokojivé výsledky.

K vypracování účinných metod včasné diagnostiky, ochrany a postupné likvidace Aujeszkého choroby je nutno, aby výzkum sledoval zejména tyto problémy:

a) epizootologii Aujeszkého choroby zejména se zřetelem na zjišťování rezervoárů viru,

b) patogenezi Aujeszkého choroby u prasat a jiných druhů hospodářských zvířat,

c) zdokonalení diagnostiky Aujeszkého choroby sérologickým vyšetřením a izolací viru na tkáňových kulturách,

d) přípravu očkovacích látek včetně vakcín z viru na tkáňových kulturách.

Chřipka a virové pneumonie prasat

Obě nákazy patří do skupiny onemocnění virových, jichž původci mají převážně pneumotropní vlastnosti. Virus se pomnožuje ve sliznici dýchacích cest a pravděpodobně i v epitelu alveol. Vykašláváný sekret je zdrojem nakažení kapénkovou infekcí. Intrauterinní přenos chřipky na selata byl prokázán (Menšík). Názor, že virus chřipky vyvolává komplexní infekci jen za účasti bakterií influeney nebo jiných fakultativně patogenních zárodků, byl otřesen pokusy z poslední doby. Účast *Haemophilus suis* na vytváření změn při chřipce selat není nutná a rozsah změn v plicích závisí od množství přijatého viru. Změny v plicích mohou zaniknout až k *restitutio ad integrum* nebo za účasti bakteriální infekce (sekundární infekce hemofilními bakteriemi, pasteurellami, streptokoky) se rozvinou v katarálně hnisavou bronchopneumonii.

Virová pneumonie se vyskytuje velmi často v Anglii, kdežto chřipka prasat tam nebyla v posledních asi 15 letech diagnostikována (Beveridge). Zejména je poměrně častá ve velkovýkrmnách prasat a u více než 50 % odporažených prasat (baconů) jsou zjišťovány příznaky převážně virové pneumonie. Soudí se, že virová pneumonie je značně rozšířena i na evropském kontinentě.

Kdežto laboratorní diagnostika je propracována při chřipce prasat izolací hemaglutinujícího viru na kuřecích zárodcích a po překonání choroby průkazem HI a neutralizačních protilátek, nepodařilo se dosud při virové pneumonii izolovat virus a vypracovat sérologické diagnostické zkoušky.

Potírání chřipky prasat i virové pneumonie děje se jen čistě hygienickými opatřeními. Všechny pokusy o specifickou profylaxi očkovacími látkami dosud selhaly (Röhner 1957). Totéž platí i o terapii onemocnění plic. U nás se zabýval výzkumem enzootické bronchopneumonie (chřipky) prasat z hlediska imunoprofylaxe Harnach se spolupracovníky a dosáhl určitých kladných výsledků po vakcinaci polyvirovým formolovým adsorbátem a virus-bakteriovým formolovým adsorbátem.

V popředí zdolávacích opatření je při chřipce prasat zábrana kapénkové infekce a při ozdravování chovů výběr zvířat a zejména vhodná úprava zevního prostředí (trvalý pobyt na čerstvém vzduchu v boudách — Menšík).

Při virové pneumonii nemají sulfonamidy a antibiotika vlivu na chorobu. Antibiotika skupiny tetracyklinové potlačují klinické příznaky, ale pneumonii nevyléčí. Zdolávání virové pneumonie provádí se v Anglii metodou „replacement method“, tj. zrušením zamořeného chovu a jeho náhradou novým kmenem ze zdravého stáda a získáváním stád prostých virové pneumonie, ustájených v boudách s výběhy.

Vzhledem k značnému zamoření našich chovů prasat virovými chorobami dýchacího ústrojí jsou úkoly výzkumu v boji proti těmto nakažlivým chorobám velmi naléhavé. Musí být řešeny zejména problémy patogeneze, diagnostiky, terapie, imunoprofylaxe i účinných ozdravovacích postupů ekonomicky výhodných tak, aby bylo možno dosáhnout postupné likvidace těchto viros.

Mor prasat

Náleží do skupiny virových onemocnění se septikemickým charakterem, která ve směru patomorfologickém i virologickém mají zvláštní postavení. Není tu specifické afinity k určitým vysoce diferencovaným tkáním, místo pomnožování viru v organismu není dosud známo. Již první den po infekci je krev zaplavena virem. Poruchy CNS jsou tím častější, čím je průběh onemocnění protražovanější, což je pravděpodobně v důsledku rozdílnosti ve virulenci a patogenitě viru a také závisí na imunologických činitelích u infikovaných zvířat.

Kontagiozita virových onemocnění se septikemickým charakterem je menší než při slintavce a kulhavce a větší než při nakažlivé obrně prasat. Také u této skupiny, a to platí pro mor prasat, jsou příznačné latentní infekce a výskyt nosičů a vylučovatelů viru.

Při zdolávání moru prasat ve větších oblastech osvědčuje se ochranné očkování. Pokud je zamoření malého rozsahu, osvědčuje se vzhledem k malé kontagiozitě viru likvidace (stamping - out) chovu. Při větším ohrožení osvědčuje se aktivní imunizace chovů i prasat ve výkrmnách pomocí krystalvioletové vakciny a tento způsob podstatně přispěl k likvidaci moru u nás. V NDR provedli před časem rozsáhlý pokus s vakcinací všech chovů prasat v některých silně morem zamořených krajích. Po dvojím očkování všech prasat starších 8 týdnů včetně březích prasníc byla nákaza vymýcena a při soustavné vakcinaci dorůstajících zvířat byly vytvořeny předpoklady pro úplný zánik viru v očkované oblasti (R ö h r e r).

Nedostatkem krystalvioletové vakciny je krátkodobá imunita, a proto je nutné u zvířat, ponechaných k plemenitbě, očkování opakovat.

V poslední době se používá k aktivní imunizaci prasat proti moru lapinizované vakciny. První výsledky pokusů s lapinizovanou vakcinou byly slibné. Hospodárnost a jednoduchost přípravy, snadná aplikace, rychlý vznik trvalé imunity za 5—7 dní po vakcinaci (trvající až 11 měsíců) charakterizují tuto vakcinu kladně. Hlubším studiem lapinizované vakciny (K o v a l e n k o) v různých provozních podmínkách byly zjištěny také vážné nedostatky této vakciny. Vakcína vyvolává téměř ve všech případech klinické příznaky: horečku, leukopenii, mnohdy značné zpomalení růstu, potraty u prasníc, slabost a malou životnost narozených selat. Pro březí prasnice je i simultánní očkování (lapinizovaný virus a sérum) málo účinné.

Je nesporné, že zeslabené živé vakciny proti moru prasat mají velký teoretický význam. Proto jejich imunobiologické vlastnosti by měly být dále studovány, aby mohlo být určeno posláním a významem těchto vakcin v aktivní profylaxi moru prasat.

Jaké jsou úkoly v oblasti výzkumu moru prasat?

Je nutno především zdokonalit metody diferenciální diagnostiky této nemoci. Pro studium vlastností viru moru prasat nemáme zatím jiných pokusných zvířat než prasata a jeví se naléhavá potřeba získat laboratorní modely k těmto účelům. Je nutno dále pokračovat ve výzkumu adaptace viru na embryonální tkáň; zatím jsou tyto práce perpektivní zejména na králících. Velmi naléhavé je řešit otázku sdruženého očkování proti moru a jiným nákazám u prasat. Nedostatkem je i opomíjení medikamentózní léčby a vyhledávání vhodných chemoterapeutik.

Sípavka prasat (*Rhinitis atrophicans infectiosa suum*)

Tato choroba se zřejmě původně objevila u evropského divokého prasete (H e n n i n g), z kterého byla přenesena na domácí plemena. První záznam o sípavce prasat je z Německa v r. 1829 (F r a n g u e).

Názory na etiologii a spoluúčast činitelů podporujících vznik a šíření této infekce se dodnes velmi různí, ačkoliv se na jejím výzkumu podílí mnoho vědeckých pracovníků. Tato situace bránila také správné organizaci protinákazových opatření a účinnému tlumení a vymýcení sípavky. Poněvadž se sípavka dosti často objevuje v některých rodinách vysoce prošlechtěných plemen, považovali ji mnozí badatelé za chorobu dědičnou. Názory o eventuální účasti viru na vzniku sípavky se nepotvrdily, virus izolován nebyl.

Pokusy sovětských a jiných pracovníků ukazují, že i když trichomonády vyvolávají onemocnění nosních dutin, nemohou samy o sobě vyvolat klinické příznaky sípavky, není-li snížena odolnost organismu. Podle sovětských pozorování sípavka

vzniká a nabývá enzootických forem v těch hospodářstvích, kde prasata jsou méně odolná vlivem nepříznivých faktorů zevního prostředí (chlad, vlhkost, stísněné ustájení) jakož i v důsledku nedostatečné a neplnohodnotné výživy.

U nás Čánecký na podkladě dlouholetých výzkumů o etiologii sípavky dochází k závěru, že sípavka je kontagiózní onemocnění, při jehož vzniku hraje úlohu celý komplex faktorů. Ani filtrát výplasků z dutiny nosní nemocných prasat, ani čisté bakteriální kultury jednotlivých druhů zárodků izolovaných z nosní dutiny nemocných prasat nevyvolaly onemocnění sípavkou u pokusných vnímavých selat. Oproti tomu smíšená kultura bakteriálních kmenů, izolovaných z nosní dutiny prasat nemocných sípavkou (*Pasteurella multocida*, *P. alcaligenes bronchoseptica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *C. Pyogenes*, *Proteus*) v opakovaných masivních a intranazálně aplikovaných dávkách vyvolala do 9 dní typické onemocnění.

Na podkladě výsledků výzkumu našich pracovníků i posledních výsledků zahraničních autorů je zapotřebí zaměřit další výzkum atrofické rhinitis prasat na řešení těchto problémů:

a) Vypracování metod včasné diagnostiky, eventuálně i alergickým testem.

b) Zaměřit výzkum na zjišťování etiologických činitelů, tj. ověření účasti tri-chomonád, případně i viru (neorickettsií) a další zkoumání o predispozičních faktorech (oslabení sliznice nosní, genealogická příslušnost prasat).

c) Zkoumat podíl bakteriální flóry a jednotlivých druhů mikrobů tak, že při pokusné infekci budou postupně eliminovány jednotlivé druhy bakterií.

V uvedeném stručném přehledu úkolů výzkumu jsem zdaleka nevyčerpal všechny problémy, které vyžadují řešení v současné a nejbližší době. Chtěl jsem spíše podat stručný nárys problematiky, která souvisí s moderními a soubornými metodami prevence a boje s hromadnými nemocemi prasat ve velkochovech. I ve výzkumu nakažlivých chorob prasat musí být stěžejním cílem spojení vědy s praxí a pomoc vědy praxi.

Souhrn

Vlastním cílem výzkumu, o nějž se opírá účinný boj proti nakažlivým chorobám prasat, musí být zajišťování a ochrana zdraví prasat v podmínkách velkochovů a nové technologie v chovu prasat.

Po zhodnocení dosavadního stavu výzkumu a výsledků dosažených jsou uvedeny dosud nevyřešené problémy v etiologii, patogenези, diagnostice, léčbě a profylaxi nakažlivé obrny vepřů (Kloboukovy nemoci), Aujeszkeho choroby, chřipky a virové pneumonie prasat, moru a sípavky.

Задачи научного исследования в борьбе с инфекционными заболеваниями свиней

Целью научного исследования, на которую опирается эффективная борьба с инфекционными болезнями свиней, является обеспечение и сохранение здоровья свиней в условиях крупного производства и новой технологии в свиноводстве.

После оценки существующего состояния научного исследования и достигнутых результатов приводятся до сих пор нерешенные проблемы в области этиологии, патогенеза, диагностики, лечения и профилактики инфекционного энцефаломиелита (болезни Клобука), болезни Ауески, гриппа и вирусной пневмонии свиней, чумы и атрофического ринита свиней.

Die Aufgaben der Forschung im Kampfe gegen die Schweineseuchen

Das eigentliche Ziel der Forschung, auf die sich eine erfolgreiche Bekämpfung der Schweineseuchen stützen muß, muß die Sicherstellung und der Schutz der Gesundheit der Schweine unter Bedingungen der Großzuchten und der neuen Technologie in der Schweinezucht sein.

Um den derzeitigen Stand der Forschungsarbeiten zu bewerten, sind außer den erzielten Ergebnissen noch die bisher ungelösten Probleme der Aetiologie, Pathogenese, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe der ansteckenden Schweinelähne (Klobouk'sche Krankheit), der Aujeszky'schen Krankheit, der Grippe, Viruspneumonie der Schweine, der Schweinepest und der Schnüffelkrankheit angeführt.

Vliv krmení na vnímavost prasat k infekci virem Kloboukovy nemoci

**Влияние корма на восприимчивость свиней к инфекции вирусом
болезни Клобука**

**Einfluß der Fütterung auf die Empfänglichkeit der Schweine für die Infektion mit
dem Virus der Klobouk'schen Krankheit**

Wpływ karmienia na podatność świń na zakażenie wirusem choroby Klobouka

Zdzisław LARSKI, Paweł BIELESZ, Adam SURY

Veterinární ústav, oddělení výzkumu Kloboukovy nemoci — Gumna u Těšína (PLR).

Vedoucí: Z. Larski

Došlo dne 3. X. 1960

Úvod

Podnětem k studiu vlivu výživy na vnímavost prasat pro Kloboukovu nemoc v terénu, bylo zjištění, že Kloboukova nemoc se vyskytuje hromadně skoro výhradně v soukromých hospodářstvích a pouze výjimečně v socialistických závodech (státní statky, družstva, výkrmný). Brauner (1), Szakall (10, 11, 12), Šnobl (13), Žofijevský (15), uvádějí, že také v Československu jsou ztráty prasat v důsledku Kloboukovy nemoci minimální.

Tato skutečnost je tím zajímavější, že se do výkrmů nakupují i selata z míst a chovů, kde se stacionárně vyskytuje Kloboukova nemoc. U nově nakoupených prasat se však tato nemoc vyskytuje velmi zřídka a většinou jen v prvních dvou týdnech po nákupu, načež mizí bez jakýchkoliv léčebných zároků.

Existuje několik teorií, které tuto skutečnost vysvětlují. Brauner (1) např. uvádí, že nedostatečné větrání ve výkrmnách a tím zvýšená koncentrace čpavku ve vzduchu způsobuje chronický zánět a hypertrofii sliznice nosní, čímž je ztíženo vnikání viru do organismu. Jiní soudí, že časté očkování proti července a moru, na státních statcích, může vést k nespecifickému povzbuzení retikuloendoteliálního systému a tím i k zvýšení odolnosti proti Kloboukově nemoci (Szakall, Šnobl, Žofijevský).

Zdá se však, že nejpodstatnějším činitelem je různost krmení. U soukromých zemědělců se krmí hlavně krmivem uhlovodanovým, jednostranným, méněcenným, chudým bílkovinami, mineráliemi a vitamíny. Naopak ve výkrmnách a jiných stájích socialistického sektoru, bývá krmná dávka bohatá bílkovinami rostlinnými a živočišnými, mineráliemi a vitamíny (v době růstu dostatek zeleného krmiva). Význam krmení v patogenezi Kloboukovy nemoci zdůrazňují Szakall (10, 11, 12) a Šnobl (13). První autor konstatuje, na základě pozorování v terénu, že Klo-

boukově nemoci podlehnou zpravidla prasata, která bývají v nejlepší kondici a tučná, kdežto ve velkochovech neonemocní ani nejvíce kachektické kusy. Není také známo, jakou úlohu má při infekci tuková tkáň. Klinické pozorování při dětské obrně svědčí také pro častý výskyt nemoci u dětí dobře živých. Chwis-tecka (3) pokusně dokázala v tkáňových kulturách afinitu viru lidské polyomyelitidy k lidským embryonálním tkáním bohatým na tuk. Tuková tkáň může podle Arosóna a spolupracovníků (cit. 3) hrát důležitou úlohu ve vývoji viru polio v lidském organismu. Spetz (9) vysvětluje sezónní výskyt Heine-Medinovy nemoci v letním období a podzimních měsících snížením obsahu fosfatidů, fosfolipidů a bílkovin v potravě právě v tomto období. Otázka jest složitější tím, že četní autoři prokázali pokusy s deficientním krmením pokusných zvířat v mnohých případech zvýšení odolnosti proti nákaze. Nedostatek určitých látek v potravě škodil více viru než makroorganismu. Carsten, Rindón a Schiott (2) zkoumali vliv velkých dávek aminokyselin při polyomyelitidě. Alanin, valin, leucin, isoleucin, metionin a triptofan vyvolávaly větší výskyt obrně, zkrácení inkubační doby a zkrácení života pacienta. Naopak zdá se, že p-aminofenylalanin virus potlačuje. Podvýživa a nedostatek vitamínů při polyomyelitidě podle Schradera (8) vedou k větší odolnosti, případně k tlumení množení virů v organismu. Je známo, že špatně živěná morčata jsou méně vnímavá k nakažení virem slintavky a kulhavky. Podobných pokusů s virem Kloboukovy nemoci jsme v přístupné literatuře nenacházeli kromě zmínky v práci Grimově (4), který krmil skupinu 40 prasat krmnou dávkou obsahující veškeré nutné složky v dostatečném množství. Polovinu těchto selat nakazil virem Kloboukovy nemoci. Ze skutečnosti, že z nenakažené poloviny selat, která byla pohromadě s nemocnými, neonemocnělo žádné sele, autor soudí na odolnost v důsledku vhodného krmení.

Vlastní pokusy

Úkolem práce bylo vysvětlení, do jaké míry ovlivňuje výživa selat citlivost k infekci virem Kloboukovy nemoci.

Materiál a metodika

K pokusům byla použita selata ve stáří 7—8 týdnů, zakoupena OZR v okrese těšínském, ve kterém se za posledních 5 let nevyskytla Kloboukova nemoc. Zvířata byla rozdělena do dvou vyrovnaných skupin a byla různě krmena. Podle norem prof. Malarského (7) potřebují selata bílého plemene, váhy kolem 18 kg 1,08 ovesných jednotek a 130 g stravitelných bílkovin. Pro skupinu se sníženou dávkou bílkovin (skupina W) bylo stanoveno 1,08 o. j. a 104 g stravitelných bílkovin, a pro druhou skupinu 1,08 o. j. a 156 g stravitelných bílkovin (skupina B).

Složení krmné dávky pro skupinu W (1,08 o. j. a 104 g str. bílkovin).

- Suchá směs:
1. Ječný šrot 35 %,
 2. Prosátý ovesný šrot 35 %,
 3. Pšeničné otruby 30 %, 1 kg směsi obsahuje 1,064 o. j. a 80,5 g str. bílkovin.

Dávka krmiva na den a kus v prvních dvou týdnech:

mačkané, pažené brambory 0,5 kg, mléko odstředěné 1,5 l, suchá směs 0,7.

Dávka pro kus a den v dalších třech týdnech (norma 1,25 o. j. a 116 g str. bíl-

kovin): pařené, mačkané brambory 0,5 kg, odstředěné mléko 1,5 l, suchá směs 0,8 kg. Dávka krmiva pro kus a den po pěti týdnech (norma 1,42 o. j. a 128 g str. bílk.): brambory pařené, mačkané 0,5 kg, odstředěné mléko 1,5 l a suchá směs 1 kg.

Složení krmiva pro skupinu B — 1,08 o. j. a 156 g stravitelných bílkovin.

- Suchá směs:
1. Ječný šrot 20 %,
 2. Ovesný šrot 20 %,
 3. Pšeničné otruby 30 %,
 4. Vojtěškové drošky 10 %,
 5. Lněné pokrutiny 15 %
 6. Rybí moučka,

(1 kg směsi obsahuje 1,0018 o. j. a 120,2 g str. bílk.). Dávka krmiva na den a kus v prvních dvou týdnech:

odstředěné mléko 1 l, suchá směs 1 kg. Dávka krmiva na den a kus v dalších třech týdnech (norma — 1,25 o. j. a 174 g str. bílk.): odstředěného mléka 1,5 l, suchá směs 1 kg. Dávka krmiva na den a kus po pěti týdnech (norma 1,42 o. j., 192 str. bílk.): odstředěné mléko 1,5 l, suchá směs 1,2 kg.

Selata byla vážena každý týden, kromě toho byly zjišťovány bílkovinné frakce séra metodou papírové elektroforézy (Szurman — 16). Po měsíčním rozdílném krmení byla selata intracerebrálně nakažena virem Kloboukovy nemoci.

Pokus č. 1. Byly použity dvě skupiny po 8 selatech. Byl zjištěn váhový rozdíl přírůstků ve prospěch skupiny, která dostávala větší množství bílkovin a také rozdíl v elektroforetickém obraze sérových bílkovin (Szurman 14). Po dvou týdnech rozdílného krmení byla provedena kontrolní inokulace jednoho selete ze skupiny W (se sníženým obsahem bílkovin) a jednoho selete ze skupiny B, virem ve zředění 10^{-3} . Touto infekcí se měla zjistit účinnost uvedené infekční dávky pro nakažení zbylých prasat obou skupin. Obě selata onemocněla — sele ze skupiny W po 10 dnech, sele ze skupiny B po 12 dnech. Po měsíci rozdílného krmení byla nakažena selata obou skupin zředěným virem 10^{-3} . Výsledek infekce je uveden v tabulce I. Ze skupiny W onemocněla 3 selata po inkubační době 10, 12 a 13 dnů, ve skupině B zůstala veškerá selata zdravá po celou dobu pozorování (30 dnů).

I.

Skupina:	Výsledky po nakažení:	
	I. nakažení 10^{-3}	II. nakažení 10^{-1}
W	3/7 — (10, 12, 13)	4/4 (10, 10, 11, 14)
B	0/7	6/7 (7, 7, 7, 8, 8, 11)

Číselník znamená počet onemocnělých, jmenovatel počet selat použitých k pokusu; číselnice v závorkách znamenají inkubační dobu (počet dní).

Po uplynutí této doby bylo provedeno opětovné nakažení zbylých 4 selat ze skupiny W a 7 kusů ze skupiny B zředěným virem 10^{-1} . Onemocněla veškerá selata ze skupiny první a 6 selat ze skupiny druhé. Inkubační stadia u selat ze skupiny W byla zřetelně delší.

Pokus č. 2. Bylo použito rovněž dvou skupin selat, která byla krmena stejně, jako při pokusu prvním. Po měsíčním rozdílném krmení byla zvířata nakažena zře-

děným virem od 10^{-1} do 10^{-3} . Z osmi selat ze skupiny W onemocnělo 5 kusů. Z 11 selat skupiny B — 9 kusů. Po uplynutí pozorovací doby, t. j. po 30 dnech, byla selata, která ne onemocněla po prvním očkování, opět nakažena dávkou 10^{-1} . Po této infekci onemocněla všechna selata (viz tab. II.).

II.

Skupina:	Zředění viru:	Výsledky po nakažení:	
		I. nakažení:	II. nakažení:
W	10^{-1}	1/1 (6)	2/2 (5, 5)
	10^{-2}	4/4 (6, 8, 8, 13)	
	10^{-3}	0/3 *	
B	10^{-1}	2/2 (7, 10)	2/2 (6, 7)
	10^{-2}	6/6 (6, 7, 7, 7, 11)	
	10^{-3}	1/3 (14)	

*) Při zákroku, po období pozorování jedno sele uhynulo.

Zhodnocení výsledků

V pokusech bylo použito dvou krmných dávek, obsahujících stejné množství ovesných jednotek, avšak různé množství bílkovin. Obě dávky se lišily i jinými vlastnostmi. Prasata skupiny B dostávala o 35,3 g více bílkovin. Poměr bílkovin ve skupině B byl snížen o 10 %, ve skupině W zvýšen o 21 %.

Dávka skupiny B obsahovala mnoho balastu, což mohlo snížit stravitelnost celé krmné dávky.

Poměr kalcia k fosforu ve skupině B byl přibližně 1 : 1,5 při současném krytí potřeby kalcia se zvýšením o ± 33 %.

Ve skupině W byl poměr 1 : 2, při nedostatku kalcia ± 40 %.

Poměr biologické hodnoty bílkovin hodnotných k méně hodnotnějším, v obou případech se udržuje ve stejných hranicích proti poměru amidů hodnotných k méně hodnotnějším, u kterých je výhodnější poměr ve skupině B.

Je možno soudit, že dusíkaté sloučeniny u skupiny B budou lépe využity, vzhledem k pestrému původu v různých krmivech, než ve skupině W.

V absolutních hodnotách dostávala skupina B větší množství biologicky hodnotných bílkovin a to o 10 g, a amidů o 1,2 g na kus a den.

Pokud jde o obsah vitamínů, jeví krmná dávka skupiny W nedostatek karotenu a vitamínu A (kolem 40 %), vitamíny skupiny B se udržují v hranicích normy (převládá kyselina nikotinová).

Vitamíny D nejsou obsaženy, snad jen stopy v mléce, vitamín E je v dávce obsažen.

Ve skupině B kryjí vojtěškové drolky potřebu karotenu a vitamínu A, vitamínů B a obsahují více vitamínu D, což je velmi důležité vzhledem k nepatrně kyselé reakci krmné dávky.

Všeobecně lze říci, že struktura krmné dávky skupiny B, s výjimkou balastních látek, převyšuje v každém ohledu krmnou dávku skupiny W.

V druhém období, kdy ve skupině W byla zvyšována dávka suchého krmiva, zvýšily se negativní vlastnosti krmné dávky. Naopak zvyšováním množství mléka v krmné dávce skupiny B byly zlepšeny biologické vlastnosti dávky.

Srovnáme-li obě uvedené krmné dávky, můžeme charakterizovat dávku skupiny W z hlediska výživy jako méně dostatečnou, s nevyhovujícím, nestejným po-

мѣрем бѣлковин биологически мѣнѣе hodnotných. Poměr Ca : P = $\pm 1 : 2$, při současném nedostatku kalcia.

Krmná dávka skupiny B představuje intenzivní výživu o úzkém poměru bílkovin, biologicky hodnotnějších, při poměru Ca : P = $\pm 1 : 1,5$, při současném absolutním nadbytku kalcia.

Odlišná vnímavost dvou skupin prasat, krmených tak zásadně různým způsobem, byla zkoumána intracerebrální inokulací různého zředění viru Kloboukovy nemoci.

Souhrn

Výsledky prvního pokusu po infekci malou dávkou viru poukazují na větší vnímavost selat, která dostávala krmivo se sníženým množstvím bílkovin. Druhá infekce velkou dávkou viru vyvolala onemocnění prasat obou skupin. Průkazně kratší však je inkubační doba u prasat skupiny B.

Výsledky druhé injekce není možno vysvětlovat růzností krmení, neboť první infekce mohla vyvolat částečnou odolnost u neonemocných selat.

Získané výsledky nám vnucují následující interpretaci: První infekce malou dávkou viru způsobila u skupiny W vývoj klinického procesu choroby u tří selat a u zbývajících čtyř selat jistou odolnost, což se projevilo prodloužením inkubačního stadia. Po druhém infikování velkou dávkou viru (podle Heckeho [5]), je dávka, vyvolávající imunitu u 50 % zvířat — ImD_{50} — pouze dvanáctkrát menší než 50% infekční dávka — ID_{50} . U selat skupiny B (se zvýšeným množstvím bílkovin) bylo první nakažení příliš slabé, jak k vyvolání příznaků nemoci, tak i k vyvolání imunity a proto také tato selata onemocněla po druhé infekci v kratších inkubačních dobách. Druhý pokus, provedený na prasatech krmených stejně, jako v předšlém pokuse, neprokázal rozdíl ve vnímavosti zvířat obou skupin po intracerebrální inokulaci různým množstvím viru.

K vysvětlení významu výživy v patogenези Kloboukovy nemoci jsou nutná další, důkladnější zkoumání.

Dosud je nám málo známo, jak má vypadat „plnohodnotná“ výživa, jako jeden z prostředků všeobecné prevence virových nákaz.

Влияние корма на восприимчивость свиней к инфекции вирусом болезни Клобука

Результаты первого опыта после инфекции небольшой дозой вируса показывают на большую восприимчивость поросят, которые получали корм со сниженным количеством белков. Вторая инфекция большой дозой вируса вызвала заболевание свиней обеих групп. Однако, инкубационный период достоверно короче у свиней группы В.

Результаты второй инфекции нельзя объяснить разным кормлением, так как первая инфекция могла вызвать частичную устойчивость у незараженных поросят.

Полученные результаты приводят нас к следующей интерпретации: первая инфекция малой дозой вируса у группы W вызвала развитие клинического процесса болезни у трех поросят и у остальных 4 поросят определенную невосприимчивость, что проявилось в более длительной инкубационной стадии. После второго инфицирования большой дозой вируса (согласно Гекке 5), доза, вызывающая иммунитет у 50 % животных — ImD_{50} только в 12 раз меньше, чем 50% инфекционная доза — ID_{50} . У поросят группы В (с повышенным количеством белков) первое заражение было слишком слабо как для обнаружения признаков болезни, так и для обнаружения иммунитета, а поэтому эти поросята заболели после второй инфекции в более короткий инкубационный период. Второй опыт, проведенный со свиньями, которые получали одинаковые корма, как и в предыдущем опыте, не показал разницу в восприимчивости животных обеих групп после интрацеребральной инокуляции разным количеством вирусов.

Для объяснения значения питания в патогенезе болезни Клобука необходимо дальнейшее более основательное изучение. До сих пор мало известно, как должно выглядеть «полноценное» питание в качестве одного из средств всеобщей профилактики вирусных заболеваний.

Einfluß der Fütterung auf die Empfänglichkeit der Schweine für die Infektion mit dem Virus der Klobouk'schen Krankheit

Die Ergebnisse des ersten Versuches nach Infektion mit einer kleinen Virusgabe weisen auf eine erhöhte Empfänglichkeit von Ferkeln hin, deren Futtergabe eine erniedrigte Eiweißmenge enthielt. Die zweite Infektion mit großer Virusdosis führte zur Erkrankung der Schweine in beiden Gruppen. Nachweisbar kürzer war aber die Inkubationszeit bei den Schweinen der Gruppe B.

Die Ergebnisse der zweiten Infektion lassen sich nicht durch verschiedene Fütterung erklären, denn die erste Infektion konnte eine teilweise Resistenz bei den nicht erkrankten Ferkeln verursachen.

Die ermittelten Ergebnisse nötigen uns die folgende Interpretation auf: Die erste Infektion mit kleiner Virusgabe verursachte bei der Gruppe W die Entwicklung des klinischen Krankheitsprozesses bei 3 Ferkeln und bei den übrigen 4 Ferkeln eine gewisse Resistenz, was sich in Verlängerung der Inkubationszeit äußerte. Nach der zweiten Infektion mit großer Virusgabe (nach Hecke 5) ist die eine Immunität hervorrufende Gabe bei 50 % der Tiere -ImD₅₀ bloß 12 mal kleiner als die 50prozentige Infektionsdosis -ID₅₀. Bei den Ferkeln der Gruppe B (mit vermehrter Eiweißgabe) war die erste Infektion allzu schwach, um Krankheitserscheinungen und Immunität hervorzurufen, und deshalb erkrankten auch diese Ferkel nach der zweiten Infektion in kürzeren Inkubationszeiten. Der zweite Versuch, ausgeführt an Schweinen, gleich gefüttert wie im vorangehenden Versuch, hat keinen Unterschied in der Empfänglichkeit der Tiere beider Gruppen für die intrazerebrale Inokulation mit verschiedenen Mengen des Virus ergeben.

Um die Bedeutung der Ernährung für die Pathogenese der KK aufzuklären, sind noch weitere, genauere Forschungen notwendig.

Bisher ist uns noch wenig darüber bekannt, wie eine „vollwertige“ Ernährung aussieht, die auch ein Mittel der allgemeinen Vorbeuge der Virusseuchen sein könnte.

Wpływ karmienia na podatność świń na zakażenie wirusem choroby Klobouka

Wyniki pierwszego doświadczenia, przy zakażeniu małą dawką wirusa wykazują podatność prosiąt karmionych paszą o zmniejszonej ilości białka. Drugie zakażenie, przy zastosowaniu wielkiej dawki wirusa, wywołało chorobę prosiąt obydwu grup. Okres wylęgania jest jednak według doświadczenia krótszy u prosiąt grupy B.

Wyniki drugiego zakażenia nie dają się wytłumaczyć różnicą paszy, ponieważ pierwsze zakażenie mogło wywołać częściową odporność u jeszcze nie chorych prosiąt.

Uzyskane wyniki nasuwają następujące wnioski: Pierwsze zakażenie małą dawką wirusa wywołało u grupy w rozwój procesu klinicznego choroby u trzech prosiąt, a u pozostałych czterech prosiąt pewnego rodzaju odporność, która przejawiała się w formie przedłużonego okresu wylęgania. Po drugim zakażeniu dawką wirusa (wg Heckiego 5), dawka wywołująca odporność u 50 % zwierząt — ImD₅₀ jest tylko 12 razy mniejsza niż 50 % dawka infekcyjna -ID₅₀. U prosiąt grupy B (ze zwiększoną ilością białka) było pierwsze zakażenie zbyt słabe dla wywołania tak objawów choroby jak i dla wywołania odporności, dlatego też te prosięta zachorowały po drugiej infekcji w krótszych okresach wylęgania.

Drugie doświadczenie, przeprowadzone na prosiętach karmionych podobnie jak w poprzednim doświadczeniu, nie wykazało różnicy w podatności zwierząt obydwu grup na inokulację intracerebralną różnymi ilościami wirusa.

Dla wyjaśnienia znaczenia rodzaju żywienia w patogenezie choroby Klobouka należy przeprowadzić dalsze bardziej szczegółowe badania.

Dotychczas mało wiemy na temat, jak ma wyglądać „pełnowartościowe“ żywienie, stosowane jako jeden ze środków ogólnej profilaktyki przeciw zakażeniom wirusowym.

Vliv vyrovnané a deficientní výživy na průběh nakažlivé obrny prasat (Kloboukovy nemoci)

Předběžné sdělení

Влияние выравненного и дефицитного питания на ход инфекционного энцефаломиеелита свиней (болезни Клобоука)

The Influence of a balanced and deficient Diet on the Course of the Infectious Swine Paralysis (Klobouk's Disease)

Doc. MVDr. Jaroslav KÁBRT, doc. MVDr. Milan LEBEDA C. Sc., MVDr. Ernest MESÁROŠ, C. Sc., MVDr. Miroslav OPLIŠTIL
Veterinární fakulta VŠZ Brno a Výzkumný ústav veterinární, Brno

Došlo dne 3. X. 1960

Úvod

Při sledování výskytu nakažlivé obrny prasat, Kloboukovy nemoci (dále KN), bylo pozorováno, že se KN vyskytuje daleko více v malochovech s méně pravidelnou a vyrovnanou výživou, než ve velkochovech, kde je sestavení krmných dávek, biologická hodnota a pravidelné krmení zpravidla dostatečně zajištěno a nedochází zde k nápadným náhlým změnám ve struktuře a úpravě krmných dávek.

Literární údaje o vztahu biologické hodnoty výživy a způsobu krmení prasat k průběhu onemocnění se týkají více praktického pozorování bez možnosti experimentálního ověření. Z tohoto hlediska uvádějí možné vztahy mezi výživou a průběhem KN Szakal, Šnobl, Grim a Žížala, Larški, Bielesz, Sury se zabývali experimentálně vlivem různě vyrovnané výživy k průběhu nakažlivé obrny a zjistili určitý stupeň odolnosti u prasat s vyrovnanou, pravidelnou výživou.

Spetz, Carsten, Rindon, Schiot, Schrader uvádějí vztahy mezi poliomyelitis u lidí a hodnotou výživy, což se projevuje v určitém stupni odolnosti a sezónnosti výskytu.

Vliv hodnotné, vyrovnané výživy na určitý stupeň odolnosti lze ovšem předpokládati v přirozených podmínkách s větší pravděpodobností, než při experimentálním umělém nakažení virem KN. Pro osvětlení otázky, do jaké míry se může projevit rozdíl v odolnosti vůči KN při vyrovnané a nevyrovnané výživě prasat, byly provedeny pokusy, ve kterých byly ve stejném prostředí sledovány na dvou skupinách odstávčat ukazatele při rozdílné výživě a po umělém nakažení KN.

Metodika

Do pokusu bylo zařazeno 26 selat ze dvou příbuzných vrhů a rozděleno po 13 selatech na skupinu I. s deficientní krmnou dávkou a skupinu II. s vyrovnanou krmnou dávkou.

Ustájení provedeno v nově upravených 2 sousedících kotcích. Zoohygienické podmínky, až na vyšší vlhkost, byly vyhovující, všechna selata vyšetřena koprologicky s negativním výsledkem.

Zdravotní stav zjištěn jako dobrý, v průběhu ustájení se projeví u většiny odstávat mírné příznaky bronchopneumonie.

Průměrná živá váha selat při zastavení do předpokusného období byla 18,60 kg, všechny kusy byly poměrně vyrovnané a pocházely z chovu v obci, kde se nevyskytovala nejméně po 10 let KN.

Předpokusné období trvalo 14 dnů, od 16. X. do 31. X. 1959. Krmná dávka v tomto období byla sestavena tak, aby odpovídala průměrnému způsobu vyrovnání v živinách, bez zvláštních doplňků dietetických, minerálních a vitamínových. Všechna použitá krmiva a krmné směsi byly během celého pokusu vyšetřovány na hygienickou hodnotu, takže bylo použito nezávadných krmiv.

Vlastní pokusné období, od rozdělení na 2 skupiny po 13 selatech (deficientní a vyrovnanou), trvalo od 1. XI. 1959 do 31. 1. 1960, tj. 92 dnů. Umělé nakažení provedeno dne 1. II. 1960 a poslední porážky ukončeny 19. II. 1960, takže období po nakažení trvalo 19 dnů.

Přechod na rozdílné krmné dávky při rozdělení na skupinu s deficientní a vyrovnanou výživou byl proveden postupně ve 3 dnech.

Krmná dávka I. skupiny — deficientní se skládala ze základní dávky, kterou tvořily bramborové vločky a pšeničný šrot, doplněný kukuřičným a ječným šrotem. Přechodně použitý šrot ovesný byl brzy vyřazen.

Množství krmné dávky bylo postupně s růstem a stářím odstávat zvyšováno a před umělým nakažením obsahovala krmná dávka při průměrné živé váze prasat 40,20 kg tato krmiva:

bramborové vločky	0,80 kg
pšeničný šrot	0,60 kg
kukuřičný šrot	0,45 kg
ječný šrot	0,30 kg
kuchyňská sůl	0,01 kg

Kaloricky byla dávka dostatečná. Deficientní byla obsahem bílkovin a jejich biologickou hodnotou, obsahem Ca, karoteny, vitamínem C, D, zčásti B. Jevila se převaha uhlovdanů, široký poměr bílkovin. Uvedená krmná dávka imitovala obvyklé deficientní krmné dávky, jak se často vyskytovaly v chovech při nesprávném způsobu krmení.

Úprava krmné dávky spočívala ve spaření horkou vodou. Dávka byla zkrmována ve formě husté kaše.

Krmná dávka II. skupiny — s vyrovnanou výživou byla sestavena tak, aby byla zajištěna biologická hodnota, správný poměr a dostatek živin s dietetickými doplňky.

Skládala se z krmné řepy, bramborových vloček, šrotu ječného, pšeničného, ovesného, bílkovinné směsi pro selata a prasata, rybí moučky a mléka. Poměr bílkovin k uhlovdanům byl stanoven podle norem, biologická hodnota bílkovin

zajištěna živočišnými krmivy v bílkovinné směsi, rybí moučkou a odstředěným mlékem.

Složení krmné dávky se po dobu pokusu neměnilo, množství se zvyšovalo postupně a před umělým nakažením u prasat v živé váze 49,95 kg byla krmná dávka na kus a den tato:

řepa	1,00 kg
bramborové vločky	0,40 kg
pšeničný šrot	0,40 kg
ječný šrot	0,30 kg
bílkovinná směs	0,40 kg
rybí moučka	0,05 kg
odstředěné mléko	1,00 l
kuchyňská sůl	0,01 kg

Biologické a dietetické doplnění krmné dávky tvořila minerální přísada, Plastin 15 g, železitý roztok Fecup 7,5 ml, Konvit 15 g na kus a den a rybí tuk 2 g na jeden kilogram živé váhy.

Adevetin byl aplikován v množství 3 ml podkožně dvakrát, a to tři týdny a deset dnů před nakažením.

Thiamin aplikován 2 tablety, a to poslední 4 týdny před nakažením a pak dále 15 dnů před nakažením jednorázově 25 mg thiaminu injekčně. Kyselina askorbová byla dodávána přirozeným způsobem v krmné řepě, tabulkovým odhadem asi 26 mg v denní dávce na kus.

Krmná dávka byla podávána zvlhčená vodou a mlékem ve formě husté kaše. Krmení obou skupin dělo se pravidelně, bez náhlých změn. Žravost prasat obou skupin byla velmi dobrá. Přechodný průjem u všech odstávčat v průběhu prvního měsíce pokusu, vyvolaný vyšší dávkou pšeničného šrotu, byl odstraněn dietním opatřením v krátké době. U vyrovnané skupiny odstávčat nebylo jiných zdravotních závad, kromě mírných příznaků enzootické bronchopneumonie.

U deficientní skupiny se projevilo snížení přírůstků, mírná rachitis a zjevné příznaky deficiency vitamínů B-komplexu, bledá, vrásčitá kůže bez lesku, štiřiny nápadně zhoustly.

Krmně-technický, biologický a dietetický rozdíl v krmných dávkách obou skupin se jevil jako nápadně vyjádřený.

V průběhu pokusu byl sledován zdravotní stav klinicky, jednou týdně odebírána krev pro zjišťování sledovaných hodnot, prováděno vážení a záznamy mikroklimatu.

V období pokusu při rozdílném způsobu krmení obou skupin byly zjišťovány tyto ukazatelé:

1. Hladina Ca v krevním séru — komplexometrickým stanovením pomocí murexidu.
2. Hladina hořčíku v krevním séru — komplexometricky pomocí eriochromové černě.
3. Hladina anorg. fosforu v séru krevním — kolorimetricky podle Koutného-Madžerové.
4. Stanovení aktivity cholinesterázy v krevní plazmě metodou pH-metrickou.
5. Alkalická rezerva v krvi — titračně podle Kudrjavceva ve vlastní modifikaci s potenciometrickou kontrolou.
6. Obsah lipidů v krevním séru — fenolovou zkouškou podle Hořejšího.

7. Obsah celkového cholesterolu v krevním séru na základě Liebermann-Burchardovy reakce.

8. Množství cukru v krvi metodou antronovou a podle Hovorky a Krajtlové.

9. Celková bílkovina a frakce v séru krevním — refraktometricky a papírovou elektroforézou.

10. Obsah Fe v krvi — mikrometodou podle Sam. Natelsova, pomocí rhodanidu sodného.

11. Krevní obraz (počty krvinek a hemoglobin).

12. Po infikování proveden při poražení odběr mozkomíšního moku a vyšetření na globulinové reakce. Použity tyto reakce: zlatosolová, kolargolová, Pandeyho, Takata-Ara, Nonne-Apltova, Weichbrodtova. Přitom bylo stanoveno i množství chloridů podle Volharda.

13. Zjišťování neutralizačních titrů v krvi prasat před a po infekci u obou skupin. Výsledky nebyly dosud zpracovány.

14. U poražených infikovaných a kontrolních prasat byla provedena pitva a histologické vyšetření CNS.

15. Konečně sledovány přírůstky na živé váze do infekce.

Před provedením nakažením byly z každé skupiny vyčleněny 3 běhouni pro kontrolu, takže u každé skupiny bylo uměle infikováno 10 běhounů. Obě skupiny byly před nakažením ustájeny v oddělené stáji, nenakažené kontroly separovány v původních boxech. Tyto kontroly měly prokázat skutečnost, že příznaky obrny byly vyvolány experimentální infekcí.

U m ě l ě n a k a ž e n í bylo provedeno 3 ml mozkomíšní 10% emulsi s virem KN kmene Zábřeh, intranasálně u obou skupin ve stejnou dobu. Od této doby byla denně měřena teplota, sledovány klinické příznaky a dvakrát týdně prováděn odběr krve pro laboratorní vyšetření. Krmná dávka zůstala stejná.

V ý s l e d k y

Hladiny vápníku, hořčíku a anorganického fosforu v séru krevním nejevily u obou skupin podstatných změn v průběhu celého pokusu a udržely se ve fyziologických mezích.

Aktivita cholinesterázy krevní plazmy se snížila již v době inkubace po infekci, těsně před objevením se klinických příznaků KN. Tento pokles aktivity cholinesterázy, doprovázený vždy zvýšením hladiny acetylcholinu, je v souladu s klinickými příznaky KN. U skupiny deficientní v průměru se jevil pokles z 20,50 milivoltů na 16,02, u vyrovnané z 20,57 na 15,87 milivoltů. Rozdíl v poklesu mezi oběma skupinami se neobjevil.

I.

Aktivita cholinesterázy v krevní plazmě (pH v mV/hod.)		
	Skupina I – deficientní	Skupina II – vyrovnaná
Předpokusné období	20,89	20,89
Pokusné období do infekce	20,50	20,67
Období v infekci	16,02	15,87

Alkalická rezerva krve jevila v předpokusném období krátkodobý výkyv, který se projevil signifikantním rozdílem mezi oběma skupinami prasat ($t > 0,02$). Tuto reakci lze vysvětliti změnou prostředí a krmení po zastavení zvířat do pokusu.

V prvních dvou týdnech pokusného krmení nebylo mezi oběma skupinami významného rozdílu v hodnotách alkalické rezervy krve. Od 3. týdne pokusného období byly u skupiny II. — vyrovnané, v 7 z 9 měření zjištěny statisticky vyšší hodnoty alkalické rezervy. Tyto vyšší hodnoty se udržely až do infekce. Alkalická rezerva jevila u II. vyrovnané skupiny v pokusném období zřetelnou vzestupnou tendenci, u skupiny I. deficientní kolísala kolem hodnoty zjištěné na počátku pokusného období. Zřetelnější vzestup u I. skupiny nastal až před infekcí.

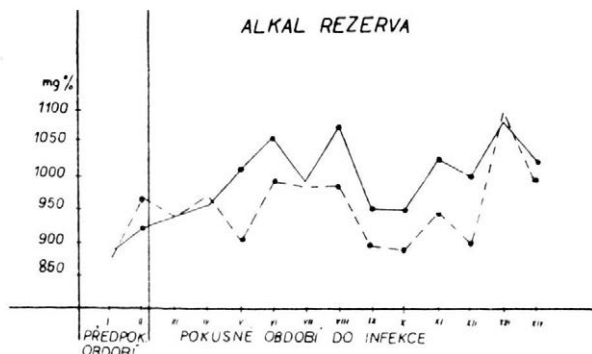
Na grafu A hodnoty statisticky významné jsou označeny tuč. body, plná čára značí skupinu s vyrovnanou výživou, na ose x jsou uvedeny týdny.

Rovněž 5 dní po infekci byly mezi oběma skupinami prasat zaznamenány vysoce signifikantní rozdíly v hladině alkalické rezervy, která byla vyšší u skupiny II., kde se projevil vliv vyrovnané výživy.

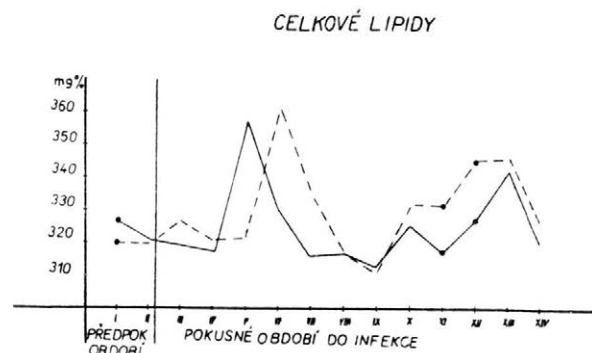
Absolutní hodnoty alkalické rezervy zůstávaly však po celé pokusné období v mezích fyziologických hranic.

Množství celkových lipidů séra nejevilo v průběhu pokusného období v prvních 8 týdnech signifikantní rozdíly mezi oběma skupinami. Teprve v 9.—12. týdnu se mezi oběma skupinami objevil statisticky významný rozdíl, přičemž u skupiny I. deficientní byla hladina lipidů vyšší. Dva týdny před infekcí se hodnoty u obou skupin opět vyrovnaly. 5. den po infekci byl opět zjištěn statisticky významný rozdíl mezi oběma skupinami infikovaných prasat, přičemž hladina lipidů značně poklesla u skupiny I. deficientní, nikoli však pod fyziologickou hranici.

Po infekci byly zaznamenány u jednotlivých prasat značné vzestupy hladiny lipidů, takže hladina lipidů přesáhla 400 mg%. Zatímco za období 3 měsíců před infekcí byla u skupiny I. ze 156 měření získána hodnota 400 mg% jen třikrát a u skupiny II. z téhož počtu měření rovněž (tj. v 1,9 %), stoupl počet těchto hodnot za období 14 dní po infekci u skupiny I. při 21 měřeních na 5, u skupiny II. na 2. U kontrol ze skupiny II. byla hodnota před 400 mg% naměřena jen jed-



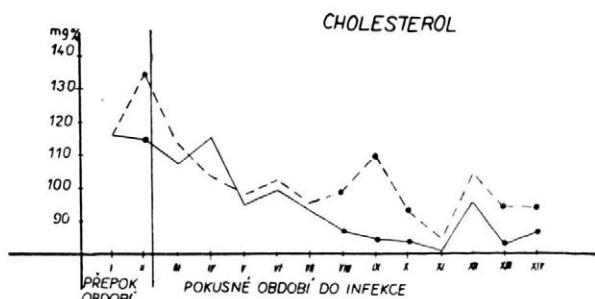
Graf A



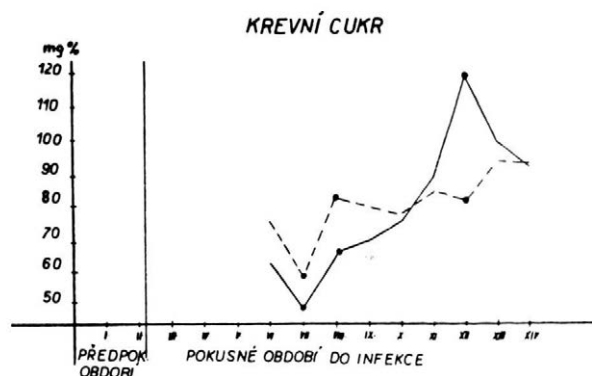
Graf B

nou. To znamená, že frekvence těchto vysokých hodnot stoupla u skupiny I. deficientní na 23,8 %, u skupiny II. vyrovnané na 9,5 %. Zvýšení hladiny lipidů je možno považovat za projev porušeného metabolismu, zejména uhlovodanového, v souvislosti s horečnatými stavy a poruchou funkce NS.

Celková hladina volného cholesterolu a jeho esterů jevila v průběhu pokusného období před infekcí u obou skupin sestupnou tendenci. V 6.—8. týdnu a v 11. a 12. týdnu byla hladina cholesterolu u II. skupiny signifikantně nižší než u skupiny I. Po infekci nebyly do 5. dne mezi oběma skupinami zjištěny statisticky významné rozdíly.



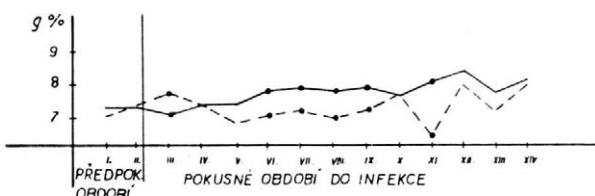
Graf C



Graf D

prasat, vzestup u 2, u 3 nebylo zřetelné změny, při druhém odběru — pokles u 2, vzestup u 5, při třetím odběru pokles u 5, vzestup u 1 (vztaženo k hodnotám před infekcí). U skupiny II. v prvním odběru po infekci pokles u 8, vzestup u 0, v druhém odběru — pokles u 1, vzestup u 3, v třetím odběru pokles u 5, vzestup u 4.

CELKOVÁ BÍLKOVINA



Graf E

Později již nebylo statistické vyhodnocení proveditelné. V průměru však hladina cholesterolu u I. skupiny stoupla (z 86 mg% před infekcí na 115 mg% 9. den po infekci), v menší míře byl vzestup vyjádřen i u skupiny II.

Hladina krevního cukru jevila v zachycené části pokusného období vzestupnou tendenci, z poměrně nízkých průměrných hodnot (64 a 77 mg%) stoupla k běžně udávaným 100 mg%. Hodnoty hladin krevního cukru se lišily signifikantně u obou skupin v 6. a 10. týdnu pokusného období, přičemž v 5. a 6. týdnu byla hladina vyšší u skupiny I., v 10. týdnu pak u skupiny II.

U skupiny první byl v prvním odběru krve po infekci zaznamenán zřetelný pokles krevního cukru u pěti

Celková bílkovina a. Za charakteristickou změnu v hladině celkové bílkoviny krevního séra je možno považovat snížení sérových bílkovin u skupiny I. vzhledem ke skupině II. v pokus-

ném období před infekcí. Snížení dosáhlo statisticky významných hodnot ve 4. týdnu karenčního krmení a udrželo se v tomto rozmezí 6 týdnů.

Celková hladina sérových bílkovin se však po celé pokusné období před infekcí udržovala v průměru ve fyziologických hranicích. U skupiny II. je zřetelný vzestup hladiny bílkovin v tomto období o 1 g%. U skupiny I. byla průměrná hladina bílkovin v obdobích statisticky významných rozdílů nižší o 0,7–1,6 g% než u skupiny II. Bílkovinné frakce jsou ve stadiu vyhodnocování.

Hladina Fe v krvi se u I. skupiny projevila v průměru o málo nižší (47,3 mg%), než u vyrovnané (51,1 mg%). Počet červených a bílých krvinek a množství hemoglobinu se neodchýlilo od fyziologických norem.

Globulinové reakce mozkomíšního moku provedené ihned po poražení, neukázaly rozdílné hodnoty u obou skupin a odvíjejí hodnotám udávaným při KN. Rovněž i obsah chloridů podle Volharda.

Zjišťování neutralizačních titerů v krvi prasat v průběhu pokusu není dosud ukončeno a je předmětem dalšího výzkumu.

Positivní pato - histologické nálezy se nelišily v intenzitě změn u obou skupin.

Pitvou byla u většiny prasat zjištěna lehčí forma enzootické bronchopneumonie.

Přírůstky za dobu pokusu do nakažení byly vyšší u skupiny s vyrovnanou výživou. Poslední vážení před nakažením vykazovalo průměrné váhy:

49,93 kg u vyrovnané skupiny,

40,29 kg u deficientní skupiny.

Klinický průběh po umělém nakažení

I. skupina deficientní (10 infikovaných prasat)

7. den se teplota pohybovala v hranicích normálu u 8 kusů, zvýšení nad 40° C u 2 kusů.

8. den — teploty beze změn,

9. den — další 2 kusy jeví zvýšení teploty nad 40° C.

10. den — stoupla teplota nad 40° C u dalších 4 kusů. 8 prasat žralo málo, nebo vůbec nežralo, většinou leželo a jeví zvýšenou dráždivost.

11. den — bez dalších zvláštních změn.

12. den — poslední dva kusy jeví teplotu nad 40° C. U 3 prasat se objevily křeče.

13. den — prasata nežerou, jeví příznaky obrny. Pouze dvě prasata, která jeví zvýšení teploty až 12. den, zcela málo, nepravidelně žerou, jeví mírnou somnolenci a obtížně se pohybují.

II. skupina — s vyrovnanou výživou

10. den — 5 prasat jeví zvýšenou teplotu, ale chodí a žerou.

11. den — byla teplota u všech kusů zvýšena přes 40° C.

12. den — žravost poklesla u všech kusů.

13. den — žraly málo jen 3 kusy, ostatní prasata polehávala, objevily se křeče.

Teploty zvýšené, u prasat s klinickými příznaky poklesly teploty.

14.—18. den — se pouze 2 prasata omezeně pohybovala a málo žrala, ostatní jeví příznaky obrny.

19. den — prasata poražena.

II.

I. skupina — deficientní (10 prasat)			II. skupina — vyrovnaná (10 prasat)	
Počet dnů po infekci	Počet prasat se zvýšenou teplotou nad 40° C	Počet prasat s indigescí	Počet prasat se zvýšenou teplotou nad 40° C	Počet prasat s indigescí
7	2	—	—	—
8	—	—	—	—
9	4	—	—	—
10	8	8	5	—
11	—	—	10	—
12	10	10	—	10
Průměry	9,60	10,40	10,50	12,0

Klinické příznaky a intenzita onemocnění u obou skupin se neprojevovaly rozdílně.

Menší rozdíl se projevil v délce inkubační doby, v nástupu klinických příznaků. Tento rozdíl obnáší v průměru 0,9 dne u zvýšených teplot a 1,6 dne u indigescí, ve prospěch skupiny s vyrovnanou výživou. Z kontrolních neinfikovaných prasat neonemocnělo žádné.

Proto je možno předpokládat, že za podmínek přirozené infekce a vyrovnané výživy může tato zvýšená rezistence přispět k snížení výskytu klinických forem KN, zejména u prasat v zamořeném chovu, která se infikují hraničními nebo subinfekčními dávkami nakažliviny. U mnohých takových prasat by tedy vyrovnaná výživa mohla být rozhodující pro vznik inaparentních forem KN.

Souhrn

Na dvou 13členných skupinách prasat byl zjišťován vliv výživy na odolnost vůči Kloboukové nemoci. Vyrovnaná a deficientní krmná dávka byly podávány prasatům 92 dní. Deficit krmné dávky spočíval v obsahu a biologické hodnotě bílkovin, v obsahu Ca, karotenu, vitamínu C, D a zčásti i B, současně měla dávka nadbytek uhlohydrátů. Infekce virem KN byla provedena intranazálně.

Bylo zjištěno, že:

a) deficientní krmná dávka snížila váhové přírůstky prasat, snížila významně v mezích fyziologických hodnot hladinu alkalické rezervy krve a krevních bílkovin a ovlivnila ve fyziologických rozmezích též hladinu celkových lipidů, cholesterolu a jeho esterů, cukru a železa v krvi;

b) deficientní výživa a infekce KN neovlivnila podstatně počty krvinek, hladinu Ca, P a Mg v krvi, neměla vliv na změny aktivity cholinesterázy krevní plazmy a na hladinu acetylcholinu, na hodnoty globulinové reakce a obsah chloridů v mozkomíšním moku i na intenzitu patologicko-morfologických změn vyvolaných KN;

с) deficientní výživa neovlivnila procento morbidity a intenzitu klinických příznaků KN, urychlila však nástup klinických příznaků.

Vliv deficientní výživy na vnímavost prasat ke KN je nutno spatřovat a hledat ve snížení odolnosti makroorganismu.

Влияние выравненного и дефицитного питания на ход инфекционного энцефаломиелита свиней (болезни Клобука)

У двух групп свиней, насчитывающих по 13 голов, исследовалось влияние питания на устойчивость против болезни Клобука. Выравненный и дефицитный кормовые рационы свиньям подавались в течение 92 дней. Дефицитность кормового рациона заключалась в содержании и биологической ценности белков, в содержании кальция, каротина, витамина С, D, а отчасти также и В; кроме того такой рацион содержал чрезмерное количество углеводов. Заражение вирусом болезни Клобука проводилось интраназально.

Было установлено, что:

а) Дефицитный кормовой рацион снижал привесы свиней, в пределах физиологических величин снижался также уровень алкалического резерва крови и кровяных белков и в физиологических диапазонах повлиял также на уровень общих липидов, холестерина и его эстеров, сахара и железа в крови.

б) Дефицитное питание и инфекция болезни Клобука существенно не повлияли на число кровяных телец, на уровень кальция, фосфора и магния в крови, они не оказывали влияния на изменения активности холинэстеразы кровяной плазмы и на уровень ацетилхолина, на величины глобулиновой реакции и содержание хлоридов в спинномозговой эмульсии и на интенсивность пато-морфологических изменений, вызванных болезнью Клобука.

в) Дефицитное питание не повлияло на процент смертности и интенсивности клинических признаков болезни Клобука, однако оно ускорило появление клинических признаков.

Влияние дефицитного питания на восприимчивость свиней к болезни Клобука необходимо видеть и искать в снижении устойчивости макроорганизма.

The Influence of a balanced and deficient Diet on the Course of the Infectious Swine Paralysis (Klobouk's Disease)

The influence of the diet on the resistance against the Klobouk's disease was tested on two groups of swine, each counting 13 animals. A balanced and deficient diet was given to the pigs during 92 days. The deficiency of the diet was caused by the content and biological value of albumins, by the content of Ca, carotene, vitamins C, D and partially B together with an abundance of hydrocarbons. The infection with the virus of the KD was performed by the intranasal way.

It was established, that

a) the deficient diet reduced the gains in weight of the pigs, led to a significant decrease of the alkalinity reserve level and of the blood albumins within the limits of the physiological values and influenced within physiological limits also the level of the whole lipids, of cholesterol and its esters, of sugar and iron in the blood.

b) the deficient diet and the infection with the virus of the KD did not considerably influence the number of blood cells, the blood level of Ca, P and Mg, did

not affect the changes in the activity of the cholinesterase of the blood plasma, the level of acetylcholin, the values of the globuline reaction and the content of chlorides in the cerebrospinal fluid and the intensity of the pathomorphological changes, caused by the KD.

c) the deficient diet did not influence the percentage of morbidity nor the intensity of the clinical symptoms of the KD, but it shortened the time till the manifestation of clinical signs.

The influence of a deficient diet on the resistance of pigs against the KD is to be found in a decrease of the resistance of the makroorganismes.

Pokusy s purifikací viru nakažlivé obrny prasat (Kloboukovy nemoci)

Опыты с чистым вирусом инфекционного паралича свиней

Experiments concerning the Purification of the Virus of the Infectious Swine Paralysis

Versuche mit Purifikation des Virus der ansteckenden Schweinelähmung

Dr. Ing. H. GRALHEER

Německá akademie zemědělských věd v Berlíně.

Ústav Friedricha Löfflera na ostrově Riems, president Prof. Dr. med. vet. habil.
H. Röhrer

Došlo dne 3. X. 1960

Abychom měli k dispozici modelový virus k biochemickým studiím, snažili jsme se získat v čisté formě různé viry patogenní pro zvířata. Podařilo se nám to již u neurotropně modifikovaného viru slintavky a kulhavky, který se pomnožuje v mozku bílé myši. Do tohoto výzkumu jsme pojali před několika léty i virus nakažlivé obrny prasat. Liebenow, Fischerová a Röhrer použili míchy, mozečku a mozkového kmene typicky onemocnělých prasat, jako výchozího materiálu pro své purifikační pokusy. Dospěli k těmto poznatkům: pro čištění materiálu, bohatého na lipoidní látky se znamenitě hodí chloroform. Odstraňuje nejen lipoidy, nýbrž i většinu nespecifických bílkovin. Celý proces je jednoduchý a rychlý. Současně dochází ke zvýšení titru, kterýžto ukaz pozorujeme též při purifikaci viru slintavky a kulhavky. Zdá se, jako by purifikace chloroformem odstraňovala látky, které tlumí virulenci viru. Stejně úspěšně, avšak bez zvláštních výhod lze zahuštěný virus zbavovat bílkovin kyselinou fluorovodíkovou. Zpracování n-butanol-éterem se naopak ukázalo jako škodlivé, protože při jeho použití bylo pozorováno silné snížení titru.

Další koncentrace chloroformem čištěného viru byla provedena nejdříve vysrážením methanolem vzhledem k tomu, že pro poměrně malý obsah viru v roztocích musely být zpracovány velké objemy. V ultracentrifuze nemohla být totiž pro její kapacitu taková množství tekutiny zpracována.

Jako nejpriznivější pro koncentraci viru byla hodnota pH 5 a 15–20% methanol. Za těchto podmínek se většina viru vysrážela a v supernatantu zůstalo jen nepatrné množství viru. Síráním amonným bylo možno virus také vysrážet, a to při pH 5, přičemž však častěji docházelo k větším ztrátám viru.

Další purifikace viru byla prováděna ultracentrifugací po dobu $1\frac{1}{2}$ hodiny při 30 000 obrátkách za min. Přitom byly však zjišťovány velké ztráty viru. Titrací získaného roztoku se zjistila ztráta více než 90 % původního množství viru. Tuto skutečnost vysvětlujeme značnou agregací viru. Zcela obdobné zkušenosti jsme získali u viru slintavky. Také zde se po dvou hodinách odstředování při 30 000 obrát. za min. stane většina viru nerozpustným a ztrácí se. Zdá se ovšem, že přítomnost průvodních látek při tomto procesu je velmi důležitá. U vysoce purifikovaných preparátů viru slintavky a kulhavky se rozhodně tyto jevy nevyskytly v takovém rozsahu.

Purifikované preparáty o titru 10^{-6} získané působením chloroformu, methanolu a ultracentrifugací, byly studovány elektronopticky. Byly nalezeny steroidní útvary, které nikdy nebyly pozorovány ve stejně zpracovaných preparátech z CNS zdravých prasat. Průměrná velikost útvarů byla asi 50μ , přičemž průměr jednotlivých částic kolísal mezi 30 a 75μ .

Tyto nálezy jsou shodné se snímky uveřejněnými K u b e l k o u a P a t o č k o u. Velikost souhlasí s hodnotami, které byly zjištěny ultrafiltrací.

U všech dosud uveřejněných prací však chybějí další důkazy o čistotě zkoumaných preparátů získaných fyzikálně chemickými metodami. Jde zejména o průkaz homogenosti viru v roztoku v analytické ultracentrifuze a v přístroji pro elektroforézu. Dosud také nebyly podány sérologické důkazy o tom, že v preparátech nejsou přítomny normální složky tkání. Rovněž nebyly stanoveny sedimentační konstanty viru Kloboukovy nemoci (opticky v ultracentrifuze).

Důvod pro to by snad bylo možno hledat v nedostatku materiálu. Protože v mozku nemocných prasat je poměrně malá koncentrace viru, musela by být zpracována značně velká množství drahého výchozího materiálu, abychom na konci purifikačních procesů měli ještě k dispozici dostatečná množství viru pro studium. Dále by bylo asi obtížné provádět široce založené titrace na pokusných prasatech, které by byly nutné ke spolehlivému posouzení výsledků purifikačních a koncentračních procesů.

Vyhledky na získání čistého viru se zlepšily teprve po zavedení kultivace viru nakažlivé obrny prasat na tkáňových kulturách. Proto jsme se v poslední době k tomuto problému znovu vrátili. I když zkoumání prováděná v současné době mají zatím pouze informativní povahu, přece lze již uvést některé výsledky.

Ze supernatantu media s obsahem kulturního viru o titru 10^{-7} — $10^{-7,5}$ lze ultracentrifugou odstředit 90 % viru za $1\frac{1}{2}$ hodiny při 25 000 obr./min. a znovu jej získat. Zkoncentrování viru z větších množství kulturního media je možné vysrážením viru při pH 5 20% methanolem. Zahuštění na 10—20násobek je tedy proveditelné bez větších ztrát viru, čímž je umožněna další koncentrace a purifikace ultracentrifugou.

U viru pomnoženého na tkáňových kulturách se zdá býti zpracování chloroformem nevhodné na rozdíl od viru z mozku vzhledem k tomu, že u kulturního viru dochází k velkým ztrátám. Při zkoumání virové suspenze v analytické centrifuze (virus byl vysrážen methanolem a pak koncentrován ultracentrifugováním) jsme pozorovali proužek, jehož sedimentační konstanta byla vypočítána, jako SK 170. Další studium musí objasnit zda přísluší viru Kloboukovy nemoci.

Опыты с чистым вирусом инфекционного паралича свиней

Было установлено, что для пурификации вируса инфекционного паралича из материала, богатого липоидными веществами, исключительно пригоден хлороформ, который из материала удаляет не только липоиды, но и большую часть неспецифических белков. Так же успешно, но без всяких преимуществ, можно очистить вирус от белков с помощью фтороводородной кислоты. У вируса, размножаемого на тканевых культурах (в отличие от получения вируса непосредственно из мозговой ткани), применение хлороформа для пурификации вируса непригодно, так как происходят большие потери. Для пурификации вируса из тканевых культур больше всего выгодно применить ультрацентрифугирование. После концентрирования вируса из большого количества культивационной жидкости можно добиться осаждения вируса при pH 5 20% метанолом. Следовательно, в 10—20 раз большее концентрирование вполне осуществимо без больших потерь вируса, что, в свою очередь, дает возможность дальнейшей концентрации и очистки в ультрацентрифуге.

Experiments concerning the Purification of the Virus of the Infectious Swine Paralysis

It was ascertained, that for the purification of the virus of the infectious swine paralysis from material abundant in lipoids the most suitable means is chloroform, for it deprives the material not only of lipoids, but also of the main part of non-specific albumins. With the same success, but without further advantages, the concentrated virus can be deprived of albumins by the hydrofluoric acid. For a virus grown on tissue cultures (in contrast to virus acquired directly from the brain tissue) the use of chloroform is not convenient because of the great losses. For the purification of virus from tissue cultures the ultracentrifugation is more suitable. After concentration of the virus from a greater amount of culture medium the virus can be precipitated by 20 % methanol, the suitable pH being 5. A concentration to the 10—20 fold content is therefore possible without greater losses of the virus and so a further concentration and purification is made possible.

Versuche mit Purifikation des Virus der ansteckenden Schweinelähmung

Es wurde festgestellt, daß Chloroform zur Purifikation des Virus der ansteckenden Schweinelähmung aus lipoidhaltigem Material geeignet ist; es entfernt aus dem Material nicht nur die Lipide, sondern auch die meisten nichtspezifischen Eiweißstoffe. Mit gleichem Erfolg, jedoch ohne besondere Vorteile, können mit Hilfe der Fluorwasserstoffsäure die Eiweißstoffe aus dem Viruskonzentrat ausgeschieden werden. Wird das Virus auf Gewebenährböden (zum Unterschied vom Virus, das direkt aus dem Hirngewebe gewonnen ist) kultiviert, so ist das Chloro-

form für Purifikationszwecke nicht geeignet, weil dabei große Verluste entstehen. In diesem Falle bewährt sich eher das Ultrazentrifugieren. Aus einem größeren Quantum des Kultivationsmediums läßt sich das konzentrierte Virus bei pH5 mit 20 % - Methanollösung ausfällen. Die 10 bis 20fache Konzentration ist demnach ohne größere Verluste an Virus durchführbar, wodurch wiederum eine weitere Konzentration und Purifikation mittels Ultrazentrifuge ermöglicht wird.

**Studie o tvorbě plaků viru nakažlivé obrny prasat
(Kloboukova nemoc, těšínská choroba, Encephalomyelitis enzootica suum)
na tkáňových kulturách z ledvin selat**

**Изучение образования бляшек вируса инфекционного энцефаломиелита свиней
(Болезни Клобука, Тешенской болезни, Encephalomyelitis enzootica suum)
на культурах почечной ткани поросят**

Studie über die Bildung von Platten (Plaques) des Virus der ansteckenden Schweinelähme (Klobouk'schen Krankheit, Teschener Krankheit, Encephalomyelitis enzootica suum) auf Gewebskulturen von Ferkelnieren

Dr. Horst HAHNEFELD a dr. Elizabeth HAHNEFELDOVÁ
*Německá akademie zemědělských věd v Berlíně, Ústav Friedricha Löfflera
na ostrově Riems.
(President Prof. Dr. med. vet. habil. H. Röhrer).*

Došlo dne 3. X. 1960

Úvod

Novější odborná literatura (Larski, 8, Mayr, 9, Mayr a Schwöbel, 10, 11, Patočka a spolupracovníci, 13, Bourdin a spol., 3) opětovně pojednává o množení viru nakažlivé obrny prasat v kulturách vepřových ledvin a o cytopatologických změnách takto vyvolaných. Není však žádných zpráv o výzkumu tohoto viru plakovou technikou, třebaže tohoto způsobu bylo úspěšně použito u jiných enterovirů prasat (Singh a spol., 18, Bohl a spol., 2). Bylo tedy žádoucí vyzkoušet, zda virus Těšínské choroby (KN.) má schopnost tvořit plaky na kulturách ledvinové tkáně prasat a které podmínky to podstatně ovlivňují.

Vlastní práce

Tkáňové kultury a tvoření plaků

Pokusy s plaky jsme prováděli s malou technickou odchylkou podle Hsiunga a Melnicka (7) na jednovrstevných kulturách ledvinové tkáně selat v Powitzkého lahvích o obsahu 100 ml. Trypsinované a proprané buňky ledvin selat byly suspendovány v poměru 1 : 150 do růstového media složeného z Hanksova solného roztoku s 20 % hovězího séra a 0,5 % laktalbuminhydrolyzátu. Do kultivačních lahví bylo nasazeno po 16 ml buněčné suspenze. Po čtyřdenní inku-

baci při 37° C buňky vytvořily souvislý porost a medium bylo odstraněno. Očkovalo se zředěným virem těšínské choroby kmene Jena vyších kulturních pasáží s titrem od 10^{-6,8} do 10^{-7,6} KID 50/0,1 ml. Agarové medium používané po adsorpční době k navrstvení sestávalo z 1 % agargelu v Hanksově solném roztoku s 3 procenty 5,6 % roztoku natriumbikarbonátu, 0,5 % laktalbuminhydrolyzátu a 2 % inaktivovaného hovězího séra, s přidavkem 100 MJ penicilinu a 100 γ streptomycinu na 1 ml. 5 ml této směsi bylo použito k převrstvení monolayerů na jedné kultivační láhvi. Plaky byly počítány a posouzeny po zbarvení kultur 5 ml roztoku neutrální červeně 1 : 10 000 zpravidla 4 dny po inokulaci viru.

Časový nástup a morfologie plaků viru Těšínské choroby za standardních podmínek

Zřetelně vyznačené plaky se za uvedených kultivačních podmínek vytvořily po naočkování 0,1–0,5 ml viru ve zředění 10⁻⁶. První se objevily na konci druhého dne inkubace, nejdříve jen jednotlivě. Třetího dne se počet plaků zřetelně zvýšil a od 4. dne zůstal poměrně stálý. Střední průměr plaků činil po dvou dnech 1 mm, 4. dne inkubace 6 mm a po 6denní inkubaci 10 mm.

I. Počet a velikost plaků při 2 až 6denní inkubaci*)

Dny p. i.	2	3	4	5	6
Průměrný počet plaků	5 ; 4 5 ; 7	13 ; 12 15 ; 14	17 ; 14 14 ; 14 17	16 ; 9 20 ; 17 13	15 ; 18 13 ; 21
Střední průměr plaků v mm	1	1–5	2–7	7–9	8–12

*) Očkovací dávka: kulturní virus 10⁻⁶, 0,1 ml na láhev.

Tabulka I podává přehled o velikosti a změnách v počtu plaků v závislosti na době inkubace. Bližší morfologická charakteristika plaků viru Těšínské choroby je zřejmá z vyobrazení 1. Plaky jsou okrouhlé, ostře ohraničené a mají jasná centra.

Některé cytopatogenní enteroviry prasat vyšetřované Singhem (18) a Bohlem (2), jmenovitě kmeny 1 a 5 jsou co do časového nástupu a morfologie plaků velmi podobné, zatímco jiné se v těchto vlastnostech velmi liší. Tyto ECPO viry nejsou zřejmě pro prasata patogenní. Také o imunologických vztazích těchto kmenů k viru nakažlivé obrny prasat není nic známo.

Vliv různých složek agarového media na počet a morfologii plaků viru nakažlivé obrny prasat

Při zvoleném inokulu viru pohyboval se počet plaků v rozmezí od 10–20 pro 0,1 ml. Počet a morfologie plaků jsou při stálém virovém inokulu závislé na jakosti buněčné vrstvy a složení použitého agarového media. Vliv druhu a jakosti buněčné vrstvy na tvoření plaků podrobně zkoumali u viru slintavky a kulhavky Sellers (16) a Sellers - Stewart (17).

Existují i jiná důležitá pozorování o účinku různých faktorů prostředí na tvorbu plaků u mnohých druhů virů Dulbecco (4), Dulbecco a Vogtová (5), Youngner (23), Sellers (16), Sellers a Stewart



1. Plaky viru nakažlivé obrny prasat na tkáňových kulturách z ledvin selat po 2—, 4— a 6denní inkubaci (zleva doprava)

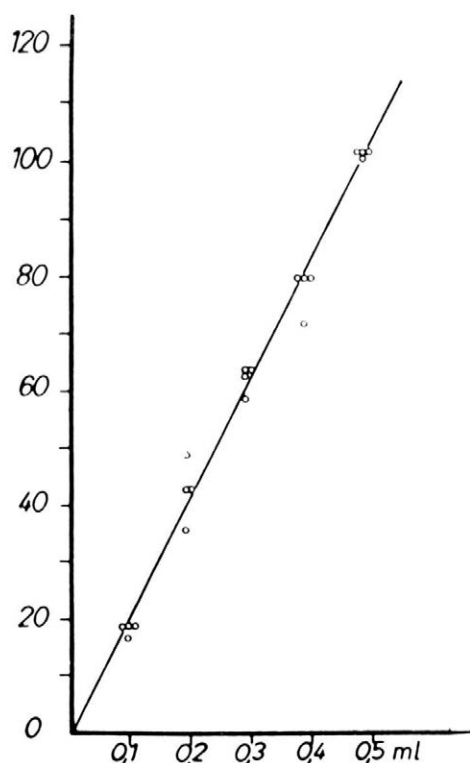


2. Vliv koncentrace hovězího séra v agarovém mediu na počet a velikost plaků viru nakažlivé obrny prasat (zleva doprava 0, 2, 5, 10 a 20 % aktivního hovězího séra)



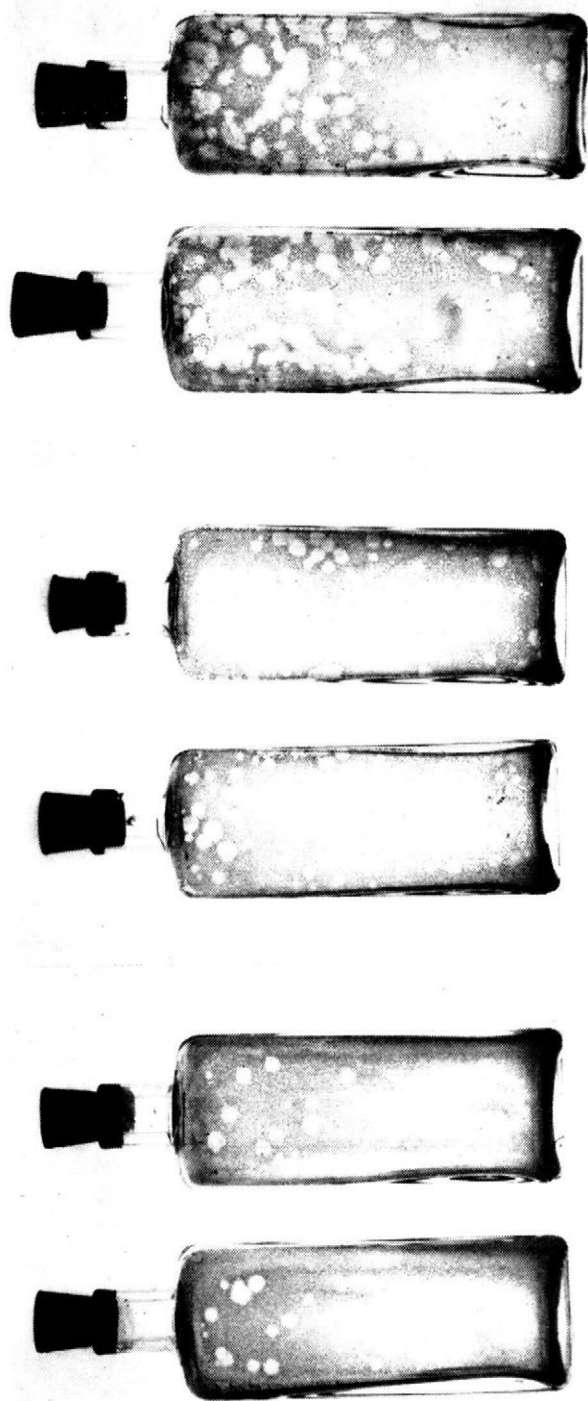
3. Vliv koncentrace neutrální červeně v agarovém mediu na tvorbu plaků nakažlivé obrny prasat.

Zleva doprava: kontrola bez neutrální červeně, obsah neutrální červeně 1 : 100.000 a 1 : 50.000. Obarveno neutrální červení 4. den po infekci



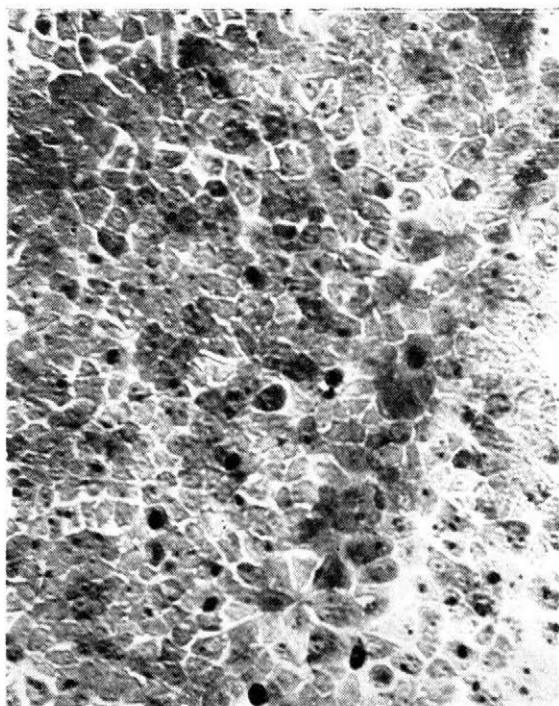
4. Počet plaků v láhvi — (na svislé straně grafu). Inkubační dávka viru 20 PTJ/0,1 ml — (těsně pod grafem)

Lineární vztah mezi inkubační dávkou viru a počtem plaků u viru nakažlivé obrny

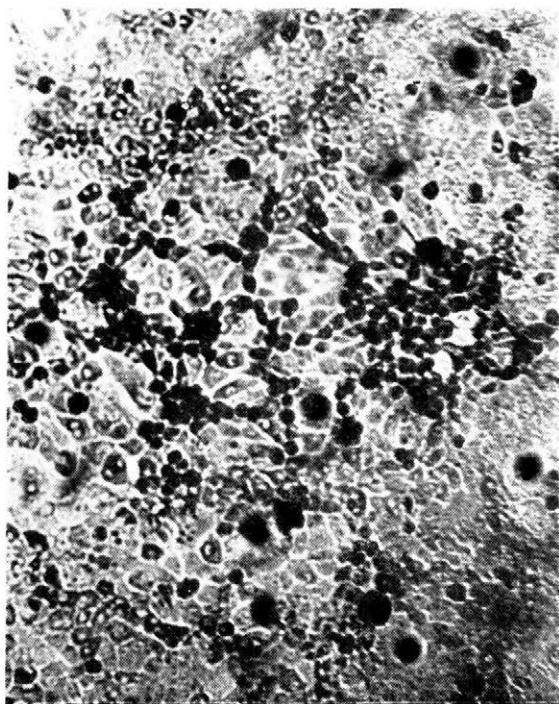


5. Vztah mezi inkubační dávkou viru a počtem plaků při infekci 0.1 ml, 0.3 ml a 0.5 ml kulturního viru zředěného 10^{-5} (zleva do prava)

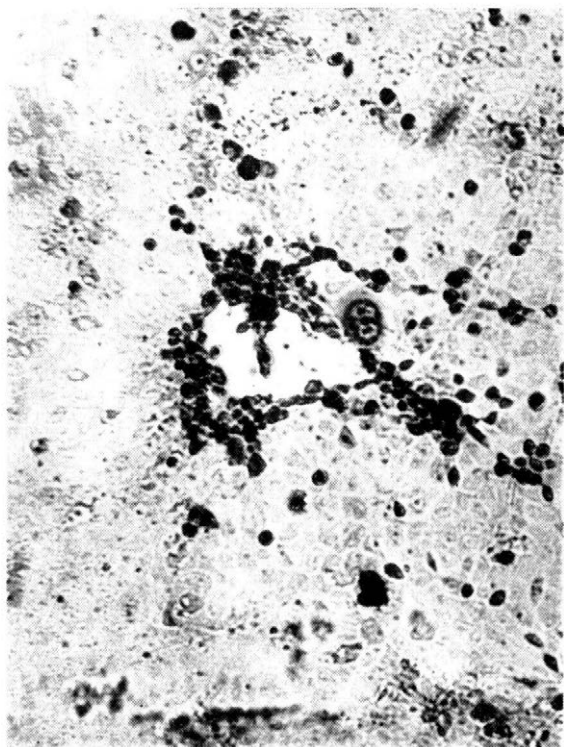
Mikroskopický rozvoj cytopatogenních změn vyvolaných virem I. O. na PK buňkách. (Giemsa, primární zvětšení 50X)



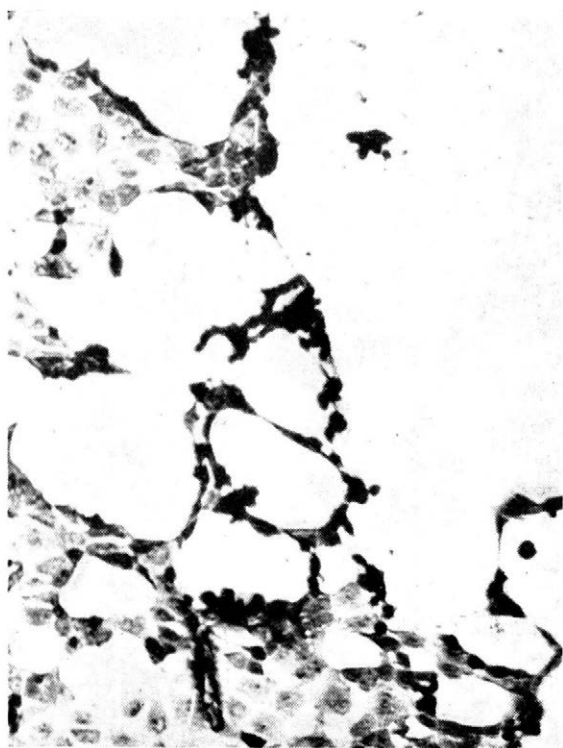
1. Normální kontrolní tkáň.



2. Protahování a shlukování buněk.

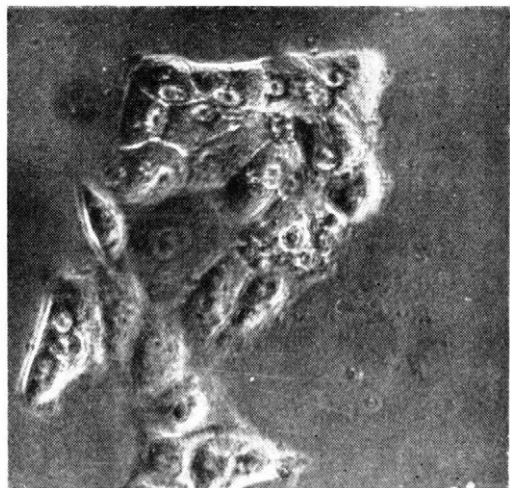


3. Retrakce buněk s volným prostorem uprostřed — „nativní plaque“.



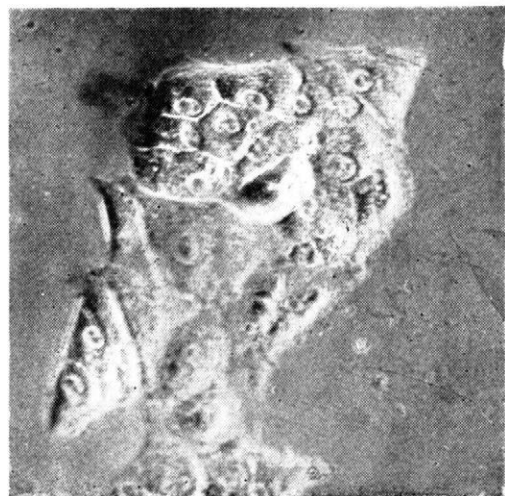
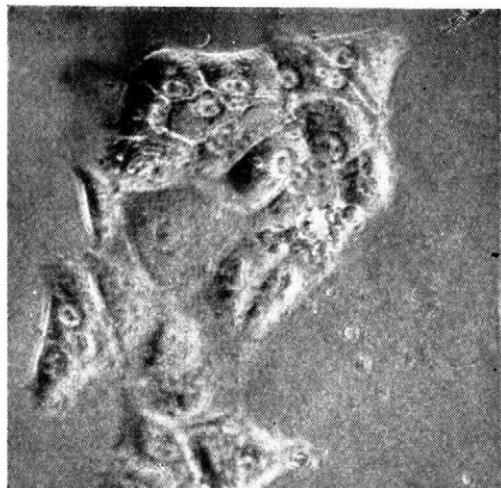
4. Sítovitá struktura, konečný rozpad.

Morfologické změny, vyvolané virem I. O. na PK buňkách, sledované ve fázovém kontrastu při zvětšení 120 $\times$.



5. Bezprostředně po infekci.

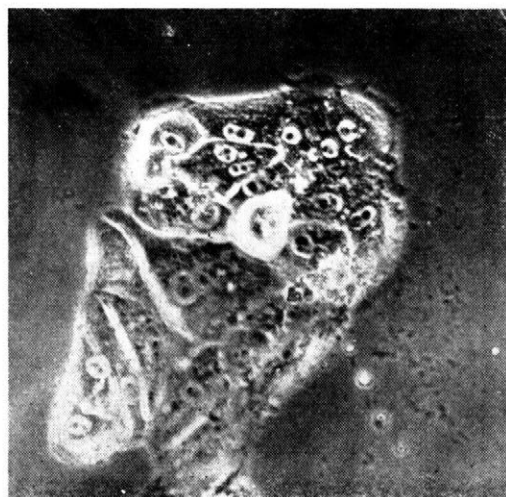
6. 7 hodin po infekci.



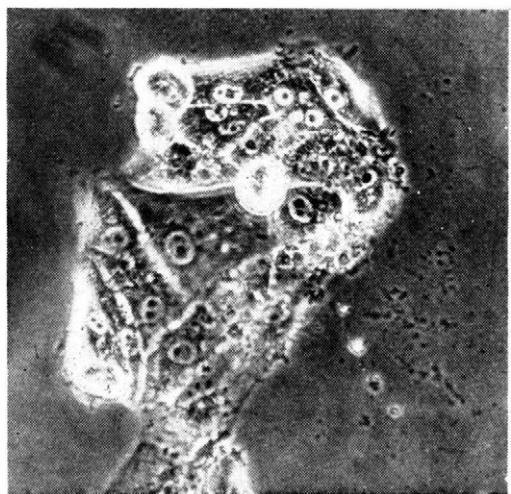
7. 13 hodin po infekci.



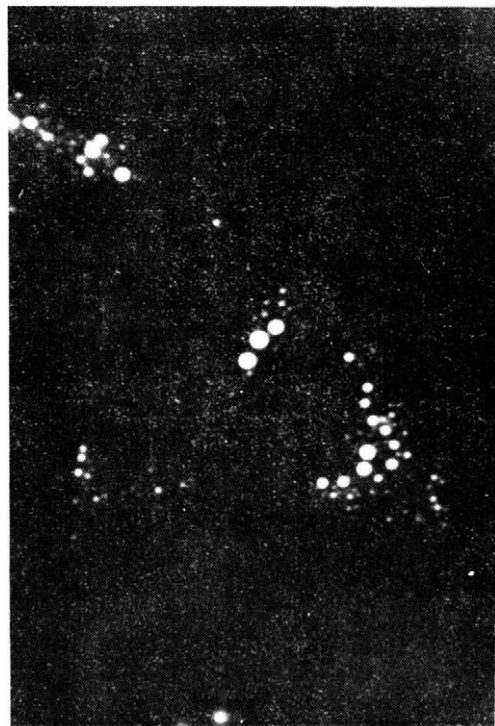
8. 16 hodin po infekci.



9. 18 hodin po infekci.

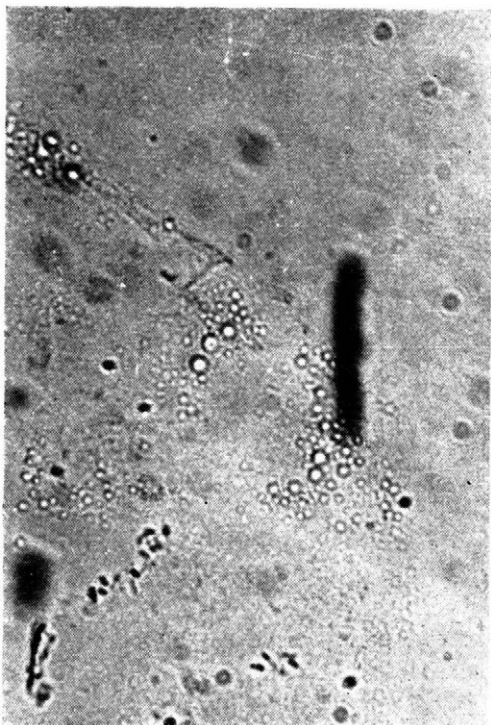


10. 19 hodin po infekci.

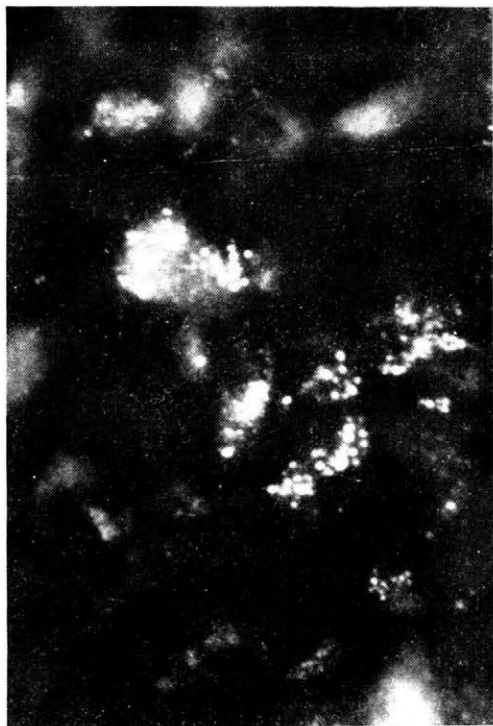


Detekce intracelulárně pomnoženého
víru I. O. v PK buňkách.

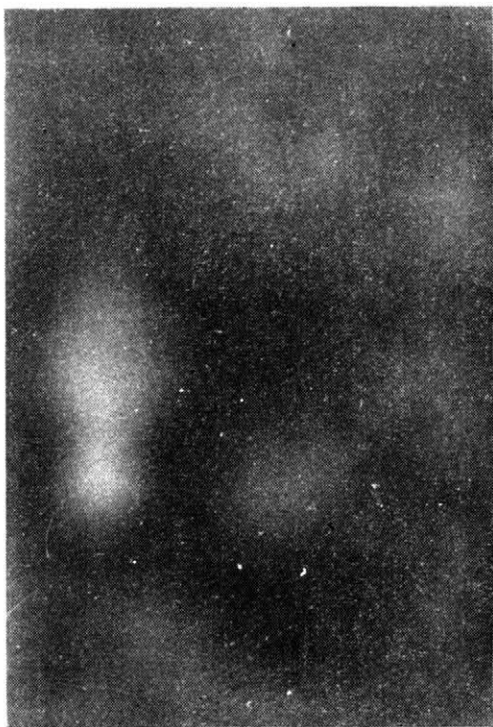
11. 4 hodiny od infekce.



12. 4 hod. od infekce — stejné pole
v zástinu.



13. 6 hodin od infekce.



14. Kontrolní kultura bez viru.

(17), Waterson (20–22), Pledger (14), Sommerwille (19). Zvláště je znovu upozorňováno na tlumící vliv složek neutrální červeně krycího média na tvorbu plaků.

Účinek koncentrace séra

Při našich pokusech s plaky viru nakažlivé obrny prasat byl též zkoumán vliv koncentrace séra a neutrální červeně v agarovém mediu. Také Mayr a Schwöbel (10, 11) zjistili při studiích tkáňové kultivace viru nakažlivé obrny prasat, že za přítomnosti 5 % hovězího séra došlo k znatelnému zpomalení množení viru.

Zkoušeli jsme schopnost tvoření plaků virem nakažlivé obrny prasat v mediu jednak bez séra, jednak při 2–20 % obsahu hovězího séra se stejným buněčným a virovým systémem a zjistili jsme značný brzdící vliv na počet a velikost plaků při stoupající koncentraci séra. Inhibiční vliv se projevoval více při použití séra nativního než při použití séra inaktivovaného. Také séra různých zvířat se mohou výrazně lišit ve svém inhibičním účinku.

Jak ukazuje obrázek 2., může se počet a velikost plaků viru nakažlivé obrny vepřů zřetelně zmenšit již při 5 % koncentraci séra. Při přidání 20 % séra k agarovému mediu se tvoření plaků velmi výrazně potlačí. Naproti tomu přidání 2 % hovězího séra nemělo nepříznivého účinku.

Účinek koncentrace neutrální červeně

Ježto se počet plaků viru nakažlivé obrny vepřů po 4. dnu inkubace již neměnil, prováděli jsme zpravidla v tuto dobu barvení neutrální červení. Dnes se běžně používá barvení buněčné vrstvy pod agarem teprve po vytvoření lézí vyvolaných virem, poněvadž při přímém přidání barviva k agarovému mediu podle Dulbecco (4) originálního postupu bylo někdy pozorováno poškození kultur nebo útlum vývinu plaků. Tak zjistil Waterson (20) při studiích s virem moru drůbeže za použití buněk kuřecích embryí, že koncentrace neutrální červeně — 1 : 10.000 v agarovém mediu způsobila snížení počtu plaků o 55 %. Také Pledger (14) pokusy s plaky A viru slintavky a kulhavky na buňkách telecích ledvin prokázaly snížení počtu plaků při této koncentraci neutrální červeně. To o snížení však mohlo být kompenzováno prodloužením inkubační doby. Pledger (14) z toho usuzoval, že určitá raná stadia množení viru jsou inhibována neutrální červení, která působí přes hostitelské buňky.

Srovnávali jsme schopnost tvorby plaků viru nakažlivé obrny prasat jednak v prostředí bez neutrální červeně, jednak při koncentraci neutrální červeně 1 : 100.000, 1 : 50.000 a 1 : 30.000 v agarovém mediu po jednorodinové adsorpci viru při 37° C. Po čtyřdenní inkubaci se projevil výrazný úbytek počtu vytvořených plaků se stoupající koncentrací barviva. Počínaje koncentrací 1 : 50.000 docházelo ke zpomalení tvorby plaků a jak je zřejmo z obr. 3, bylo při opakovaných pokusech dokázáno, že střední průměr plaků se zmenšuje o 1 až 2 mm.

Tvorba plaků viru obrny prasat za různých adsorpčních podmínek

Cílem dalších pokusů s plaky bylo prozkoumat podmínky adsorpce viru obrny prasat na kulturách ledvinové tkáně selat. Za tím účelem jsme zkoumali vliv objemu inokula, časového faktoru, a teploty po dobu adsorpce.

Vliv objemu inokula na adsorpci viru

Při naočkování stejného množství viru s asi 50 plakotvornými jednotkami v 0,2 ml jsme pozorovali, že při stoupajícím množství tekutiny klesal znatelně počet tvořených plaků. Typicky probíhající pokus toho druhu je znázorněn v tab. II.

II. Tvorba plaků virem obrny prasat při různých objemech inokula

Kult. virus 10 ⁻⁶ 50 PTJ/0,2 ml	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Objem inokula v ml	0,2	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0
Průměrný počet plaků	49	25	24	23	22	20
%	98	50	48	46	44	40

Vysvětlivka: PTJ = plakotvorné jednotky.

Z toho je zřejmé, že při objemu inokula 0,5 ml byl zaznamenán pokles počtu plaků o 50 %. Dále při celkovém objemu 1 ml až 4 ml počet plaků stále klesal, poměrně však jen nepatrně. K silnější redukci plaků až na 40 % došlo pak až při extrémně velkém inokulačním objemu 8 ml. Redukce počtu plaků při stoupajícím objemu inokula byla zjištěna Watersonem (21) při herpetickém viru a Bachrachem a spol. (1) u viru slintavky a kulhavky. Bachrach a spol. (1) vysvětlují snížení počtu plaků při stoupajícím objemu inokula změnou efektivní rychlosti při kolizi mezi buňkou a virem.

Vliv adsorpční doby a teploty během adsorpce

Z dalších faktorů, které mohou kvantitativně ovlivnit schopnost viru Těšínské choroby tvořit plaky, zkoušeli jsme adsorpční dobu a teplotu, při níž tato adsorpce probíhala, tak, že jsme pokus založili při 37° C a 22° C a adsorpční dobu měnili od 5 min. do 120 min. K určení neadsorbovaného viru byly infikované kultury po uplynutí adsorpční doby opláchnuty dvakrát 1 ml udržovacího média a tato smývací tekutina znovu přezkoušena v pokuse s plaky. Podle Pledgera (14) se dařilo s tímto množstvím tekutiny kvantitativně zachytit neadsorbovaný virus. Tato šetření prokázala, že plný počet plaků v jednotlivých kultivačních lahvích se vytvořil již po 5 minutové, ve většině případů až po 15 min. adsorpci. Další prodloužení adsorpční doby až na 120 min. již nevyvolalo u viru obrny prasat vzrůst počtu plaků. Tato pozorování souhlasí s výsledky, které se zjistily při určování neadsorbovaného viru. Jak ukazují výsledky s infekční smývací tekutinou (tabulka III), ubývá zřetelně neadsorbovaného viru po adsorpci trvající 5–30 min., zatím co až do 120 min. se dá prokazovat přibližně ve stále stejném množství.

Závislost virové adsorpce na teplotách, při kterých probíhala v našich pokusech, nebyla pozorována. Po inkubaci 37° C a 22° C se nezjistily podstatné rozdíly v počtu plaků adsorbovaného a neadsorbovaného viru ve smývací tekutině. Tyto výsledky se výrazně odlišují od adsorpčních poměrů zjištěných u jiných druhů virů. Tak např. u herpetického viru, jak uvádí Waterson (21), se dosahuje maxima adsorpce po 4 hod. Zdá se, že u tohoto viru, jakož i u viru slintavky a kulhavky existuje podle Bachracha a spol. (1) zřejmá souvislost mezi schopností vytvářet plaky a adsorpční teplotou.

III. Tvorba plaků virem nakažlivé obrny prasat při různých adsorpčních časech a teplotách

Teplota °C		37				22				
Čas min.		15	30	60	120	5	15	30	60	120
AV	Počet plaků	47	46	55	49	49	54	32	48	40
		44	46	45	43	31	44	45	49	44
		n. o.	51	51	47	36	31	50	n. o.	44
		n. o.	44	42	n. o.	42	46	53	45	40
	Střední hodnota	45	47	48	46	40	44	45	47	42
NAV	Počet plaků	16	6	4	6	12	7	1	6	5
		12	5	9	2	13	6	4	7	8
		8	7	3	5	14	22	7	9	4
		8	n. o.	6	4	11	16	16	8	5
						17				
						17				
	Střední hodnota	11	6	5,5	4	14,4	12,7	7	7,5	5,5

AV = adsorbovaný virus

NAV = neadsorbovaný virus

n. o. = nelze odečíst

Vztahy mezi koncentracemi viru a počtem plaků

Dulbecco (4) u viru západní koňské encefalitidy a Dulbecco s Vogtovou (5) u polioviru dokázali, že existuje přímá poměrnost mezi počtem plaků a dávkou viru. Také u jiných druhů viru mohl být mezi oběma těmito veličinami zjištěn lineární vztah. Na př. u herpetického viru jsou při použití FI-buněk v rozmezí od 2 do 105 plaků (Osterhout a Tamm (12)).

Podobné vztahy mezi koncentrací viru a počtem plaků se zjistily u viru moru drůbeže v rozsahu od 10 do 120 plaků (Waterson [20]) a u viru slintavky a kulhavky od 10–70 plaků (Bachrach a spolupracovníci [1]).

Studovali jsme tyto vztahy u viru nakažlivé obrny prasat tak, že jsme rozočkovali dávky od 0,1 do 0,5 ml zředění viru obsahujícího asi 20 plakotvorných jednotek v 0,1 ml, do čtyř kultivačních lahví, a po 4denní inkubaci zjišťovali počty plaků. Jak je vidět z výsledků pokusů na obr. 4, ukázal se lineární vztah mezi dávkou viru a počtem plaků v rozsahu od 19 do 102 plaků na 1 kultivační láhev (6). Vyobrazení 5 vyznačuje tuto poměrnost u inokulačních dávek viru od 0,1–0,3 a 0,5 ml v příslušném pokuse koncem třetího dne po inokulaci.

Titrace plakovou metodou ve srovnání se stanovením ID₅₀ podle cytopatogenního efektu

Dulbecco a Vogtová (5) při pokusech s virem polio poukázali na praktický význam plakové techniky, jako na citlivý a dobře reprodukovatelný způsob titrace. K přezkoušení vhodnosti plakové metody jako makroskopického titračního postupu pro virus Kloboukovy nemoci, provedli jsme srovnávací titraci pomocí počítání

plaků a stanovení ID₅₀ ve zkumavkových kulturách na základě cytopatogenního efektu. Pokusy s plaky byly založeny ve 4–10 kultivačních lahvích, které byly infikovány virem ve zředění 10⁻⁵ a 10⁻⁶ v dávkách 0,1 až 0,2 ml. Při titracích pomocí cytopatogenity bylo naočkováno po 0,1 ml viru ve zředění 10⁻⁵ až 10⁻⁹ vždy po 4 zkumavkových kulturách pro každé ředění. Zkumavkové a lahvévé kultury byly stejného původu, stejně staré a naočkovány stejným zředěním viru.

IV. Srovnávací titrace pasážovaného kulturního viru Těšínské choroby plakovou metodou a stanovení ID₅₀ pomocí cytopatogenity

Pasáž kulturního viru	Ředění	Dávka viru na láhev (ml)		Titř cytopatogenity (ml)
54.	10 ⁻⁵	0,1	$2,1 \times 10^{-8}$	10 ^{-7,8}
	10 ⁻⁶	0,1	$1,7 \times 10^{-8}$	10 ^{-7,8}
	10 ⁻⁶	0,2	$0,6 \times 10^{-8}$	10 ^{-7,7}
66.	10 ⁻⁶	0,1	$6,2 \times 10^{-8}$	10 ^{-8,5}
	10 ⁻⁶	0,1	$5,7 \times 10^{-8}$	10 ^{-8,5}
87.	10 ⁻⁵	0,1	$2,7 \times 10^{-8}$	10 ^{-8,0}
	10 ⁻⁶	0,2	$2,4 \times 10^{-8}$	10 ^{-8,0}
93.	10 ⁻⁶	0,1	$4,8 \times 10^{-8}$	10 ^{-8,5}
	10 ⁻⁶	0,1	$4,5 \times 10^{-8}$	10 ^{-8,5}

Jak ukazuje tabulka IV., je titř 54. pasáže kulturního viru, zjištěný plakovou metodou 10^{-8,32} PTJ/ml (plakotvorných jednotek na 1 ml) a infekční titř kalkulovaný podle Reed a Muenche (15) 10^{-7,8} KID₅₀/1,0 ml (50% infekční dávka podle cytopatogenního efektu na tkáňových kulturách v 1 ml). Jelikož titry u ostatních pasáží byly rovněž poněkud vyšší při použití plakové metody, zdá se, že tato metoda je pro virus nakažlivé obrny citlivější než titrace na zkumavkových kulturách pomocí kalkulace KID₅₀.

Diskuse

Při kalkulaci viru Kloboukovy nemoci na ledvinové tkáni selat tvaří se nejdříve jen jednotlivé zřetelné plaky a to již na konci druhého dne inkubace; třetího dne se počet plaků zřetelně zvýšil a od čtvrtého dne zůstává poměrně stálým.

Střední průměr plaků činí po dvou dnech 1 mm, čtvrtý den inkubace 6 mm a po 6 dnech inkubace 10 mm.

Počet a morfologie plaků jsou při stálém virovém inokulu závislé na jakosti buněčné vrstvy a na složení použitého agarového media.

Byl zjištěn značný inhibiční vliv na počet a velikost plaků při stoupající koncentraci séra. Při přidání 20% séra k agarovému mediu potlačí se velmi výrazně tvoření plaků.

V práci byl zkoumán účinek koncentrace neutrální červeně na tvorbu plaků, tvorba plaků viru nakažlivé obrny za různých adsorpčních podmínek, vliv objemu

inokula na adsorpci virů, vliv adsorpční doby a teploty během adsorpce, vztahy mezi koncentrací virů a počtem plaků a konečně titrace plakovou metodou ve srovnání se stanovením JD 50 podle cytopathogenního efektu.

**Изучение образования бляшек вируса инфекционного энцефаломиелимита свиней
(Болезни Клобука, Тешенской болезни, *Encephalomyelitis enzootica suum*)
на культурах почечной ткани поросят**

При культивации вируса болезни Клобука на почечной ткани поросят сначала образуются только отдельные явно выраженные бляшки, а именно в конце вторых суток инкубации, на третьи сутки число бляшек явно повысилось, а начиная с четвертых суток оставалось сравнительно постоянным.

Средний диаметр бляшки через 2 дня достигал 1 мм, на четвертые сутки инкубации — 6 мм, и после 6-дневной инкубации — 10 мм. Число и морфология бляшек при постоянном вирусном инокуляте зависит от состава клеточного слоя и от состава использованной агаровой питательной среды.

Было обнаружено значительное ингибирующее влияние на число и величину бляшек при повышающейся концентрации сыворотки. При добавлении 20 % сыворотки к агаровой питательной среде образование бляшек весьма заметно затормозится.

В работе изучалось действие концентрации нейтральрота на образование бляшек, образование бляшек вируса инфекционного энцефаломиелимита свиней при различных адсорбционных условиях, влияние объема инокулята на адсорбцию вирусов, влияние времени адсорбции и температуры в течение адсорбции, взаимосвязь между концентрацией вирусов и числом бляшек и наконец титрация при помощи метода бляшек по сравнению с установлением JD 50 по цитопатогенности.

Studie über die Bildung von Platten (Plaques) des Virus der ansteckenden Schweinelähme (Klobouk'schen Krankheit, Teschener Krankheit, *Encephalomyelitis enzootica suum*) auf Gewebskulturen von Ferkelnieren

Bei der Kultivation des Virus der KK auf Nierengewebe von Ferkeln bilden sich zuerst einzelne ausgeprägte Platten, und das schon am Ende des zweiten Tages der Inkubation. Am dritten Tage hat sich ihre Anzahl erheblich vermehrt und vom vierten Tage an bleibt ihre Anzahl verhältnismäßig konstant.

Die mittlere Größe der Platten beträgt nach 2 Tagen 1 mm, am 4. Tage der Inkubation 6 mm und nach 6 Tagen der Inkubation 10 mm.

Die Anzahl und Morphologie der Platten sind bei gleichem Virusinokulat abhängig von der Qualität der Zellschicht und von der Zusammensetzung des Agarmediums.

Bei steigender Serumkonzentration wurde ein bedeutender inhibierender Einfluß auf Zahl und Größe der Platten festgestellt. Eine Zugabe von 20 % Serum zum Agarmedium unterdrückt sehr deutlich die Entstehung der Platten.

Die Arbeit befaßt sich weiters mit der Wirkung einer Neutralrotkonzentration auf die Bildung der Platten, der Bildung von Platten des Virus der KK unter ver-

schiedenen Adsorptionsbedingungen, dem Einfluß der Menge des Inokulums auf die Adsorption des Virus, mit dem Einfluß der Adsorptionsdauer und der Temperatur während der Adsorption, der Beziehung zwischen Viruskonzentration und Anzahl der Platten und schließlich mit der Plattentitrationsmethode im Vergleich zur Bestimmung von JD_{50} nach dem zytopathologischen Effekt.

Biologické vlastnosti viru I. O. vepřů kultivovaného na tkáňových kulturách stabilní linie epithelu vepřových ledvinných buněk (kmen PK)

**Биологические свойства вируса инфекционного энцефаломиелита свиней,
культивированного на тканевых культурах стабильной линии эпителия почечных
клеток свиней (штамм PK)**

**Die biologischen Eigenschaften des auf Gewebskulturen einer stabilen Linie von
Nierenepithelzellen von Schweinen (Stamm PK) gezüchteten Virus der anstecken-
den Schweinelähme (AS)**

Bohuslav KORYCH, František PATOČKA, Jan HOŘEJŠÍ, Vladimír KUBELKA
Za technické spolupráce R. Štejfy
Ústav pro lékařskou mikrobiologii a imunologii K. U. v Praze
Laboratoř pro proteosyntézu K. U. v Praze

Došlo dne 3. X. 1960

Úvod

Možnost kultivace viru I. O. vepřů na tkáňových kulturách byla uvedena poprvé L a r s k i m na kulturách Maitlandova typu (1) a brzy potom následovala řada sdělení, zabývajících se možnostmi kultivace tohoto viru na tkáňových kulturách jednovrstevného epithelu vepřových ledvin a produkcí specifického cytopathogenního efektu (2-5) i studiem vlastností viru na daném tkáňovém substrátu (6-9).

Tato práce se zabývá studiem morfologické reakce buněk stabilní linie epithelu vepřových ledvin, infikovaných virem I. O. vepřů a porovnáním časných morfologických změn pozorovaných fázovým kontrastem s intracelulární produkcí viru, sledovanou metodou fluorescenčních protilátek.

Materiál a metody

Virus: V pokusech bylo užito viru I. O. vepřů kmen Praha z 12. tkáňové pasáže. Virus před pasážováním na tkáňových kulturách prošel více než 100 i. c. pasážemi na vepřích.

Tkáňové kultury: Bylo použito stabilní linie epithelu vepřových ledvinných buněk kmen PK v rozmezí 50-75 pasáže. Buňky byly získány při příle-

žitosti Stockholmského kongresu r. 1958 ve 22. pasáži. Kultura byla udržována subkultivací trypsinizační procedurou v kultivačním mediu složeném z 0,5 % laktalbuminhydrolyzátu v Earlově nárazníkovém roztoku a 10 % telecího séra (10). Pro studium změn pozorovaných fázovým kontrastem a fluorescenčním mikroskopem byly připravovány kultury na krycích skličkách pro Buerkerovy komůrky v Petriho miskách o průměru 6 cm. Buněčná suspenze byla pipetována v množství 5 ml s celkovým počtem 500.000 živých elementů na jednu Petriho misku. Pro fluorescenční mikroskopii byly užívány skličkové kultury s konfluentním růstem, pro sledování změn ve fázovém kontrastu kultury s ostrůvkovitým růstem buněk pro lepší přehlednost zorného pole.

Infekce kultur: Infekce kultur byla prováděna po propláchnutí Hanksovým nárazníkovým roztokem příslušným počtem tkáňových infekčních dávek viru (TCID₅₀) a kultivační medium bylo zaměněno za udržovací, které se skládalo z 0,5 % laktalbuminhydrolyzátu v Earlově nárazníkovém roztoku a 2 % telecího séra. pH kultur bylo zastaveno na hodnotu 7,6.

Titrace viru byla prováděna na zkumavkových kulturách PK buněk za užití 5 zkumavek na jedno ředění viru.

Titry byly kalkulovány metodou podle Reeda a Muenche.

Preparáty barvené Giemsovým barvivem byly fixovány 2 hod. formalinem ředěným 1 : 10 fosfátfyziologickým nárazníkovým roztokem. Barvivo na eděné v poměru 1 : 20 bylo po propláchnutí kultur vodou ponecháno v kontaktu s tkání po dobu 1,5 hod. Po opláchnutí v alkoholu byly preparáty montovány a zhotovena fotografická dokumentace.

Fázový kontrast: Kultury na skličkách s kapkou udržovacího media obsahujícího virus v množství 2×10^5 TCID₅₀ byly přeneseny na podložní sklo s konkávní jamkou a okraje byly zalepeny parafinem. Bylo užito fázového kontrastu fy Meopta.

Snímky byly pořizovány za užití mikroskopu s vmontovanou kamerou fy Rathenow na film Isopan FF.

Fluorescenční mikroskopie: V podstatě bylo použito metodiky popsané Coonsem a spol. (11), Poetschkem a spol. (12) a Mussegayem (9). Gamma-globulin připravený frakcionací rinavolem (13) ze séra neimunního a hyperimunního (neutralizační titer 1 : 512) byl značkován dansylchloridem stejně jako gamma-globulin získaný ze séra berana imunizovaného hyperimunním vepřovým gamma globulinem. 5 % roztok bílkoviny ve fosfátfyziologickém nárazníkovém roztoku o pH 7,4 byl vytřepán práškem připraveným z acetonem delipidovaných vepřových ledvin k odstranění nespecifické fluorescence. Prášek byl od bílkoviny oddělen centrifugací s následnou filtrací supernatantu. Po trojnásobném opláchnutí kultur ve fosfátfyziologickém roztoku a dvacetivteřinové fixaci v absolutním alkoholu o teplotě -50°C byl preparát převrstven roztokem značkové bílkoviny, která byla ponechána na preparátu 1 hod. při pokojové teplotě. Po skončení „barvení“, po kteroužto dobu byly preparáty uzavřeny v misce, aby se zabránilo nadměrnému vysychání, trojnásobným opláchnutí fosfátfyziologickým roztokem a rychlém usušení, byl na preparát přidán glycerin ředěný 1 : 10 ve fosfátfyziologickém roztoku a překryt krycím sklíčkem, které bylo na okrajích uzavřeno parafinovým rámečkem. Preparáty byly prohlíženy a fotografovány fluorescenčním mikroskopem fy Zeiss za užití obloukové lampy jako světelného zdroje a filtru propouštějícího UV světlo.

V ý s l e d k y

Stabilní buněčná linie má zřetelný epitheliální charakter a po dobu 15 roku si v našich laboratorních podmínkách po více než 40ti pasážích udržela konstantní vlastnosti (obr. 1).

Kultury PK buněk reagují na pomnožení viru I. O. vepřů cytopatogenním efektem (v dalším CPE), který je na konfluentních kulturách při námi užívaném způsobu kultivace typický a svým charakterem poněkud vyjímecný.

Počáteční změny jsou charakterizovány okrouhlými buňkami větší denzity ve srovnání s okolím a jsou velmi zřetelné (obr. 2). V dalším průběhu a rozvoji CPE kolem ložiska původního infektu se formují tmavší protáhlé buňky; dochází postupně k retrakci směrem k okrajovým partiím ložiska poškozené tkáně a vzniká obraz, který upomíná plak (obr. 3). Konečný vzhled kultury má pak, a to hlavně tam, kde degenerativní změny probíhaly pomalu pro malé množství inokulovaného viru, síťový charakter (obr. 4).

U kultur infikovaných většími virovými kvanty změny probíhají velmi rychle, tj. do 48 hod. jest kultura totálně desintegrována a formace popsanych síťovitých útvarů se neobjeví. CPE vyvolaný virem I. O. vepřů na PK buňkách je tedy zřetelně odlišný od změn vyvolaných na primokultuře vepřové ledvinné tkáně, jak byla popsána jinými autory i námi (3, 4). Odlišný charakter CPE je zvláště zřetelně patrný při infekci PK kultur virem ve vyšším ředění a pro svůj specifický ráz prakticky vylučuje omyly způsobené nespecifickými degenerativními změnami tkáně, které bývají často pozorovatelné u primokultur vepřové ledvinné tkáně, zvláště u kultur získaných z ledvin starších kusů.

Při studiu morfologických změn vyvolaných virem I. O. vepřů na PK buňkách, sledovaných fázovým kontrastem, byl vybrán ostrůvek buněk, který byl pak sledován pravidelně ve třiceti až šedesáti minutových intervalech. Změny vyvolané pomnožením virem na buňkách ve sledovaném poli byly porovnány s fotografickým záznamem, pořízeným bezprostředně po infekci (obr. 5). Buňka ležící uprostřed pozorovaného pole vykazovala známky poškození nejdříve. První známky buněčné alterace pozorovatelné při užitém zvětšení 120X se v našem zorném poli objevily v intervalu 7 hod. po infekci, kdy buňka počítá měnit svůj objem ve smyslu poklesu, jak patrně z jiné roviny ostroty její povrchové části proti okolním buňkám (obr. 6). Po třináctihodinovém intervalu vidíme u této buňky lateralizaci jádra, mění se intranukleární struktura, perinukleární zóna má změněnou transparenici. Děj probíhá zatím v pozorovaném poli ojedinele (obr. 7). Po šestnáctihodinovém intervalu buněčná membrána ohraničuje již více zaokrouhlenou buňku, prázdný lem na okraji a centrální densita svědčí pro její prostorovou změnu do tvaru koule. Jaderná struktura je jen zčásti zachována, uvnitř jádra jsou vidět jen stínovité, neohrazené zbytky nukleonů. Na dalších buňkách v témže zorném poli jsou vidět počáteční známky degenerativních změn (obr. 8). Po osmnáctihodinovém intervalu od infekce se buňka uvolňuje ze souvislosti s okolím, známky formování kulovitého útvaru jsou markantní. Jádro ztrácí své ohraničení proti cytoplasmě. Buňka je ostře limitována proti svému okolí (obr. 9). Po devatenáctihodinovém intervalu je zaokrouhlování buňky dokonáno, výsledkem je kulovitý útvar uvolněný ze souvislosti s okolní tkání (obr. 10).

Kontrolní tkáň bez přidání viru, inkubovaná paralelně, nejevila podobné známky ani po ukončení maximální pozorovací doby.

Při sledování intracelulárního pomnožování viru I. O. vepřů methodou fluorescenční mikroskopie byly infikovány skličkové kultury PK buněk množstvím

5×10^5 TCID₅₀ viru na jednu Petriho miskou. První zřetelná fluorescence značkové protilátky navázané na virus se objevuje po čtyřech hodinách od infekce. Vytváří granula různé velikosti, lokalizovaná v cytoplasmě v perinukleárním prostoru (obr. 11). Totéž místo pozorované v zástínu za užší viditelného spektra světla ukazuje odpovídající si granule v perinukleární arei (obr. 12). V dalším průběhu granulací přibývá, maxima je dosaženo v intervalu 6 až 7 hod. po infekci, kdy jsou přítomné granule v cytoplasmě ve velkém rozsahu, leckdy na některých místech splývající. Jaderná oblast zůstává prostá fluoreskujících granulací (obr. 13). Po 8 hod. se granule ztrácejí, ale buněčná plasma dále fluoreskuje, v dalších hodinách se stává fluorescence nezřetelnou. V jedné sérii pokusů, kdy byla pozorovací doba prodloužena, další zřetelná fluorescence se objevila v desetihodinovém intervalu, tedy 4 hod. po prvním dosažení maximu záření. V pokusu, ve kterém jsme užili značkové protilátky proti vepřovému gamma globulinu, který se vázal na virus-gamma globulinový komplex, jsme dosáhli odpovídajících výsledků.

Kontrolní kultury, zpracované stejným způsobem kromě přidání viru, vykazovaly proti infikovaným, které zářily žlutozeleně, jen lehkou zelenavou difúzní fluorescence, bez jakýchkoliv fluoreskujících granulací v cytoplasmě (obr. 14).

Diskuse

Z výsledků experimentů o detekci intracelulárního pomnožování viru I. O. vepřů na tkáňových kulturách PK buněk vyplývá:

1. že k zřetelnému intracelulárnímu pomnožení viru dochází v šesti hodinách po infekci, první hodnotitelné známky přítomnosti viru v buňce nastupují již po 4. hodině,

2. po přechodném úbytku odkrytelných fluoreskujících granulací druhé maximum fluorescence následuje v intervalu desetihodinovém, což podle našeho soudu znamená další etapu množení v nově zachycených buněčných elementech.

Porovnáme-li svou práci s prací M u s s g a y o v o u (9), vidíme, že výsledky jsou zhruba analogické, i když použito zcela jiné metodiky fluorescenční na jedné straně a stabilní buněčné linie místo primokultury na straně druhé. Hlavním rozdílem je to, že u nás získané výsledky byly porovnány se stejným procesem hodnoceným v nativním preparátu ve fázovém kontrastu, kdežto u experimentů M u s s g a y o v ý c h (9) byl morfologický korelát porovnán s preparáty barvenými podle P a p p e n h e i m a. Náš pracovní postup má výhodu v možnosti plynulého sledování stále stejných buněčných systémů, takže zachycuje skutečnou dynamiku virového množení. Na rozdíl od citovaného autora se ztíží můžeme vyjádřit o přítomnosti viru uvnitř jádra odkrytelného fluorescenční metodikou. Z porovnání výsledků získaných fluorescenční mikroskopií a fázovým kontrastem lze uvést určitou souvislost s maximem fluorescence, která spadá do údobí šesti hodin po infekci a počátečními morfologickými změnami v námi plynule sledovaném zorném poli viditelnou v sedmihodinovém intervalu, tedy v době, kdy fluorescence ubývá. Předpokládáme z těchto změn, tj. z vymizení fluorescencí v intervalu od šesti do osmi hod., že pomnožení viru v infikované buňce proběhne do tohoto časového intervalu a ze extruze viru probíhá již na stupni iniciálního poškození buněk. Vylučování viru do prostředí je patrné i z pokusů sledujících vylučování viru z tkáňových

kultur do media v závislosti na čase uplynulém od infekce, kde pomnožený virus lze prvně extracelulárně prokázat v intervalu od pěti do deseti hod. po infekci (6).

Srovnáme-li svoje pozorování s tím, co se dosud uvádí, a to zejména v pracích A c k e r m a n n o v ý c h, o množení viru v buňce (nověji propracováno i na virus poliomyelitický), můžeme říci asi tolik: interakce viru a buňky se skládá z řady na sebe navazujících fází, z nichž prvou je stadium přilnutí viru k buňce, další jeho penetrace, potom mizení viru v buňce čili stadium eklipsy, po ní za současného velkého zvýšení metabolické aktivity buňky a zmnožení jejího celého nukleoproteinového materiálu, počíná se nově vytvořený virus organizovat, dozrává ve své morfologické i antigenní struktuře stejně jako v patogenitě a konečně za pozvolného svrašťování buňky jest jí postupně eliminován do prostředí. Rozpad buňky nastává až později, a je výsledkem nejenom virového množení, nýbrž i nepoměru celkového abnormálního růstu všech buněčných nukleoproteinů.

Z celého tohoto cyklu zachytila v našich pokusech fluorescenční metodika nejpravděpodobněji pouze konec fáze virové organizace a jeho maturaci, přičemž vymizení granulární fluorescence označuje asi již extruzi viru. Fázový kontrast na případu jediné buňky nám doplňuje a rozšiřuje do dalších etap celé toto dění plynulou demonstrací toho, co se s buňkou, eventuálně jejími elementy, děje při téměř patologickém procesu. Změny, jak byly demonstrovány fázovým kontrastem, začínají přibližně po fázi maturace, ukazují zhruba buněčnou alteraci i rozplývání jádra během fáze extruze, se zaokrouhlením až ke konečnému CPE.

V souvislosti s výsledky našich experimentů je snad zajímavě vzpomenout, že změny postihující jádro včetně jeho zmizení jsou podobné oněm, které B o d i a n pozoroval na nervových buňkách předních rohů míšních v průběhu experimentální paralýzy u opic (14).

Souhrn

1. Byly sledovány morfologické projevy kultur stabilní linie epithelu vepřových ledvinných buněk (kmen PK), infikovaných virem I. O. vepřů. PK buňky reagují na pomnožení viru I. O. vepřů zcela typickým cytopatogenním efektem, lišícím se od změn vyvolávaných tímto virem na primokulturách vepřové ledvinné tkáně.

2. Fázovým kontrastem byly sledovány časné morfologické změny PK buněk infikovaných virem I. O. vepřů a časově porovnávány s intracelulární produkcí viru detekovanou přímou i nepřímou metodou fluorescenčních protilátek. První fluoreskující granulace byly prokazatelné po čtyřech hod. od infekce kultur s maximem po šesti hodinách. Do osmé hodiny fluorescence mizí. Druhé maximum fluorescence bylo prokazatelné v intervalu deseti hodin.

První morfologické změny byly prokazatelné fázovým kontrastem po 7. hod. od infekce.

Úbytek fluoreskujících granulací spadá do stejného časového údobí jako počáteční tvorba CPE a doby vzestupu extracelulárně uloženého viru.

3. Jsou diskutovány jednotlivé fáze interakce viru I. O. vepřů s buňkami stabilní linie epithelu vepřové ledviny (kmen PK) a jejich časové ohraničení.

* * *

Literatura k nahlédnutí u autorů.

Биологические свойства вируса инфекционного энцефаломиелита свиней, культивированного на тканевых культурах стабильной линии эпителия почечных клеток свиней (штамм РК)

1. Изучались морфологические проявления культур стабильной линии эпителия почечных клеток свиней (штамм РК), инфицированных вирусом инфекционного энцефаломиелита свиней. РК клетки реагируют на размножение вируса инфекционного энцефаломиелита свиней совершенно типической цитопатогенностью, отличающейся от изменений, вызванных этим вирусом на первичных культурах почечной ткани свиней.

2. При помощи фазового контраста изучались первоначальные морфологические изменения РК клеток, инфицированных вирусом инфекционного энцефаломиелита свиней и по времени сравниваемых с внутриклеточной продукцией вирусов с помощью детекции непосредственным и косвенным методом флюоресцирующих антител. Первые флюоресцирующие грануляции появляются через 4 часа со времени инфекции культур с максимумом через 6 часов. Через 8 часов флюоресценция исчезает. Второй максимум флюоресценции появился в интервале 10 часов.

Первые морфологические изменения при помощи фазового контраста были доказаны через 7 часов после инфекции

Убыль флюоресцирующей грануляции относится к тому же периоду времени как и начальная фаза образования CPE и периода развития экстрацеллюлярно положенного вируса.

3. Обсуждались отдельные фазы интеракции вируса инфекционного энцефаломиелита свиней с клетками стабильной линии эпителия почки свиней (штамм РК) и их ограничение в отношении времени.

Die biologischen Eigenschaften des auf Gewebskulturen einer stabilen Linie von Nierenepithelzellen von Schweinen (Stamm PK) gezüchteten Virus der ansteckenden Schweinelähme (AS)

1. Untersucht wurden die morphologischen Äußerungen einer stabilen Linienkultur von Nierenepithelzellen von Schweinen (Stamm PK), die mit dem Virus der AS infiziert worden waren. Die PK Zellen reagieren auf die Vermehrung des Virus der AS in Form eines ganz typischen zytopathogenen Effekts, der sich von den Veränderungen, die das Virus auf Primokulturen von Nierengewebe von Schweinen hervorruft, unterscheiden.

2. Mittels Phasenkontrast wurden die frühzeitigen morphologischen Veränderungen der mit dem Virus der AS infizierten PK Zellen untersucht und zeitlich mit der intrazellulären Produktion des Virus verglichen, die mittels direkter und indirekter Methode der fluoreszierenden Antistoffe ermittelt wurde. Die ersten fluoreszierenden Granulationen waren 4 Stunden nach Infektion der Kultur bei einem Maximum nach 6 Stunden nachweisbar. Die Fluoreszenz schwindet innerhalb von 8 Stunden. Ein zweites Maximum der Fluoreszenz war im Intervall von 10 Stunden nachweisbar.

Die ersten morphologischen Veränderungen waren mittels Phasenkontrast 7 Stunden nach Infektion nachweisbar.

Das Schwinden fluoreszierender Granulationen fällt in die Zeitspanne des Beginns der CPE Bildung und in die Zeit der Vermehrung des extrazellulär gelagerten Virus.

3. Besprochen werden die einzelnen Phasen der Interaktion des Virus der AS mit den Zellen der stabilen Linie des Schweinenierenepithels (Stamm PK) und ihre zeitliche Beschränkung.

Virus Kloboukovy obrny a lidské polio jako enteroviry

Вирус болезни Клобука и человеческого полиомиелита как энтеровирусы

Das Virus der Klobouk'schen Schweinelähme und der menschlichen Poliomyelitis als Enteroviren

Prof. MUDr. František PATOČKA, doc. MUDr. Vladimír KUBELKA, Bohuslav
KORYCH, prom. lékař

Ústav pro lékařskou mikrobiologii a imunologii K. U. v Praze

Došlo dne 3. X. 1960

Úvod

Pokud je nám známo, přibližně před 12 lety vyšla z pera dvou veterinárních mikrobiologů, K a p l a n a a M e r a n z e, prvá srovnávací studie o biologických vlastnostech, patogenezi a imunogenezi viru Kloboukovy obrny a virů lidské poliomyelitidy, jakož i o chorobách jimi vyvolaných (1). Tato zajímavá problematika byla od té doby opětovně sledována řadou autorů jak veterinárních, tak i humánních. Z veterinářů se k této otázce vrátil ve své ne zcela vyčerpávající práci F o r t n e r r. 1956 (2), v úvodu své sumarizující publikace ji stručně zrekapituloval M a y r r. 1958 (3) a do velkých podrobností ji zpracoval ve svém velmi krásném článku L a r s k i r. 1954 (4). Z humánních mikrobiologů, kteří byt i jen dílčím úsekem své práce se dotkli analogických vlastností obou virů na základě vlastní práce, nutno jmenovat především H o r s t m a n n o v o u (5) v její známé práci z r. 1952 a K o p r o w s k é h o r. 1955 (6), jenž ve své klasifikační studii poliomyelitických virů přiřadil — zejména na základě výsledků předcházející práce — Kloboukův virus spolu s viry Theilerovými do největší blízkosti virů lidské poliomyelitidy. Jako zajímavost chtěl bych zde uvést, že právě tento poslední autor v pozdější (7), jinak zaměřené studii, svůj dřívější názor částečně odvolal, a to na základě v té době již naprosto neoprávněného názoru, podle něhož prý virus Kloboukovy choroby je příliš málo znám, než aby mohl být spolehlivěji taxonomicky zařazen. My sami jsme na výše uvedené téma přednášeli v ČsAV poprvé r. 1954, na Virologickém semináři v Budapešti r. 1955 a konečně na podzim r. 1958 na semináři o obrně v Gottwaldově. Tato poslední přednáška byla publikována roku 1959 (8).

Smysl těchto srovnávacích studií je zcela jasný. Především na první pohled patrná a již dávno vycítěná analogie mezi lidskou polio, v jejímž bádání byl v posledních 12 letech učiněn tak ohromný pokrok, že vedl prakticky k vyřešení celé její problematiky, a Kloboukovou nemocí dala výzkumníkům k dispozici takovou

metodiku a takové prostředky, že se dnes výzkum Kloboukovy nemoci blíží vyvrcholení. Za druhé znovu opěťovaná snaha o taxonomii virů bude dříve nebo později úspěšně realizována a mezinárodně akceptována a virus Kloboukovy nemoci v ní nalezne své přesné umístění a označení. Byli bychom velmi šťastni, kdyby naše přednáška přispěla být sebenepatrněji poslednímu cíli tak, jako postupné poznávání viru polio vedlo v posledních letech ve svých důsledcích k probádání dosud neznámých vlastností Kloboukova viru.

Analogie a rozdíly

Uvedeme ve stručnosti známé analogické, ale i rozdílné vlastnosti obou virů bez širšího komentáře vedle sebe.

Velikost viru lidské polio je udávána podle použité metodiky (ultrafiltrace, stanovení sedimentační konstanty a konečně elektronoptika) zhruba mezi 25 až téměř do 50 $m\mu$.

Velikost Kloboukova viru jsme určili ultrafiltrací kolem 30 $m\mu$, nověji Strohmaier a Zimmermann (9) podle sedimentační konstanty něco přes 30 $m\mu$. Lze-li věřit našim i jiným elektronoptickým snímkům, byla by dokonce větší než 50 $m\mu$.

Tvar viru lidské obrny typu I a II je udáván jako sférický, typu III spíše ovoidní.

V purifikátech infikovaných mích vepřů jsme našli my (10) i Liebenow, Fischer a Röhrer (11) sféroidní partikule, jež nebyly nalezeny v míchách normálních. Podobné útvary jsme zjistili nejnověji v sedimentaci získaných koncentrátech z tkáňových kultur.

Z toho lze uzavřít, že viry lidské polio a Kloboukovy nemoci jsou si blízké jak velikostí, tak i tvarem.

Relativně čisté purifikáty lze z infekčních mích jak při polio, tak u Kloboukovy obrny získat precipitací balastů buď bentonitem nebo protaminsulfáty. Je zde snad malý rozdíl v tom, že u Kloboukova viru při poslední metodě nastává částečná disociace agregátů, takže něco viru přechází do sedimentu. Metodami analogickými pro lidskou polio byly získány i vysoce účinné preparáty z tkáňových kultur Kloboukova viru (precipitace aceton-methanolem za studena, extrakce trichlorethylenem a znova precipitace za studena).

Pro lidské polioviry je důležitou vlastností jejich téměř absolutní rezistence vůči éteru. Totéž a ve stejné míře platí pro infekční obrnu.

Lyofilizační procedury, zejména jak byly dříve prováděny, nápadně oslabují viry lidské polio. Zjistili jsme totéž u Kloboukova viru.

O virech poliomyelitických je známo, že nejsou za použití běžných metodik schopny aglutinovat savčí krvinky jakéhokoliv původu. Zkoušeli jsme hemaglutinaci všech běžných savčích i kuřecích erythrocytů jak purifikáty infekčních suspenzí mích vepřů, tak virem z tkáňových kultur za použití i nejjemnějších popsáných metodik. Výsledky všech těchto experimentů byly zcela negativní.

O virech lidské polio je známo, že jsou vysoce stabilní při $+4^{\circ}\text{C}$ a že se velmi dobře konzervují při teplotách mezi -20 až -70°C . Jejich aktivita se prakticky nemění při širokém rozmezí pH od 3.8 do 10. Tkáňový virus polio je ničen více než 24hodinovým působením teploty 50°C . Alkohol je málo účinným antiseptikem na tyto viry, kvarterní amoniové báze prakticky neúčinné. Velmi

účinná jsou antiseptika oxydační. Typ II je podle Larského poměrně rychle inaktivován rivanolem.

Porovnáme-li tyto údaje s údaji o viru Kloboukově, zjistíme překvapivou analogii s tím, že tento poslední virus se zdá ještě rezistentnější. Doba termická inaktivace částečně purifikovaného viru z mšiční suspenze je 20 minut při 65° C. V našich experimentech, potvrzených a rozšířených Gralheerem a Fischerovou (12), je virus z mšiční suspenze po řadu hodin stejně infekční v rozmezí pH od 2.5 do 13. Armbruster a Zimmermann (13) dokonce zjistili, že i virus z tkáňové kultury při 4° C neztrácí mezi pH 2.8 až 9.5 nic ze své infekivity. Je pochopitelné, že termická inaktivace viru z tkáňových kultur probíhá jinak než za použití mšiční suspenze, přičemž podle některých údajů pokles titru při nepřilíš vysokých teplotách je nejdříve zakryt desagregací větších virových partiкул. Nízké teploty konzervují dokonale virus infekční obrny ať v mšiči nebo v tekutině tkáňových kultur, přičemž se jeho infekční titr po léta nemění. Oxydační antiseptika a chlór jsou stejně účinnými desinficientii jako při lidské polio. Rivanol na Kloboukův virus neúčinkuje.

Účinek formalinu zředěného v rozmezí 1 : 2500 až 4000 při pH přibližně 7–7.3 a teplotě 37° C po dobu 40–72 hodin na viry polio i virus Kloboukův z TK je téměř úplně stejný. Dochází ke ztrátě infekciozity při zachované antigenicitě u obou virů.

Soudě podle prokázaného intestinálního vylučování jak virů polio, tak viru infekční obrny a u polio také podle možnosti paralytické infekce cestou stomachální, jsou tyto viry vysoce rezistentní jak vůči zažívacím enzymům makroorganismu, tak i metabolitům intestinálních bakterií.

Pakliže považujeme Koprowského nález polio I ve stolici skotu za věc zcela výjimečnou a dosud nepotvrzenou (podobně jako opěťovaný nález neutralizačních protilátek proti polio I a II v sérech hovězího dobytka), je jisto, že hlavním rezervoárem a šířitelem poliomyelitických virů v přírodě je člověk. Průkaz virů polio v insektech, případně i v hlodavcích, souvisí vždy s epidemií a znamená pouze mechanickou pasáž v těle. Experimentálně lze tyto viry adaptovat prakticky všemi inokulačními cestami na různé druhy opic, z nichž jednou z nejcitlivějších je *Macaccus cynomolgus*, jehož se podařilo infikovat instilací viru přímo do žaludku, přičemž infekci nejpodobnější přirozené lidské lze vyvolat ingescí viru u šimpanze, jehož dolní část zažívacího traktu se ovšem na rozdíl od člověka vyznačuje velkou rezistencí. Typ II jak známo byl již dávno adaptován na hlodavce, což se s typem I a III rovněž dodatečně podařilo, ale jen jako experimentální výjimka.

Virus Kloboukovy nemoci je — jak se zdá — po této stránce ještě podstatně specifitější, neboť pokud je nám známo, je vepř a jemu příbuzné druhy dosud jediným přirozeným hostitelem viru i experimentálně citlivým zvířetem.

Jak již uvedeno, mohou být opice pokusně infikovány prakticky jakoukoliv cestou, přičemž mezi nejsnadnější patří instilace intranazální, ale ještě mnohem účinnější jsou inokulace bithalamická a intraspinální.

Titry poliovirů v experimentálně infikovaných opicích i hlodavcích jsou zejména při primoinokulacích relativně nízké (to platí i pro tkáň mšiční, obsahující nejvíce viru, neboť kolísají obvykle v koncentracích suspenze 10^{-3} – $10^{-4.5}$, zřídka dosahující vyšších hodnot).

Infikovat vepř Kloboukovou obrnou je možno pravidelně intranazálně a vždy intrathalamicky. Injekce subkutánní, intramuskulární, intraperitoneální

a intravenózní vedou při použití míšních suspenzí vzácně k paralytické infekci, při použití viru z kultur o něco častěji. Ingekcí větších kvant viru vzniká choroba pravidelně, ale i zde jde pravděpodobně o průnik přes horní části zažívacího traktu, snad orofarynx, neboť Košťanskému ani nám se nepodařilo nadměrnými kvanty infekčních míšních suspenzí vyvolat symptomatologii a dokonce ani imunitu instilací přímo do žaludku po neutralizaci jeho obsahu. Nejnověji jsme poslední pokus opakovali virem z tkáňových kultur, kde ani 10 miliónů dávek infekčních pro tkáň nevedlo k příznakům. Zdá se tedy, že dolní část zažívacího traktu vepře je pro virus infekční obrny stejně málo citlivá jako týž trakt šimpanzův pro viry polio.

Infekční titry v míchách u přirozeně nebo experimentálně infikovaných vepřů (zejména pokud jsou neadaptované) kolísají v podobných rozmezích jako u polio, tj. od $10^{-2.8}$ — 10^{-4} . Výjimkou byly zjištěny primární titry 10^{-5} .

Rozprostření viru, jak polio, tak Kloboukovy nemoci v různých částech centrálního nervstva je potud stejné, že v obojím případě se jej nejvíce nachází v míše. Při prolongovaném trvání paralyz virus v CNS poměrně rychle mizí, ačkoliv i zde B u c k (14) našel výjimku v perzistenci viru v míše 10^{-2} po 12denním trvání paralyz.

Množení poliovirů v kuřecím embryu se dlouho zdálo nemožné, až konečně bylo dosaženo u typu II jako experimentální zvláštnost za použití cortisonu nebo viru, jenž prodělal velkou řadu pasáží syrským křečkem.

Kultivace viru Kloboukovy obrny za týchž podmínek je většinou rovněž neúspěšná, u některých kmenů jej však pozoroval H a r n a c h a B r a u n e r.

Slavnou kapitolou mikrobiologie je množení poliomyelitických virů na tkáňových kulturách s výsledným cytopatogenním fenoménem podle principu zavedeného E n d e r s e m a spolupracovníky a propracovaného do nejjemnějších detailů již v podstatě D u l b e c c e m a V o g t e m, s možností neutralizace cytopatogenního efektu specifickými protilátkami.

Tím byla dána metoda produkce velikých kvant viru v relativně čisté formě k účelům rešeršním, k produkci vakcín a konečně k detekci protilátek, jež jsou specifickým svědectvím proběhlé choroby klinicky patrné nebo inaparentní či konečně jsou schopny kvantitativně vyjádřit stav chorobou nebo očkováním vzniklé imunity. Běžně se používá trypsinizovaných ledvin opičích, ale i stabilních linií lidských a v novější době také králíčních. Rozcházejí se zprávy o výsledcích na ledvinách vepřových.

Principu tkáňových kultur pro množení Kloboukova viru první nesporně použil L a r s k i (15) s pozoruhodným úspěchem. Trypsinizovaných epitheliálních buněk z cortexu vepřových ledvin jsme využili my (16) a M a y r a S c h w ö b e l (17), kteří s dalšími spolupracovníky prostudovali řadu základních biologických vlastností tkáňového viru. O něco později dosáhli téhož autoři francouzští, angličtí, maďarští aj. Cytopatogenní fenomen probíhá dosti podobně jako u lidské polio ve 2 fázích, výsledný titr viru dosahovaný v naší laboratoři je přibližně stejný jako u autorů německých, tj. rovná se 10^{-7} — 10^{-8} TCID₅₀ na 1 ml. Tyto hodnoty jsou opět velmi blízké oněm, jichž se dosahuje u virů lidské polio. Adaptací na tkáň stoupá určitou řadu pasáží titr viru. Po dlouhé řadě pasáží však klesá (patrně selekcí avirulentních mutant) při zachované antigenicitě patogenita viru pro zvíře k nule. Mayr dosáhl avirulentní linie po 91. pasáži, my za standardního používání stabilní linie vepřových ledvinových buněk (PK) jsme získali virus analogických vlastností po 78. pasáži. Zdá se, že odraz jedinečně specifické adap-

tovanosti Kloboukova viru na vepře lze nalézt i při jeho kultivaci na tkáni, neboť dosud nemáme zpráv o tom, že by bylo možno tento virus s cytopatogenním efektem množit na jiných kulturách než homologních.

Není naším úkolem a nejsme ani k tomu kvalifikováni, abychom rozebírali podrobnosti a rozdílnosti v histologickém obraze lidské polio ve srovnání s infekční obrnou vepřů. Větší extenzita změn než u Kloboukovy nemoci a jejich jemný histologický korelát jsou dostatečně známy.

Jak obecně známo, vyskytuje se lidská polio ve třech v neutralizačním testu zcela rozdílných antigenních typech, mezi nimiž však částečně při aktivní imunizaci živým virem, zejména za použití komplementfixace, lze vystopovat jemné zkřížené reakce, a to zejména mezi typem I a II. Neutralizační test, spočívající v inhibici cytopatogenního efektu, je obecně používaným detektorem chorobného stavu, buď klinicky patrného nebo inaparentního, či konečně stavu specifické a dlouhodobé imunity. Téměř paralelně byla propracována velmi jemná komplementfixační reakce, hodnotící u polio aktuální stav probíhajícího onemocnění. Neutralizační protilátky jsou vázány prakticky na gammaglobulinovou frakci séra, jejich dostatečně vysoký titr zaručuje ochranu makroorganismu před invazí CNS při viremické fázi a vstříknutí přiměřených kvant krátkodobou pasivní ochranu. Později než neutralizační test byly objeveny i protilátky, precipitující koncentrovaný virus a jimi byla doplněna jemná sérová diagnostika choroby.

Detekce neutralizačních protilátek Kloboukovy obrny — podobně jako kdysi u polio — byla realizována námi a jinými autory poměrně nedokonale pokusem na zvířeti. Dnes je situace i po této stránce naprosto stejná jako u obrny lidské, protilátky se titrují na tkáňové kultuře, rozpoznává se kromě absolutní výše jejich dynamika v průběhu onemocnění, případně rekonvalescence. Lze jich tedy použít nejen k potvrzení diagnózy klinicky patrné choroby, nýbrž i k odkrytí nepoměrně častějších případů inaparentních infekcí (které Mayr rozděluje na 2 skupiny podle pravděpodobné patogenезy) a konečně i k ohodnocení stavu vakcinací získané imunity. O titrech, které Mayr pokládá za pravděpodobné od zředění séra 1 : 30 a jisté od ředění 1 : 60 proti 1000 ITCD viru a jejich rozproštění bude referováno v dalších sděleních tohoto sjezdu. Němečtí autoři poprvé použili důkazu chorobného stavu protilátkami precipitačními (18), které analogicky s lidskou polio nastupují později, dosahují nižších titrů a dříve vymizí. Až do nedávné doby nebylo u Kloboukovy nemoci využito protilátek komplementfixačních, jejichž důkaz se nedařil nesporně pro zvláštní charakter séra vepřů. Pokusíme se ukázat v jiném referátě, že i tyto u nemocných nebo imunizovaných zvířat existují, i když se zatím nemůžeme vyslovit o jejich praktické využitelnosti jako testu kvantitativního; nevylučujeme však, že jejich průkaz může posloužit jako test vylučovací. Není tedy dnes zásadního rozdílu v typu specifických sérových protilátek, jak byly dosud zjištěny u chorob, vyvolaných poliovíry či u onemocnění vyvolaného virem Kloboukovým. Zásadní rozdíl mezi oběma viry však spočívá v tom, že u klasické Kloboukovy choroby, perzistující ve střední a jižní Evropě, existuje pouze jediný antigenní typ viru. O identitě nebo příbuznosti viru T a l f a n s virem Kloboukovy obrny se zatím nemůžeme vyslovit. Přitom Kloboukův virus je antigenně zcela odlišný od virů polio, neboť jak se zdá, všechny dosavadní náznaky o dílčí zkřížené imunitě zůstaly nepotvrzeny nebo byly vyvráceny. Pasivní ochrana proti viru Kloboukovy obrny specifickým gamaglobulinem (hyperimunizace mišňí suspenzí) se nám dosud nezdařila. Bude však nutno tento experiment opakovat s novými a hodnotnějšími preparáty.

Úspěchy aktivní imunizace proti lidské polio vakcinou S a l k o v a typu jsou dostatečně známy. Svět stojí před konečným hodnocením efektu živé aviru-

lentní vakciny typu *Sabinova*, k níž byly použity viry, množící se v zažívacím traktu, ale nesporně neschopné viremické fáze. Již dnes se zdá, že problematika paralytické polio bude touto druhou vakcínou definitivně vyřešena.

Vakcinací bojoval proti infekční obrně již sám Klobouk a jeho první spolupracovníci. Na tomto místě byly a budou zhodnoceny výsledky rozsáhlých vakcinačních kampaní, očkovací látkou z intikované míšní tkáně, inaktivovanou formalinem. Její účinek je nesporně velmi dobrý. Sami jsme propracovali velmi úspěšnou, ale zčásti rizikovou metodiku očkování živým virem z míšní suspenze s lipoidními adjuvanciemi. Později jsme byli první, kteří provedli a publikovali modelový pokus s virem z tkáňových kultur inaktivovaným formalinem (19). Výsledek byl patrný, i když bylo použito nadměrné inaktivace viru a příliš násilné a nepřirozené challenge. Nejnověji sérologicky hodnotíme podobný typ vakciny inaktivované jednak formaldehydem, jednak propiolaktonem. Titry po 1 injekci 2 ml viru jsou relativně uspokojivé. Paralelně u nás probíhá modelový experiment s živou vakcínou avírulení. Nesporně vedoucí místo v produkci formalizovaných i jiných vakcín nového typu má u nás opavská BIOVETA, která o svých zajímavých výsledcích bude rovněž referovat. Jak každému jasno, jsou i v této úspěšné kapitole boje proti oběma chorobám analogickými prostředky dosažené výsledky prakticky shodné.

Přes skvělé rezultáty dosažené v poznání biologických vlastností viru lidské obrny, její imunogenese, specifické diagnostiky i úspěchy aktivní imunizace nelze říci, že by patogenese lidské polio byla dokonale probádána. Převládajícími koncepcemi jsou jednak Bodianova, jednak Faberova, kteréžto obě se Sabin vynasnažil spojit v jednu obecně platnou. První z domněnek považuje za primární sídlo množení viru tonsilly a lymfatické folikuly střevního traktu, kdežto druhá spíše nervová ganglia orofaryngu, snad i střevního traktu. Obě se však shodují v tom, že s výjimkou ev. přímé neuronové pasáže pokládají viremii za nejčastější příčinu průniku viru do CNS. Inaparentní formy se vykládají fází buď jen enterálního nebo event. i ganglionárního množení viru bez viremie tak efektivní, aby z ní mohl být infikován CNS. Inaparentní formy byly prokázány a jejich počet je zřejmě mnohem vyšší než paralytických chorob. Exkrece viru orofaryngem je krátkodobá, intestinální dlouhodobá, viremické stadium opětovaně zjištěno experimentem.

Pro virus Kloboukův a chorobu jím vyvolanou se prozatím na základě dílčích údajů, z nichž nejpropracovanější jsou pokusy Fischerové a Röhrerovy (20) a zejména na tkáňových kulturách Heckem (21) podané důkazy, předpokládá zhruba platnost domněnky analogické s Bodianovou. Pro zvláštní způsob přijímání potravy vepřem nevylučuje se také relativně častější možnost prostupu viru z nosu přes *bulbus olfactorius* přímo do CNS. V tomto posledním případě může dojít k paralytické infekci samozřejmě bez viremie. Hecke dokázal kultivačně po perorální infekci virus nejdříve v tonzylách a v tlustém střevě, prakticky téměř současně v lymfatických uzlinách hrtanových, o něco později i mesenterálních a u několika zvířat i v uzlinách jaterních, ledvinových a diafragmatických. V prodloužené míše byl dokázán 8. dne, po 14 dnech ve velkém mozku. Viremii našli někteří naši autoři, Horstmannová (5) a Fischerová (22), po krátkou dobu v preparalytickém období. Na rozdíl od lidské polio je však důkaz viremie podáván jen velmi vzácně a u přirozeně probíhající infekce — pokud víme — vůbec nikdy. V preparalytické fázi a při nástupu paralys jsme zjistili vstřebávání viru nasofaryngeální sliznicí. O něco později — shodně s několika našimi i cizími autory — i stolicí. Vcelku však ani intestinální eliminace viru není dokázána tak pravidelně a dlouhodobě persistující jako u humánního obrnového onemocnění. Chemickou bloádou orální a nosní sliznice jsme v opakovaných po-

kusech dokázali zabránit klinické infekci po intranazální instilaci. Jak již výše uvedeno, jiným i nám se ukázal intrastomachální způsob infekce neúčinný. Představujeme si tedy, že na rozdíl od lidské polio je většina paralytických nákaz důsledkem množení viru hlavně v proximální části zažívacího traktu, dále že viremie není vždy nutnou podmínkou paralytických infekcí a konečně vzhledem k relativní rezistenci dolní části zažívacího traktu, že ani dlouhodobá eliminace viru stolicí není vždy nutným doprovodem přirozené infekce. Ze všeho je jasno, že podrobnosti patogeny Kloboukovy choroby nutno ještě do hloubky propracovat a prozatím zjištěná dílčí fakta skloubit v úplný obraz. O důležitosti tohoto studia pro epidemiologii choroby, a to zejména jejich inaparentních forem a samozřejmě také vakcinace, není nejmenší pochybnosti. Prozatím jsme přesvědčeni, jak také na jiném místě dokládáme, že četná z našich stád jsou latentním promořením pravidelně proimunizována. Pokud se vakciny týče, z toho, co dosud víme o patogeny, by vyplývalo, že nejúčinnějším aktivně imunizačním prostředkem bude očkování virem živým, mitigovaným, a to pro všechny typy vzniku infekce.

Věříme, že jsme při objektivním zhodnocení všech dílčích rozdílů snesli tolik důkazů o analogiích až nápadných viru Kloboukova a lidských polio, že se nám jasně rýsuje jejich blízká příbuznost. To také odpovídá koncepci K o p r o w s k é h o a zejména Ž d a n o v ě, kteří s přidáním virů T h e i l e r o v ý c h vytvořili z těchto 3 skupin virů zvláštní, od ostatních odělenou kategorii. Dnes je ovšem taxonomická situace mnohem komplikovanější. V *ordo Virales* je jedním z *tribus* tzv. *Parvovirae*. V tomto posledním figuruje důležitý rod tzv. Enterovirů, který posuzován z hlediska humánní mikrobiologie zahrnuje v sobě 3 základní skupiny, z nichž první jsou viry lidské polio, druhou Cocksackie a třetí vždy cytopatogenní, ale jen ojediněle a ještě k tomu mírnou sympatologii vyvolávající Echoviry. Dnes se jeví čím dále tím naléhavějším rozšířit rod Enterovirů o desítky již mezitím izolovaných a zatím ještě přesně neurčených kmenů zvířecích Echovirů, jejichž velké kvantum zjištěno také u vepře, jako tzv. ECSO virů (23). Vztah těchto posledních k případným mírným patologickým symptomům u vepřového bravu a tím méně antigenní vztahy k jiným zvířecím i lidským Enterovirům nejsou zatím důsledně prostudovány. Jedno se však již rýsuje s velkou pravděpodobností: vepřové Enteroviry — na rozdíl od lidských — mají prozatím jen 2 základní skupiny, z nichž první, Kloboukův virus, je naprostým analogem první skupiny lidské, tj. poliomyelitidy. Analogon skupiny Cocksackie prozatím nebylo zjištěno (typ 5, skupina A, nalezen u vepře). Konečně pendant skupiny třetí (ECHO) je pod názvem ECSO viry studováno na více než 100 různých kmenech, jejichž biologický význam a účinek zatím zůstává záhadou.

Souhrn

Přednáška rekapituluje a některými novými údaji vlastními i cizími doplňuje již dříve publikované sdělení autorů o podrobnostech i event. rozdílech mezi virem KO a viry lidské poliomyelitidy.

Podrobnosti lze nalézt:

1. ve velikosti a do značné míry i v tvaru virů,
2. v rezistenci virů na éter, teplotu, antiseptika a *in vivo* působení enzymů zažívacího traktu,

3. v odolnosti virů na působení nezvykle širokých rozmezí pH po velmi dlouhou dobu,

4. v citlivosti viru na lyofilizační proceduru,

5. v téměř absolutní neschopnosti virů aglutinovat savčí a některé ptačí erythrocyty,

6. ve velmi omezené možnosti přenosu virů na experimentální zvíře, pokud se týče jeho schopnosti vyvolat paralytické onemocnění,

7. v podobnosti histologického obrazu v předních míšních rozích, zejména při přirozené infekci,

8. v relativně nízkých titrech viru v CNS při přirozené i experimentální infekci,

9. v obtížnosti množení virů v kuřecím embryu,

10. ve schopnosti vydatného množení virů na homologní epitheliální tkáni s projevem cytopatogenního efektu neutralizovatelného specifickými protilátkami,

11. v možnosti úspěšné imunizace formalinem a beta-propiolaktonem inaktivovaným virem a jak se ukazuje i živým avirulentním virem,

12. v některých, dosud známých rysech patogenezy choroby, zejména v průkazu oropharyngeálního a intestinálního vylučování obou virů (i když poslední situace, podobně jako viremie, byla zjištěna u vepřové obrny jen výjimečně).

Uvedená data byla získána jednak experimenty s virem přímo získaným z CNS, jednak s virem z tkáňových kultur.

Autoři dále dovozují, že mezi oběma viry jsou i podstatné rozdíly, které se týkají zejména antigenicity, sérologické průkaznosti, některých imunologických vlastností, jakož i adaptability virů. Přes tyto difference však autoři uzavírají, že virus KO, podobně jako virus Theilerův, může být řazen mezi enteroviry, které jsou vzdálené od běžných ECHO, ECBO, ECSO, ECMO a Cocksackie, ale tvoří relativní uzavřenou skupinu virů, biologicky analogických virům poliomyelitickým.

Literatura

Základní práce akademika Klobouka a jeho spolupracovníků, předcházející práce autorů samých a většina prací do r. 1958, je publikována v bibliografii článku: Patočka Fr., Kubelka Vl., Korych B. — HEMI 1959, 3, 1 na něž zde odkazujeme.

Вирус болезни Клобука и человеческого полиомиелита как энтеровирусы

Доклад обобщает и пополняет некоторыми новыми отечественными и зарубежными данными уже ранее опубликованные сообщения авторов о сходстве и возможных различиях между вирусом болезни Клобука и вирусом человеческого полиомиелита.

Сходства наблюдаются:

1. в размерах, а в некоторой степени в форме вирусов,

2. в устойчивости вирусов к эфиру, температуре, антисептическим средствам и in vivo к действию энзимов пищеварительного аппарата,

3. в устойчивости вирусов к воздействию необычно широкого диапазона pH в течение длительного срока,

4. в чувствительности вируса к лиофилизационной обработке,

5. в почти абсолютной неспособности вирусов агглютинировать эритроциты млекопитающих и некоторые эритроциты птиц,

6. в весьма ограниченной возможности перенесения вирусов на экспериментальное животное, поскольку речь идет о его способности вызывать паралитическое заболевание,

7. в схожести гистологической картины в передних углах спинного мозга, особенно при естественном заражении,

8. в относительно низких титрах вируса в ЦНС (центральной нервной системе) при естественной и экспериментальной инфекциях,

9. в затруднениях при размножении вируса на куриных эмбрионах,

10. в способности обильного размножения вирусов гомологической эпителиальной ткани с проявлением цитопатогенного эффекта, нейтрализуемого специфическими антителами,

11. в возможности успешной иммунизации формалином и бета-пропиолактоном и, как оказалось, живым невирулентным вирусом,

12. в некоторых до сих пор известных процессах патогенеза болезни, особенно в достоверности орофарингеального и интестинального выделения обоих вирусов (несмотря на то, что последнее положение, как и виремия, было определено у энцефаломиелита свиней только в исключительных случаях).

Приведенные данные были получены как путем экспериментов с вирусом, непосредственно полученным из ЦНС, так и с вирусом из тканевых культур.

Далее авторы приводят, что между обоими вирусами имеются существенные различия, касающиеся главным образом антигенности, серологической достоверности, некоторых иммунологических свойств, а также способности вируса к адаптивированию. Несмотря на эти особенности, однако авторы приходят к заключению, что вирус болезни Клобука, аналогично вирусу Тейлора, может быть включен в число энтеровирусов, которые отличны от обычных ЕСНО, ЕСВО, ЕССО, ЕСМО и Coxsackie, но образуют относительно замкнутую группу вирусов биологически аналогичных полиомиелитическим вирусам.

Das Virus der Klobouk'schen Schweinelähme und der menschlichen Poliomyelitis als Enteroviren

Rekapitulation schon vorher veröffentlichter Mitteilungen der Autoren über Ähnlichkeiten bzw. Unterschiede zwischen dem Virus der Klobouk'schen Schweinelähme (KS) und den Viren der menschlichen Poliomyelitis, ergänzt durch einige neue eigene und fremde Angaben.

Ähnlichkeiten sind zu finden:

1. in der Größe und in bedeutendem Ausmaße auch in der Gestalt der Viren,
2. in der Resistenz der Viren gegenüber Äther, Temperatur, Antiseptics und in vivo die Wirkung der Verdauungsenzyme,

3. in der Widerstandsfähigkeit der Viren gegenüber der Wirkung ungewöhnlich weiter pH Grenzen während sehr langer Zeitdauer,

4. in der Empfindlichkeit der Viren auf Lyophilisationsprozeduren,

5. in fast absoluter Unfähigkeit der Viren Säuger- und einige Vogelerythrozyten zu agglutinieren,

6. in der stark begrenzten Möglichkeit der Übertragung der Viren auf Versuchstiere im Hinblick auf die Fähigkeit paralytische Erkrankungen auszulösen,

7. in der Ähnlichkeit des histologischen Bildes in den vorderen Rückenmarkshörnern, insbesondere bei natürlicher Infektion,

8. in relativ niedrigen Titern des Virus im ZNS bei natürlicher und experimenteller Infektion,

9. in der Schwierigkeit die Viren auf Hühnerembryonen zu züchten,

10. in der Fähigkeit ausreichender Vermehrung auf homologen Epithelgeweben mit zytopathogenem Effekt, der durch spezifische Antikörper neutralisierbar ist,

11. in der Möglichkeit erfolgreicher Immunisation mittels Virus, das durch Formalin und Betapropiolaktin inaktiviert worden war, und, wie sich zeigt, auch mittels lebendem, avirulenten Virus,

12. in einigen bisher bekannten Besonderheiten der Pathogenese, besonders im Nachweis oropharyngealer und intestinaler Ausscheidung beider Viren (wenn auch die letzte Situation, ähnlich wie die Virämie, bei der Schweinelähme nur ausnahmsweise gefunden wurde).

Diese Angaben wurden ermittelt an Hand von Experimenten mit direkt aus dem ZNS gewonnenem Virus und ebenso mit Virus aus Gewebskulturen.

Die Autoren führen weiters aus, daß zwischen beiden Viren auch grundsätzliche Unterschiede bestehen, die sich hauptsächlich auf die Antigenizität, serologische Nachweisbarkeit und immunologische Eigenschaften beziehen. Trotz dieser Differenzen schließen jedoch die Autoren, daß das Virus der KS, ähnlich wie das Theiler'sche Virus, unter die Enteroviren eingereiht werden kann, die von den üblichen ECHO, ECBO, ECSO, ECMO Virusarten sowie vom Coxsackie-Virus entfernt sind, aber eine relativ abgeschlossene Gruppe von biologisch analogen, poliomyelitischen Virusarten bilden.

Sérologická diagnostika obrny vepřů (Kloboukovy nemoci)

Серологическая диагностика паралича свиней (болезнь Клобука)

Die serologische Diagnostik der Schweinelähme (Klobouk'schen Krankheit)

Bohuslav KORYCH, Eduard ŠRAJBR, František PATOČKA, Vladimír KUBELKA,
Milan CHYLE

Ústav pro lékařskou mikrobiologii a imunologii K. U. Praha

Došlo dne 3. X. 1960

Úvod

Pro sérologickou diagnostiku Kloboukovy nemoci je propracována neutralizační reakce a reakce precipitační. Nejvíce bylo jinde i u nás používáno seroneutralizace, která je poměrně snadno proveditelná, bez zvláštních nároků a jejíž výsledky jsou dobře hodnotitelné. Průkaz neutralizačních protilátek je ukazatelem stavu imunity buď pro překonání přirozeného onemocnění nebo v důsledku arteficiální imunizace ať již virem aktivním, inaktivním nebo avirulentním.

Naše sdělení se bude zabývat průkazem, hodnocením a eventuálně dynamickým vzestupem především protilátek neutralizačních. Zároveň jsme se pokusili o průkaz praktické použitelnosti komplementfixačních protilátek a protilátek aglutinujících virem sensibilizované krvinky.

Materiál a metodika

Virus: Ve všech pokusech bylo pracováno s virem I. O. vepřů kmen Praha s počtem více než 100 i. c. pasáží na vepřích a dvanácti pasážích na tkáňových kulturách.

Tkáňové kultury: Bylo užito buněk stabilní linie epithelu vepřových ledvin (kmen PK). Kultury byly udržovány a připravovány způsobem popsaným jedním z autorů 1960 (1). Zkumavkové kultury byly zakládány s počtem 40 000 živých buněčných elementů na 1 ml a zkumavku, v kultivačním mediu složeném z 0,5 % laktalbuminhydrolyzátu v Earlově nárazníkovém roztoku a 10 % telecího séra. Zpravidla do šesti dnů byly kultury konfluentní a mohly být vzaty k pokusu.

Infekce kultur: Konfluentní zkumavkové kultury byly po odsátí media promyty Hanksovým nárazníkovým roztokem a infikovány množstvím 0,1 ml viru v příslušném ředění. Po 15 min., kdy byly zkumavky uloženy v horizontální poloze, bylo přidáno udržovací medium v množství 0,9 ml. Jako udržo-

vací medium po infekci kultur bylo užito Earlova nárazníkového roztoku s 0,5 % laktalbuminhydrolyzáta a 2 % telecího séra. pH kultur bylo upraveno na hodnotu 7,6–7,7.

Sérum k reakcím bylo vzato z imunizačních pokusů při použití viru inaktivovaného formalinem nebo beta- propiolaktonem, dále z vepřů z lokalit, kde se infekční obrna vepřů vyskytovala a z lokalit, kde se infekční obrna ve formě klinicky zřejmých infekcí nevyskytovala. Paralelně ve všech případech terénních vzorků jsme si ověřili, zda byla v dané lokalitě vakcinováno proti I. O. nebo ne. U vzorků krví odebíraných v terénu bylo pokud možno co nejdříve odděleno sérum, které pak bylo odesláno do laboratoře v sérologických zkumavkách.

Neutralizační pokus: Inaktivované vzorky séra dvojnásobně ředěné udržovacím mediem od počátečního ředění 1 : 4 do ředění 1 : 1024 byly smíchány se stejným objemem příslušného ředění viru, po promíchání inkubovány 1 hod. při pokojové teplotě (22° C) a pak přidány v množství 0,1 ml do zkumavkové kultury. Virus byl užit v ředění odpovídajícímu 3000 TCID₅₀ v 0,1 ml. Paralelně byla do pokusu zařazena příslušná kontrola viru ředěného stejným dilem udržovacím mediem.

V orientačních testech byla provedena ředění séra od 1 : 4 do 1 : 64.

Hodnocení neutralizačního pokusu bylo prováděno v době, kdy v kontrolních zkumavkách byly změny vyvolané virem hodnotitelné ++ (mnohočetné ložiskové změny).

Color - testy byly prováděny ve zkumavkových kulturách PK buněk infikovaných při zakládání kultury. V tomto případě byl počet živých buněčných elementů na 1 ml a zkumavku 15 000, udržovací medium se skládalo z Earlova nárazníkového roztoku s 0,5 % laktalbuminhydrolyzáta a 5 % telecího séra. pH kultur bylo upraveno na iniciační hodnotu 7,6. Ředění séra, množství viru i inkubace byly stejné jako v neutralizačním pokusu na konfluentních tkáních.

Komplementifixační reakce

Příprava sér: vepřová séra byla před použitím k reakci vazby komplementu zbavena prokomplementarity metodou podle Boulanger a (2). U jednotlivých vzorků bylo sníženo pH pomocí N/1 HCl na hodnotu 4,6 a inkubováno 6 až 8 hod. při 4° C. Tato doba byla vybrána jako nejvhodnější z testovaných inkubací 2, 4, 6, 8 a 18 hod. Po inkubaci séra za sníženého pH byla reakce upravena na hodnotu 7,0 přidáním N/1 NaOH. Takto připravená séra po inaktivaci 30 min. při 56° C byla vzata k reakci.

Komplement: Jako komplementu bylo použito směsi morčecích sér konservovaných podle Sonnenschein a. Do reakce bylo používáno 1,5 a v některých případech 1,25 jedn. komplementu podle předchozí titrace v objemu 0,1 ml.

Hemolytický systém: Bylo užíváno 1 % beranních krvinek sensibilizovaných dvěma jednotkami amboceptoru (ÚSOL). Do reakce bylo užito množství 0,2 ml.

Antigen: Jako antigenu bylo užito centrifugované medium tkáňových kultur, které byly infikovány virem Kloboukovy obrny. Medium pro přípravu antigenu bylo složeno z 0,5 % laktalbuminhydrolyzáta v Earlově nárazníkovém roztoku s 1 % morčecího inaktivovaného séra.

Provedení KFR: Reakce byla prováděna metodou podle Kolmera (3) a v některých případech pro srovnání byla užita metoda podle Rice (4).

Při lednickové Kolmerově metodě bylo do reakce vzato 0,1 ml antigenu, 0,1 ml séra v příslušném dvojnásobném ředění počínaje 1 : 4 a 0,1 ml komple-

mentu. Po inkubaci přes noc při 4° C byl přidán hemolytický systém a směs opět inkubována 30 min. ve vodní lázni při 37° C.

Výsledky byly hodnoceny čtyřstupňovitě, za pozitivní reakci v příslušném ředění séra byla pokládána ředění, kde hemolýza nedosahovala 50 % erythrocytů (+ + +). Titr vyjadřuje původní ředění séra.

Při vazbě komplementu metodou podle Rice byl komplement naředěný ve veronálovém nárazníku (5) v poměru 1 : 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 80, 100, přidáván v množství 0,1 ml ke směsi 0,1 ml antigenu a 0,1 ml séra standardně naředěného 1 : 4. Výsledky jsou v tomto způsobu reakce udávány tzv. indextitrem, který vyjadřuje numericky jednotky vázaného komplementu.

Veronálový nárazníkový roztok: Při reakci vazby komplementu byl užíván pro ředění veronálový nárazníkový roztok podle Mayera a spol. (5), pH roztoku 7,2–7,3.

Detekce protilátek aglutinujících virem sensibilizované krvinky byla prováděna metodou podle Boydena (6). Lidské krvinky skupiny 0 byly třikrát proprány ve fyziologickém roztoku o pH 7,2. Sediment krvinek byl smíchán se stejným dílem roztoku tanninu, ředěného 1 : 40 000 ve fyziologickém roztoku. Směs byla inkubována 30 min. při laboratorní teplotě. Pak byly krvinky třikrát promyty fyziologickým roztokem, resuspendovány nakonec na 2% suspenzi ve fyziologickém roztoku. K propraným tanninovaným erythrocytům byl přidán antigen, tj. virus Kloboukovy obrny (připravený stejným způsobem jako pro KFR) ve stejném poměru a směs byla ponechána 30 min. při laboratorní teplotě. Pak byly krvinky znovu třikrát proprány ve fyziologickém roztoku s 1 % inaktivovaného králíčího séra. Po posledním proprání byla ze sedimentu krvinek připravena 1% suspenze ve fyziologickém roztoku s 1 % inaktivovaného séra. Ve vlastním pokusu pak byly tyto krvinky smíchány se stejným dílem inaktivovaného séra (0,2 ml séra a 0,2 ml krvinek). Směs byla inkubována při pokojové teplotě po dobu 1–2 hod. Jako kontroly bylo užito tanninovaných krvinek bez virového antigenu.

V ý s l e d k y

V tab. I uvádíme výsledky naší séroneutralizační reakce, a to u sér získaných z terénu. Séra byla rozdělena do pěti skupin. Neutralizační testy byly prováděny s ředěním 1 : 8, 1 : 16, 1 : 32 a 1 : 64. První skutečností, která z tabulky vyplývá, je ta okolnost, že s výjimkou 3 zvířat z celkového počtu 44, u nichž nebyl zjištěn vůbec žádný titr protilátek, byl u všech titr alespoň 1 : 16, a to nepřehlíděje ani k tomu, zda byl chov označen jako zamořený nebo jako takový, v němž obrna pozorována nebyla.

I.

Počet vzorků	Titr séra v % vzorků						
	0	8	16	32	64	> 64	
14	21,4	0	21,4	14,2	21,4	21,4	zam. chov
5	0	0	60	40	0	0	zam. chov
10	0	0	30	20	40	10	zam. chov
10	0	0	40	30	0	30	nezam. chov
5	0	0	40	40	0	20	očkov. chov

Titry neutralizačních protilátek u zvířat imunizovaných vakcinou inaktivovanou formolem nebo beta-propiolaktoneem jsou zachyceny na tab. II. Rozdíl v titrech protilátek před očkovaním a po šestinedělním intervalu ukazuje jasné stoupnutí hladiny protilátek.

II.

Inaktivní virus			Virulentní virus		
Číslo	Titř		Číslo	Titř	
	před	po		před	po
806	< 4	1 : 128	244	1 : 4	1 : 512
809	1 : 4	1 : 128	242	1 : 8	1 : 512
804	1 : 8	1 : 512	235	1 : 8	1 : 1024
808	1 : 16	1 : 512	243	1 : 16	1 : 512

III.

Vzorek séřa č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
NT	0	0	0	8	30	8	8	64	32	64	64	32	64	4	32
KFR	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	8	8	0	0

Neutralizační reakce zaznamenané na tab. I a II byly paralelně prováděny na konfluentních tkáních a metodou color-testů. Výsledky získané oběma metodami byly dobře porovnatelné.

Tab. III znázorňuje výsledky srovnání neutralizačního testu s KFR, tab. IV rozšiřuje toto porovnání ještě o reakci podle Boydena.

Porovnání výsledků neutralizačních testů s KFR u terénních pokusů ukázalo tyto výsledky: z celkem testovaných 20 vzorků vepřových sér odebraných v lokalitách s výskytem I. O. vepřů a z míst, kde bylo prováděno očkování proti I. O., dávala reakce vazby komplementu a neutralizační reakce souhlasné výsledky v 16 případech, ve 3 případech byly výsledky nesouhlasné. V jednom případě bylo sérum antikomplementární (neutralizační test byl negativní), u 3 nesouhlasných případů byly přítomny jen neutralizační protilátky. U pěti vzorků sér hovězího dobytka a pěti vzorků sér kozích odebraných v lokalitách s výskytem I. O. vepřů, nebyly prokázány neutralizační ani KF protilátky.

V jiném experimentu byl sledován výskyt virusneutralizačních protilátek u zvířat v místech, kde se I. O. nevyskytuje a nebylo vakcinováno. Z orientačního pokusu z 20 vzorků sér ředěných 1 : 4 a 1 : 8 obsahovaly všechny vzorky i v ředění 1 : 8 tolik protilátek, že neutralizovaly 3000 TCID₅₀.

IV.

Vzorek séřa č.	NT	KFR	BOYDEN
1	64	8	16
2	128	4	32
3	128	16	16
4	512	16	64
5	512	8	32
6	512	8	128

Diskuse

Naše sdělení se zabývá průkazem, hodnocením a eventuálně dynamickým vzestupem především protilátek neutralizačních. Pokusili jsme se o důkaz praktické použitelnosti protilátek vázajících komplement a protilátek aglutinujících virem sensibilizované krvinky. Jsme si vědomi, že naše zkušenosti v tomto směru jsou pouze v iniciální fázi. KFR i reakce podle Boydena může podle našich zkušeností mít orientační význam a mají tu výhodu, že jsou realizovatelné i v tom typu rutinních diagnostických laboratořích, pro které by metodika neutralizačního testu byla příliš náročná.

Prozatím nikdo u nás nemá zkušenosti s tím, jaké titry je možno považovat za specifické a které za nespecifické. Podle údajů M a y r a (7) mají být titry do 1 : 8 alespoň u mladších zvířat považovány za nespecifické. Zhruba titry 1 : 30 za pochybné a od 1 : 60 za specifické. Podstata tohoto třídění a jeho odůvodnění nám není zcela jasné. Vzhledem však k tomu, že u nás přece jen existují zvířata se zcela negativními titry protilátek a pak vzhledem k tomu, co hodnotíme mimo rámec tohoto sdělení, tj. pozorování být i zatím ojedinělé, že i u tzv. nespecifických titrů jsme zachytili po vstříknutí specifického antigenu vyslovený boosterovací efekt, soudíme, že již titry při nejmenším 1 : 16 v našich pokusech svědčí nejpravděpodobněji pro kontakt zvířete s virem obrny. V tom případě by ovšem z naší tab. I vyplývalo, že řada našich chovů, ne-li většina, je promořena virem obrny, která infikuje v inaparentní formě většinu zvířat, jak zcela určitě můžeme podle rigorózního kritéria soudit. Svědčí o tom čtyři pozitivně reagující zvířata s titrem větším než 1 : 64 z 29 zvířat ze zamořených chovů při srovnání s třemi zvířaty z 10 s titrem větším než 1 : 64 z chovů označených jako nezamořené.

Na okraj našich pozorování citujeme práci H e c k e h o (8), který jinou metodikou a jiným propočítáváním dosáhl ve dvou promořených obcích, kde proběhla epizootie, u inaparentních infekcí výsledky, které jsou s našimi analogizovatelné.

Vzhledem k tomu, že užíváme vyšší dávky viru k neutralizačním testům, musí být i nutné námi udávané titry přísněji specifické.

Samí jsme propracovali a zde poprvé předkládáme své zkušenosti s reakcí vazby komplementu a s hemaglutinací podle Boydenova principu. Pokud je nám známo, většina autorů považuje první z těchto reakcí u vepřové obrny za nerealizovatelnou a nevíme, zda byla také v sérologii vepřové obrny použita. U reakce vazby komplementu se zdají být dosavadní neúspěchy způsobeny zvláštním složením séra vepřů. Proto jsme se snažili tyto nevídané vlastnosti séra odstranit metodou podle Boulanger (2) odstraněním prokomplementarity séra.

Výsledky námi uvedené ukazují na porovnatelnost KFR s neutralizačními testy.

Porovnání metody NT, KFR a Boydenovy ukazuje, že i při větší citlivosti Boydenovy metody proti KFR nejlepším testem pro detekci i malých kvant protilátek zůstává neutralizační reakce a že reakce vazby komplementu a aglutinace krvinek metodou podle Boydena by mohla být jednoduchou dostačující metodou pro detekci vyššího titru protilátek, eventuálně jednoduchou kontrolou imunizačního efektu terénního očkování.

Souhrn

1. Propracována standardní metodika průkazu protilátek neutralizujících cytopatogenní efekt viru KN na stabilní linii epithelu vepřových ledvin (PK). Dosa-

žené výsledky jdou paralelně s color-testem za užití stejných buněk. Jako zdroje protilátek použito nejprve imunizovaných zvířat, kde dosaženo titru až 1 : 512. V další sérii pokusů pátráno týmiž metodami po protilátkách u vepřového bravu v terénu, kde byly opětovně zjištěny jejich podstatně nižší titry. Specificita nízkých titrů protilátek je v práci diskutována.

2. Použitá metodika adsorpce viru na taninované krvinky podle Boydena. Imunní séra jasně agglutinuji takto značené krvinky. Referováno o možnostech této metodiky pro rutinní detekci vyššího titru protilátek a možnostech použití k orientačnímu průkazu imunizačního efektu. Pro průkaz protilátek, jež jsou důsledkem terénního promoření, se zdá tato metodika málo citlivá.

3. Jsou předloženy výsledky sérologických pokusů z použití reakce vazby komplementu.

*

Literatura k dispozici u autorů.

Серологическая диагностика паралича свиней (болезнь Клобука)

1. Была подготовлена стандартная методика достоверности антител, нейтрализующих цитопатогенный эффект вируса болезни Клобука на стабильных линиях эпителии почек свиней (РК). Достигнутые результаты параллельны цветному тесту при использовании одинаковых клеток. В качестве источника антител использовались, в первую очередь, иммунизированные животные, у которых был достигнут титр 1 : 512. В дальнейшей серии опытов теми же методами искали в антителах у свиней в стадах, у которых были повторно установлены существенно более низкие титры. Специфика низких титров антител была продискутирована в работе.

2. Была применена методика адсорбции вируса на таннинные кровяные тельца по методу Бойдена; иммунные сыворотки явно агглютинируют таким образом обозначенные кровяные тельца. В работе сообщается о возможностях применения этой методики для рутинной детекции более высокого титра антител и о возможностях применения для ориентировочной достоверности иммунизационного эффекта. Для достоверности антител, которые являются результатом местного заражения, эта методика оказывается мало подходит.

3. В работе представлены результаты серологических опытов с применением реакции связывания комплемента.

Die serologische Diagnostik der Schweinelähme (Klobouk'schen Krankheit)

1. Es wurde eine Standardmethodik zum Nachweis von Antikörpern, die den zytopathogenen Effekt des Virus der KK auf eine stabile Linie von Nierenepithel (PK) neutralisieren, ausgearbeitet. Die erzielten Ergebnisse gehen parallel mit dem Farbstest bei Verwendung der gleichen Zellen. Als Quelle der Antikörper wurden zuerst immunisierte Tiere verwendet, wobei Titer bis 1:512 erzielt wurden. In einer weiteren Versuchsserie wurde mittels derselben Methoden nach Antikörpern bei Schweinen im Terrain gefahndet, wo diese wiederholt in erheblich niedrigeren Titern festgestellt werden konnten. Besprochen wird die Spezifität der niedrigen Titer der Antikörper.

2. Es wurde die Methodik der Adsorption des Virus an mit Tannin vorbehandelte Blutkörperchen nach Boyden angewandt. Die Immunséra agglutinieren die so behandelten Blutkörperchen. Besprochen wird die Möglichkeit, diese Methodik zur Routinedetektion höherer Titer der Antikörper zu verwenden, sowie zum orientierenden Nachweis des Immunisationseffekts. Für den Nachweis von Antikörpern, die eine Folge der Terrainverseuchung sind, scheint diese Methode nicht empfindlich genug zu sein.

3. Berichtet wird über die Ergebnisse serologischer Versuche mit Benützung der Komplementbindungsreaktion.

Kolostrální imunita při Kloboukově nemoci

Колостральный иммунитет при болезни Клобука

The Colostral Immunity in Klobouk's Disease

Doc. dr. Jaroslav DRAŽAN
Veterinární fakulta VŠZ Brno

Došlo dne 20. X. 1960

Úvod

Při řadě nákaz prasat, zejména s akutním — septikemickým průběhem je známa úloha pasivní imunity v epizootickém procesu příslušné nákazy. Zásadní význam pro pozdější vývoj nákaz v chovu má specifická imunita, při níž selata již v prvních hodinách po narození přejímají mlezivem specifické protilátky od svých matek. Intenzita i trvání kolostrální imunity přitom odpovídají imunitním poměrům matek. Velmi solidní specifická imunita, při níž jsou narozená selata i v silně infekčním prostředí chráněna před klinickým onemocněním vzniká zpravidla jen ve vrhu prasnic, které byly dostatečně imunizovány živou očkovací látkou nebo, které v kratším období před porodem touto nákazou klinicky onemocněly. Kolostrální imunita trvající několik dní nebo někdy i několik týdnů postupně zaniká a výsledkem kontaktu s nakažlivinou u selat v období zanikání kolostrální imunity je imunobiologický proces s aktivní tvorbou protilátek v zamořeném prostředí. Kolostrální imunita tak postupně u selat přechází v aktivní imunitu. Výsledkem tohoto procesu, zejména při stájových chorobách bývá přechod původně klinických forem nemoci v subklinické a inaparentní formy u většiny potomků v následující generaci.

Sledujeme-li vývoj epizootie při Kloboukově nemoci, zjišťujeme při vzplanutí nákazy často akutní formy nemoci s letálním průběhem, postupně se pak objevují onemocnění s lehčím průběhem, přičemž prasata, která klinicky neonemocněla, vykazují později značnou rezistenci i při *i. c.* infekci virem KN. Tento lehký průběh nákazy může být způsobován nakažením prasat subinfekčními dávkami viru, případně zvýšenou odolností prasat vůči KN vyvolanou dalšími různými specifickými i nespecifickými faktory jako je např. kolísání virulence viru v průběhu epizootie, vliv zevních podmínek na mikroorganismus i makroorganismus, reaktivita makroorganismu apod.

Jedním z faktorů zvýšené odolnosti selat vůči KN může být specifická kolostrální imunita, která svým charakterem patrně prahové imunity může chránit selata před menším množstvím viru v období sání a může mít proto i význam pro vznik inaparentních forem nemoci.

Na potřebu objasnění významu kolostrální imunity u selat při KN poukazuje práce K ö t s c h e h o, který prokázal, že selata živěná od narození kravským mlékem jsou vnímavější pro nakažení KN než selata, která sála kolostrum. Selata živěná jen kravským mlékem (bez kolostra) bylo možno infikovat podkožně i nitro-svalově, přičemž inkubační doba byla podstatně zkrácena (7 dní) ve srovnání s inkubací u selat, která sála kolostrum a která po extraneurální infekci vůbec ne-onemocněla nebo jen vyjímečně po 25denní inkubační době. Při této výživě selat se nedařila vůbec na rozdíl od první skupiny selat podkožní infekce.

Vlastní práce

Specifickou kolostrální imunitu jsme studovali nejdříve u 3 vrhů selat. Březí prasnice jsme v období 4—3 týdnů před porodem podkožně imunizovali 50 ml 10% mozkomíšní emulzí ($ID_{50}10^{-2.5}$). Selata těchto prasníc byla ve stáří 6—10 týdnů *i. n.* nakažena virem KN. Z 23 *i. n.* nakažených 7 selat (30 %) klinicky onemocnělo, 16 selat (70 %) onemocnělo. Tyto první pokusy dále nerozvádíme vzhledem k možnosti imunizace virem, který mohl být očkovanými (infikovanými) prasnici-mi vyloučen do prostředí.

Další prasnici bylo 90. den březosti aplikováno do předkolenních řas 50 ml běžně používané adsorbátové vakciny z mozkomíšní hmoty a 50 ml fenolové vakciny z kulturního viru z Biovety Opava. (Prasnici byla tedy aplikována 20ti násobná očkovací dávka.)

Kontrolní neočkovaná březí prasnice pocházela ze zdravého chovu.

Polovina každého vrhu selat byla ihned po narození odstavena a po 40—72 hodin živěna relaktonem ředěným heřmánkovým čajem. Do mléka byl přidáván vitamin A, B a D a po 24 hod. i chloramphenicol. První mléko v dávkách po 20 ml bylo selatům podáváno za 2 hod. po narození a potom každé další 2—3 hodiny v dávkách 50 ml.

Po různě dlouhé době bezkolostrální výživy byla selata dána k prasnici.

Od selat byla získána ihned po narození krev z pupečních cév a později pak z ucha.

Od prasnice neimunizované bylo získáno mlezivo během porodu, od prasnice očkované za 15 hod. po porodu.

Sérum krevní selat bylo vyšetřováno elektroforézou, seroneutralizačními testy na tkáňových kulturách metodikou podle Mayra a seroneutralizačními testy na se-latech, jimž byla *i. c.* inokulována směs 0,5 ml kulturního viru s 0,5 ml séra nebo mleziva a 0,06 g streptomycinu. Seroneutralizace byla prováděna před *i. c.* infekcí selat po dobu 1 hod. při 37° C a po dobu dalších 2 hod. při 20° C. Kulturní virus byl z první pasáže na TK — $ID_{10^{-3.5}}$. Selata imunizované prasnice byla ve stáří 21 dní, selata kontrolní prasnice ve stáří 54 dní infikována *i. n.* 2 ml kulturního viru.

Metodika elektroforézy: Elektroforéza na filtr. papíře, napětí 220 V, doba dělení 6 hod., filtr. papír Whatman č. 1, veronalový ústoj pH 8,6. Barveno podle Grossmanna a Hanniga amidočerní 10 B. Vyhodnoceno automatickým vyhodnoco-vačem MGF-Berlin po transparentci parafinovým olejem a L-bromnaftalenem v po-měru 5 : 1.

V ý s l e d k y

4 vzorky kolostrálního mléka imunizované prasnice, získané ze 4 různých struků, obsahovaly protilátky v titru až 1280. V jednom případě mohly být prokázány protilátky v titru až 2560, které neutralizovaly virus na TK.

Po prvním 7hod. sání kolostra byly v krevním séru 3 selat imunizované prasnice zjištěny protilátky v titru 320, 320 a 640. U selat téhož vrhu odchovaných od narození bez kolostra nebyly zjištěny specifické protilátky v séru krevním po narození ani později za 48 hod.

Mlezivo a séra selat kontrolní neočkované prasnice nebyly vyšetřeny seroneutralizačními testy na TK a proto za průkaz specifické kolostrální imunity při KN považujeme spíše výsledky seroneutralizačních testů na 2 měsíčních selatech, uvedené v tabulce I.

I.

Sele č.	Materiál použitý k i. c. infekci	Výsledek	Poznámka
16 1—9	Virus + 0,5 ml destil. vody 2 ml TK viru i. n.	KN + KN + u všech selat	Kontrola
18	Virus + sérum prasnice získané při porodu	KN +	Prasnice neočkovaná a její selata č. 1—6
177 183	} Virus + kolostrum prasnice	KN + KN +	
12		Virus + sérum selete č. 1 Stáří 55 hod. s kolostrál.	
182 187	} Virus + sérum selete č. 5 Stáří 46 dní bez kolostra	KN + KN +	
19	Virus + sérum prasnice získané při porodu	nezhodnot. předčas. uhynutí	Prasnice očkována a její selata č. 7—13.
180 181	} Virus + kolostrum prasnice	KN — KN —	
13		Virus + sérum z pupeční krve selete č. 7	
14		KN + KN +	
178 179	} Virus + sérum. Sele č. 10 staré 55 hod. první 7 hod. sálo kolostrum, dalších 48 hod. bez kolostra	KN — KN —	
184		Virus + sérum. Sele č. 7 staré 55 hod. od narození pilo kolostrum	
		KN —	

Z výsledku pokusu vyplývá, že kolostrum solidně imunizované prasnice obsahovalo značné množství seroneutralizačních protilátek, které se u selat záhy po vypití mleziva vstřebaly do krevního oběhu. Pro vznik kolostrální imunity je kromě koncentrace protilátek v mlezivu rozhodující také asi včasný příjem mleziva selatem po narození. Poukazuje na to výsledek seroneutralizačních pokusů se sérem

selete č. 10, které sálo kolostrum imunizované prasnice jen prvních 7 hod. po narození. 0,5 ml séra tohoto selete i když bylo získáno až po dalších 48 hod. bezkolostrální výživy obsahovalo již tolik protilátek, že stačily neutralizovat 0,5 ml viru ID $10^{-3,5}$.

O potřebě včasného přijetí mleziva pro vznik kolostrální imunity selat svědčí i výsledky pokusné i. n. infekce 6 selat neimunizované prasnice (viz tab. II).

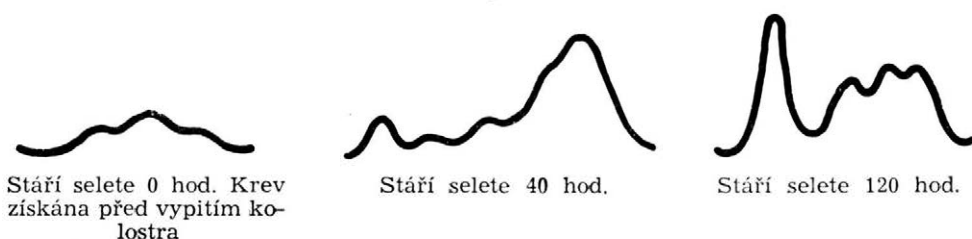
II.

Sele č.	Stáří dní	Váha	Infekce		Inkubační	Výsledek
			způsob	množství		
1	54	12,5	i. n.	2 ml	7	uzdravilo se
2	54	15,0	i. n.	2 ml	7	uzdravilo se
4	54	9,0	i. n.	2 ml	7	uzdravilo se
3	54	9,0	i. n.	2 ml	6	uzdravilo se
5	54	10,0	i. n.	2 ml	6	uhynulo
6	54	6,5	i. n.	2 ml	5	uhynulo

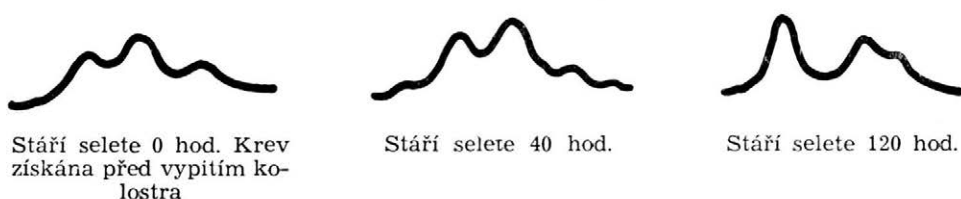
Selata č. 1, 2, 4 od narození sála mléko prasnice.

Selata č. 3, 5, 6 byla po dobu 40 hod. po narození živena relaktonem a po této době vrácena k prasnici. Vracená selata ve stáří 40 hod. již nevstřebala snadno prokazatelné množství protilátek z mleziva, jak vyplývá z elektroforetického záznamu selete č. 6 ve srovnání se záznamem, který byl pořízen u selete č. 4 téhož vrhu ve stejné době, které však od narození sálo mlezivo prasnice.

Elektroforetický záznam krevního séra selete č. 2 neimunizované prasnice
Od narození výživa mlezivem



Elektroforetický záznam krevního séra selete č. 6 téhož vrhu
Sele živeno prvních 40 hod. bez kolostra, potom mlékem prasnice



Selata nezískala tedy v tomto stáří již kolostrální chráněnost buď proto, že mléko prasnice za 40 hod. po porodu již neobsahovalo kolostrální protilátky nebo sliznice zaživacího ústrojí selat již nebyla prostupná pro tyto látky.

Nepříznivý vliv 40 hod. bezkolostrální výživy se projevil později u všech 3 selat v přírůstcích, ve zdravotním stavu a odolnosti vůči KN.

Selata s kolostrální výživou vážila ve stáří 54 dní průměrně 12,16 kg, zatímco selata druhé skupiny jen 8,5 kg (v prvním období byla selata střídavě přikládána k různým strukům).

Selata druhé skupiny trpěla po celou dobu odchovu kožními vyrážkami, které připomínaly lehčí onemocnění osutinou.

Pokusnou intranasální infekcí selat kontrolní prasnice (neočkované) byly v podstatě potvrzeny Kötscheho poznatky, že selata s bezkolostrální výživou jsou pro onemocnění KN vnímavější než selata, která sála kolostrum. V našich pokusech sice všech 6 selat onemocnělo, ale skupina s kolostrální výživou po 7denní inkubační době, kdežto selata s bezkolostrální výživou již po 5,7denní inkubaci. Všechna selata první skupiny se uzdravila, kdežto z druhé skupiny 2 uhynula a 1 se uzdravilo.

Souhrn

Seroneutralizačními testy na selatech i TK bylo prokázáno, že:

1. mlezivo prasnice, očkované 25 dní před porodem dvacetinásobnou vakcinační dávkou, obsahuje seroneutralizační protilátky,
2. selata imunizované prasnice se rodí bez specifických protilátek,
3. protilátky z mleziva se v prvních hodinách po narození rychle vstřebávají do krevního oběhu selat,
4. u 40 hod. starých selat již nedošlo ke vstřebání protilátek z mléka prasnice.
5. Selata s bezkolostrální výživou jsou pro onemocnění KN vnímavější než selata, která sála od narození mlezivo, které neobsahovalo specifické protilátky.

Колостральный иммунитет при болезни Клобука

С помощью серонейтрализационного теста на поросятах и ТК было доказано, что

1. Молозиво свиноматки, привитой за 25 дней до опороса 20-кратной дозой вакцины, содержит серонейтрализационные антитела.
2. Поросята иммунизированных свиноматок рождаются без специфических антител.
3. Антитела из молозива в первые часы после рождения быстро всасываются в кровообращение поросят.
4. У поросят в возрасте 40 часов впитывания антител из молока свиноматки уже не происходило.
5. Поросята с бесколостральным питанием более чувствительны к болезни Клобука, чем поросята, которые сосали от рождения молозиво, не содержащее специфических антител.

The Colostral Immunity in Klobouk's Disease

By seroneutralisation tests on piglets and tissue cultures it could be ascertained, that: 1. the colostrum of a sow, vaccinated 25 days before delivery with a 20-fold vaccination dosis, contains seroneutralising antibodies, 2. piglets of an immuniz-

ed sow are born without specific antibodies, 3. the antibodies from the colostrum are during the first hours after birth quickly resorbed and appear in the circulating blood, 4. in piglets, 40 hours old, no resorption of antibodies from the milk of the sow was observed, 5. piglets fed without colostrum are more susceptible to the Klobouk's disease than piglets suckling from the birth the colostrum, even if the latter did not contain specific antibodies.

Průběh termické inaktivace kulturního viru Kloboukovy nemoci na tkáňových kulturách

Ход термической инактивации культурного вируса болезни Клобука на тканевых культурах

Verlauf der thermischen Inaktivierung des Kulturvirus der Klobouk'schen Krankheit auf Gewebekulturen

MVDr. Antonín PATLOKA

Z ústavu epizootologie veterinární fakulty VŠZ v Brně, vedoucí doc. dr. J. Dražan

Došlo dne 3. X. 1960

Úvod

Možnost kultivace virů na tkáňových kulturách a zejména pak značné zjednodušení techniky poskytlo další možnosti virologickému výzkumu. Aplikace těchto metod, které byly precizně rozpracovány zejména při výzkumu poliovirů, otevřelo nové pole působnosti i při výzkumu biologických vlastností viru Kloboukovy nemoci. Skutečnost, že tento virus se pomnožuje na homologních tkáních pěstovaných *in vitro* a je ho možno získávat ve velkém množství, v relativně čistém stavu a jeho množení pozorovat jednoduchou mikroskopickou technikou, je tím významnější, že doposud jediným zdrojem viru byla nervová tkáň prasat a jediným vhodným pokusným zvířetem sele.

První spolehlivý průkaz o množení viru Kloboukovy nemoci na homologních embryonálních ledvinových buňkách, podal v roce 1955 L a r s k i (1). V pozdějších rozsáhlejších pracích [P a t o č k a a spol. (2), M a y r a S c h w ö b e l (3, 4), B o u r d i n a spol. (5), M á d r (6)] byla rozpracována technika kultivace buněk z kůry ledvin selat i dospělých prasat, dokázáno, že virus obsažený v mozku a míše lze na tyto buňky adaptovat, množit, pasážovat, titrovat a jeho množení sledovat pozorováním specifického cytopatogenního efektu.

Zevní vlivy působí na všechny proteiny, tedy i na viry destruktivně, dochází ke spontánní denaturaci. U virů se to projevuje poklesem až úplnou ztrátou aktivity a neschopností projevovat se jako živé organismy. Ze zevních vlivů působících v tomto smyslu má význam zejména teplota, koncentrace vodíkových iontů a jiné chemicko-fyzikální vlastnosti prostředí, v němž je virus obsažen.

Využitím citlivosti buněk z kůry vepřových ledvin pěstovaných ve zkumavkách a vytvářejících na skle jednovrstevnou buněčnou kulturu, umožnilo zjišťováním cytopatogenní aktivity sledovat dynamiku poklesu infekitivity kulturního pasážovaného viru Kloboukovy nemoci působením teploty, jakožto nejdůležitějšího faktoru zevního prostředí.

Některé údaje o chování kulturního viru v prostředí hovězí amniotické tekutiny při skladování, pod vlivem teploty a chladu uvádí M a y r (4). Infekční titr 20. kulturní pasáže při skladovací teplotě $+4^{\circ}\text{C}$ poklesl za 90 dní o 2 log z $\text{ID}_{50}10^{-7,5}$ na $10^{-5,5}$.

Zmražení media obsahujícího virus teplotou -20°C , jeho rozmražení a opětovné uskladnění při této teplotě se neprojevovalo úbytkem infekтивности.

Z tabulek uváděných týž autorem vyplývá, že při 12 hod. působení teploty 37°C poklesl infekční titr asi o 1 log.

Vlivem teploty 56°C z původního titru $\text{ID}_{50}10^{-7,3}$ zůstal za 60 minut titr $10^{-0,3}$ a za 2 hodiny pak došlo k úplné inaktivaci viru.

Vlastní práce

V našich pokusech jsme sledovali vliv teploty 25°C , 37°C , 45°C , 55°C na cytopatogenní aktivitu kulturního pasážovaného viru ve stabiln.m, pro virus příznivém prostředí a za konstantního pH 7,4.

Použitý kulturní virus kmene Zábřeh byl nám poskytnut z Biovety Opava a od 20. pasáže byl dále pasážován u nás na monolayerech z veprových ledvin. 27. pasáž byla namnožena ve větším množství. Po úplné destrukci tkáně bylo medium s obsahem viru opakovaně při -25°C zmraženo a rozmraženo. Po zcentrifugování a odstranění buněčného detritu byl supernatant upraven NaHCO_3 na pH 7,4, rozlit po 5 ml do 10 ml ampulí. V této úpravě byl virus ihned podroben vlivu teplot. Po uplynutí žádaných dob byly ampulky ihned ochlazeny ledovou vodou a konzervovány při -12°C až do doby použití k titraci. Titrace byla prováděna ve zkumavkách na dobře narostlých kulturách epiteliálních buněk z kůry ledvin selat, nebo jatečných prasat.

Při přípravě kultur jsme se drželi v zásadě metodiky uváděné Mayrem, Schwöbelem (3, 4) a Mádrém (6) s některými modifikacemi.

60–100 g rozstříhané kůry ledvin poražených vepřů bylo několikrát promyto fosfátovým solným roztokem (pH 7,4) s antibiotiky. Kousky ledvinové tkáně byly potom zality dvoj- až trojnásobným množstvím, na 37°C predehrátého trypsinu s pankreatinem. Na magnetické míchačce se pretrypsinovalo půl hodiny při teplotě 37°C . Následovala frakcionovaná trypsinace při teplotě $32-34^{\circ}\text{C}$, u ledvin ze selat po dobu 10 minut a u ledvin z jatečných prasat byla doba prodlužována až na 20 minut. Jednotlivé digesty byly slévány přes silonový filtr do nádoby chlazené ledem a obsahující tolik telecího séra, aby při spotřebování předpokládaného množství trypsinu byla koncentrace séra ve slitých digestech nejméně 5%. Obvykle se provádělo 8–10 trypsináčnických frakcí.

Byl používán lyofilizovaný amorfní trypsin „Organofarma“ v koncentraci 0,03% ve směsi s pankreatinem 1:63 „Organofarma“ v koncentraci 0,015% v pufrovaném fyziologickém roztoku o pH 7,4. Po hodinovém rozpouštění při laboratorní teplotě za občasného protřepání byl roztok trypsinu s pankreatinem přesterilizován skleněným antibakteriálním filtrem G 5 a ihned upotřeben.

Trypsinace s poměrně nízkou koncentrací trypsinu a pankreatinu oproti běžně používané 0,25% koncentraci trypsinu firmy „Difco“ (USA), se ukázala jako dostačující k získání potřebného množství buněk a přitom velmi šetrná. Počet narušených buněk a jader nepřevyšoval počet buněk schopných růstu. Celkový výnos buněk po 8–10 trypsináčnických frakcích se pohyboval od 800 miliónů do 1 miliardy.

Trypsinace při nižší teplotě 32–34° C se doporučuje (P. v. M a g n u s a spol. [8]), jako jedno z opatření proti tvorbě slizovitých sraženin v rozvolněných buňkách. S touto závadou jsme se skutečně nesetkávali.

Trypsin z buněk byl odstraněn slitím supernatantu po 5minutovém odstředování při 600 obr./min. Buněčný sediment byl resuspendován v předeřátém růstovém mediu a po druhém odstředění a resuspendaci ve 100 ml media byly buňky spočítány a naředěny na žádanou hustotu 500.000 buněk na 1 ml.

Odstředování po dobu 5 minut při 600 obr./min. je velmi šetrné a podle našich zkušeností zcela dostačující k úplné sedimentaci všech buněk.

Používali jsme media tohoto složení: Hanksův solný roztok v tridestilované vodě s 0,5% laktalbumin-hydrolyzátu, 10% inaktivovaného telecího séra a 150 m. j. penicilinu a 150 y streptomycinu na 1 ml. pH se upravovalo 7,5% roztokem bikarbonátu sodného na 7,4. Obvykle bylo zapotřebí asi 6 ml na 1 litr. Kompletně sestavené medium bylo sterilizováno skleněným antibakteriálním filtrem G 5.

Rozvolněné buňky v množství 500.000 v 1 ml media byly kultivovány do 20ml zkumavek v množství 1,5 ml suspenze buněk. Po 48 hodinách se na skle uchycené buňky překryly 2 ml čerstvého růstového media. Během 5–6, někdy 7 dnů vytvořily buňky souvislý povlak na dolním konci zkumavek. Po makroskopickém i mikroskopickém posouzení monolayerů a vyloučení ne zcela bezvadných, nebo kontaminovaných porostů, mohly být použity k infekci virem.

Reziduální infektivita viru po účinných teplot byla stanovena titrací. Materiál obsahující virus byl předem naředěn od 10^{-1} do 10^{-10} . K ředění se používalo tzv. virusového media, které se skládalo ze syntetického media, vyráběného Ústavem sér a očkovacích látek v Praze, tridestilované vody, 2% inaktivovaného telecího séra a antibiotik. Na pH 7,6 bylo upravováno 7,5% NaHCO_3 (obvykle 20 ml na 1 litr).

Zkumavky byly plněny 2 ml virusového media s příslušným logaritmickým ředěním viru. Infekce tkání neředěným virovým materiálem byla prováděna tak, že byl napipetován v množství 1 ml do zkumavek, ponechán ve styku s tkání 1 hodinu při teplotě 36,5° C a potom doplněn na 2 ml čerstvým virusovým mediem. To se provádělo jen v případech, kdy se ukázalo, že reziduální infektivita se neprojevila ani v nejnižším ředění 10^{-1} .

Infikované zkumavky byly mikroskopicky prohlíženy poprvé za 48 hodin po infekci a potom po 24 hodinách po dobu 8 dnů. Vzhledem k tomu, že se pracovalo s virem na tkáňové kultury již dobře adaptovaným, byl typický cytopatogenní efekt na buňkách patrný již za 48 hodin, zejména v případech, kde byl virus působením teploty jen málo oslaben a v nižším ředění. Ve vyšších ředěních se objevovaly specifické degenerativní změny 4.–5. den. Od 6. dne se situace již neměnila. Bylo-li použito k založení kultur ledvin jatečných vepřů, byla zjišťována v některých případech menší údržnost buněk, které začaly podléhat spontánní nespecifické degeneraci 7. den po infekci. Ve všech pochybných případech, kdy nebylo možno s úplnou jistotou rozlišit specifický cytopatogenní efekt od spontánní degenerace, byly založeny subpasáže.

Všechny titrace byly prováděny dvojmo a titry se nelišily nikdy o více než jeden logaritmus. V tabulkách je uveden aritmetický průměr ID_{50} z obou titrací. Pro každé ředění bylo použito nejméně 4 zkumavek a statistické vyčíslení ID_{50} se kalkulovalo podle R e e d - M u e n c h a (7).

Titrace výchozího materiálu, tj. 27. pasáže kulturního viru kmene Zábřeh, byla provedena rovněž dvakrát (tab. I) a bylo dosaženo titru $10^{-8,37}$ a $10^{-8,0}$. Tato výška titru je téměř shodná s údaji M a y r a (9) a Heckeho (10), jejichž kulturní virus kmene Konratice dosahoval ve 20. až 30. pasáži titru $10^{-8,3}$ až $10^{-8,5}$.

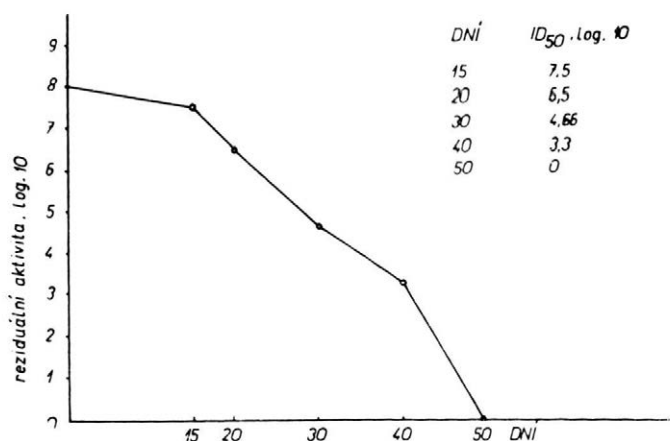
I. Titrace 27. pasáže kulturního viru Zábřeh na TK

I. titrace							II. titrace					
dávka	žije	ex	žije	ex	celk.	%	žije	ex	žije	ex	celk.	%
10 ⁻⁶	0	10	0	28	28	100	0	4	0	10	10	100
10 ⁻⁷	0	10	0	18	18	100	1	3	1	6	7	86
10 ⁻⁸	2	8	2	8	10	80	2	2	3	3	6	50
10 ⁻⁹	10	0	12	0	12	0	3	1	0	1	7	14
$ID_{50} = 10^{-8,37}$							$ID_{50} = 10^{-8}$					

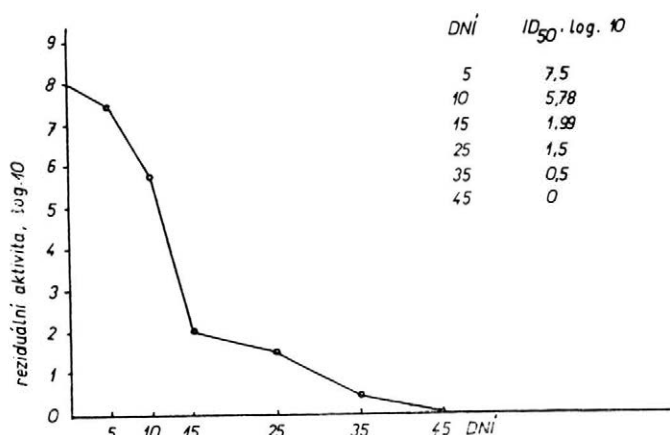
Tabulky č. II-V znázorňují dynamiku poklesu infekčního titru kulturního viru 27. pasáže kmene Zábřeh vlivem teplot 25⁰ C, 37⁰ C, 45⁰ C a 55⁰ C v závislosti na době působení těchto teplot.

Ve všech případech s přibývajícím dobou působení infekční titr virového materiálu klesá, takže křivky mají sestupnou tendenci.

Působením teploty 25⁰ C (tab. II), je do 15 dnů pokles jen nepatrný. Mezi 20.—30. dnem je však zaznamenán pokles již o celé dva logaritmy. K úplné inaktivaci došlo za 50 dní.



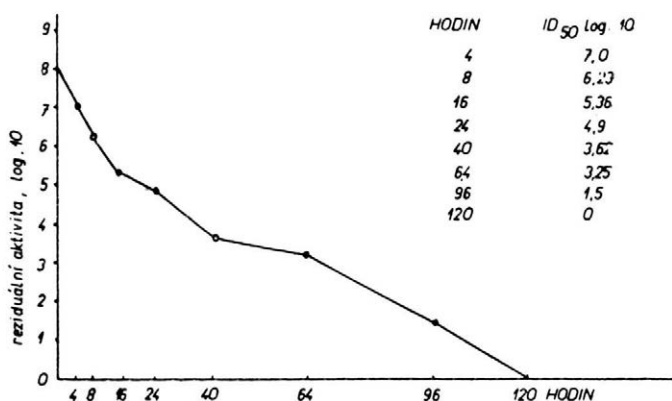
II Dynamika poklesu infekitivity při teplotě 25⁰ C



III Dynamika poklesu infekitivity při teplotě 37⁰ C

Při teplotě 37° C (tab. III) je nápadný značný pokles infekivity mezi 10. až 15. dnem působení této teploty. 35. den je reziduální infektivita jen nepatrná a po 45 dnech došlo k úplné devitalizaci viru.

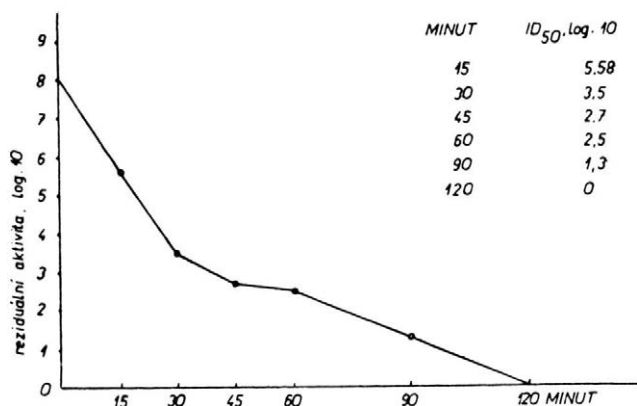
IV Dynamika poklesu infekivity při teplotě 45° C



Křivky pro teploty 45 a 55° C (tab. IV a V) mají pravidelnější průběh. K relativně silnějšímu poklesu titru dochází v první polovině doby potřebné k inaktivaci.

Teplotou 45° C dojde k úplné ztrátě aktivity za 120 hodin a teplotou 55° C za 120 minut.

V Dynamika poklesu infekivity při teplotě 55° C



Obecně lze konstatovat, že termostabilita viru Kloboukovy nemoci ve srovnání s jinými viry je podivuhodná.

Doba potřebná k úplné inaktivaci viru se zkracuje se stoupající teplotou. V rozmezí 12° C mezi 25° a 37° C je rychlost termické inaktivace vyjádřena násobkem 1,1. Zvláště nápadné urychlení inaktivačního procesu je patrné po překročení teploty 37° C. V této oblasti v rozmezí 8° C mezi 37° a 45° představuje tento násobek číslo 9 a v rozmezí 10° C mezi 45° a 55° C již číslo 60.

Blízká perspektiva neefektivnější imunizace proti Kloboukově nemoci je v použití živého, pro prasata však apatogenního kulturního viru. Čím vyšší cytopatogenní aktivitu pro tkáňové kultury bude mít materiál, z něhož bude vakcína připravena, tím větší bude obsah viru a předpokládá se, že i silnější imunizační účinek.

Aktivitu viru a tím i jakost vakciny může narušovat ze zevních faktorů především teplota, která se uplatňuje v záporném smyslu již během výroby, skladování, expedice a při běžném zacházení v terénních podmínkách až do okamžiku aplikace zvířeti.

Při určování expirační doby vakciny s živým virem je třeba přihlédnout zejména ke stabilitě viru vůči běžným teplotám. K těm se nejvíce přibližuje teplo a 25°C ověřovaná našimi experimenty. Z průběhu její inaktivační křivky je patrné, že k výraznějšímu poklesu aktivity viru dochází mezi 15. až 20. dnem.

Vezme-li se v úvahu toto zjištění, mohla by expirační doba takovéto živé vakciny, při vyloučení jiných škodlivých vlivů, být 14, maximálně 20 dnů.

S o u h r n

Metodou titrace na jednovrstevných tkáňových kulturách z kůry ledvin vepřů byla zjišťována reziduální infektivita pasážovaného kulturního viru Kloboukovy nemoci, podrobeného vlivu teplot 25°C , 37°C , 45°C a 55°C po různě dlouhou dobu.

Byly určeny inaktivační křivky těchto teplot v závislosti na době působení.

Vlivem teploty 25°C dochází k úplné inaktivaci za 50 dní, teplotou 37°C za 45 dní, teplotou 45°C za 120 hodin a teplotou 55°C za 120 minut.

S přihlédnutím k termostabilitě při 25°C byla pro vakcinu s živým apatogenním virem doporučena expirační doba 14–20 dnů.

Ход термической инактивации культурного вируса болезни Клобука на тканевых культурах

Методом титрации на однослойных тканевых культурах из коры почек свиной определялась остаточная активность пассируемого культурного вируса (огенни Клобука, подверженного с различной продолжительностью влиянию температур 25°C , 37°C , 45°C и 55°C).

Были установлены инактивационные кривые этих температур в зависимости от продолжительности воздействия.

Под влиянием температуры 25°C полная инаktivация наступает через 50 дней, при температуре 37°C — через 45 дней, при 45°C — через 120 часов, а при температуре 55°C — через 120 минут.

С учетом термостабильности при 25°C для вакцины с живым непатогенным вирусом рекомендуется срок экспирации 14–20 дней.

Verlauf der thermischen Inaktivierung des Kulturvirus der Klobouk'schen Krankheit auf Gewebekulturen

Mittels Titrationmethode auf einschichtigen Gewebekulturen aus Nierenrinde von Schweinen wurde die residuale Infektivität des passagierten Kulturvirus der KK, das dem Einfluß der Temperaturen von 25°C , 37°C , 45°C und 55°C verschieden lange ausgesetzt war, ermittelt.

Es wurden die Inaktivationskurven dieser Temperaturen in Abhängigkeit von der Wirkungsdauer festgestellt.

Unter dem Einfluß der Temperatur von 25°C kommt es zur vollen Inaktivierung in 50 Tagen, bei 37°C in 45 Tagen, bei 45°C innerhalb von 120 Stunden und bei 55°C in 120 Minuten.

Mit Berücksichtigung der Thermostabilität bei 25°C wurde für die Vakzine mit lebendem, apathogenem Virus die Expirationszeit von 14–20 Tagen vorge schlagen.

Hybridizácia — rekombinácia vírusu Kloboukovej choroby (infekčná obrna ošípaných) s vírusmi psinky a moru hydiny

Гибридизация — рекомбинация вируса болезни Клобука (инфекционный энцефаломиелит свиней) с вирусами чумы собак и чумы домашней птицы

The Hybridization — a Recombination of the Virus of the Klobouk's Disease (Infectious Swine Paralysis) with the Distemper and Fowl Pest Virus

Akademik Ivan BRAUNER — dr. Ján MALIK

Pobočka ČSAPV — Laboratórium experimentálneho veterinárstva, Bratislava

Došlo dňa 20. X. 1960

Po stránke vedecko-výskumnej sa u nás s problematikou K. ch. zaoberalo viacero pracovníkov a dosiahli sa cenné poznatky. Z týchto môžeme v krátkosti spomenúť len tie, ktoré sa týkajú imunoprofylaxie tejto nákazy. Sám prof. Klobouk bol prvý, ktorý vypracoval imunoprofylaxiu pomocou fenolovej vakcíny, ďalej ivanovická fenolová, formolová, senzibilizovaná, chloroformová a éterová vakcína. Skúsenosti s nimi ukázali, že čím viac bol v týchto „prostých“ vakcínach (bez depótnych a iných prostriedkov) vírus narušený použitým konzervačne mitigačným prostriedkom, tým znateľnejšie klesala imunogénna aktivita vakcíny. Všeobecná obava z použitých vakcín, ktoré obsahovali vírus aktívny (živý) ako napr. fenolová, senzibilizovaná viedla k jej zákazu z obáv pred rozšírením obrny vakcináciou. Naproti tomu vakcína obsahujúca vírus mŕtvy inaktivovaný diskreditovala preventívnu vakcináciu veľmi vážne.

Keď po druhej svetovej vojne nákazová situácia sa z roka na rok rapídne zhoršovala a prakticky sa zamorila celá ČSR, stala sa veľmi pálčivou otázkou zábrany hospodárskych škôd preventívnym očkovaním. Pod vedením K. Hrušku sa pristúpilo v Ivanoviciach na Hané k výrobe inaktivovanej formoladsorbátovej vakcíny, ale z ekonomických a technických dôvodov sa ako zdroj vírusu používali mozgy a miechy s nákazou odporazených, v prípade i uhynutých zvierat, pri ktorých klinický náález za živa a prípadne histologické vyšetrenia s CNS po smrti svedčili pre nehnisavú encefalomyelitidu. Tento spôsob výroby mal mnoho nevýhod a nedostatkov, a to najmä nekontrolovateľný obsah vírusu v CNS, nakoľko vieme, že eliminácia obrnového vírusu prebieha veľmi rýchle a po objavení klinických príznakov behom 3—4 dní klesá na minimum. Ďalej možnosť kontaminácie inými vírusmi alebo baktériami a konečne z dôvodov zaistenia neškodnosti vakcíny pre veľký obsah formalínu v hotovej vakcína. Toto podstatne znížilo aj účinnosť. Už v tom čase sa pokúsil Patočka o výrobu vakcíny s obsahom lipidných adjuvancií, ktorá ako v laboratórnych podmienkach, tak i pri preskúšaní v teréne dobre imunizuje ošípené, ale pre terén je nebezpečná pre obsah živého patogenného vírusu a nepraktická pre nesnadný spôsob aplikácie hustej olejovej suspenzie.

V roku 1952 sa v Bratislave pristúpilo k výrobe očkovacej látky z CNS umele laboratórnym vírusom infikovaných ošípaných. Vírus vo vakcína sa inaktivoval formalínom, pričom hranica mitigácie sa presne vymedzila na obsah 0,22 %—0,25 % formalínu. Táto vakcína sa osvedčila a dodnes sa vyrába a v ohrozených oblastiach široko používa. Jej prednosťou je, že neohrozuje zamorený terén zavlečením živého

virulentného vírusu. Má však aj nevýhody, že pomerne pozde vytvára imunitu a má veľmi vysokú výrobnú cenu, keďže v štátnom meradle sa na jej výrobu potrebuje ročne 15—25 000 odstavčiat vo váhe 16—20 kg.

Otázka imunoprophylaxie K. ch. sa teda nikdy nepovažovala za vyriešenú a viacerí pracovníci sa pokúšali jednak o nový druh vakcíny a jednak o nájdenie nového, prípadne apatogenného, ale hlavne lacnejšieho a hospodárnejšieho zdroja vírusu. Zatiaľ, čo sa dnes väčšina prác tohto druhu koná na tkanivových kultúrach, v minulosti sa ukázal vhodným substrátom na pestovanie vírusu kuracích zárodok. Zprávu o úspešnej adaptácii vírusu K. ch. na kuracie zárodoky uverejnil u nás Brauner a taktiež Harnach. Cieľom tejto prednášky je, referovať o ďalších pokusoch s vírusom K. ch. na kuracích zárodkoch, a to so zameraním na hybridizáciu vírusu K. ch. s inými vírusmi s neutrópnymi vlastnosťami.

Pokusom o hybridizáciu predchádzala adaptácia vírusu K. ch. na kuracie zárodoky. Podal som o tom zprávu v roku 1954 a krátka rekapitulácia týchto výsledkov je takáto:

Už v roku 1947 som sa začal zaoberať problematikou K. ch. Naše pracovné podmienky boli vtedy veľmi obmedzené a jedinou možnosťou laboratórnej práce boli pokusy na kuracích zárodkoch, na ktoré som sa pokúsil adaptovať vírus K. ch. z prípadov vzplanutia nákazy v teréne z rôznych oblastí ČSR, odkiaľ sme dostávali na vyšetrovací veterinárny ústav v Ivanoviciach na Hané denne niekoľko desiatok uhynutých ošipaných alebo z núdzove porazených kusov predpísané vzorky CNS. V roku 1949 sa mi podarila adaptácia štyroch kmeňov zo 46 na kuracie zárodoky a ich sukcesívne pasážovanie na novom hostiteľovi. Vírus v podobe suspenzie z choriolalan-toickej blany zo 16. pasáže na kuracích zárodkoch bol patogenný pre ošipané, u ktorých vyvolával po predĺženej inkubačnej dobe klinické príznaky K. ch. Histologické vyšetrenie CNS týchto zvierat potvrdilo diagnózu K. ch.

Po zmene pracoviska a presťahovaní do Bratislavy som v pokusoch tohto druhu pokračoval až v roku 1952 a pokusy trvali až do roku 1959. Spätnými pasážami ošipané — kuracie zárodok — ošipané sa nám opäť podarilo adaptovať niekoľko kmeňov vírusu na kuracie zárodoky, ale hlavne sa nám podarilo adaptovať laboratórny vírus, ktorý bol používaný ku komerčnej výrobe obrnovej vakcíny v Bratislave, a to po 6 až 8 cik-cak-ových pasáží. Ďalšie pasáže sa robili už len na kuracích zárodkoch a len občas sa zaradili pasáže na ošipaných na vyskúšanie patogenosti skúmaných kmeňov pre ošipané. Najprv sme pozorovali predĺženie inkubačnej doby od 16 pasáží a v 46. pasáži bol vírus pre ošipané apatogenný, pričom sa však znížili aj jeho imunizačné vlastnosti.

Vakcína vyrobená z týchto apatogenných kmeňov bez pridania inaktivačných prostriedkov dala neuspokojivý výsledok v laboratórnych podmienkach. Bol vyskúšaný aj v teréne, a to vo dvoch silne zamorených okresoch južného a severného Slovenska aj napriek tomu, že výsledky boli veľmi dobré. Tieto terénne pokusy sa nedali bezpečne vyhodnotiť. I keď sa po vakcinácii nevyskytli prípady ochorenia, resp. hynutia na K. ch. nemožno vylúčiť, či nedošlo v teréne k subklinickej infekcii alebo imunizácii uličným vírusom. Chýbala preukázaná kontrola. Preto a najmä pre neuspokojivé výsledky laboratórnych vyhodnotení vakcíny z vírusu adaptovaného na kuracie zárodoky, sme od pokusov tohto druhu upustili a zamerali sme sa na nový spôsob získania živého vírusu s imunizačnými vlastnosťami, a to hybridizáciou.

V tom čase nám už boli zo svetovej literatúry prístupné práce o hybridizácii, resp. hynutia na K. ch., nemožno vylúčiť, či nedošlo v teréne k subklinickej infekcii v tomto smere pri vírusoch, najmä pri chripke ľudí. Považovali sme za odôvodnené podobné pokusy aj s vírusom K. ch. Volili sme pre ne také vírusy, ktoré majú určité neurotropné vlastnosti, ale nie sú patogenné pre ošipané. Keďže sme mienili pracovať s vírusovými kmeňmi K. ch. adaptovanými na kuracie zárodoky bolo potrebné, aby aj tieto vírusy, s ktorými sme chceli vírus K. ch. hybridizovať, boli adaptované na kuracie zárodoky. Z týchto dôvodov sa nám videli najvhodnejšie pre naše účely vírusy moru hydiny a vybrali sme kmene B₁ (Hitchner) a avianizovaný vírus psinky kmeň H_a i g.

V predpokusoch sme vyskúšali, či uvedené vírusy nevytvárajú u ošipaných po pokusnej infekcii odolnosť proti vírusu K. ch. na základe interferencie a ani po i. c. ani po s. c. infekcii sme však u pokusne infikovaných ošipaných nezistili vznik interferenčnej odolnosti, t. j. takej, čo sa vytvára v priebehu niekoľko málo dní. Tieto pokusy pozdejšie doplnil Vondrák a Zbořil pri víruse moru hydiny v tom zmysle, že ani v pozdejších týždňoch po inokulácii vírusu moru hydiny sa u ošipaných nevytvárala imunita proti vírusu K. ch.

Vlastné pokusy

Materiál a metódy

Vírusy: Na hybridizáciu som použil:

1. Vírusový kmeň K. ch. adaptovaný na kuracie zárodky (Brauner 1956) pasáží na chorionalantoickej blane, kde vyvolával podľa stupňa riedenia difúzny edém alebo diseminované ohraničené uzlíky.

2. Kmene B₁ (Hitchner) vírus moru hydiny, ktorý je apatogenný pre kurčatá a dobre sa rozmnožuje v kuracích zárodkoch všetkých spôsoboch inokulácie, pričom hemaglutinačný titer alantoickej tekutiny je 1:1024 — 1:4096.

3. Avianizovaný kmeň Haig - Onderstepoor vírus psinky rastúci na chorion-alantoickej blane kuracích zárodkov v podobe drobných husto diseminovaných uzlíkov. Vírus B₁ a psinky nám dodávala Bioveta v Nitre v lyofilizovanom stave. Ani jeden z uvedených troch vírusov nezabíjal v priebehu 3—4 dní kuracie zárodky. Na vyvolávanie infekcií sme používali virulentný laboratórny kmeň vírusu K. ch. v podobe mozgomiechových suspenzií ošipaných, získané z Biovety v Nitre a v Opave, a to kmeň 4479 a 404.

Pokusné zvieratá: Ošipané v živej váhe 16—20 kg pochádzali z dávok, dodaných Biovete v Nitre na výrobu komerčnej vakcíny proti K. ch. Pochádzali z chovov v oblastiach zaručené bez nákazy a pri infekcii za účelom výroby tejto komerčnej vakcíny vykazovali veľmi vysoké % vnímavosti (96 %). Spôsob infekcie sa opisuje pri jednotlivých pokusoch.

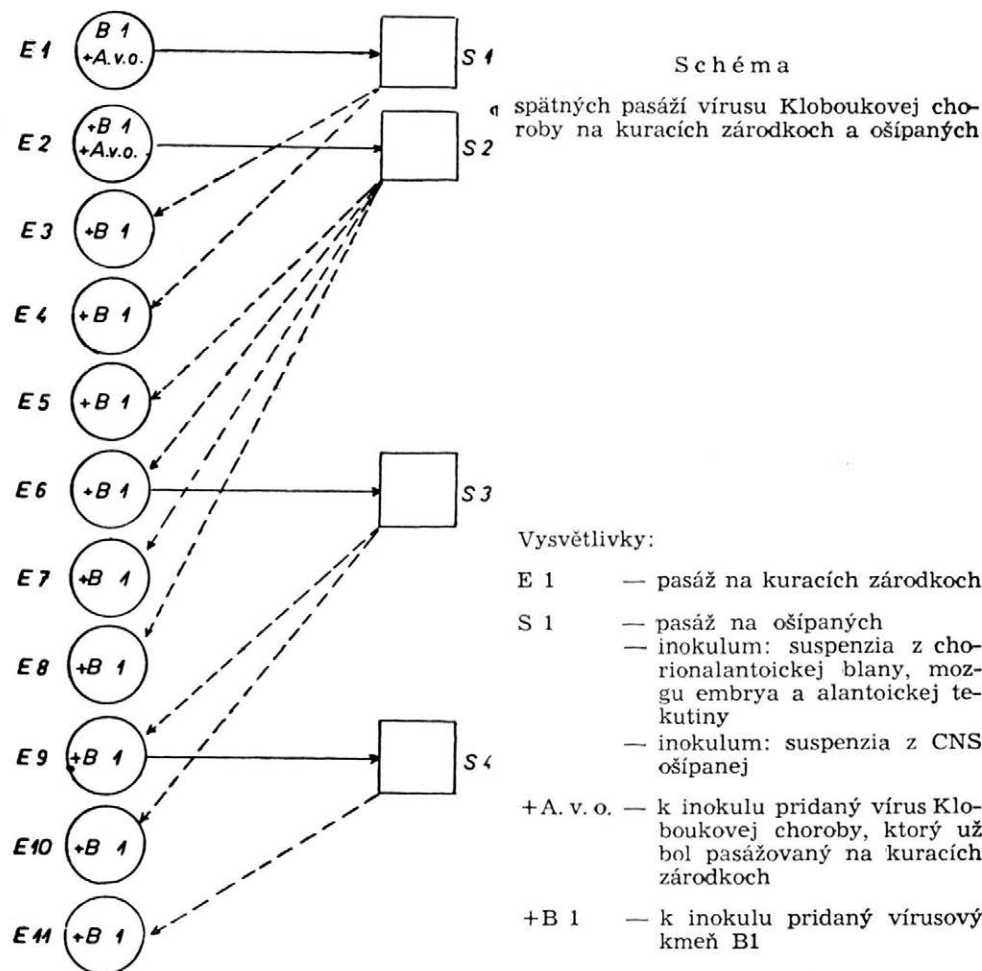
Kuracie zárodky, na ktorých sa robili vlastné pokusy o hybridizáciu vírusu, sme infikovali v prvých 6 pasážach vo veku 8 dní, v pozdejších pasážach 11 dňové. Predpokladali sme, že čím mladšie, tým vnímavejšie budú voči zmiešanej vírusovej infekcii a tým vhodnejšie prostredie poskytnú pre očkovanie zmenou vlastností vírusu K. ch. V oboch prípadoch sme ich infikovali na chorionalantoickú blanu dávkou 0,1 ml vírusovej suspenzie, ktorej zloženie sa udáva pri jednotlivých pokusoch. V prvých 6 pasážach inkubovali sa 72 hodín. Tie čo uhynuli prvé, sa z pokusov vyradili. Po inkubácii boli uložené v ľadničke a po vychladnutí sa vyberali chorion-alantoické blany a mozgy zárodkov s takým množstvom alantoickej tekutiny, ktoré stačilo na prípravu 10—20 % suspenzie z týchto orgánov. Vždy sa robili kontroly bakteriálnej sterility na tekutých a pevných živých pôdach. Pri hybridizácii s vírusom B₁ sa sledovala prítomnosť vírusu v alantoickej tekutine hemaglutinačným testom so slepačími krvinkami. Pre trvanie vírusu psinky v priebehu pasáží v pasážovanom materiáli sme z technických dôvodov nemohli sledovať imunizáciu vnímavých pŕísať. Neutralizačný test s protipsinkovým hyperimunným sérom nebol vhodný na diferencovanie vírusu psinky a K. ch. na chorionalantoickej blane, lebo obidva vírusy tu vyvolávajú podobné morfológické zmeny. Keďže však podmienky, za akých sa hybridizačné pokusy robili, sú identické s postupom pri pasážovaní avianizovaného vírusu psinky na kuracích zárodkoch, predpokladám, že aj tento vírus sa kontinuálne pasážoval spolu s vírusom K. ch.

Výsledky

Pokusy prebiehali paralelne vo dvoch sériach. V prvej sa robila hybridizácia s vírusom B₁, v druhej s vírusom psinky. Schéma pokusov bola v podstate rovnaká.

Zmes avianizovaného vírusu K. ch. a vírusu B₁, resp. vírusu psinky, sa inokulovala na kuracie zárodky a po 72, resp. 96 hod. sa u prežívajúcich kuracích zárodkov vyberali chorionalantoické blany, mozog a časť alantoickej tekutiny a spracovávali na 10 % suspenzie. Táto sa inokulovala i. c. na ošipané, resp. po pridaní nového vírusu B₁ alebo psinky na ďalšie kuracie zárodky. Pretože inkubačný čas u ošipaných pri K. ch. je pri i. c. infekcii pomerne dlhý, urobili sa v jeho priebehu na kuracích zárodkoch 2—3 medzipasáže. Pri objavení sa klinických príznakov K. ch. sa ošipané odporazili, ich CNS vyšetrili histologicky na prítomnosť zmeny svedčiacich pro K. ch., spracovali na suspenziu, ktorá sa pridala k suspenzii pripravenej z chorionalantoických blán poslednej pasáže na kuracích zárodkoch a prídavkom čerstvého vírusu B₁, resp. vírusu psinky. Táto zmes sa inokulovala na kuracie zárodky, z ktorých sa opäť odobrala chorionalantoická blana, mozog a alantoická tekutina.

Takto prekonával vírus K. ch. 11 pasáží na kuracích zárodkoch a v ich priebehu boli zaradené 4 pasáže na ošipovaných pri hybridizácii s vírusom B₁, resp. 5 pasáží na ošipovaných pri hybridizácii s vírusom psinky. Priebeh pokusov je schématicky znázornený na obraze 1.



Prvých 6 pasáží sa robilo na 8 dňových kuracích zárodkoch, ďalšie na 11 dňových. Suspenzie na pasáže sa skladali na prvé dve pasáže na kuracích zárodkoch a 1 pasáž na ošipovaných.

a) Z troch dielov vírusu B₁, resp. psinkového vírusu + 2 diely avianizovaného vírusu K. ch.,

b) zo 4 dielov vírusu B₁, resp. psinkového vírusu + 1 diel avianizovaného vírusu K. ch.

V ďalších pasážach sa už nepridával pôvodný avianizovaný vírus K. ch., ale vírus získaný z mozgov ošipovaných. Rozdiely v zložení pasážových suspenzií čo do percentuálneho obsahu jednotlivých zložiek sa v ďalších pokusoch nasledovali.

Na kuracích zárodkoch sa zistili v priebehu pokusnej hybridizácie zmeny, ktoré sa nijako nelíšili od zmeny pri pasážovaní avianizovaného vírusu K. ch., na chorion-alantoických blanách vznikali difúzne edém a ohraničené uzlíky, na tele embryí boli zistené ojedinelé petechie. V mozgu kuracích zárodkov sa zistili histologické lymfocytárne infiltrácie (Besaeda a vlastné), ktorých intenzita sa postupom pasáží znižovala. Tieto histologické zmeny boli rovnaké pri hybridizácii s vírusom psinky aj s vírusom B₁.

Po 11. pasážach sme považovali hybridizačné pokusy za dostatočné na to, aby si vírus K. ch. upevnil schopnosť rásť na kuracích zárodkoch pri zachovaní imunizačných vlastností. Preto sme prestali robiť spoločné pasáže na ošipané a pokračovali sme v pasážach len na kuracích zárodkoch používajúc ako inokulum len materiál z kuracích zárodkov, teda bez pridávania vírusu B₁, resp. psinky a bez mozgomiechovej suspenzie z ošipaných. Takto sa uskutočnilo ďalších 16 pasáží s vírusom hybridizovaným s vírusom psinky a ďalších 17 pasáží s vírusom hybridizovaným s vírusom B₁.

Kontrolu vlastností hybridizovaného vírusu K. ch. sme robili po 11 spoločných pasážach a po ďalších 6—14 až 16 pasážach, t. j. po 17, 25, 27 pasáží na kuracích zárodkoch.

Po 11 spoločných pasážach sme zisťovali patogennosť vírusu pre ošipané, resp. keby sa vírus ukázal apatogenný, jeho imunizačnú účinnosť. Z chorionallantoickej blany CNS embryí a alantoickej tekutiny sme pripravili 10 % suspenzie vo fyziologickom roztoku s prídavkom 1000 m. j. penicilínu a 500 m. j. streptomycínu na 1 ml, infikovali sme ňou 10 odstavčiat, a to 5 i. n. a 5 i. c. dávkou i. n. 2 ml, i. c. 0,5 ml. Z oboch skupín po štyroch kusoch onemocneli za typických klinických príznakov K. ch., kde histologické vyšetrenie potvrdilo klinickú diagnózu. Ukázalo sa teda, že po 11. spoločných pasážach spojených s hybridizáciou s vírusmi psinky alebo s vírusom B₁ si adoptovaný vírus K. ch. zachoval patogennosť pre ošipané. Po ďalších 6 pasážach len na kuracích zárodkoch, t. j. vcelku po 17 pasážach sme zisťovali pato-

I. Imunizácia ošipaných vírusom Kloboukovej choroby hybridizovaným s vírusom psinky resp. moru hydiny

Druh vakcíny	Počet imuniz. zvierat	Spôsob vyvol. infekcie	Výsledok vyvol. infekcie	Pozn.
Vírus K. ch., hybridizovaný s vírusom psinky, 25. pasáž na k. z.	10	<i>i. nas.</i>	8/9	
Vírus K. ch., hybridizovaný s vírusom psinky, 27. pasáž na k. z.	15	<i>i. cer.</i>	7/15	
Vírus K. ch., hybridizovaný s vírusom B ₁ , 25. pasáž na k. z.	10	<i>i. nas.</i>	8/10	
Vírus K. ch., hybridizovaný s vírusom B ₁ , 27. pasáž na k. z.	15	<i>i. cer.</i>	8/14	
Kontroly	10	<i>i. nas.</i>	3/10	
Kontroly	10	<i>i. cer.</i>	2/10	
Spolu: vakcinované zvieratá		31/48 t. j. prežilo 65 %		
kontroly		5/20 t. j. prežilo 25 %		

Vysvetlivky:

1. Imunizačný postup: vakcinácia dávkou 2—3 ml s. c., revakcinácia za 14 dní rovnakou dávkou a cestou.

2. Vyvolávajúca infekcia virulentným kmeňom č. z Biovety v Opave.

3. Čitateľ udáva počet prežívajúcich, resp. klinicky nereagujúcich zvierat, menovateľ počet infikovaných zvierat. Reagujúce zvieratá vykazovali klinické príznaky K. ch., resp. uhynuli a v ich CNS sa zistila nehnisavá encefalomyelitída.

4. V každej skupine uhynulo interkurentne jedno zviera pred vyvolávajúcou infekciou.

gennosť hybridizovaného vírusu pre ošipané pre *i. n.* infekcii. Tuto sme robili *i. n.* instiláciu 2 ml 10 % suspenzii z chorionalantoickej blany CNS a amniovkej tekutiny vo forme 10 % suspenzii, v pozorovacej lehote 30 dní z inifikovaných ošipáných neochorelo klinicky ani jedno. Jeden kus behom pozorovania vypadol interkurentne na hnisavú bronchopneumóniu, z čoho sme usúdili, že pomerne tento nízky počet pasáží stačil na to, aby vírus, ktorého vlastnosti boli predošlými hybridizačnými pokusmi otrásené (rozviklané), stratil svoju patogennosť pre ošipané. Pri uvedenom spôsobe infekcie sme však neočakávali, že by mohlo dôjsť k imunizácii zvierat, a preto sme previedli ešte ďalších 8, resp. 10 pasáží na kuracích zárodkoch a potom sme skúšali imunizačnú účinnosť hybridizovaných kmeňov, ktoré sa vtedy nachádzali v 25. a 27. pasáži na kuracích zárodkoch.

V oboch prípadoch a pri oboch hybridizovaných vírusoch sme živú vakcínu pripravili rovnakým spôsobom. Obsahovala 10 % vírusového materiálu z kuracích zárodkov s penicilínom a streptomycínom, 40 % fyziologického roztoku a 50 % hydroxydu alumínia 2%-ého, pH vakcíny bola 7.3. Pred použitím stála niekoľko dní v ladničke pri +4°C. Medzitým bola prevedená kontrola bakteriálnej čistoty. Odstavčatá sme imunizovali dávkou 2–3 ml vakcíny s. c., revakcinovali rovnakou dávkou za 14 dní a za ďalšie 3–4 týždne sme ich podrobili vyvolávajúcej infekcii, a to po vakcínach z 25 pasáží *i. n.* cestou, po vakcínach 27. pasáží *i. c.* cestou, a to z 10%-nej suspenzie bez prídania mitigačných prostriedkov, t. j. živým vírusom, a to *i. n.* sa používalo 2 ml *i. c.* 0,5 ml suspenzie. K vyvolávajúcej infekcii sme použili vírus K. ch. dodaný z Biovety Opava, ktorý bol tesne pred použitím prepasážovaný a kontrolovaný na odstavčatách. Počty zvierat a výsledky pokusov sú uvedené v tabuľke č. 1.

Hodnotenie výsledkov a diskusia

Pri klinickom hodnotení našich niekoľkoročných pokusov konštatujeme, že pestovanie vírusu K. ch. na kuracích zárodkoch predstavuje v minulosti málo využitú možnosť laboratórnych pokusov s týmto vírusom. Sme si vedomí toho, že naše výsledky sú v rozpore s niektorými údajmi literatúry, podľa ktorých nie je možná adaptácia vírusu K. ch. na kuracie zárodky. Naše závery však podporujú údaje iných pracovníkov, že táto adaptácia je možná. Je samozrejme, že nie každý kmeň sa dá adaptovať na kuracie zárodky a že táto adaptácia nie je jednoduchá. Pri cieľavedomej práci sa však z množstva terénnych vírusov, vyskytujúcich sa pri enzootickom a epizootickom zamorení CSR Kloboukovou chorobou dali izolovať kmene, adaptovateľné na kuracie zárodky.

Prácu s takýmito kmeňami sme pre technické, materiálové a naostatok aj personálne ťažkosti nemohli rozvinúť do plnej šírky a hĺbky. Možno predčasne sme uzavreli pokusy o výrobu živých vakcín z kmeňov, ktoré pri postupných pasážach na kuracích zárodkoch stratili patogénnosť zistením, že tieto kmene súčasne stratili aj imunizačné schopnosti. Obrátili sme svoju pozornosť na možnosť hybridizácie vírusu K. ch. s inými vírusmi, ktoré majú tiež neurotropné vlastnosti. Vidí sa nám, že táto cesta by mohla skôr viesť k príprave živých avirulentnej vakcíny. Prídaním vírusov, ktoré sú dobre adaptované na kuracie zárodky, sa uľahčí prispôbenie sa vírusu novému prostrediu a získanie znakov, ktoré by ináč vírus sám ťažko získaval, resp. ktorých získanie by bolo spojené s neželanou stratou iných znakov, napr. imunogénnosti. Pritom spätné pasáže na ošipané v prvých hybridizačných pasážach zabrániť jednak novej strate vírusu, jednak prevládnutiu znakov druhých rodicových vírusov (psinky alebo moru hydiny).

Pripúšťame, že naše pokusy sa po technickej stránke líšia od pokusov s tzv. rekombináciou vírusov; nám však nešlo o modelové pokusy teoretického významu, i keď je prístup k problému prípravy živých vakcín možný a hľadám aj správnejší aj z tejto strany. Spôsob riešenia danej úlohy je určený podmienkami a možnosťami pracoviska. Považovali sme za možné hodnotiť pokusy nielen na základe podrobných laboratórnych vyšetrení, ktoré nám v danom čase neboli prístupné, ale aj na základe praktických skúseností pri pokusoch o imunizáciu. Výsledky svojich pokusov s vakcínami z hybridizovaných vírusov považujeme za dôkaz, že pri pasážovaní vírusu Kloboukovej choroby na kuracích zárodkoch súčasne s vírusom psinky, resp. vírusom B1, dochádza k strate patogénnosti vírusu pre ošipané, avšak vírus si pritom podrží imunizačnú účinnosť.

V posledných rokoch sa stáva modelom pre štúdium vírusu Kloboukovej choroby na všetkých pracoviskách tkanivová kultúra. Niet pochyb, že elegantným spô-

sobom vyriešila mnohé problémy pri laboratórnych pokusoch. Umožňuje napr. sérológiu na základe cytopatogenného efektu, titračným pokusom dáva stovkami skúmaviek, nahradzujúcich jednotlivé pokusné zvieratá, štatistickú preukázanosť atď. Niektoré zprávy hovoria o získaní avirulentných variant početnými pasážami na tkanivových kultúrach. Nepovažujeme však za vylúčené, že v budúcnosti sa ešte vrátíme k pokusom na kuracích zárodkoch, ktoré len technická námáhavosť a náhly rozmach tkanivovej kultivácie zatísli do pozadia.

Súhrn

Opakovanými pokusmi o adaptáciu vírusu Kloboukovej choroby na kuracie zárodky sme dokázali, že niektoré kmene vírusu z terénnych vzplanutí nákazy sa dajú adaptovať na chorionalantoickú blanu, kde vyvolávajú diseminované drobné nekrotické uzličky. Identita vírusu sa potvrdila jeho patogénnosťou pre ošpané, ktorá sa zachovala do 16. pasáže na kuracích zárodkoch. V ďalších pasážach sa znižovala a v 46. pasáži bol vírus pre ošpané apatogenný, pričom sa silne znížili imunizačné vlastnosti.

Pri hybridizácii vírusu Kloboukovej choroby s vírusmi psinky a moru hydiny (kmeň Hitchner) došlo tiež k strate patogénnosti, ale vírus si podržal imunizačnú účinnosť. Hybridizácia sa robila infekciou kuracích zárodkov na chorionalantoickú blanu zmesou vírusov Kloboukovej choroby a psinky, resp. moru hydiny. Kontrola prítomnosti vírusov v pasážovanom materiáli sa robila hemaglutinačným testom na dôkaz prítomnosti vírusu Hitchner a pokusnou infekciou, resp. imunizáciou ošpaných na dôkaz prítomnosti vírusu Kloboukovej choroby.

Presvedčivosť pokusov je podložená pomerne veľkým počtom pasáží 25—27 a na dostatočnom počte pokusných zvierat (pokusných odstavčiat bolo 45 a kontrolných 30). Dalo by sa konštatovať, že avianizovaný vírus Kloboukovej choroby hybridizovaný vírusom psinky, resp. vírusom moru hydiny B₁ behom prekonania 25—27 pasáží stratil svoju patogenitu voči ošpaným, pritom si ale zachoval imunogennú vlastnosť voči Kloboukovej chorobe.

Гибридизация — рекомбинация вируса болезни Клобука (инфекционный энцефаломиелит свиней) с вирусами чумы собак и чумы домашней птицы

Путем повторных опытов с адаптацией вируса болезни Клобука на куриных зародышах было доказано, что некоторые штаммы вируса, вспыхнувшего на местах поражения, можно адаптировать на хориоаллантоисную оболочку, где они вызывают мелкие десиминированные некротические узелки. Идентичность вируса подтвердилась его патогенностью для свиней, которая сохранялась до 16 пассажа на куриных зародышах. В дальнейших пассажах она снижалась и на 46 пассаже вирус становился непатогенным для свиней, причем сильно снижались и его иммунизационные свойства.

При гибридизации вируса болезни Клобука с вирусами чумы собак и чумы домашней птицы (штамм Гичнер) наблюдалась также утрата патогенности, хотя вирус и сохранил свое иммунизационное действие. Гибридизация проводилась путем инфекции куриных зародышей на хориоаллантоисную оболочку смесью вирусов болезни Клобука и чумы собак, или чумы домашней птицы. Контроль наличия вирусов в пассируемом материале производился для доказательства присутствия вируса Гичнера геммаглютинационным тестом и опытной инфекцией, или же иммунизацией свиней в доказательство наличия вируса болезни Клобука.

Достоверность опытов подтверждается сравнительно большим числом пассажей 25—27 и достаточной численностью (достаточным числом) подопытных поросят-отъемышей (подопытных отъемышей было 45, а контрольных 30 голов). Можно сделать заключение, что авианизированный вирус болезни Клобука, гибридизированный вирусом чумы собак или чумы домашней птицы B₁ в процессе преодоления 25—27 пассажей утерял для свиней свою патогенность, причем он, однако, сохранил свои иммунизационные свойства по отношению к болезни Клобука.

The Hybridization — a Recombination of the Virus of the Klobouk's Disease (Infectious Swine Paralysis) with the Distemper and Fowl Pest Virus

By repeated experiments to adapt the virus of the KD on chicken embryos we could make it evident, that some strains of the virus from actual epizootic centres can be adapted on the chorionallantois, where they produce small, disseminated necrotic knots. The identity of the virus could be confirmed by its pathogenicity for pigs, preserved till the 16. passage on chicken embryos. In the further passages the pathogenicity decreased and the virus from the 46. passage was for pigs apathogene, the immunizing properties being also considerably diminished.

In hybridizing the virus of the KD with the distemper and fowl pest virus (strain Hitchner) also a loss of pathogenicity was observed, but the virus retained the immunizing property. The hybridization is performed by infecting chicken embryos (chorionallantois) with a mixture of the KD virus and distemper virus, resp. fowl pest virus. To prove the presence of the virus Hitchner in the passage material the hemagglutination test and experimental infection is employed, resp. the immunization of pigs to demonstrate the presence of the KD virus.

The large number of passages 25—27 and a sufficient number of experimental animals (45 experimental and 30 control piglets) make the results of the experiments convincing.

It could be ascertained, that the avianized virus of the KD hybridized by the distemper resp. fowl pest virus B₁ after 25—27 passages lost its pathogenicity for pigs, but retained the immunogene capacity against the KD.

Použitelnost tkáňových kultur pro množení viru Kloboukovy nemoci a biologické vlastnosti viru pomnoženého na tkáňových kulturách

**Применимость тканевых культур для размножения вируса болезни Клобука
и биологические свойства вируса, размноженного на тканевых культурах**

**Die Verwendbarkeit der Gewebskulturen zur Vermehrung des Virus der Klobouk'schen Krankheit und die biologischen Eigenschaften des auf Gewebskulturen
gezüchteten Virus**

MVDr. Vojtěch MÁDR, Opava

Došlo dne 3. X. 1960

Úvod

Nejvýznamnější událostí v historii Kloboukovy nemoci (KN) v posledním desetiletí je nesporně objev možnosti pomnožování viru na tkáňových kulturách. Studium KN bylo až do poslední doby značně ztíženo známou skutečností, že virus není patogenní pro žádný jiný druh zvířat kromě prasete a rovněž jeho přenos na kuřecí embryo nebyl úspěšný. Pokusy konané na selatech byly jednak příliš nákladné, jednak málo průkazné, poněvadž selata mohou být rezistentní i vůči i. c. infekci virem KN. Proto otázka množení viru mimo organismus původního hostitele byla vždy stěžejním problémem, který řešil již prof. Klobouk (1) a po něm řada autorů, zejména Fortner (2), Košťanský (3), Bourrier (4). Avšak ani po dlouholetých pracných pokusech se nepodařilo podat jediný průkaz o zdařilém přenosu.

Tepře nová virologická metodika — kultivace virů na tkáňových kulturách — přinesla zásadní obrat ve výzkumu KN podobně jako tomu bylo před lety u polio-mylitidy. Prvý průkaz o pomnožení viru KN na explantátech vepřové embryonální ledviny podal L a r s k í (5) v r. 1955. Od té doby našla metoda tkáňové kultivace ve výzkumu KN širokého uplatnění, byla dále zdokonalena a propracována, o což se především zasloužili němečtí autoři M a y r a S c h w ö b e l (6, 7, 8, 9) a P a t o č k a (10, 11, 12, 13) se svým kolektivem. Dnes jsou tkáňové kultury pomůckou, bez níž nelze k výzkumu KN přistupovat.

Na pracovišti Biovety v Opavě používáme tkáňových kultur k množení viru KN od r. 1957. M á d r (14). Výzkum byl zaměřen především na přípravu vakciny

z viru množeného na tkáních a proto byla hlavní pozornost soustředěna na rutinní zvládnutí tkáňové kultivace a její zjednodušení natolik, aby byla ekonomická při masové produkci viru ve výrobních podmínkách.

Z kultivačních metod byla zvolena metoda kultivace jednovrstevných buněčných povlaků na stěně Roux lahví. Je to jedna v modifikací kultivace buněčných suspenzí, nyní všeobecně rozšířená ve virologii, původně zavedená D u l b e c c e m a V o g t o v o u (15) a zdokonalená Y o u n g n e r e m (16). Uvedeným způsobem jsme kultivovali nejdříve různé druhy embryonálních tkání a později tkáně dospělých vepřů. Embryonální tkáně mají neobyčejnou vitalitu, mohou být uchovávány několik dní v chladárně, aniž by jejich růstová schopnost utrpěla, rostou přibližně dvakrát rychleji než tkáně dospělých zvířat, nejsou však pravidelně dostupné a proto jsme se nadále omezili na nejdostupnější tkáň — ledviny jatečných vepřů.

Ve smyslu původního zaměření výzkumu na výrobu viru k produkci a ve snaze zpřístupnit tkáňovou kultivaci i jiným veterinárním ústavům, vypracovali jsme během dvouleté praxe vlastní způsob kultivace buněčných suspenzí z dispergovaných vepřových ledvin v jednovrstevných kulturách. Metoda je poměrně jednoduchá a může být použita v kterékoliv průměrně vybavené virologické laboratoři. Podstatnou předností naší metody je, že jak k dispersi ledvin, tak ke kultivaci je používáno roztoků připravených výhradně z chemikálií a biopreparátů domácí provenience. Metoda umožňuje vytěžit denně dostatečné množství buněk k nasazení až 200 Roux lahví po 150 ml buněčné suspenze, popř. 50 000 zkumavek k diagnostickým účelům.

K bližšímu seznámení předkládám stručný popis naší kultivační metody.

Vlastní práce

Příprava tkáňových kultur

Ledviny zdravých jatečných vepřů se odeberou ihned po porážce a přenesou se k okamžitému zpracování do laboratoře. Po dekapulaci se nastříhá ledvinná kůra na fragmenty o průměru cca 5 mm, které se promývají Ringerovým roztokem až do úplného vyčeření. Potom se ihned přikročí k rozvolňování fragmentů na jednotlivé buňky. Rozvolňování tkáně se děje frakcionovanou trypsinací na elektromagnetické míchačce ve vodní lázni 37° C. K trypsinaci používáme 0,75% roztok pankreatinu (Organofarma — Praha) v pufrovaném fyziologickém roztoku bez Ca⁺⁺ a Mg⁺⁺. Pankreatin v užívané koncentraci není toxický pro buňky a svými proteolytickými fermenty způsobuje bohatou dispersi tkáně. Pankreatinem se dosáhne až desetkrát většího výtěžku buněk než při použití chemicky čistého trypsinu.

Vlastní trypsinace se provádí frakcionovaně po 10 min., tzn., že na trypsinované tkáňové fragmenty (150 g) v Erlenmeyerově baňce (1000 ml) se naleje stejný poměr pankreatického roztoku (150 ml), který se po 10. min. otáčení míchačky sleje a naleje se nový roztok; tento proces se opakuje nejméně dvacetkrát. Trypsinační digesty se shromažďují do ledem chlazené nádoby a přidává se k nim 10 % telecího séra, aby se zastavil proteolytický účinek fermentů na buňky. Z dvaceti trypsinací frakcí se vytěží přibližně 10 miliard neporušených buněk, při čemž poměr neporušených buněk k porušeným je přibližně 2 : 1. Po ukončení trypsinace se buněčná suspenze odstředí, buňky se resuspendují do určitého objemu

živného media a spočítají se v hemocytometru. Před nasazením do kultivačních lahví se upraví denzita buněk cca na 300 000 v 1 ml růstového media. Tato hustota buněk se zdá být optimální pro dosažení konfluentního porostu za 5 až 7 dnů. Během růstu vyměňujeme po 48 hod. medium za nové medium téhož složení.

Jako kultivačního media používáme Hanksův nebo Earlov roztok. Roztoky se připravují předem v desetinasobné koncentraci a sterilizují se autoklávováním 25 min. při 0,5 atm. Zdrojem dusíkaté výživy je tekutý pankreatický hydrolyzát kaseinu (VÚFB Praha) přidávaný do media v množství 1,25 %. Pankreatický hydrolyzát štěpený alespoň na 45 % se zcela vyrovná americkému laktalbumin-hydrolyzátu. K mediu se dále přidává 10 % telecího séra a k úpravě pH a k vytvoření fyziolog. tenze CO_2 se přidává do media před použitím 7,5 % roztok NaHCO_3 , a to v takovém množství, aby pH media před nasazením bylo max. 7,2. Po nasazení do termostatu se pH zvýší až o 0,4. K zabránění bakteriální kontaminace se přidávají k mediu antibiotika v množství: penicilin 150 m. j., streptomycin 100 γ a aureomykoin 10 γ na 1 ml media. Tato kombinace antibiotik zaručuje až 100 % chráněnost kultur vůči bakteriálnímu znečištění. *)

Kompletní složení kultivačního media:

Hanksův roztok desetkrát konc.	10	%
Kaseinový hydrolyzát	1,25	%
Sterilní redestilovaná voda	ad 100	%
Inaktivované telecí sérum	10	%
Penicilin	150	m. j./ml
Streptomycin	100	γ /ml
Aureomykoin	10	γ /ml
Natrium bikarbonát 7,5% ad pH 7,2.		

Buňky suspendované v živném prostředí a nasazené do kultivačních lahví vykazují velmi dobrý růst. Nejdříve buňky sedimentují na sklo, přichycují se plazmatickými výběžky a již za několik hodin po nasazení lze kolem usazených buněk pozorovat ostrůvky nově narostlých buněk polygonálního tvaru. V pozdějším vývoji nových buněk neustále přibývá, ostrůvky se zvětšují až splynou v souvislou vrstvu. V té době je kultura vhodná k infekci.

Infekce tkání

Před nainfikováním se sleje růstové medium, a na buňky se nanese nové — virové udržovací medium. Toto medium je stejného složení jako medium růstové, avšak bez telecího séra. I když sérum neobsahuje specifické protilátky, má přesto do určité míry brzdivý vliv na množení viru KN. pH media se zastavuje na vyšší hodnotu, a to až na 7,8, poněvadž souvislá kultura má intenzivní látkovou výměnu a silně se okyseluje.

Pokud se infikují tkáně orgánovým virem k zachycení primokultur, nanese se virus v 10% mozkové suspenzi do láhve bez media a ponechá se na buňkách

*) Všechny roztoky se připravují z vody dvakrát destilované ve skleněných aparátech.

30 min. při teplotě 37° C, aby se buňky virem dostatečně inbibovaly. Potom se mozková suspenze odsaje, láhev se vypláchne Ringerovým roztokem a teprve pak se naleje virové medium. Virus již pasážovaný na tkáňových kulturách se pipetuje přímo do vyměněného media. Kultury infikujeme masivní dávkou viru, aby došlo k rychlému pomnožení virových částic. Rozmnožování viru v tkáňové kultuře je doprovázeno specifickými degenerativními změnami tzv. cytopatogenním efektem. Nejprve se začnou objevovat v původně neporušeném porostu ojedinelé zakulacené buňky, postupně jich přibývá až vytvářejí hroznovité shluky, které se houfně odlupují do media. V dalším vývoji dochází k rychlé destrukci zbývajících porostu a proces pomnožení viru je ukončen.

Podle našich zkušeností lze bez obtíží adaptovat kterýkoliv kmen viru KN na tkáňové kultury. Je-li kultura nainfikovaná dostatečným množstvím viru asi 1000 TCID₅₀, probíhá množení viru rychle, takže během 48 hod. je kultura úplně rozpadlá. K maximálnímu pomnožení viru dochází však již v době, kdy ještě nedošlo k úplné destrukci buněčného porostu, avšak pro značnou stabilitu viru může být sklizen až po úplném rozpadu kultury.

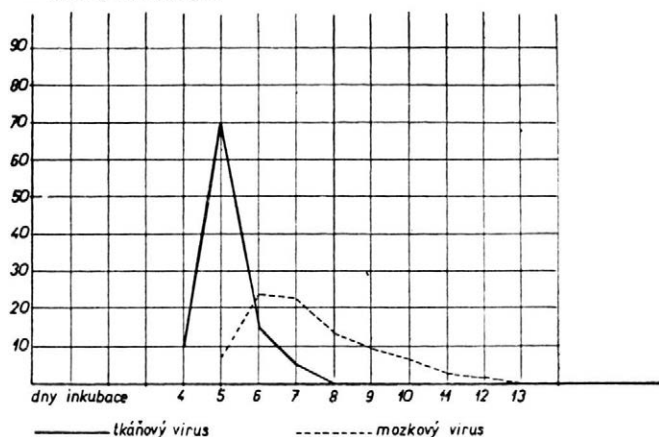
Vliv následného pasážování viru KN na tkáňových kulturách

Při sledování biologických vlastností viru KN pomnoženého na tkáňových kulturách jsme se především soustředili na studium patogenity tohoto viru pro selata a vliv postupného pasážování na změnu patogenity.

Pasážování viru jsme prováděli na Roux lahvích o objemu 500 ml se 100 ml media. K pasážování byly používány výhradně souvislé porosty bezvadně narostlých buněk. Před nainfikováním bylo kultivační medium vyměněno za medium s kaseinovým hydrolyzátem bez séra. Virus z předcházející pasáže byl aplikován přímo do media v koncentraci 10⁻². Vzhledem k tomu, že infekční dávka byla masivní, došlo vždy k rychlému pomnožení viru a k destrukci porostu. Virus byl sklizen až po úplném rozpadu původního porostu, což bylo mezi 24 až 48 hod. po nainfikování. Sklizený virus byl odstředěn a zmrazen na -8° C.

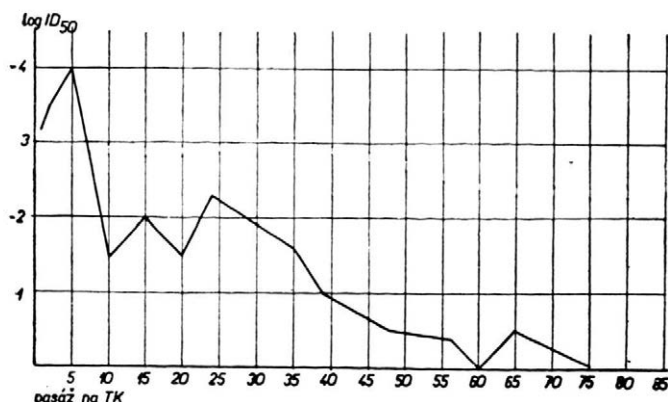
Virus byl vždy po několika pasážích na tkáňových kulturách titrován na selatech o váze 15–20 kg. Selata byla infikována i. c. 1 ml vždy po 4 kusech na každé ředění až do ředění 10⁻⁵. Titraci byla zjišťována ID₅₀ podle R.a.M., přičemž kritériem infekce byl vznik zjevných klinických příznaků na CNS.

% klinicky onemocnělých



Graf 1. Grafické znázornění délky inkubace ve skupinách selat infikovaných virem tkáňovým a virem mozkovým

Při titračních pokusech bylo zjištěno, že virus KN v první pasáži na tkáňových kulturách má výrazně vyšší patogenitu než původní virus mozko-míšni ID₅₀ první pasáže viru na tkáňových kulturách dosahuje přibližně o 0,5–1 log vyšší hodnoty než virus téhož kmene v mozko-míšni substanci. Při žádné dosavadní titraci nedosáhl virus kmene Zábřeh v mozko-míšni suspenzi vyšší titr ID₅₀ než –2,5. Tentýž virus pomnožený na tkáňových kulturách měl v první pasáži titr –3,16. Výraznější patogenita tkáňového viru v první pasáži se projevuje rovněž zkrácenou inkubační dobou u selat infikovaných tkáňovým virem. (Viz graf 1.) Selata nainfikovaná tkáňovým virem onemocní zjevnými klinickými příznaky v poměrně kratší době než selata infikovaná virem mozko-míšním. Selata nainfikovaná tkáňovým virem onemocní z 10 % již 4. den po nainfikování, 5. den onemocní 70 % pokusných selat a v následujících dvou dnech onemocní zbývající selata. U selat nainfikovaných mozko-míšním virem téhož kmene je křivka onemocnění poněkud jiná. K prvním případům onemocnění dochází až 5. den po nainfikování, maxima je dosaženo 6. až 7. den a onemocnění zbývajících selat se protahuje na 8. až 13. den.



Graf 2. Grafické zobrazení log ID₅₀ při postupném pasážování viru KN na tkáňových kulturách

Sledováním ID₅₀ postupně pasážovaného viru KN kmene Zábřeh bylo zjištěno, že v prvních pěti pasážích se titr zvyšuje, maxima dosahuje v 5. pasáži. (Viz graf 2.) Od 5. pasáže došlo k prudkému poklesu inf. titru, který od 10. do 40. pas. kolísá mezi –2,0 do –1,5. Další pokles titru byl zaznamenán po 40. pas., kdy titr klesl pod –1. Na této výši přibližně kolísá titr až do 65. pas., v dalších pasážích již nebylo možno titr hodnotit. V 75. a 82. pas. se vyskytlo zjevné klinické onemocnění pouze u selat infikovaných neřaděným virem, a to vždy u jednoho ze 4 infikovaných. Ostatní selata onemocněla lehkou inaparentní formou onemocnění prokazatelnou několikadenním zvýšením teploty nad 40° C a vzestupem séroneutralizačních protilátek. Po 92. pas. již nedošlo vůbec ke zjevnému klinickému onemocnění, selata však opět vykazovala vzestup protilátek. Po uplynutí maximální inkubační doby byla selata z titračních pokusů infikována i. c. 200 ID₅₀ mozko-míšního viru. Žádné z nich neonemocnělo, tzn., že během titrace získalo solidní imunitu.

Podobných výsledků dosáhli M a y r a H e c k e (17), kteří rovněž pasážováním na tkáňových kulturách vepřové ledviny získali modifikovaný kmen viru

Kunratice, který byl apatogenní pro selata a byl úspěšně použit k aktivní imunizaci. Obdobně S z u r m a n a L a r s k i (18) referují o získání apatogenního kmene viru KN postupným pasážováním na tkáňových kulturách.

S o u h r n

Stagnace ve výzkumu KN vlivem hostitelské specifčnosti viru byla prolomena zavedením nové virologické metodiky — kultivace virů na tkáňových kulturách. Od prvního pomnožení viru KN na tkáňových kulturách uplynulo 5 let, za tu dobu se stala metoda tkáňové kultivace nepostradatelným pomocníkem při výzkumu KN.

V opavské pobočce Biovety byl zaveden výzkum množení viru KN na tkáňových kulturách za účelem masové produkce viru k výrobě vakcíny. Bylo sledováno především zjednodušení a zlevnění tkáňové kultivace a dosažení maximální produktivity práce. Během dvouleté praxe byla vyvinuta vlastní modifikace tkáňové kultivace vepřových ledvin, která se přibližuje vytčenému cíli.

Chemikálie a biopreparáty zahraniční výroby dříve nezbytné ke kultivaci tkání byly nahrazeny přípravky domácími.

Výsledky titrací postupných pasáží viru KN na tkáňových kulturách jednoznačně potvrzují dřívější domněnku, že patogenita viru adaptovaného na monolayer epitelu vepřové ledviny úměrně klesá s přibývajícím pasáží. Nejprve dojde ke ztrátě neurotropismu, takže selata, i když onemocní, je onemocnění prokazatelné pouze několikadenním zvýšením teploty nad 40⁰ C a vzestupem titru protilátek. Úplná ztráta neurotropismu byla v našich pokusech zjištěna po 82. pas., na tkáňových kulturách. Pozoruhodný a k dalšímu vývoji aktivní imunizace velmi prospěšný poznatek je, že ztráta neurotropismu viru není doprovázena ztrátou imunogennosti.

Применимость тканевых культур для размножения вируса болезни Клобоука и биологические свойства вируса, размноженного на тканевых культурах

Стагнация в исследовании болезни Клобоука из-за специфичности вируса как хозяина была проломлена внедрением новой вирологической методики — культивации вирусов на тканевых культурах. От первого размножения вируса болезни Клобоука на тканевых культурах прошло пять лет. За это время метод тканевой культивации стал незаменимым помощником при исследовании болезни Клобоука.

В опавском филиале Биоветы было введено исследование размножения вируса болезни Клобоука на тканевых культурах с целью массовой продукции вируса для производства вакцины. Исследовалось прежде всего упрощение и удешевление тканевой культивации и достижение максимальной производительности труда. В течение двухлетней практики была разработана собственная модификация тканевой культивации свиных почек, приближающаяся к намеченной цели.

Химикаты и биопрепараты заграничного производства, которые прежде были неизбежны для культивации тканей, были заменены отечественными препаратами.

Результаты титраций постепенных пассажей вируса болезни Клобука на тканевых культурах единозначно подтверждают прежнее предположение, что патогенность вируса, адаптированного на монолайер эпителия свиной почки, снижается обратно пропорционально возрастающему пассажу. Прежде всего пропадает нейротропизм, так что у поросят, даже если они и заболевают, признаки болезни проявляются лишь в повышении температуры свыше 40°C в течение нескольких дней, а также и в увеличении титра антител. Полная потеря нейротропизма в наших опытах была установлена после 82 пассажа на тканевых культурах. Заслуживающим особого внимания и для дальнейшего развития активной иммунизации весьма полезным результатом является то, что потеря нейротропизма вируса не сопровождается потерей иммуногенности.

Die Verwendbarkeit der Gewebskulturen zur Vermehrung des Virus der Klobouk'schen Krankheit und die biologischen Eigenschaften des auf Gewebskulturen gezüchteten Virus

Die Stagnation in der Erforschung des Virus der KK, verursacht durch die Gastspezifität des Virus, wurde durch Einführung einer neuen virologischen Methodik — der Viruszüchtung auf Gewebskulturen unterbrochen. Seit der ersten Vermehrung des Virus der KK auf Gewebskulturen sind schon 5 Jahre vergangen. In dieser Zeit wurde die Methode der Gewebskultur ein unumgänglicher Behelf bei der Erforschung der KK.

In der tropfpauer Zweigstelle der Bioveta wurde die Erforschung der Vermehrung des Virus der KK auf Gewebskulturen eingeführt zwecks Massenproduktion eines zur Vakzination geeigneten Virus. Verfolgt wurde in erster Reihe die Vereinfachung und Verbilligung der Gewebskulturen und die Erreichung einer maximalen Arbeitsproduktivität. Innerhalb einer zweijährigen Praxis wurde eine eigene Modifikation der Gewebskultur entwickelt, die vom gesteckten Ziel nicht mehr fern ist.

Chemikalien und Biopräparate ausländischer Herkunft, die früher zu den Gewebskulturen unumänglich waren, wurden durch heimische Erzeugnisse ersetzt.

Die Ergebnisse der Titrationen der aufeinander folgenden Passagen des Virus der KK auf Gewebskulturen bestätigen eindeutig die frühere Annahme, daß die Pathogenität des auf Monolayerepithel von Schweinenieren gezüchteten Virus mit zunehmenden Passagen entsprechend sinkt. Zuerst geht der Neurotropismus verloren, sodaß Ferkel, auch wenn sie erkranken, dies nur durch eine mehrtätige Temperatursteigerung über 40°C und durch einen Anstieg des Titors der Gegenstoffe

nachweisbar ist. Der völlige Verlust des Neurotropismus wurde in unseren Fällen nach der 82. Passage auf Gewebskulturen festgestellt. Eine bemerkenswerte und für die weitere Entwicklung der aktiven Immunisation sehr wertvolle Erkenntnis ist die, daß der Verlust des Neurotropismus des Virus nicht mit dem Verlust der Immunogenität verbunden ist.

Problém Kloboukové nemoci v ČSSR

Проблема болезни Клобука в СССР

The Problem of the Klobouk's Disease in the Czechoslovak Socialist Republic

MVDr. Juraj URSÍNÝ
Nitra

Došlo dňa 20. X. 1960

Úvod

Snáď žiadna nákaza nie je tak úzko spiata s československou vedou a s celým uzemím nášho štátu, ako nákazlivá obrna ošipaných. Veď bola objavená na území nášho štátu. Československými odborníkmi na čele s akademikom Kloboukom bola po prvý krát preskúmaná a popísaná. Naši chovatelia prinášali po mnohé roky najkrvavejšiu daň na oltár vedy pri získávaní začiatočných odborných poznatkov o etiológii nákazy, o biologických vlastnostiach choroboplodného zárodku, o jeho rezistencii k dezinfekčným prostriedkom, o cestách jeho šírenia a konečne i metódach úspešného boja proti nemu.

Je v tom kus symboliky, že sympóziu sa konalo práve v Brne, v sídle pracoviska akademika Klobouka, ktorý úspešnému výskumu nákazlivej obrny ošipaných zasvätil celý svoj život. Plným právom sa preto VII. odbor ČSAZV v Prahe domáha na medzinárodnom epizootologickom byre v Paríži toho, aby nákazlivá obrna ošipaných (*encephalomyelitis enzootica suum*) bola nerozlučne a navždy spojená s menom akademika Klobouka, ako „Kloboukova nemoc“. Ocení sa tým jednak celoživotná vedecká práca objaviteľa obrnového víru prof. Klobouka, a za druhé dostane sa presného vymedzenia nákaze vyvolanej vírusom nákazlivej obrny ošipaných od onemocnení inej etiológie, ale tiež s kľúčovými a obrnovými príznakmi.

Československá veterinárna veda usmerňovaná akademikom Kloboukom splnila svoje poslanie tým, že poskytla svetovej vede bohaté skúsenosti o biologických vlastnostiach obrnového víru, o epizootologickom charaktere nákazy, ako aj o jej klinických príznakoch. Taktiež vypracovala spoľahlivé laboratorné metódy pre jej diagnostiku a uviedla do praxe účinnú očkovaciu vakcínu pre jej tlmenie. Ovšem žiaci prof. Klobouka sa neuspokojili len s dosavadnými výskumnými výsledkami, ale v celých kolektívoch a na širokej fronte ich sústavne prehľbujú.

Z histórie Kloboukovej nemoci

Pri analýze nákazového problému v ČSSR nie je mysliteľné, aby nebola aspoň letmo spomenutá história nákazy. Veď už celých 30 rokov uplynulo od tej doby čo bol veterinárny lekár Trefný v okresoch Český Těšín a Frýdek na jeseň v roku

1929 vo väčšom rozsahu zistil onemocnenie neznámej etiológie. Zpočiatku sa myslelo, že sa jedná o otravu solanínom, alebo o intoxikáciu od splesnivého krmiva, ba niektorí príčinu videli aj v nedostatku vitamínov a minerálií. V dôsledku tejto mylnej etiológie onemocnenie ako neinfekčného charakteru nepodliehalo povinnosti úradného hlásenia, a preto sa neevidovalo, nebol žiaden prehľad o jeho rozšírení a nemohli byť prevedené ani úradné opatrenia na urýchléné zlikvidovanie jeho prírodných ohnisk.

Po niekoľkoročných pokusoch podarilo sa profesorovi Kloboukovi v roku 1933 dokázať, že hromadne sa vyskytujúce onemocnenie u ošípaných má nákazový charakter a jeho pôvodca že je filtrabilný vírus nemajúci nič spoločného s virom moru ošípaných. Po tomto objave bolo už možno prikročiť k tlmeniu nákazy na odbornom základe.

Stálo to ovšem mnoho a mnoho úsilia a mravenčej trpezlivosti akademika Klobouka, než sa mu konečne podarilo presadiť na Ministerstve zemeľdelstva v roku 1935 to, aby nákazlivá obrna ako infekčné onemocnenie bola zaradená do zoznamu nákaz hlásením povinných. Veď vírus nákazlivej obrny ošípaných sa zo dna na deň rozširoval v chove ošípaných a nik nemal jasný obraz o rozsahu jeho rozšírenia, lebo nákaza sa vôbec neevidovala. Najpádnejším dôkazom tejto skutočnosti sú údaje vtedajšieho veterinárneho referenta zeme Moravsko-Sliezskej O. D o u b r a v u, podľa ktorých už v roku 1933 bolo v zemi Moravsko-Sliezskej zamorené 11 okresov a 81 obcí, v ktorých bolo zistené 5.665 chorých kusov. Z nich 3.350 muselo byť núdzovo odporazené, 2.172 kusov uhynulo a len 143 kusov chorobu prekonalo. Ale aj napriek tejto hroznej skutočnosti o nebezpečnom rozširovaní nákazy po území nášho štátu trvalo to ešte skoro 2 roky až do 15. IX. 1935, než sa začala nákazlivá obrna ošípaných evidovať ako nákaza hlásením povinná, ovšem aj to zpočiatku pokusne len v zemi Moravsko-Sliezskej.

Podľa úradného výkazu z konca roku 1935 bolo v zemi Moravsko-Sliezskej zamorené 13 okresov, 72 obcí s 252 hospodárstvami. Na ostatnom území ČSSR nik nemohol zistiť rozsah rozšírenia nákazlivej obrny ošípaných, lebo sa neevidovala. Vieme však len to, že sa skutočne šírila do okolia na všetky strany, lebo v roku 1936 a 1938 sú už zistené hniezda jej výskytu aj na severozápadnom Slovensku v okresoch susediacich s Tešínskom a to v okrese: Kysucké Nové Mesto a Čadca.

O stave rozšírenia nákazlivej obrny ošípaných v tejto dobe v Čechách niet žiadnych úradných zpráv, lebo prvý úradný výkaz o jej výskyte pochádza z 31. XI. 1940. Podľa neho bolo v Čechách zamorené 50 okresov, 893 obcí a 2.521 hospodárstiev. Že ako rapídne sa nákaza rozširovala v Čechách, presvedčivo o tom hovorí úradný výkaz z 15. decembra 1940, podľa ktorého bolo zamorené 50 okresov, 931 obcí a 2.638 hospodárstiev, t. j. za 14 dní bolo zamorených 38 nových obcí a 117 nových hospodárstiev. V tejto samej dobe na Morave bolo zamorené 17 okresov, 96 obcí a 264 hospodárstiev. Poznámam, že to bolo územie len tzv. Protektorátu Čechy a Morava bez Sudet. V Sudetách podľa úradného výkazu ku koncu roku 1940 bolo zamorené 7 okresov, 57 obcí a 102 hospodárstiev.

Zo Slovenska prvý úradný výkaz o rozsahu zamorenia máme z 1. VI. 1940. Podľa neho bolo zamorené 18 okresov, 101 obcí a 419 hospodárstiev.

Za tohoto neblahého nákazového stavu komplikovaného ešte ťažkými politickými pomermi, bol boj proti tomuto rozsiahlemu zamoreniu územia štátu už ťažký a to ešte tým viac, lebo naše vedomosti o vlastnostiach obrnového víru a o spôsobe jeho rozširovania v tej dobe oproti dňešku boli veľmi skúpe. Preto vtedy skoro všetko úsilie sa sústreďovalo len na šablonovité evidovanie prípadov nákazlivej obrny ošípaných.

Nakoľko nákazová situácia sa počala už dotýkať záujmov viac národohospo-

dárskych než veterinárskych, bolo nutné vyskúšať metódy profylaktické, ktoré spočívali jednak v prísnych veterinárnootochochranných opatreniach, jednak v zákrokoch imunoprofylaktických.

V Čechách prvé akcie podniknuté proti obrnovej nákaze sa neosvedčili. Siahlo sa preto k pokusným zákrokom imuno-profylaktickým klasickou fenolovou vakcínou Kloboukovou. Ovšem Nemecká vláda zakázala všetky očkovacie akcie proti nákazlivej obrne ošípaných a tak boj proti tejto nákaze za Protektorátu Čechy a Morava ostal iluzorným. Sám doc. dr. Pokorný uvádza vo svojej brožúrke, že z dôvodov sabotáže žiadne nariadenie vydané Protektorátnou vládou sa nerešpektovalo.

Diagram 1. Rápidný pokles KN na Slovensku v rokoch 1940—1945 po prevedení úradného výkupu všetkých ošípaných v zamorených hospodárstvach

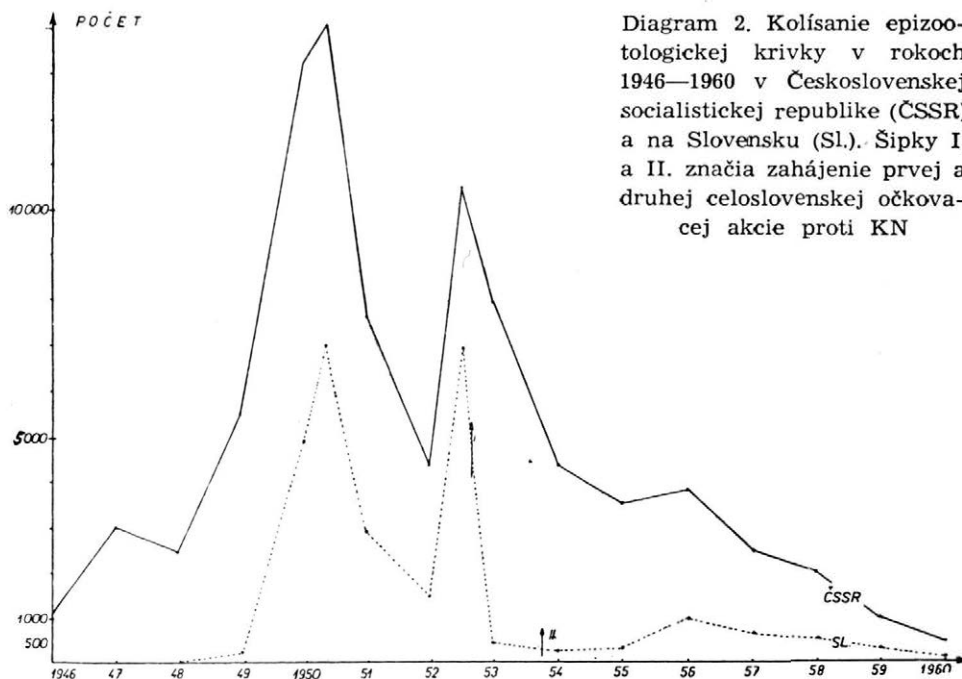
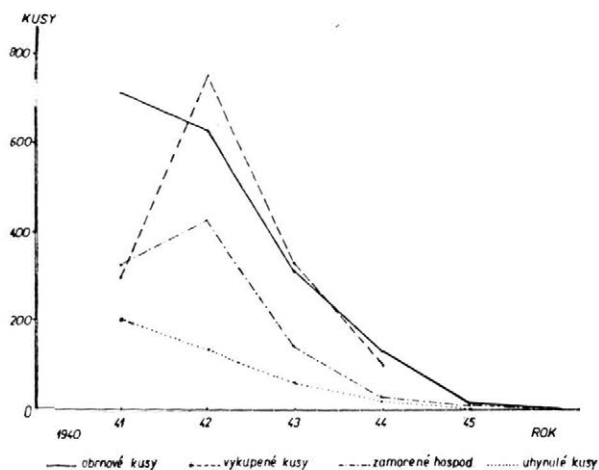


Diagram 2. Kolísanie epizootologickej krivky v rokoch 1946—1960 v Československej socialistickej republike (ČSSR) a na Slovensku (SL). Šípky I. a II. značia zahájenie prvej a druhej celoslovenskej očkovacej akcie proti KN

Na Slovensku za tzv. „Slovenského štátu“ nakoľko toto územie bolo pomerne ešte málo zamorené, zamorená bola hlavne severozápadná oblasť hraničiaca s Moravou, nariadené veterinárne policajné opatrenia mali veľký úspech, lebo behom 4 rokov podarilo sa skoro všetky ohniská nákazy zlikvidovať. Vet. policajné opatrenia spočívali v tom, že v zamorenom hospodárstve vykúpili sa nielen nemocné kusy, ale aj kusy z nákazy a z nakazenia podozrivé a proviedla sa prísna dezinfekcia zamorených chlievov a ich okolia. K spomenutému úspechu dopomohlo čiastočne aj to, že hraničný pás medzi Moravou a Slovenskom bol uzavretý a tak akákoľvek doprava odstavčat zo zamorených obcí Moravy na Slovensko aj „na čierno“ bola zastavená. (Pozri diagram č. 1).

Na Slovensku po prevedenom radikálnom vykúpení zamorených chovov a po odporazení po úradnom odhade vykúpených kusov na sanitných bitunkoch za prísneho dodržiavania všetkých kautel. vet. policajných, ako aj po prevedenej záverečnej dezinfekcii za úradného dozoru nákazové ohniská boli prakticky zlikvidované.

Aby bolo možné si urobiť názornú predstavu o nákazovej situácii v ČSR po roku 1945 premietol som rozsah zamorenia územia celej Republiky na graf, z ktorého si možno urobiť najlepšiu predstavu o stúpajúcej tendencii v zamorených územiach ČSSR Kloboukovou nemocou. (Pozri diagram č. 2).

Kulminačný bod nákazový a jeho následky

Kritickým pre zamorenie Kloboukovou nemocou stáva sa rok 1949, kedy celostátna nákazová krivka sa 4 násobne zväčšila, lebo zamorenie dosiahlo až 13.339 hospodárstiev. V tomto zhoršení nákazovej situácie má podiel aj silné zamorenie dosiaľ panenských čiasťok územia na Slovensku, kde nákazová krivka dosiahla 4.831 hospodárstiev. Toto považlivé vzplanutie nákazy na Slovensku súviselo s veľkými presunmi odstavčat zo zamorených oblastí Čiech a Moravy do nezamorených oblastí stredného a východného Slovenska bez akéhokoľvek rešpektovania veterinárno-sanitárnych opatrení. V dôsledku tejto skutočnosti nákaza v oblasti východného Slovenska priamo explozívne vzplanula.

Najkritickejším rokom v zamorení ČSSR vôbec Kloboukovou nemocou v posledných 30 rokoch, bol rok 1950, kedy krivka zamorenia k 15. II. dosiahla rekordného čísla 14.142 hospodárstiev. Na tomto kritickom čísle má veľký podiel zase aj Slovensko, kde nákazou k 15. V. bol zamorený dosiaľ rekordný počet tj. 7.003 hospodárstiev.

Metóda boja proti Kloboukovej nemoci a jej výsledky

Ohromné zamorenie celého územia nášho štátu nákazlivou obrnou ošipaných stalo sa už aktuálnym problémom národohospodárskym, lebo vážne počalo ohrožovať produkciu bravčového mäsa a masti u nás. Chovateľské kruhy energicky sa domáhali toho, aby sa pristúpilo od šablonovitého evidovania prípadov konečne k aktívnemu a účinnému boju proti Kloboukovej nákaze.

Zásľuhou K. Hrušku z vedúceho nár. pod. Bioveta v Ivanoviciach na Hanej urýchlene sa prišlo k výrobe obrnovej aluminium-hydroxyd-formolovej vakcíny z centrálného nervového systému prasiec onemocnelých za príznakov obrny a odoslaných na bitúny k odporazeniu. Trebárs výsledky v touto vakcínou podľa zpráv

okresných veterinárnych referentov boli niekde veľmi dobré, inde menej dobré, ba niekde dokonca aj špatné, pradsa len táto akcia pomohla značne stlačiť nákazovú krivku, ako je to zrejmé aj z diagramu. Pre nebezpečie roznesenia ňou iných nákaz, hlavne moru ošipáných, bola jej výroba v roku 1951 úradne zakázaná. Tento zákrok, nakoľko nemohol byť nahradený inou lepšou spoľahlivejšou vakcínou, odzrkadlil sa ihneď v stúpnutí celoštátnej nákazovej krivky zo 4.500 hospodárstiev na 10.600 k 15. VII. 1952.

Rozhodujúcim medzníkom v zastavení zamorovania ČSSR Kloboukovou nemocou bol štvrtý štvrtrok 1952, kedy sa urýchlene prišlo k systematickému a masovému preočkovaniu celého stavu ošipáných na Slovensku. Pri tejto akcii zaočkovalo sa približne 700.000 kusov ošipáných behom niekoľkých mesiacov očkovacou látkou vyrobenou z fixovaného vírusu z CNS umele infikovaných 10—25 kg prasiatok. Vakcína bola vyrobená na princípe Traubovom s alumíniom-hydroxyd-formolom. Očkovanie s touto látkou sa prevádzalo tiež v Čechách a na Morave, nie však tak masovo a nárazovo ako na Slovensku, v dôsledku toho efekt nebol tak markantný.

Na konci roku 1953 a začiatkom 1954 previedla sa druhá celoslovenská nárazová očkovacia akcia na asi 500.000 kusoch ošipáných.

Pri týchto dvoch veľkých očkovacích akciách bolo na Slovensku zaočkované jednak 5 krajov chronicky zamorených Kloboukovou nemocou, jednak kraj Prešovský, kde očkovacia akcia prebiehala práve v období maximálneho vzplanutia nákazy. Výsledky sa markantne prejavujú na tabuľke I. o výkaze nákaz a na diagrame o poklese nákazy v kraji Prešov č. 3.

I. Prehľad o zamorení žilinského a prešovského kraja nákazlivou obrnou ošipáných podľa „Výkazu nákaz zvierat z roku 1952/53“

Zamorené bolo za obdobie od 1. VII. 1952 do 31. I. 1953	V kraji Žilina			V kraji Prešov			Stav
	okres	obcí	hosp.	okres	obcí	hosp.	
1. VII. 1952 — 15. VII. 1952 16. VII. 1952 — 31. VII. 1952	16 16	192 188	2.004 2.299	14 14	323 345	2.001 1.965	Pred hromadným očkovaním
1. VIII. 1952 — 15. VIII. 1952 16. VIII. 1952 — 31. VIII. 1952	16 16	184 171	1.368 1.920	14 14	346 352	2.048 2.163	
1. IX. 1952 — 15. IX. 1952 Zahájenie očkovacej akcie	17	175	1.559	14	353	2.246	
	22. IX. 1952			24. IX. 1952			
16. IX. 1952 — 30. IX. 1952	16	166	1.398	14	364	2.374	
1. X. 1952 — 15. X. 1952 16. IX. 1952 — 31. X. 1952	16 16	170 154	1.374 1.165	14 2	368 53	2.458 317	Po hromadnom očkovaní
1. XI. 1952 — 15. XI. 1952 16. XI. 1952 — 30. XI. 1952	16 16	135 111	997 846	1 1	1 1	1 1	
1. XII. 1952 — 15. XII. 1952 16. XII. 1952 — 31. XII. 1952	15 3	81 3	679 15	— —	— —	— —	
1. I. 1953 — 15. I. 1953 16. I. 1953 — 31. I. 1953	7 8	114 19	19 35	2 2	17 26	27 85	

Po prvej hromadnej očkovacej akcii nákazová krivka poklesla na Slovensku priemerne na 500 hospodárstiev a po druhej celoslovenskej očkovacej akcii pod 250 hospodárstiev. Veľkou chybou bolo, že v týchto masove nasadených a v krátkej dobe prevedených očkovacích akciách sa nepokračovalo na Slovensku ešte aspoň 2 roky a že tieto imunoprofylaktické zákroky neboli všade dôsledne doplňované veterinárne sanitárnymi opatreniami, hlavne dôkladnou asanáciou zamorených chlievov a ich okolia. (Pozri diagram č. 4.)

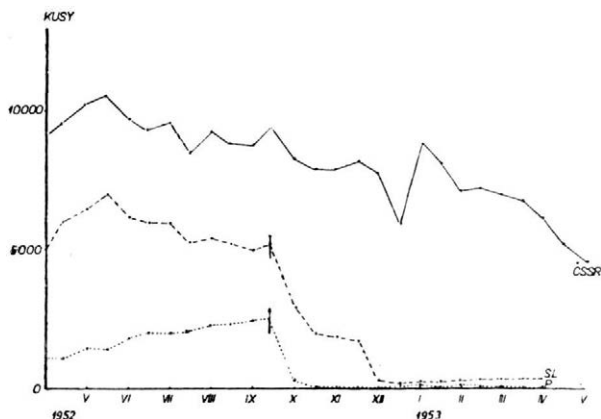


Diagram 3. Pokles počtu hospodárstiev zamorených KN v kraji Prešov (P) v porovnaní s poklesom počtu zamorených hospodárstiev na Slovensku (SL) a v Československej socialistickej republike (ČSSR)

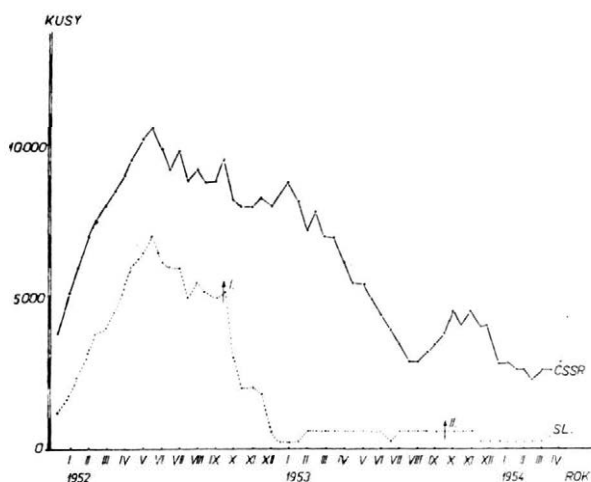


Diagram 4. Pokles počtu hospodárstiev zamorených KN na Slovensku (SL) po prvej hromadnej očkovacej akcii (označené šipkou I) a po druhej očkovacej akcii (označené šipkou II) v porovnaní s epizootologickou krivkou Československej socialistickej republiky (ČSSR)

Hromadnými očkovacími akciami prevedenými v krátkom časovom intervale boli dosiahnuté výsledky, ktoré úplne zlomili hrot nákazy, takže od tej doby nedošlo už k jej nebezpečnému vzplanutiu na území celej ČSSR. V očkovacích akciách sa ďalej pokračuje v zamorených oblastiach lenže okrskove a v neobmedzene dlhom intervale. Rok 1955 znamená čiastočné zhoršenie nákazovej situácie na Slovensku.

Od roku 1958, odkedy očkovacie akcie sú financované štátom, nastalo trvalé klesanie celoštátnej nákazovej krivky, ktoré pokračovalo aj v roku 1959, ako aj v roku 1960. Nutno poznamenať, že vedľa imunoprofylaktických zákrokov masove prevádzaných na klesaní celoštátnej nákazovej krivky Kloboukovej nemoci má podstatný vplyv aj úspešne pokračujúca socializácia dediny, kde veterinárne-profylaktické a zoohygienické opatrenia boli dôslednejšie dodržiavané, ako v súkromnom

sektore a v dôsledku toho aj možnosť rozširovania nákazy bola podstatne menšia. Taktiež nutno poznamenať, že v číslach uvádzaných v nákazových výkazoch Ministerstva zemedelstva sú zahrnuté prípady Kloboukovej nemoci len na základe klinickej diagnózy.

Dnešný stav Kloboukovej nemoci a súčasný odborný náhľad na ňu

Ak v roku 1950—1952 bola Klobouková nemoc vážnym národohospodárskym problémom, lebo počala už vážne ohrozovať zásobovanie nášho obyvateľstva bravčovým mäsom a masťou, tak dnes po masových imunoprofylaktických zákrokoch v krátkej dobe prevedených podarilo sa zbaviť terén mnohých latentných nákazových zdrojov. Uvedomiť si musíme, že výsledky úspešných a veľkolepých očkovacích akcií osamote nestačia na trvalé zvládnutie nákazovej situácie, tie sa výborne osvedčili len u zaočkovaných kusov, ktorých životnosť trvá len do doby zakáľacieho, teda najviac jeden rok. Očkovacími akciami nemôžeme zneškodniť infekčné prostredie, terén ostáva ďalej zamoreným a nebezpečným zdrojom pre dochované mladé kusy, alebo kusy dopravované z nezamorených oblastí. V dôsledku toho veterinárne-sanitárne opatrenia pri tlmiacom postupe v budúcnosti v plnej miere musia byť rešpektované.

Praktický náhľad na Kloboukovú nemoc, ako nákazlivé onemocnenie ešte aj dnes je hodne ovplyvňovaný tou skutočnosťou, že jej nákazlivosť nie je tak veľká, ako pri more ošipaných, alebo pri slintačke a krivačke. Pri ochorení na Kloboukovú nemoc v porovnaní napr. so slintačkou a krivačkou bolo by potrebné 1.000 raz väčšej koncentrácie vírusu k ochoreniu každého kusa v krdli, čo sa v praxi málokedy vyskytuje lebo vírus Kloboukovej nemoci je len pomerne v malej koncentrácii roztrúsený v teréne a preto dochádza vo veľkej väčšine prípadov len početne k malým ochoreniam, naproti tomu väčšia čiastka prasiat, ktoré sú podprahovými dávkami infikované za zjavných príznakov neochorie, ale stane sa nebezpečným a nenápadným vyľučovateľom vírusu. Niekedy sa môže stať, že niektoré kusy dostanú len tak málo vírusu do tela, že choroba vypukne u nich až vtedy, keď sa vírus v ich tele dostatočne rozmnoží. Nakoľko tiež mnohé iné choroby sú spojené s krčmi a ochrnutím treba klásť zvlášť veľký dôraz na diferencálnu diagnózu. Menovite treba pamätať na túto okolnosť najmä v oblastiach, kde sa Kloboukova nemoc vyskytuje len sporadicky. R u d o l p h uvádza, že z 86 chorých ošipaných s príznakmi nervovými, len v 17 prípadoch t. j. u 19 % sa jednalo o Kloboukovu nemoc. Túto skutočnosť možno potvrdiť aj na laboratorných výsledkoch zo zásielok materiálu zasielaného do pobočiek ŠVVÚ v celej ČSSR. Napríklad za rok 1957 v ŠVVÚ v Bratislave v 59 % bol nález histologicky negatívny a len v 48 % pozitívny na Kloboukovu nemoc. Za rok 1958 bol tento rozdiel ešte výraznejší, lebo v 62 % bolo histologické vyšetrenie negatívne a len v 37 % pozitívne.

Z epizootologických dôvodov má veľký význam v teréne aj odolnosť vírusu voči chemikáliám. Je známe, že luh sodný (NaOH) v 3 % koncentrácii ani po 4 hod. pôsobení nezničí obrnový vírus, preto sa mu treba vyhýbať pri voľbe dezinfekčných prostriedkov. Taktiež 25 % roztok kuchynskej soli nezničí vírus v mäse ani po 18 týždňovom pôsobení. V dôsledku tejto skutočnosti nasolovanie mäsa nemá významu pri ničení vírusu. Vírus Kloboukovej nemoci je odolný nielen proti silne alkalickým, ale aj silne kyslým reakciám, ako dosvedčujú aj horeuvedené príklady. Podľa prof. P a t o č k u rozpätie jeho pH je od 2,5 do 13. Z dezinfekčných prostriedkov sú naj-

účinnější chlorované preparáty (chloramín 2—2,5 %, chlorové vápno 5 %) a tiež 2 % formalín.

Zo stanoviska epizootologického je ďalej dôležité tiež uviesť, ako sa vírus Kloboukovej nemoci dostáva do tela, kde sa nachádza v inkubačnej dobe a či sa vylučuje z tela behom inkubačnej doby a akým spôsobom? Dnes je známe, že vírus sa dostáva do tela organizmu dutinou nosnou a ústnou, ďalej že sa vylučuje v hlene dutiny nosnej, ale najviac sa vylučuje trusom. V *bulbus olfaktorius* vytvára prvú fázu rozmnožovania, kde sa pozdejšie najviac pomnožuje. Do tela sa dostáva tiež cestou zažívacou a v dôsledku toho najnebezpečnejším zdrojom prenosu nákazy je trus od nakazených zvierat. Experimentálne bolo zistené, že vírus už prvý až šiesty deň bol zistený v hrtanových miazgových uzlinách, prvý až ôsmy deň pravidelne bol zistený v tonzilách a hrubých črevách. V krvi sa nachádzal len na začiatku inkubačnej doby, pozdejšie už nie.

Tá skutočnosť, že vírus je vylučovaný trusom behom celej inkubačnej doby, ktorá je podľa Klobouka 5—30 dňová, ďalej behom celého onemocnenia a ešte i potom po uzdravení 10 dní (Klobouk), je pre rozširovanie veľmi dôležitá. Výskyt nosičov a vylučovateľov víru je častý aj medzi zvieratmi na oko i zdravými. Pri tlmení Kloboukovej nemoci má veľký význam zbaviť sa aj týchto skrytých vylučovateľov, čo je možné bezpečne len zlikvidovaním celého chovu, kde sa vyskytol klinický prípad obrny. Tento postup je možný len v štátoch so sporadicky sa vyskytujúcou nákazou, ale nie u nás, kde nákazou bol zamorený celý štát. Takto sa postupuje v Nemecku i Rakúsku a tak sa s úspechom postupovalo aj na Slovensku v roku 1940—1945.

Kloboukova nemoc môže byť len vtedy rozpoznaná, podľa dnešných poznatkov, keď sa objavia jej klinické príznaky, teda v každom prípade až po ukončení inkubačnej doby. Ale ako bolo vyššie spomenuté, zvieratá už behom celej inkubačnej doby sú nosičmi a vylučovateľmi obrnového víru, ktoré nie sú rozpoznateľné. Z toho vyplýva záver, že veterinárno-sanitárne opatrenia prichádzajú do úvahy v dnešnej dobe až po objavení sa prvých klinických príznakov nákazy, čiže prichádzajú tieto už hodne neskoro. Táto skutočnosť je z epizootologických dôvodov veľmi nepriaznivá a bude musieť byť trpená dotiaľ, kým použitie tkáňových kultúr sa neuplatní v jej diagnostike. Jestli v chovoch s nosičmi a vylučovateľmi víru Kloboukovej nemoci pred vypuknutím typických príznakov dôjde ku kľudu a k imunitě, nemôžu byť takéto chovy podchytené a preto zostávajú nepozorovanými, ale tým nebezpečnejšími zdrojmi nákazy. S tým sa musí vždy počítať, že nosiči a vylučovatelia víru sa nachádzajú aj v celkom nepodozrivých chovoch ošipáných, v dôsledku čoho takéto kusy prichádzajú k normálnej porážke, ako to zistil na pražských jatkách Klaus a ich mäsom môže dôjsť k značnému rozširovaniu nákazy, ako to bolo zistené aj v NDR, v Durínsku r. 1954. V chovoch, kde sa nachádzajú takéto zvieratá, u ktorých nedošlo k prejavom klinickým tejto nákazy, nemôžu byť podchytené a celkom nám unikajú pri tlmení nákazy. Tieto okolnosti mýlia aj mnohých odborníkov pri kolísaní nákazovej krivky v jarnom a jesennom období, čo je závislé aj od toho, či je obec nákazou postihnutá produkčná, alebo konzumná. V produkčných oblastiach spadá vrchol zamorenia Kloboukovou nemocou do doby, kedy dorastajú nové mladé generácie ošipáných veľmi vnímavé nákaze, naproti tomu v konzumných oblastiach v období, keď sa prasatá najviac predávajú a kupujú. V smiešaných oblastiach, ako je to väčšinou aj u nás, je to tiež kombinované.

Ako som už spomenul, nakoľko dnes ešte nemáme možnosť rozpoznať v inkubačnom štádiu sa nachádzajúcich nosičov a vylučovateľov víru Kloboukovej nemoci, sme nútení použiť také ochranné opatrenia, ktoré spočívajú v použití neškodných a neinfekčných očkovacích látok, ako sú formol-adsorbátové látky.

Pri ochrannom očkovaní obzvlášť v dobe nákazy u imunizovaných zvierat neutralizuje sa vírus pred vnikaním do buniek vnímavých a činí v nich nemožným rozmnožovanie víru, takže týmto je proces infekcie a tým tiež vylučovanie víru ihneď, alebo za krátku dobu po očkovaní zastavený. Bohatá prax naša potvrdzuje túto skutočnosť, lebo nie je známy ani len jediný prípad, aby po očkovaní bolo došlo k rozšíreniu nákazy. Ba naopak máme poznatky z očkovacích akcií na južnom Slovensku v r. 1952, že výskyt Kloboukovej nemoci v zamorených oblastiach poklesol aj u kusov nezaočkovaných v dôsledku neutralizovania nosičov a vylučovateľov víru u zaočkovaných kusov. Prax nám potvrdzuje aj to, že v 100 % zaočkovanej obci Kloboukova nemoc rázom zmizla. Priekopníkom tohoto poznatku bol už v roku 1947 náš Z á b o j n í k.

P e r s p e k t í v y d o b u d ú c n o s t i

Ochranným očkovaním je zamedzené, aby neviditeľnými (latentnými a inaparentnými) rozširovateľmi víru bol daný podklad ku vzniku nákazy. V dôsledku tejto skutočnosti nemalo by sa nikdy prevádzať v zamorených oblastiach očkovanie len v jednotlivých chovoch, ale malo by byť rozšírené na celú zamorenú a podozrivú oblasť a zvieratá jeden rok držať pod clonou ochranného očkovania. Z tohoto plynie dôležité ponaučenie pre budúcnosť, že 100 % preočkovaním celých obcí, vedľa zachovania zvláštnych veterinárne-sanitárnych opatrení môže byť Kloboukova nemoc rýchle a s konečnou platnosťou tlmená. Nakoľko u formol-adsorbátovej vakcíny imunita sa vytvorí behom 3—4 týždňov, musia byť bezpodmienečne zaočkované všetky chovy, ktoré behom tejto doby mohli byť zasiahnuté nákazovou vlnou. Menšie očkovacie zóny sú preto nedostatočné a nedoporučovateľné. V chovoch ošípaných, kde sa vyskytuje nákaza v dlhých pauzových intervaloch vplyvom neviditeľných nosičov a vylučovateľov víru je najlepšie bojovať proti Kloboukovej nemoci ochranným očkovaním a držať ich pod očkovacou zónou behom jedného roku, v tomto období sústavne doočkovávať aj všetky dorastajúce kusy. Pokiaľ nebude uvedená do praxe metóda, aby latentne infikované kusy mohli byť zavčasu objavené, do tej doby jedinou správnu cestou pri tlmení Kloboukovej nemoci ostáva: tlmíť ju prísnyhmi veterinárno-ochrannými opatreniami doplnenými masovými v krátkych časových intervaloch prevádzanými očkovacími akciami za účelom podchytenia čo najviac klinicky nerozoznateľných nosičov a vylučovateľov víru trusom.

Pri sľubných perspektívach du budúca treba pri tlmení Kloboukovej nemoci vychádzať z plánu zamorenia obcí a okresov v štáte. Podľa zamorenia rozdeliť ich na 3 skupiny a to:

1. na obce a okresy prosté nákazy,
2. na obce a okresy sporadicky zamorené,
3. na obce a okresy chronicky zamorené.

Dbať na to, aby očistené obce a okresy sa opäť nezamorili nakazeným materiálom, aby sporadicky zamorené obce a okresy sa plánovite očisťovali od fókusov nákazy a aby z chronicky zamorených obcí a okresov sa materiál nerozvážal do nezamorených alebo sporadicky zamorených oblastí.

S ú h r n

V referáte sa popisuje úzke spojenie čsl. vedy s nákazlivou obrnou ošípaných, ktorá v dôsledku toho si plne zasluhuje označenie Kloboukova nemoc.

V ďalšom priebehu podáva sa historický prehľad o postupnom zamorení ce-

lého územia ČSSR Kloboukovou nemocou, ako aj o účasti čl. odborníkov pri vypracovávaní metód jej tlmenia jednak veterinárne-sanitárnymi opatreniami, jednak imunoprofylaktickými krokmi. Veterinárne-sanitárne opatrenia v dôsledku malého rešpektovania ich chovateľmi nesplnili svoj úkol. Najúčinnější zbraňou proti Kloboukovej nemoci ukázali sa byť hromadne prevádzané imuno-profylaktické zá-kroky prevádzané v krátkych časových intervaloch a na veľkých teritóriách územia nášho štátu. Taktiež sľubne pokračujúca socializácia dediny so zlepšovaním vete-rinárno-ochranných a zoohygienických opatrení na ŠM a JRD dopomohli k tomu, že Kloboukova nemoc dnes už nie je vážnym národohosp. problémom. Kloboukova nemoc ostáva aj ďalej problémom v súkromnom sektore, kde sa veterinárne-sani-tárne opatrenia málo zachovávajú. V závere je poukázané na postup vedúci k úplnej likvidácii tejto nákazy na našom území čo možno v najkratšej dobe.

Literatúra sa nachádza u autora.

Проблема болезни Клобука в ЧССР

В работе описывается тесная связь чехословацкой науки с исследованием инфекционного энцефаломиелита свиней, который в результате этого полностью заслуживает названия «болезнь Клобука».

Далее дается исторический обзор постепенного заражения всей территории ЧССР болезнью Клобука, также и участие чехословацких специалистов при раз-работке методов ее подавления с помощью ветеринарно-санитарных и иммунопро-филактических мероприятий. Ветеринарно-санитарные мероприятия в результате недостаточного их соблюдения животноводами не выполнили своего назначения. Самым эффективным оружием против болезни Клобука оказалась массовая иммунопрофилактика, проводимая в кратких интервалах на больших территориях нашей страны. Благодаря успешно продолжающейся социализации деревни с улуч-шением ветеринарно-предохранительных и зооигиенических мероприятий в гос-хозах и ЕСХК болезнь Клобука уже не является важной народнохозяйственной проблемой. Болезнь Клобука остается и далее проблемой в единоличном секторе, где мало соблюдаются ветеринарно-санитарные мероприятия. В заключение при-водится метод, ведущий к полной ликвидации этой болезни в нашей стране в крат-чайший срок.

The Problem of the Klobouk's Disease in the Czechoslovak Socialistic Republic

The report deals with the close connection of the czechoslovak science with the enzootic swine paralysis, which therefore merits to be called Klobouk's disease.

Than a historical review is given on the progressive spreading of the KD over the territory of the Czechoslovak Socialistic Republic and on the part of cze-choslovak specialists in elaborating methods of its control both by veterinary mea-sures and immunoprophylactic actions. The veterinary measures did not fulfil their task for they ere not respected by the breeders. The most effective weapon against the KD proved to be imunoloprophylactic actions on a large scale performed in short intervals on great parts of the territory. Also the successfully advancing socializa-tion of the rural districts with the amelioration of the veterinary control on state farms and rural cooperatives contributed to the fact, that the KD today is no serious problem of national economy. The KD remains a problem for the private sector, where the veterinary measures are not yet sufficiently respected.

Finally a way is demonstrated leading to a complete liquidation of this disease on our territory in the shortest possible time.

Použitelnost vakcín proti Kloboukové nemoci připravených z viru pomnoženého na tkáňových kulturách

Применимость вакцин против болезни Клобука, приготовленных из вируса, размноженного на тканевых культурах

The Possibility to Employ against the Klobouk's Disease Vaccines Prepared with a Virus Grown on Tissue Cultures

Došlo dne 20. X. 1960

MVDr. Vojtěch MÁDR, Opava

Úvod

Tlumení Kloboukovy nemoci v době jejího největšího rozšíření pouhými veterinárně zdravotními opatřeními se ukázalo málo účinné. Proto vyvstala otázka aktivní imunizace.

Již prof. Klobouk (1), brzy po stanovení virové etiologie prokázal, že zvířata, která překonala onemocnění a uzdravila se, zůstávají trvale imunními. Tento poznatek pobízel k pokusům o přípravu vhodné očkovací látky, která by přispěla ke snížení enormních ztrát z chovech prasat.

Aktivní imunizace prošla v krátké době řadou vývojových stadií. Celý dosa-
vadní vývoj očkovacích látek lze shrnout do dvou hlavních etap, a to podle druhu používaného antigenu. V první etapě šlo o antigen mozko-míšni, v druhé etapě o antigen produkovaný na tkáňových kulturách.

Centrální nervový systém, jako původně jediný zdroj antigenu KN, byl získáván buď z přirozeně onemocnělých, nebo uměle nakažených selat. Jednolivé vakciny připravované z mozko-míšni suspenze se lišily hlavně způsobem inaktivace a použitými adjuvanciemi. První Kloboukovy vakciny mitigované fenolem vykazovaly dobré imunizační schopnosti, k jejich praktickému použití však nedošlo, poněvadž virus nebyl fenolem dokonale inaktivován. Z mozkových vakcín nabyla největšího uplatnění formolová vakcína Traubova (2) adsorbovaná na aluminiumhydroxyd. Traubova vakcína byla v různých úpravách zkoušena v celé řadě evropských zemí řešících problém tlumení KN. U nás se tato vakcína vyrábí v Biovetách od r. 1952. Vakcína se osvědčila a možno říci, že podstatným dílem přispěla ke snížení výskytu onemocnění KN na území našeho státu. Tak např. je možno připomenout úspěch masové očkovací akce na Slovensku [Ursiny a Žuffa, (3)], kde došlo po vakcinaci v silně zamořených krajích ke snížení ztrát v důsledku onemocnění KN až o 90 %.

Významným mezníkem ve vývoji očkovacích látek proti KN bylo pomnožení viru na tkáňových kulturách L a r s k i m (4). Tímto objevem byly dány podmínky k nové etapě ve vývoji vakcín proti KN. Antigen získávaný starým způsobem z CNS uměle nakažených selat rázem zastaral a jeho produkce se stala ne hospodárnou. Jestliže výrobní cena antigenu z mozkové suspenze k přípravě 1 l vakcíny je asi 350 Kčs, je cena stejného množství antigenu z tkáňových kultur až desetkrát nižší. Zatímco k výrobě 100 g mozkového viru je nutno porazit sele o váze 20 kg, lze stejné množství tkáňového viru získat nakultivováním jedné Rouxovy láhve během týdenního cyklu. Tímto srovnáním je ekonomická přednost nové produkční metody dostatečně obhájena. Virus produkovaný tkáňovými kulturami je nejen pronikavě levnější proti viru mozko-míšni, ale je i nesrovnatelně čistším antigenem, téměř prostým všech bílkovinných a lipoidních balastů a proto jeho vhodnost k přípravě vakcín je již všeobecně uznávána.

Prvními průkopníky vakcín z TK se stali u nás prof. P a t o č k a s kolektivem (5) a M a y r (6) v NSR. Oba autoři vycházeli analogicky z metody používané k přípravě vakcíny proti poliomyelitidě. Jejich vakcíny jsou inaktivovány formolem, jinak se liší jak postupem přípravy, tak zejména adjuvanciem. Oba autoři shodně uvádějí, že virus pomnožený na tkáňových kulturách dokonale inaktivovaný nepatrnými koncentracemi formolu imunizuje alespoň 50 % naočkováných selat:

Také na našem pracovišti Biovety v Opavě jsme přikročili k přípravě pokusných vakcín z tkáňového viru. Naše úsilí bylo především zaměřeno na zdokonalování a zlevnění dosavadní vakcíny Traubovy. Proto v první etapě výzkumu jsme vycházeli z Traubovy vakcíny, kde 50 % mozko-míšního antigenu bylo nahrazeno virem tkáňovým. Tato vakcína měla stejné imunizační výsledky jako původní vakcína mozková, a proto již byla zavedena do praxe.

V letech 1958—60 bylo připraveno několik desítek variant vakcín z tkáňového viru. Vývoj našich opavských vakcín se postupně ubíral třemi směry:

1. Formolové vakcíny.
2. Fenolizované vakcíny.
3. Živé apatogenní vakcíny.

Opavské očkovací látky

Formolové vakcíny

Inaktivace tkáňového viru formolem byla zkoušena v koncentracích 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 6000 a 1 : 8000. V průběhu inaktivačních pokusů jsme došli k poznatku, že virus KN v prostředí prostém bílkovin je velmi citlivý vůči formalinu a není snadné nalézt hranici, kdy je virus inaktivní a přitom si zachovává svou imunogennost. Proto řada vakcín připravených inaktivací viru formalinem obsahovala živý virus, jiné vakcíny byly inaktivní a tyto byly většinou velmi málo účinné. Z inaktivních formolových vakcín byla nejúspěšnější vakcína mitigo vaná formalinem v koncentraci 1 : 8000 po dobu 80 hod. při teplotě 37° C. Vakcína dávala 75% účinnost.

Mnohem méně účinná byla vakcína mitigo vaná formolem ve zředění 1 : 6000

po 72 hod. při tepl. 37° C. Tato vakcína byla zcela neškodná. Její účinnost byla prověřována na 50 selatech, která pocházela ze tří krajů. Pozoruhodné bylo zjištění, že jednotlivé skupiny podle původu vykazovaly po naočkování různý stupeň imunity: selata z kraje Pardubice 45 %, z kraje Olomouc 37 % a z kraje Ostrava 0 %. Rozdíl v imunitě podle původu byl vysvětlen nestejnou promořeností terénu KN.

Vakcíny inaktivované vyšším procentem formolu byly bez účinku.

Účinnost a neškodnost všech vakcín byla zkoušena do 1 měsíce po jejich zhotovení, dalším skladováním se hodnota formolových vakcín dále snižovala. Účinnost všech vakcín, pokud není uvedeno jinak, byla ověřována *i. c.* infekcí 10 až 50 ID₅₀ za 30 dnů po naočkování.

Poněvadž formolové vakcíny neuspokojovaly naše požadavky kladené na vyhovující vakcínu proti KN, upustili jsme zatím od dalšího rozvoje těchto vakcín a zaměřili jsme pozornost na vakcíny jiného druhu.

Fenolizované vakcíny

Fenol jako mitigační prostředek viru KN se nabízel hlavně proto, že jeho inaktivační účinek na virus KN je sice značně protražovaný, ale přitom velmi šetrný. Další jeho výhoda je, že může být používán až v 0,5 % koncentraci, takže působí současně jako konservans vakcíny. Vakcíny oslabené fenolem v konc. 0,5 % mají vesměs do jednoho měsíce po přípravě 100 % účinnost, virus však je živý a může po *i. c.* aplikaci vyvolat onemocnění KN. Tatáž vakcína uskladněná 102 dní při průměrné sklepní teplotě 14° C byla inaktivní a imunizovala 50–75 % očkovaných prasat.

Vakcíny mitigované fenolem se tedy v našich pokusech ukázaly nadějnějšími než vakcíny formolové.

Živé apatogenní vakcíny

V posledních dvou letech jsme se soustředili na přípravu živých apatogenních vakcín. K tomuto směru studie jsme byli vedeni jednak příkladem S a b i n o v y (7, 8) antipoliomyelitické vakcíny, jednak námi zjištěným faktem, že následujícím pasážováním viru KN na buněčných kulturách ledvinového epitelu dochází k neustálému snižování inf. titru pro pokusná selata. Po 92 pasážích virus nevyvolal onemocnění ani při *i. c.* inokulaci 2 ml koncentrovaného virového media. Po uplynutí 30 dnů byla selata reinfikována *i. c.* 250 ID₅₀ virulentního mozko-míšního viru. Všechna selata odolala této masivní infekci bez narušení zdravotního stavu. Analogických výsledků při získání apatogenních kmenů vhodných k aktivní imunizaci dosáhli paralelně rovněž M a y r (9, 10) a polští autoři S z u r m a n a L a r s k i (11).

Dobrý imunizační výsledek apatogenního kmene při *i. c.* aplikaci vedl k ověření imunizační schopnosti viru kmene aplikovaného subkutánně, případně jinak. Nejdříve byla připravena vakcína ze 100 pas. kmene Zábřeh na tkáňových kulturách. Selata byla imunizována *s. c. a p. o.* à 5 ml zkoušené vakcíny. Po 30 dnech byla selata infikována *i. c.* 100 ID₅₀ mozko-míšního viru. Přesto, že pokusy nejsou ještě úplně skončeny, je možno předběžně sdělit, že po *s. c. a p. o.* aplikaci živé apatogenní vakcíny dochází k vytvoření solidní imunity u 70–100 % očkovaných selat. Pokusy byly opakovány i s vyššími pasážemi viru.

Ze stručného přehledu opavských očkovacích látek proti KN připravených z viru pomnoženého na tkáňových kulturách vyplývá, že tkáňový virus je vhodný k přípravě účinných vakcín a že pro praktické použití bude pravděpodobně nejzpůsobilější živá apatogenní vakcína.

S o u h r n

Otázka aktivní imunizace proti KN vyvstala záhy po stanovení virové etiologie. Její řešení si vynutily neúspěchy při tlumení nákazy vet. zdravotními opatřeními.

Aktivní imunizace prošla řadou vývojových stadií, podle druhu používaného antigenu rozlišujeme dvě hlavní etapy. V první etapě je zdrojem antigenu CNS nakažených selat, v druhé etapě virus pomnožený na tkáňových kulturách.

Po úspěšném pomnožení viru KN na tkáňových kulturách bylo přistoupeno v opavské Biovetě k přípravě vakcín z tkáňového viru. V letech 1958—60 bylo připraveno několik desítek variant vakcín z tkáňového viru. Vývoj vakcín se ubíral třemi směry: 1. Formolové vakcíny, 2. Fenolizované vakcíny, 3. Živé apatogenní vakcíny.

Účinnost formolových vakcín nebyla uspokojivá a proto bylo od jejich dalšího studia zatím upuštěno.

Nadějnější výsledky byly dosaženy s vakcínami fenolizovanými, které po 102 dnech uskladnění při tepl. 14° C imunizovaly 75 % prasat. Imunita vakcín byla ověřována i. c. infekcí 10—50 ID₅₀ mozko-míšního viru.

V poslední době byla hlavní pozornost věnována přípravě živé apatogenní vakcíny podle vzoru Sabinovy antipoliomyelitické vakcíny.

Postupným pasážováním viru KN na jednovrstevných kulturách epitelu vepřových ledvin byl získán kmen, který po 92 pasážích nevyvolal po i. c. infekci onemocnění. Vakcíny připravené ze 100 a vyšších pasáží vykazovaly po s. c. a p. o-aplikaci 70—100% imunitu.

Применимость вакцин против болезни Клобука, приготовленных из вируса, размноженного на тканевых культурах

Вопрос активной иммунизации против болезни Клобука возник вскоре после определения вирусной этиологии. Его решение было вызвано неуспехом при подавлении инфекции с помощью ветеринарно-санитарных мероприятий.

Активная иммунизация прошла рядом стадий развития; в зависимости от вида используемого антигена различаются два этапа. В первом этапе источником антигена является ЦНС зараженных поросят, во втором этапе — вирус, размноженный на тканевых культурах. После успешного размножения вирусов болезни Клобука

на тканевых культурах приступили в Оповской «Биовете» к изготовлению вакцин из тканевых вирусов. В 1958—1960 гг. было изготовлено несколько десятков вариантов вакцин из тканевого вируса. Развитие вакцин проходило по трем направлениям: 1. формоловые вакцины, 2. фенолизированные вакцины, 3. живые непатогенные вакцины. Эффективность формоловых вакцин не была удовлетворительной, поэтому отказались от их дальнейшего изучения.

Лучшие результаты были получены с фенолизированными вакцинами, которые после 102 дней хранения при температуре 14° С иммунизировали 75 % свиней. Иммуитет вакцин проверялся путем интрацеребральной инфекции 10—50 ID₅₀ спинно-мозгового вируса. В последнее время главное внимание уделялось изготовлению живой непатогенной вакцины по способу антиполиомиелитической вакцины Сабина.

Путем постепенного пассажирования вируса болезни Клобука на клеточных культурах почечного эпителия свиней был получен штамм, который после 92 пассажей не вызвал заболевания после интрацеребральной инфекции. Вакцины, изготовленные из 100 и более высоких пассажей, показывали после субкутанного и per os применения 70—100% иммуитет.

The Possibility to Employ against the Klobouk's Disease Vaccines Prepared with a Virus Grown on Tissue Cultures

The question of active immunization against the KD arose early after establishing its viroous etiology. The unsatisfactory results of the veterinary measures in combating the disease demanded a solution of this question.

The active immunization has undergone some evolution periods. According to the antigen employed we can distinguish two main periods. During the first the source of antigen was the CNS of infected piglets, in the second the virus grown on tissue cultures.

After the successful reproduction of the KD virus on tissue cultures we tried in the Bioveta (Opava) to prepare a vaccine from tissue virus. During the period 1958—1960 some tens of various vaccines from tissue cultures have been prepared. The development of the vaccines followed three directions: 1.a formolvaccine, 2.a phenolized vaccine, 3.a living, apathogene vaccine.

The effectivity of formolvaccines was unsatisfactory and their further study was abandoned.

Better results gave the phenolized vaccines, which after 102 days of storage in 14° C immunized yet 75 % of the pigs. The immunity following vaccination was examined by intracerebral infection with 10—50 ID₅₀ of the brain-marrow virus.

In the last time the main attention was devoted to the preparation of a living, apathogene vaccine, similar to the antipoliomyelitis vaccine after Sabin.

By progressive passages of the KD virus on monolayer cultures of renal epithel of pigs a strain was developed, which after 92 passages intracranially applied did not produce the disease. Vaccines prepared from the 100. and further passages gave after subcutaneous and peroral application immunity in 70—100 % of the cases.

Několik poznámek k imunoprofylaxi nakažlivé obrny prasat (Kloboukova nemoc)

Несколько замечаний к вопросу иммунопрофилактики инфекционного паралича свиней (болезнь Клобука)

Some Remarks to the Immunoprophylaxis of the enzootic Swine Paralysis
(Klobouk's disease)

MVDr Karel KOŠTANSKÝ
krajský epizootolog, KNV Ostrava

Došlo dne 20. X. 1960

Přehled vývoje imunoprofylaxe

Imunoprofylaxe nakažlivé obrny prasat, představovaná především specifickou preventivní vakcinací a jen v nepatrné míře pokusy o prevenci rekonvalescentními a hyperimunními séry, nastoupila svoji cestu velmi záhy po tom, kdy Klobouk svými klasickými pokusy označil nakažlivou obrnu za onemocnění prasat *sui generis*, tedy zhruba v letech 1935—1936.

Již tehdy bylo shledáno — a tento poznatek platí dodnes, že virus je přítomen v nejvyšší koncentraci v CNS, a to v iniciálních stádiích klinického onemocnění vepřů, a že tedy hmota mozková představuje materii vhodnou k získávání značných kvant viru, potřebného k výrobě vakcin. Mimo to je virus obsažen zde v nečistší formě přirozenou cestou dosažitelné a nevyžaduje zvláštních a hlavně nákladných metod izolačních a purifikačních, které by cenu i tak nejdražší veterinární vakciny zdrazžovaly.

Za tohoto stadia poznatků, kdy bylo nazíráno na infekční obrnu jen jako na typickou neuroinfekci, prošla praktickým vyzkoušením v terénu prvá vakcína fenolová. Původní pokusná Kloboukova vakcína byla šestiprocentní emulze mozkomíšče s glycerinem a fyziologickým roztokem za přísady fenolu do koncentrace 1%, který měl působit jako inaktivační a konzervační prostředek. Komerční vakcína vyráběná státním výrobním ústavem byla 5%. Aplikovala se jednorázově v dávce 5 až 10 ml. O výsledcích s touto vakcínou dosažených měl jsem příležitost referovat podrobněji na sjezdu v Bratislavě 1953.

Její největší chybou bylo, že šlo o vakcínu virulentní, která, byla-li injikována intracerebrálně, způsobovala onemocnění a přes to, že subkutánní inokulace i živého viru může způsobit onemocnění jen zcela výjimečně, bylo nutno upustit od jejího používání v terénu. Zkušenosti s touto vakcínou byly velmi dobré a byl jí vakcinován nemalý počet prasat, zhruba asi 200.000 kusů.

Pak prošlo období vakcin formolovaných s totálně umrtveným antigenem, které se pochopitelně nemohly osvědčit, a vakcíny sensibilizované, éterové, chloroformové, s lipidními adjuvanciemi a jiných, ve kterých zůstával virus živý, a proto je stihl též osud jako vakcínu fenolovou.

Týž osud potkal pokusy s rekonvalescentním a hyperimunním sérem, které dokázaly, že protekční účinek séra se nedá signifikantně prokázat.

Počínaje rokem 1942, kdy Traub publikoval výsledky pokusů s adsorbátovou vakcinou, byla výroba vakciny proti obrně přizpůsobena tomuto vzoru především v Jugoslávii, později i u nás a pokusně v Rakousku, Maďarsku a Německu.

Dnes lze očekávat, a z tohoto místa bylo a ještě bude k tomuto problému referováno, že totiž vakcinační metody, nalézající již nyní široké uplatnění pro prevenci proti lidské poliomyelitidě, dojdou časem uplatnění i v prevenci infekční obrny vepřů.

Přesto, že roční výroba adsorbátové vakciny proti obrně vepřů pohybovala se ještě v letech 1958—1959 v našem státě kolem 15.000 l, což převedeno na počet dávek v průměru 7 ml činí asi 2.100.000 vakcinovaných a revakcinovaných vepřů, bylo ještě před 2 léty nesnadno prosadit, aby boj proti nakažlivé obrně byl veden soustavně a plánovitě. Nechybělo proto údajů o problematickém účinku imunoprofylaxe touto vakcinou, ačkoliv díky zprávě Dr. Nového o efektu tlumení IO vakcinací v okrese Vyškov v r. 1953 a zprávám Ursínyho o efektu hromadných očkovacích akcí na Slovensku v letech 1952—1953 bylo možno si učit představu o účinnosti vakcinace v terénu. Z bezprostředního okolí kolébky infekční obrny v Ostravském kraji — Karvinska, byly získány podobné, poměrně přesné zprávy, které nad to měl možnost kontrolovat opavský SVVÚ. Tyto zprávy naznačují, že je-li vakcinace prováděna soustavně a plánovitě a hlavně je-li trvale evidována, je její efekt naprosto zřetelný, až pronikavý, a shoduje se plně se zkušenostmi v rámci experimentů. V tomto smyslu mluví z nedávné doby i výsledky vakcinace v okrese Místek v Ostravském kraji, kde od zavedení povinné vakcinace v květnu 1958 kleslo zamoření infekční obrnou prasat doté doby tak značně, že se za rok vyskytovala obrna jen zcela ojediněle a po celé měsíce byl okres prost nákazy. Pokles zamoření obrnou v místeckém okrese je tím nápadnější, že vakcinace byla prováděna převážně jednorázově u selat ještě pod prasnici před odstavem, tedy u zvířat daleko mladších, než doporučuje návod výrobního ústavu. Tak v r. 1955 činily ztráty 999 ks a vakcinováno bylo zcela neorganizovaně. V r. 1956 bylo z průměrného stavu 14.000 vepřů vakcinováno 8000 ks, načež ztráty klesly na 759 ks. V r. 1957 navakcinováno 9000 ks a ztráty dále klesly na 556 ks. V r. 1958 v květnu zavedeno povinné očkování selat. V té době bylo v okrese zamořeno 26 obcí, 116 dvorců a ztráty za 4 měsíce činily již 176 ks. Nastal tak pronikavý pokles v zamoření, že v listopadu téhož roku činily ztráty již pouze 2 kusy, zamořeny byly pouze 4 obce a 7 hospodářství. Úhyn na obrnu ustal již v červenci. Nicméně ztráty za celý rok dosáhly ještě 696 kusů, během roku bylo však navakcinováno 19.000 kusů, tedy více než činily celkové stavy, neboť byly provedeny četné revakcinace. Výsledek ukázal rok 1959, kdy do srpna bylo diagnostikováno pouze 54 případů obrny a v podzimu ustala nákaza téměř úplně.

Není tedy důvodu, abychom tam, kde nám dosud způsobuje potíže obrna, nestrvali zatím na tom, co je u nás více než desetiletí v terénu ověřeno a co — možno to směle tvrdit — dopomohlo k tomu, že současně zamoření obrnou prasat je nejnižší za posledních 20—25 let.

Jsou ještě — pravda — momenty jiné, jimž možno přisoudit, že participují na poklesu zamoření obrnou v našich socialistických chovech, nicméně akce slovenské a zkušenosti z Vyškovského, Karvinského a nejnověji Místeckého okresu poukazují nesporně na přímou závislost mezi soustavnou vakcinací a úbytkem morbidit a mortalit prasat v terénu.

Nemůžeme tedy než trvat na tom, že tam, kde je plánovitě postupováno v tlumení infekční obrny, a kde se preventivní vakcinace používá jako cenného a účinného doplňku komplexu protiepidemických opatření, vakcinace skutečně efekt má.

Považují za účelné retrospektivně nastínit některé infekto logické a imunologické poznatky o viru infekční obrny, v jejichž světle se na vakcinaci proti infekční obrně díváme a které při vývoji a výrobě byly respektovány.

Pro celou řadu virů je okruh vnímavých zvířat poměrně široký a namnoze jde o drobná zvířata laboratorní. Pro virus infekční obrny je zatím jediným vnímavým druhem vepř. I nejnovější poznatky v pěstování viru obrny vepřů na tkáňových kulturách jednoznačně pro tento fakt mluví.

Podle jednoho z nejvýznačnějších znaků virů — tropismu — patří virus obrny vepřů do skupiny virů neurotropních. Není dosud jednotného názoru o tom, jakými cestami virus při spontánní infekci k CNS dospívá. Na základě nejnovějších poznatků se zdá, že je třeba korigovat dřívější koncepci přirozeného způsobu infekce výlučně nebo převážně cestou rhino-cerebrální prostřednictvím olfaktorika a přiklonit se spíše k akceptování enterální infekce s perorální vstupní branou, jako nejběžnějšího způsobu spontánního vzniku nákazy. Práce Horstmannové, Garda, Heckeho a Mayra zdají se nasvědčovat, že primárním místem zachytu a pomnožení viru infekční obrny je enterální systém. Široká tolerance viru vůči PH 3-13, dokázaná

P a t o č k o u, dovoluje jeho průchod žaludkem, aniž by došlo k jeho poškození. Možno tedy podobně jako při lidské polio (P a u l 1956, S a b i n 1955) připustit, že i infekční obrna vepřů je infekcí s perorální vstupní branou. Do CNS dostává se pak virus sekundárně a vyvolává irreparabilní změny v buňkách nervových, projevující se těžkými klinickými příznaky, zatímco fáze vniku a pomnožení viscerálního a poškození buněk přilehlých systémů nevyvolává markantní klinické příznaky, uniká klinickému pozorování a hlavně nezpůsobuje změny, vedoucí k zániku organismu.

Jisto však je, že v CNS se virus zachycuje, množí, uplatňuje své patogenní vlastnosti a zde se v největší koncentraci dá získat. Připustme, že i odtud se vylučuje a svým podílem rozmnožuje kvanta viru vylučovaného sliznicí střevní, která se pak dostávají výkaly do vnějšího prostředí.

Každé onemocnění, ať bakteriálního či virového původu, ponechává u postiženého makroorganismu, až na zcela nepatrné výjimky, nějaký stupeň imunity přímo závislý na vlastnostech obou participujících organismů. Imunita je charakterisována přítomností protilátek, specifických pro daný antigen. Tyto protilátky buď kolují v krvi nebo jiných tělních tekutinách — protilátky humorální — nebo je nacházíme jakotzv. sessilní antikorpora v bezprostředním sousedství patogenního účinku antigenu, jako by fixovány na ohroženou buňku.

Přítomnost obou těchto druhů antikorpor je spolehlivým ukazatelem imunity u četných infekcí. U viru infekční obrny je zatím dokázána afinita k centrálnímu nervovému aparátu a dosud známými laboratorními metodikami dovedeme prokázat virus i protilátky v daleko největším množství právě v CNS. Klinicky probíhá toto onemocnění symptomatikou, svědčící především na léze v CNS. Termická reakce, která je u experimentální obrny zjištělná krátce před nástupem klinických příznaků se strany CNS, není nijak výrazná, je krátkodobá a přes údaje H o s t m a n n o v é a M a y r a o pravděpodobnosti viremického stadia není dosud s určitostí zjištěno, zda krevní cesty hrají při této infekci zcela pravidelně svoji úlohu.

Jak je tomu podle dosavadního stavu poznatků s virusneutralizačními látkami při infekci obrně vepřů?

V práci z r. 1957 zjistil M a y r, že po perorální infekci virem obrny vepřů, namnoženým na tkáňových kulturách, se objevují antikorpora v krvi ve zvýšeném titru již 5 až 9 týdnů před nástupem obrnového syndromu, zcela nezávisle na délce inkubační doby. Jejich vzestup je velmi rychlý; kulminuje během prvního až čtvrtého dne klinicky manifestního onemocnění a seirvává s mírným poklesem v této výši až 11 měsíců u zvířat, která infekci podlehla. Avšak i vepři, kteří uhynuli, měli týž titr virusneutralizačních protilátek v krvi a přece se klinický obraz obrny rozvinul až k letálnímu konci. Nelze dedukovat jinak, než že k virusneutralizačnímu efektu humorálními antikorpory *in vivo* nedošlo, nebo že blokáda byla příliš slabá, virus se v buňkách zachytil, rozmnožil a způsobil jejich rozpad, provázený typickou lymfocytární reakcí, jak ji u infekční obrny známe.

Dokladem právě řečeného jsou známé neúspěchy séroprevence a sérotherapie při infekci obrně — dalším dokladem je již po mnoho let známá skutečnost, že sérum rekonvalescentů i sérum hyperimunní nedovede neutralizovat virus v emulzích z infekčních mozků, jak jsme svého času zjistili v pokusech o vývoj sensibilizované vakciny a jak v roce 1955 zjistil S o k o l v pokusech se sérovakcinou. Nejnověji P a t o č k a a spolupracovníci dokonce zjistili, že ani gamaglobuliny rekonvalescentních sér nemají protekčního významu, ba dokonce, že jejich podání ani ve vysokých dávkách neprodlužuje v nejmenším inkubační dobu.

Pro úplnost je třeba poukázat na teorii interference. Tento úkaz hraje zcela jistě svoji úlohu. Fenomén interference není naprosto závislý na přítomnosti jakýchkoliv antivirových substancí. I když nebylo dosud zjištěno, jakými cestami k tomuto zjevu dochází, možno podle prací I s s a c e, L i n d e n m a n n a, B u r k e h o a V a l e n t i n a, kteří ho sledovali na chřipkovém viru, konstatovat:

1. že virová interference není úkazem imunobiologickým,
2. že infikovaný virus může interferovat s množením viru živého
3. a že v určitém počtu studovaných systémů není interference působena inhibicí adsorbace chaalengujícího viru na buňky, nýbrž intracelulárním blokem virové syntézy.

Známi autoři dokazují, že interferenci způsobuje produkt interferenční reakce, který nazvali interferon. Je to makromolekulární substance proteinové skladby, která není totožná s inaktivovaným virem, od kterého se liší v několik vlastnostech. Tvorba interferonu je závislá na stupni inaktivace použitého viru, která musí být velmi šetrná. Přeneseno na imunogenní schopnost viru ve vakcině nutno uvážit, že ne každá inaktivace zaručuje imunogenní aktivitu vakciny, obsahující virus inaktivovaný

tak dokonale, aby v žádném případě nemohlo dojít k projevu jeho vitality, a že při respektování tohoto mechanismu dostáváme se na samu hranici vakciny živé a mrtvé. V této souvislosti je si třeba připomenout, že bylo několikrát dokázáno, že při inaktivaci nízkoprocentním formalinem podařilo se za použití střídavého zamrazování mozkových emulzí dokázat vitalitu v nich obsaženého viru, ovšem jen do určitého stupně, který zpravidla způsoboval při intrathalamické aplikaci jen subklinické onemocnění.

Na podkladě toho, co zde bylo jen v krátkosti naznačeno, možno uvážit, která specifická opatření mají u virových neuroinfekcí vyhlídky, aby jich bylo možno použít k profylaxi.

O séroprofylaxi a séroterapii infekční obrny platí zhruba to, o čem již dříve padla zmínka, že naděje na úspěch je minimální. Ochrana je rozhodně pouze povrchu, neboť antikorpora jsou rozložena pouze na povrchu buněk a brání jen penetraci viru a nad to krátkodobě. Mimo to podané sérum se dostává velmi těžko k CNS, neboť naráží na překážku haemato-encephalitické bariery a musí být proto podáno ve velkých dávkách. Jakmile již došlo k vniknutí viru do nervové buňky, je jakákoliv injekce séra bezvýsledná, neboť virus se zařizuje v buňce po svém a pro kolující antilátky není dostupný.

Zbývá proto vakcinace. Používáme ji všude tam, kde chceme zabránit epidemickému šíření, to znamená, chráníme ji dosud zdravá zvířata tím, že u nich podnítíme vznik specifické odolnosti.

Protivirové vakciny jsou nejčastěji extrakty, nebo přímo rozdrcené orgány infikovaných zvířat, nebo suspense tkání kuřecích embryí infikovaných virem, nebo konečně v současné době značně purifikované preparáty z viru, získaného pomnožením na tkáňových kulturách. Virus v nich je inaktivován různě, nejčastěji formalinem. Nesnadnost výroby takových vakcin spočívá v tom, že inaktivační pochod narušuje imunogenní schopnost takto denaturovaného viru. Z toho vyplývá, že nejlepší vakcinou musí být nutně ta, která obsahuje virus živý, přizpůsobený tak, že jeho patogenní vlastnosti pro recepční organismus vymizely a vlastnosti imunogenní zůstaly zachovány. Řada takových vakcin stále narůstá: Virus fixe, H vakcína proti moru drůbeže, vakcína B 1, v humánní medicíně Jennerova vakcína, vakcína proti žluté zimnici, Sabinova vakcína proti polio. Některé z nich mají své vlastnosti již po léta a desítky stabilizovány, i když nejsou neznámy některé jejich nepříjemné vlastnosti — ascendentní paralýza typu Landruho, meningitidy po protineštovičné vakcinaci, reakce po H vakcinaci a vakcinou B 1.

Všechny ostatní vakciny obsahují patogenní kmeny virů, které jsou nějakým způsobem seslabeny — inaktivovány tak, aby se mohla uplatnit pokud možno v nejvyšší míře jejich složka imunogenní.

Takovou vakcinou je i adsorbátová vakcína proti Kloboukové nemoci. Její složení je známo a úloha jednotlivých složek též. Až do r. 1957 nebyla v našem státě výroba této vakciny jednotná, hlavně pokud jde o koncentraci formalinu. Proto se též výsledky vakcinací závažně různily.

Zvážíme-li dosavadní výsledky s protiobrnovou vakcinací v našem státě v terénu i experimentálních pracích, dostáváme se nakonec k oprávněné úvaze: Existuje-li při infekční obrně pravidelně viremické stadium, pak k blokádě přirozené infekci by měla stačit imunizace inaktivovaným virem; dochází-li spontánně také k infekci zkrácenou cestou *via olfaktorius* — CNS pak specifická ochrana inaktivovanými látkami bude mít vždy menší úspěch než při použití vakcin, obsahujících apatogenní virus živý. V humánní medicíně bylo dosaženo úspěchu po vakcinaci Salkovou vakcinou, který se zrcadlí v úbytku bulbárních parálýz a je velkým pokrokem v epidemiologii lidské polio. Na tomto faktu nic nezmění výsledky imunoprofylaxe Sabinovou vakcinou. Každý podobný pokrok, při němž se dá dosáhnouti inaktivovanou vakcinou u vepřů takový stupeň odolnosti, kterým se dá čelit obrnové epizootické vlně tak, že procento přeživších, hospodářsky dále nevyužitelných mrzáků klesá na minimum a kdy taková vakcinace dovede čelit výskytu paralytických forem, je nesporně významným pokrokem v obrnové epidemiologii veterinární.

V tom smyslu nynější adsorbátová vakcína proti obrně vepřů svoji úlohu jistě splnila a dosud plní. Jsou to především důvody rázu ekonomického a výrobního, které nás nutí, abychom se ji snažili nahradit novou oekonomickou látkou, vyrobenou levně a nezávisle na mozковém materiálu, který dnes tvoří její nejdražší součást. Do jaké míry se to již dnes daří, uslyšíme z prací pracovníků výzkumu. Tím nechci nijak zlehčit fakt, že bychom tak, jak se to stalo v medicíně humánní, stejně rádi nesáhli po vakcině, jakou dnes v imunoprofylaxi lidské polio představuje vakcína Sabinova.

Že dosavadní adsorbátová vakcína, byla-li správně a soustavně použita, byla příčinou úspěchů dosažených v letech 1952—1953 na Slovensku a některých okresech v českých zemích, nejnověji na Místecku, je domnívám se nesporné.

Tolik jsem si dovolil v krátkosti uvést pokud jde o kvalitu naší komerční adsorbátové vakcíny proti infekční obrně.

Poznámky k vakcinaci

Přejdeme nyní k vlastní vakcinaci. Předpoklad pro založení úspěšné vakcinace může nám dát jen respektování infekologických a imunobiologických vlastností viru infekční obrny prasat, jimiž je podmíněna svérázná epizootická dynamika a průběh infekce infekční obrny. Stěžejními momenty, s nimiž při prevenci infekční obrny specifickou vakcinací v zaměřeném prostředí je počítáno, jsou:

1. virus se vyskytuje mimo organismus převážně v subinfekčním titru, avšak
2. jeho rezistence mimo organismus za příznivých okolností je velká.
3. Afinita je převážně k CNS. Tam způsobuje virus změny, které jsou přímou příčinou ztrát, zatímco virus enterální sféry, i když po epizootické stránce hraje podstatnou úlohu, je snadněji dosažitelný a zranitelný.

4. Kvanta viru kolujícího v prostředí jsou derivována jednak z viru vylučovacího sliznicí střevní a nosní zvířat nemocných zjevně i inaparentně, jednak z patologického materiálu, se kterým bylo nedbale nebo neodpovědně nakládáno.

5. Za *locus minoris resistentiae* pro vniknutí viru do zdravého jedince nutno považovat sliznici dutiny nosní a pharyngo-laryngeální a sliznici střevní. Zde ještě výzkum po stránce patogenetické neřekl své poslední slovo a mnohé dřívější poznatky bude třeba přezkoumat za podmínek, které nám nynější laboratorní metodiky dovolují. Co plyne z těchto poznatků?

Nelze si slibovat, že vakcinace sama vyřeší všechno. Vakcinou toho druhu zatím nedisponujeme. Je nutno si uvědomit, že zejména v období negativní fáze imunity, která činí zhruba 3 týdny, nutno přetrhat všechny články řetězu příčin, které napomáhají k rozvozu infektu. Vhodnou a účinnou desinfekci není možno opomíjet. Ředění viru v prostředí nutno napomáhat všemi dosažitelnými prostředky. O vlivu celé řady faktorů, které jsou příčinou inaparentních, abortivních a subklinických forem onemocnění, bude mluveno v referátech doc. Sokola, doc. Kábrta a dr. Zuffy.

Adsorbátová vakcína obsahuje virus inaktivovaný a nemůže sama o sobě za žádných okolností vyvolat obrnu. Postvakcinační obrny do 3—4 neděl prozrazují přítomnost skrytých forem a nosičů. Mnohá z těchto zvířat by onemocněla tak jako tak a objevení se klinických příznaků obrny po vakcinaci je vlastně odhalování inaparentních forem. Takové kusy je lépe z chovu vyloučit. Bylo-li svého času při vakcinaci fenolovou vakcínou, tj. látkou, obsahující virus aktivní, zakázáno očkovat v chovech, kde tč. nákaza planula, pak naopak je nutno v takovém chovu očkování inaktivovanou adsorbátovou vakcínou co nejrychleji provést, aby ztráty proběhly rychle a u zbývajících zdravých zvířat se paralelně vytvořila imunita bez ztráty času a bez riskování a spoléhání na jakýkoliv zákrok nespecifického charakteru.

Při této příležitosti si dovoluji vyslovit přesvědčení, že kdyby infekční obrna byla nákazou foudroyantního rázu a dovedla nespoutané řádit všude, kde jednou pronikla, jak to dovede třeba mor nebo slintavka, vynutila by si dostatek úcty jak v kruzích odborných, tak laických. Proto však, že je chorobou plíživou, objevující se jen tu a tam a ničící jen výběrově, neznemožňující využití nouzově zabitého zvířete téměř beze ztráty a ponechávající mezi nástupem prvních příznaků a bezprostřední hrozbou exitu dostatek času k vyčkání až jak se to vyvine, díváme se na obrnu shovívavě. V celé její závažnosti, se kterou ji dnes již jak se zdá máme za sebou, objeví nám ji teprve pohled do statistik.

Pokud jde o indikaci a vlastní provedení vakcinace, chtěl bych zdůraznit jen tolik:

1. Adsorbátová vakcína je neškodná, nevyvolává u zdravých kusů obrnu a je určena výhradně k ochrannému očkování. Očkuje se jí v obcích, dvorech a chovech zaměřených nebo ohrožených. Je tedy vakcinace indikována i v chovu, kde tč. způsobuje ztráty a není se jí třeba bát, neboť pokud se týče léčení nemocných a ochrany dosud zdravých, nemáme na vybranou. Při hledání souvislosti mezi vakcinací a postvakcinačními obrnami do 14 dnů je třeba si uvědomit, že subkutánní inokulace živého

virus vede sotva v 1 % případů ke klinickému onemocnění, při intranazální instilaci činí průměrná inkubační doba 14 dnů, při čemž až 15% takto challengovaných odstavčat klinicky vůbec ne onemocní a že i při intracerebrální infekci superletální dávkou činí nejkratší zaznamenaná inkubace 4 dny sotva u 50 tisícín %, a 5 dnů sotva u 1,5 % infikovaných vepřů. Proč tedy hledat vinu ve vakcině, jak se nejčastěji stává?

2. Vakcinovat možno jen zvířata klinicky zdravá. Nemá smyslu očkovat vepře s příznaky onemocnění.

3. Nejvhodnější místo k vakcinaci je řasa kolenní. Z důvodů souvisejících s ustájením vepřů a způsobem jejich života a s pomalým vstřebáváním vakciny jsou zaznamenávány častěji než u kterékoliv jiné vakcinace abscesy. Při injekci za uchem bývají příčinou nepříjemných komplikací.

4. Experimentálně nebyla dokázána závažnost vakcinace u vysokobřezích prasnic a proto lze-li vakcinaci provést šetrně, nemůže mít vliv ani na prasnici ani na potomstvo.

5. Zásadou má být, že se vakcinují všechna prasata zamořeného dvora, dvorců sousedních, případně celé obce.

6. Na revakcinaci mladých kusů nutno trvat, i když jednoduchá vakcinace prokázala nám již velmi platné služby. Podobně je třeba trvat na revakcinaci v silně zamořeném prostředí. Zde se nejčastěji dopouštíme chyb, neboť jakmile ustanou případy klinických onemocnění, zapomíná se na další prevenci a když nás po čase vyburcuje nové případy, začíná se prakticky znovu od počátku.

Prál bych si, aby to vše, co naše symposium řešilo a zejména to, co přineslo nového a lepšího, pomohlo zdokonalit naši práci. A přeji nám společně, aby naše spolupráce nás vedla po cestách poznání, které nám nejen přináší pocit zadostiučinění, ale dokazuje také ostatním, že se snažíme ze všech sil plnit svědomitě požadavky, které nám naše národní hospodářství ukládá.

Souhrn

V práci projednány problémy imunoprofylaxe prasat proti Kloboukové nemoci. Autor přihlédl k vakcinaci adsorbátovou vakcinou, pro kterou doporučuje standardní výrobní metodu, stanovenou pro celou ČSSR. Z důvodů ekonomických bude však nutno nahradit tuto očkovací látku vakcinou vyrobenou hospodárněji a nezávisle na mozgovém materiálu. V práci byly uvedeny směrnice pro vlastní indikaci a hromadnou vakcinaci v našich chovech.

Несколько замечаний к вопросу иммунопрофилактики инфекционного паралича свиней (болезнь Клобука)

В работе были обсуждены проблемы иммунопрофилактики свиней против болезни Клобука. Автор обращает внимание на вакцинацию адсорбированной вакциной, для которой рекомендует стандартный метод производства, установленный для всей ЧССР. Однако по экономическим соображениям необходимо заменить это прививочное вещество вакциной, изготовленной более экономично, и не зависимо от мозгового материала. В работе были разработаны инструкции для самой индикации и массовой вакцинации в наших стадах.

Some Remarks to the Immunoprophylaxis of the enzootic Swine Paralysis (Klobouk's disease)

The paper deals with all problems of immunoprophylaxis of pigs against the Klobouk's disease. In the part concerning the adsorbate vaccine the author recommends a standard method for the production of the vaccine for the whole ČSSR. For economical reasons it will be necessary to substitute this vaccine by another, which is cheaper to produce and independent on brain-marrow material. The paper contains instructions for the indication and for the mass-vaccination in our farms.

Použití vakcín z tkáňových kultur proti Kloboukové nemoci

Применение вакцин из тканевых культур против болезни Клобука

Verwendung von Vakzinen aus Gewebekulturen gegen die Klobouk'sche Krankheit

Zastosowanie szczepionek z kultur tkankowych przeciw chorobie Klobouka

Dr. Zdzisław LARSKI
Polská lidová republika

Došlo dne 20. X. 1960

S pracemi o antigenních vlastnostech viru, pomnoženého na tkáňových kulturách, začali jsme v Polsku už v r. 1955. K výrobě prvních vakcín jsme užili virového materiálu z kultur z fetálních prasečích ledvin. Explantáty byly pěstovány podle Maitlandovy metody a v rotačních kulturách.

Na základě skutečnosti, že množství viru v těchto kulturách bylo menší než v mozku a míše infikovaných prasat se zdálo, že takto získaný materiál se nehodí pro přípravu dobré vakcíny, neboť nesplňuje základní podmínku vysoké koncentrace viru.

Bylo však otázkou, zda v tomto případě malé množství infekčního viru odpovídá celkovému množství imunogenních virových částic. Salk dosáhl dobré imunity vůči polio po použití malých množství virového materiálu z tkáňových kultur. Podle jeho názoru lze to vysvětlit tak, že množství imunogenních virových částic v tkáňové kultuře je daleko větší než lze zjistit titrací infekčnosti.

Abychom tuto otázku objasnili, vyrobili jsme formolovou vakcínu. Nejevila však žádné imunogenní vlastnosti. Také vakcína, vyrobená z živého viru (bez přidání formalinu) dávala tytéž výsledky.

Tyto pokusy ukázaly, že virus obrny z tkáňových kultur, podobně jako virus z mozku, má pouze slabé antigenní vlastnosti. Proto bylo žádoucí zvýšit jeho aktivitu v tomto ohledu použitím adjuvancií.

V tomto směru byly prováděny pokusy německými, československými a francouzskými autory. Za novinku musíme považovat použití apatogenního kmene Mayrem. Kmen získal po 91 pasážích v tkáňových kulturách. Současně a nezávisle na něm jsme prováděli obdobné pokusy v Polsku, abychom získali apatogenní kmen. Dosáhli jsme apatogenního viru po 23 pasážích (12 střídavých pasáží v prasečích tkáňových kulturách a na prasatech, a dále 11 pasáží v kulturách z prasečích ledvin).

Kontrola antigenních vlastností tohoto kmene ukázala, že je do jisté míry upotřebitelný pro výrobu vakcíny.

Ke konci bych chtěl vyslovit svůj názor o skutečné hodnotě vakcín z tkáňových kultur. Je jisté, že jsou velmi levné a že je lze snadno vyrobit. Avšak na základě rozboru výsledků vlastních a zahraničních pokusů (zvláště pokusů německých autorů, kteří měli k dispozici nejbohatší pokusný materiál) se mi zdá, že vakcíny s virem z tkáňových kultur mají slabší imunogenní účinek než vakcíny z viru z mozku. Tak je možno posuzovat výsledky laboratorních pokusů. Snad použití některých modifikací zvýší jejich hodnotu.

Je však též možné, že požadavky na zkoušení vakcín při laboratorních pokusech jsou příliš přísné. To platí jak o dávce, tak o způsobu infekce. Snad jsou vakcíny

z tkáňových kultur schopny zajistit dostatečnou imunitu proti přirozené infekci. Tuto otázku mohou však zodpovědět pouze masová očkování. Zdá se, že v Československu jsou nejlepší podmínky pro provádění takových pokusů.

S o u h r n

Podařilo se vyrobit z apatogenního viru Kloboukovy nemoci vakcínu, která se v Polské lidové demokratické republice osvědčila.

Bylo prokázáno, že vakcíny z tkáňových kultur jsou velmi levné a lze je snadno vyrábět.

Bylo zjištěno, že vakcíny vyrobené z nahromaděného viru na tkáňových kulturách mají slabší imunogenní potenci, nežli vakcíny vyrobené ze suspenze mozkomíšní.

Применение вакцин из тканевых культур против болезни Клобука

В Польской Народной Республике оправдала себя вакцина, изготовленная из непатогенного вируса болезни Клобука.

Было доказано, что вакцину из тканевых культур можно весьма легко и дешево изготовить.

Установлено, что вакцины, изготовленные из накопленного вируса на тканевых культурах, имеют более слабые иммуногенные способности по сравнению с вакцинами, изготовленными из спинномозговой суспензии.

Verwendung von Vakzinen aus Gewebskulturen gegen die Klobouk'sche Krankheit

Es ist gelungen, aus dem apathogenen Virus der Klobouk'schen Krankheit eine Vakzine herzustellen, die sich in der Polnischen Volksrepublik bewährt hat.

Es wurde nachgewiesen, daß Vakzinen aus Gewebskulturen sehr billig sind und sich leicht herstellen lassen.

Festgestellt wurde, daß die aus angehäuften Virus auf Gewebskulturen hergestellten Vakzinen eine schwächere immunogene Potenz aufweisen als die aus Gehirnrückenmarkssuspension hergestellten Vakzinen.

Zastosowanie szczepionek z kultur tkankowych przeciw chorobie Klobouka

Udało się wytworzyć z apatogennego wirusa choroby Klobouka szczepionkę, która dała w Polsce dobre wyniki.

Zostało stwierdzone, że szczepionki z kultur tkankowych są bardzo tanie i łatwe do produkowania.

Stwierdzone, że szczepionki wytworzone z wirusa nagromadzonego na kulturach tkankowych posiadają słabszy potencjał odpornościowy niż szczepionki wyprodukowane z płynu mózgowo-rdzeniowego.

Diskusní příspěvek k referátu přednesenému dr. Kubelkou

Sérologická diagnostika Kloboukovy nemoci

Dr. H. HAHNEFELD

Deutsche Landwirtschaftliche Akademie Berlin

Došlo dne 20. X. 1960

Výskyt nakažlivé obrny prasat v r. 1958 v budyšínském okrese (NDR) nám umožnil prošetřit sérologickým vyšetřením pomocí séroneutralizačních testů na tkáňových kulturách protilátky proti viru těšínské nemoci u prasat v chovech touto nákazou promořených.

Vyšetřování se provádělo ve třech zamořených obcích za 3, 7 a 9 měsíců po výskytu a zjištění manifestních případů Kloboukovy nemoci. Naším cílem bylo zachytit inaparentní formy nemoci, které probíhají bez klinických příznaků s prokazatelnou formou protilátek. Souběžně prováděná vyšetření v jedné obci okresu Greifswald, v níž se před tím nikdy nákaza nevyskytla, měla objasnit poměry protilátek u normálních prasat. Krev k vyšetření jsme odebírali zvířatům punkcí *vena cava cranialis* přímo ve vepřinech. Zvířata byla fixována smyčkou na horní čelisti. Technika neutralizačních testů byla zcela stejná, jako u M a y r a, jen s tím rozdílem, že jako udržovacího media pro virus a zředění sér jsme použili Hanksův solný roztok s 0,5 % laktalalbuminhydrolyzátu a antibiotik, ale bez přídavku séra. Ke zředěnému séru se přidával stejný objem viru pomnoženého na TK, při čemž směsi obsahovaly asi 1000 KID₅₀ na 0,1 ml. Po zahřívání ve vodní lázni po dobu jedné hodiny se těmito směsmi v množství 0,1 ml naočkovaly každým ředěním séra 4 kulti-vační zkušavky.

Již Mayr u nenakažených prasat zjistil, že se vyskytuje nespecifický titr 1:16 zvláště u starších zvířat, zatímco u experimentálně infikovaných a typicky onemocnělých zvířat byl pozorován titr až 1:1024. Hranice specifického titru je tudíž podle Mayra 1:16.

U klinicky inaparentních forem nakažlivé obrny prasat, které Mayr vyšetřoval, byly titry protilátek různé. Maximální titry dosahovaly hodnot až 1:512, u většiny zvířat však byly hodnoty podstatně nižší. Titr 1:32 byl ale zjištěn u každého prasete. Při dalším šetření považoval Mayr za nutné rozlišovat při inaparentních infekcích dvě různé formy průběhu nákazy.

Při formě I jsou prokazatelné vysoké neutralizační titry protilátek a současně protilátky precipitační. Při formě II, s nízkými neutralizačními titry, nebyly zjišťovány precipitační protilátky.

Hodnoty titrů u námi vyšetřených 30 nenakažených, kontrolních prasat odpovídaly výsledkům, které zjistil Mayr u zdravých zvířat. U žirných prasat do váhy 50 kg byly zjišťovány nejčastěji titry 1:8, nebo vůbec žádné seroneutralizační protilátky. U plemenných zvířat se titry pohybovaly poněkud od 1:8 až do 1:16. Jedinou výjimkou byl neutralizační titr 1:64, zjištěný u jednoho zvířete kontrolní skupiny, který nebylo možno zdůvodnit, ani anemnestickým ani epizootologickým nálezem.

Výsledky zjišťování protilátek u 71 zvířat ze zamořených obcí ukázaly, že titry protilátek příliš nekolísaly i když krev byla odebírána v různých časových intervalech. Asi u 40 % vyšetřovaných sér byl zjištěn titr vyšší než 1:16. Ostatní séra

byla stejná, jako séra kontrolních zvířat, 1 : 74 a 1 : 79 byly maximální titry, které jsme zjišťovali. Ty mohou odpovídat Mayrově formě II, i když jsme nezjišťovali precipitační protilátky.

Pro malý počet vyšetřených případů nemůžeme provést přímé srovnání našich neutralizačních výsledků s Hecke - o v ý m i studiemi o protilátkách, které získal při epizootii Kloboukovy nemoci v Horním Bavorsku.

Hecke zjistil po určité době značné zvýšení hladiny protilátek u prasat v zamořených obcích, což vysvětluje dalším tichým šířením infekce. Naše vyšetřování nám tento poznatek nepotvrdila. Zjistili jsme však skutečně vyšší titry protilátek v určitých chovech prasat, v nichž nebyly nikdy zaznamenány manifestní případy nakažlivé obrny prasat a naopak, našli jsme nízké, nebo žádné titry protilátek u nově zastavených prasat v kdysi zamořených hospodářstvích.

Na základě těchto výsledků je možno považovat seroneutralizaci na TK za cennou pomocnou vyšetřovací metodu při epizootologickém průzkumu při KN.

Simultánní (kombinovaná) a sdružená imunizace proti července a nakažlivé obrně vepřů (Kloboukově nemoci)

Симультанная (комбинированная) и совместная иммунизация против рожи
и энцефаломиелита свиней (болезнь Клобука)

Simultane und bivalente Immunisation gegen Schweineroßlauf und ansteckende
Schweinelähme (Klobouk'sche Krankheit)

MVDr. L. ROSSI

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

Došlo dne 20. X. 1960

Úvod

Veterinární služba zajišťuje zdravotní stav vepřů v rámci prevence veterinárně ochrannými opatřeními a imunoprofylaktickými zákroky zvyšuje odolnost vepřů, zejména proti července, moru a Kloboukově nemoci. Dosavadní pokyny k imunoprofylaktickým zákrokům doporučovaly samostatné zákroky proti každému nakažlivému onemocnění zvláště. Během doby se zjistilo, že často opakované vakcinace nejsou pro zemědělské závody ekonomicky zvláště výhodné a kromě toho mimořádně zatěžují pracovníky veterinární služby i pracující v zemědělských závodech. Pro zvýšení efektivnosti zemědělské velkovýroby by bylo proto výhodné, kdyby počet imunoprofylaktických zákroků při stejné imunizační účinnosti mohl být snížen.

Světový veterinární kongres v Madridu v roce 1959 doporučil studium sdružených očkovacích látek k současné imunizaci proti více nakažlivým chorobám.

V Biovetě v Ivanovicích na Hané bylo již v roce 1957 zahájeno studium kombinované vakcinace proti nejdůležitějším nákazám vepřů, tj. proti července, moru a nakažlivé obrně vepřů, zejména když světová literatura jak veterinární, tak i v humánní medicíně dokázala možnost imunizace kombinovaným způsobem očkování různými bakteriny, anatoxiny a virusovými antigeny.

Po rozsáhlých pokusech, provedených v ústavních stájích, byla předně studována kombinovaná současná vakcinace proti července a moru vepřů a též možnost sdružené vakcinace proti těmto nákazám.

Současná imunizace vepřů proti července a Kloboukově nemoci nebyla prakticky vyloučena. Ve starších návodech se nevyklučovala možnost současné imunizace proti července vepřů simultánní metodou a proti nakažlivé obrně vepřů adsorbátovou vakcínou.

Před lety dokonce P o k o r n ý tvrdil, že simultánní očkování proti července

veprů do určitého stupně zvyšuje odolnost proti Kloboukově nemoci. H a r n a c h potvrdil realnost pozorování o relativní vzdornosti vepřů imunizovaných proti července vepřů proti infekční obrně.

Z výkazů o nálezích MZ je patrný celostátní úbytek Kloboukovy nemoci, zejména v socialistickém zemědělském sektoru. B r a u n e r, U r s i n y - Ž u f f a, H e c k e aj. dokazují úspěšný příspěvek imunoprofylaktických zákroků při snižování nemocnosti. Jiné faktory, které se při vymycování nákazy uplatňují, nelze však přehlížet. Bylo by proto předčasné, kdyby se s poklesem nákazy omezovala profylaxe. Všeobecným požadavkem je dospět k rychlé likvidaci nákazy — k úplnému vymýcení KN na území ČSSR.

Období vymizení nákazy v určitých okresech a krajích se střídalo s náhlým lavinovitým vzplanutím nákazy. Přes všechna dosavadní vědecká zjištění o šíření nákazy, přece jen uniká prozatím odpověď na mnohou otázku. To je právě důvod, proč se nemůžeme vzdát imunoprofylaktického působení proti této nákaze. Při stoupajícím počtu úkolů, které nám ukládá naše zemědělství, se musí veterinární služba přizpůsobit tempu pokroku a hledat nové způsoby práce, kterými lze dospět k vyšší produktivitě a efektivnosti.

Proto jsme se zaměřili na objasnění možnosti současné a později sdružené vakcinace proti července a KN.

Vlastní práce

A. Nakoupeným selatům ze zdravých chovů socialistického a soukromého sektoru byla injikována současně adsorbátová vakcína proti července a adsorbátová vakcína proti KN. Vzhledem k současně prováděné zkoušce neškodnosti jednotlivých operačních čísel adsorbátové vakcíny proti KN bylo selatům injikováno 20 ml této očkovací látky a adsorbátové vakcíny proti července vepřů pouze 3 ml podkožně v krajině předkolenní řasy nebo na vnitřní ploše stehna.

Takto očkovaní běhouni, o váze přibližně 30 kg, byli po 3 týdnech, stejně jako při současné vakcinaci proti července a moru vepřů, infikováni 3 kmeny 18hodinové bujónové kultury b. červenky vepřů (2 laboratorní a 1 terénní kmen) skarifikací podle F o r t n e r a a D i n t e r a. Později, nejméně však 4 týdny po vakcinaci, byl těmto pokusným zvířatům ještě injikován i. c. virus KN, mozkomíšní emulze (ve zředění 10^{-3} , v dávce 1 ml).

Pravidelně denně se u očkovaných vepřů zjišťoval zdravotní stav jak po vakcinaci, tak po infekci.

B. V roce 1959 byla podrobena studiu sdružená (bivalentní) očkovací látka, složená z adsorbátové vakcíny proti KN a adsorbátové vakcíny proti července vepřů při stejné mitigaci očkovací látky formalinem (0,3 %) v poměru 3 díly vakcíny proti KN a 2 díly adsorbátové vakcíny proti července vepřů.

První skupině prasat byla injikována bivalentní sdružená očkovací látka jednorázově v dávce 8 ml podkožně. Při zkoušce účinnosti byla zjišťována imunita po infekci červenkovou kulturou a odolnost proti KN dávkou 1 ml mozkomíšní emulze ve zředění 10^{-3} i. c. aplikaci.

Druhá skupina prasat byla vakcinována a za měsíc revakcinována na druhé straně v krajině předkolenní řasy sdruženou vakcínou v dávce 8 ml.

Po proběhlé zkoušce neškodnosti byla za 4 týdny provedena zkouška imunity proti července prasat a za dalších 9 dní pak byla prověřena imunita proti KN intracerebrální infekcí 1 ml virulentní emulze, ve zředění 10^{-2} .

Úspěšné výsledky současné (kombinované) imunizace proti července a nakažlivé obrně byly pro Ministerstvo zemědělství důvodem pro uvolnění metodiky vakcinace k pokusnému prověření v praxi. (Výnos Ministerstva zemědělství č. 51.827 z dubna 1959.)

Výsledky zkoušek neškodnosti po současné (kombinované) a sdružené vakcinaci

Oba způsoby očkování neovlivnily nepříznivě zdravotní stav očkovaných prasat. Po celou dobu pozorování nebyla zjištěna zvýšená teplota. Zvýšení teploty nebylo rovněž pozorováno bezprostředně po provedených zákrocích. Prasata přijímala normálně krmivo a dobře se pohybovala.

Pouze v místech injekce bylo pozorováno zduření různé velikosti, které se během doby, jako po očkování každou jinou depotní očkovací látkou, změnilo v tuhé fibrozní zduření velikosti ořechu až kaštanu.

Abscedace v místě injekce byla zjištěna pouze ve zcela ojedinělých případech u kombinovaně očkovaných prasat po adsorbátové vakcíně proti července prasat.

U pokusných prasat, vakcinovaných sdruženou očkovací látkou, nebyla pozorována abscedace, nýbrž pouze poněkud větší fibrózní zduření než u kombinovaně očkovaných prasat. (Dávka vakcíny 8 ml.)

Prověрка účinnosti proti července

Účinnost současné (kombinované) jednorázové vakcinace dvěma vakcínami byla zjišťována u 72 běhounů váhy 30–40 kg (po dávce 3 ml adsorbátové vakcíny proti července vepřů).

I.

Pokus číslo	Počet prasat	Infekce po vakcinaci za dny	Výsledek		Kontroly
			neg.	poz.	
1	15	36	15	—	3 pos.
2	35	29–149	35		3 pos.
3	22	48–138	19 86,4 %	3 13,6 %	5 pos.
Celkem	72	29–149	69 95,84 %	3 4,16 %	11 pos.

Z tabulky I vyplývá, že doba od vakcinace do infekce činila 29–149 dní. Z celkového počtu 72 očkovaných prasat onemocnělo 69 prasat, tj. 95,84 % a bylo tudíž ještě v této době v plné imunitě proti července.

Pouze mírnými příznaky červenky vepřů (+ nebo ++) onemocnělo za 48 dní po vakcinaci jediné prase a ze skupiny očkovaných 138 dní před zkouškou účinnosti projevila 2 prasata mírné symptomy nákazy podél skarifikačních pruhů bez všeobecných příznaků.

Kontrolní prasata ve všech skupinách onemocněla typickými příznaky červenky vepřů. V místech skarifikačních pruhů mohly být změny hodnoceny +++ a +++. Dále byla u všech zjištěna vždy horečka, malátnost a nechutenství.

Z pokusu vyplývá, že

1. současnou vakcinací proti července a Kloboukově nemoci se vytvoří dostatečná imunita proti července vepřů;

2. současná aplikace adsorbátové vakcíny proti Kloboukové nemoci tedy neovlivňuje vytvoření imunity proti července vepřů.

Prověрка účinnosti proti Kloboukové nemoci

Současně imunizovaná prasata byla rovněž v různé době po vakcinaci infikována intracerebrálně standardním virem kmene Zábřeh.

II.

Pokus číslo	Počet prasat	Infekce po vakcinaci za dny	Po infekci	
			onemocnělo	neonemocnělo
1	55	22 – 65 dní	7 (12,7 %)	48 (87,3 %)
2	40	23 – 39 dní	9 (22,5 %)	31 (77,5 %)
3	55	25 – 66 dní	10 (18 %)	45 (82 %)
Celkem 150		22 – 66 dní	26 (17,77 %)	124 (82,23 %)

Vysoká imunizační jistota uvedená v tabulce II 82,23 % dokazuje, že při hodnocení způsobů očkování není prakticky rozdílu ve výsledcích zkoušek účinnosti po jednorázovém očkování stejnými dávkami adsorbátové vakcíny proti Kloboukové nemoci a po kombinované vakcinaci.

Kladné výsledky titrací u prasat vakcinovaných pouze adsorbátovou vakcínou proti Kloboukové nemoci jsou přibližně stejné.

Z výsledků pokusů vyplývá, že

1. současnou vakcinací proti července a Kloboukové nemoci se dosahuje vyhovující imunity proti Kloboukové nemoci,

2. současná aplikace adsorbátové vakcíny proti července prasat tedy neovlivňuje tvorbu imunity proti Kloboukové nemoci.

Účinnost sdružené (bivalentní) vakcíny proti července a Kloboukové nemoci

V tabulce III je uveden výsledek srovnávací titrace jednorázové a dvojrázové vakcinace.

III.

Pokus číslo	Počet prasat	Vakcinace dávkou	Revakcinace		Infekce za dny	Po infekci		Pozn.
			dávkou	za dny		neon.	onem.	
1	10	8 ml	—	—	27	7	3	kontr. 4
2	10	8 ml	8 ml	30	24 po rev.	10	—	5

Výsledky titrace u prasat jednorázově očkováných (pokus číslo 1) prokazují 70% imunizační účinnost sdružené vakcinace po podkožní aplikaci očkovací látky v dávce 8 ml, při infekci 1 ml mozkomíšní emulze zředěné 10^{-3} intracerebrálně.

V druhém pokuse byla za 24 dní po revakcinaci prasata infikována intracerebrálně jedním ml mozkomíšní emulze ve zředění 10^{-2} . Po této infekci neonemoc-

nělo žádné z vakcinovaných prasat při současném typickém onemocnění všech kontrol.

Z výsledku pokusu vyplývá, že

1. lze po revakcinaci dosáhnouti sdruženou očkovací látkou vysokého stupně odolnosti proti Kloboukové nemoci,

2. výsledek prověrky poskytuje výrobě očkovacích látek možnost zavedení nového druhu očkovací látky.

Prověrka imunity proti července prasat dala u všech pokusných zvířat kladné výsledky. První skupina prasat byla infikována za 21 dní po vakcinaci a druhá za 15 dní po revakcinaci obvyklým způsobem.

Po infekci nedošlo u očkovaných vepřů k onemocnění červenkou vepřů. U kontrolních zvířat byly již za 24 hodiny shledány typické příznaky červenky vepřů, jak lokální, tak všeobecné.

Výsledek prověrky imunity dokazuje možnost spolehlivé imunizace sdruženou vakcínou proti července a nakažlivé obrně vepřů (KN) zejména po revakcinaci.

Diskuse

Od roku 1931, kdy byly zveřejněny postupně Kloboukem exaktní experimentální důkazy o etiologii onemocnění prasat, byla snaha utlumit Kloboukovu nemoc veterinárně ochrannými opatřeními a imunoprofylaktickými zákroky. Proti nákaze bylo původně očkováno různými, méně nebo více mitigovanými očkovacími látkami, které byly vyráběny z mozkomíšní hmoty selat infikovaných virem Kloboukovy nemoci. Teprve výsledky experimentální práce Traubovy, později Kodrny vedly k prověření hodnoty a zahájení výroby depotní očkovací látky, adsorbátové vakcíny.

Tato očkovací látka pomohla snížit nemocnost natolik, že se nákaza na území ČSSR téměř nevyskytuje jako hromadné onemocnění prasat.

Proti července vepřů bylo až do roku 1954 hromadně očkováno metodou podle Lorenze.

Úspěšné experimentální hodnocení očkovací látky, vyrobené podle Trauby, pracovníky Biovety v Ivanovicích na Hané, uspíšilo zahájení výroby adsorbátové vakcíny proti července vepřů. Také tato očkovací látka se plně osvědčila v praxi ČSSR, jakož i v jiných státech.

Obě uvedené očkovací látky byly infikovány samostatně prasatům při vakcinaci a revakcinaci ve stanovených intervalech. Při imunizaci proti července prasat a Kloboukové nemoci musela tedy veterinární služba provést 4 úkony.

Časté očkování zatěžovalo jak pracovníky veterinární služby, tak pracující v zemědělských závodech a snižovalo produktivitu práce a její efektivnost. Požadavek snížení počtu úkonů při stejné ochraně proti oběma nakažlým byl tedy reálný i z hlediska zvýšení produktivity živočišné výroby.

Výsledky experimentálního prověření současné (kombinované) vakcinace proti oběma nakažlým dokazují, že tímto způsobem lze zvýšit odolnost proti oběma nakažlým, a že způsob imunizace plně vyhovuje potřebám praxe. To konečně prokázalo pokusné očkování, prováděné podle výnosu Ministerstva zemědělství č. 51.827 z dubna 1959 v terénu na 1500 prasatech.

Souhrn

1. Současná (kombinovaná) imunizace adsorbátovými vakcínami proti července a Kloboukově nemoci a imunizace sdruženou očkovací látkou byly vyhodnoceny v laboratorních pokusech na 242 a v praxi na 1500 prasatech.

2. Současná (kombinovaná) vakcinace neohrožuje zdravotní stav prasat a vytvoří požadovanou imunitu proti července prasat (100 %) a proti Kloboukově nemoci v 82,23 %.

3. Sdružená (bivalentní) vakcína proti oběma nákazám neohrožuje rovněž zdravotní stav očkovaných prasat a umožňuje vytvoření vysokého stupně imunity, zejména po revakcinaci za 28 dní. (100 %.)

4. Oba způsoby imunizace, zvláště sdružené očkování, sníží finanční náklady o více než 50 %, zvýší produktivitu práce veterinární služby a pracujících v zemědělských závodech, a kromě toho zlepši produktivitu a ekonomiku chovu prasat.

Literatura je k dispozici u autora.

Симультанная (комбинированная) и совместная иммунизация против рожи и энцефаломиелита свиней (болезнь Клобука)

1. Симультанная (комбинированная) иммунизация адсорбированными вакцинами против рожи свиней и болезни Клобука и иммунизация совместной вакцинацией были оценены на 242 в лабораторных опытах и на практике на 1500 свиньях.

2. Симультанная (комбинированная) вакцинация не влияет отрицательно на состояние здоровья свиней и образует требуемый иммунитет против рожи свиней (100 %) и против болезни Клобука — (82,23 %).

3. Совместная (бивалентная) вакцинация против обеих болезней также не влияет отрицательно на состояние здоровья вакцинированных свиней и образует высокую степень иммунитета, особенно после ревакцинации через 28 дней (100 %).

4. Оба способа иммунизации, особенно совместная вакцинация, снижают денежные расходы более чем на 50 %, повышают производительность труда как ветеринарного персонала, так и работников сельскохозяйственных предприятий, а кроме этого улучшают продуктивность и экономику свиноводства.

Simultane und bivalente Immunisation gegen Schweinerotlauf und ansteckende Schweinelähme (Klobouk'sche Krankheit)

1. Die kombinierte (simultane) Immunisation mit Adsorbatvakzinen gegen Schweinerotlauf und die Klobouk'sche Krankheit und die Immunisation mit einem bivalenten Impfstoff wurden im Laboratorium an 242 und in der Praxis an 1500 Schweinen überprüft.

2. Die Simultanimpfung bedroht den Gesundheitszustand der Tiere nicht und bietet die erwünschte Immunität: 100 % gegen Schweinerotlauf, 82,23 % gegen die Klobouk'sche Krankheit.

3. Die bivalente Vakzine bedroht ebensowenig die Gesundheit der Tiere und ermöglicht die Bildung eines hohen Immunitätsgrades, besonders wenn nach 28 Tagen revakziniert wird (100 %).

4. Beide Arten der kombinierten Impfung, besonders die zweite, senken die Kosten um mehr als 50 %, steigern die Produktivität der Arbeit des Veterinärdienstes und des landwirtschaftlichen Personals, sowie die Produktivität und Ökonomik der Schweinezucht.

Pokusná imunizace tkáňovou kulturou viru Kloboukovy nemoci, inaktivovanou krystalovou violetí

**Пробная иммунизация вируса инфекционного энцефаломиелита свиней
тканевой культурой, инаktivированной кристаллвиолетом**

Versuchsweise Immunisierung mittels Gewebeskultur des mit Kristallviolett inaktivierten Virus der Klobouk'schen Krankheit

Prof. dr. Sc. Richard HARNACH, MVDr. Ernest MESÁROŠ, MVDr. Vladimír PLEVA
Výzkumný ústav veterinární CSAZV v Brně, oddělení mikrobiologie a virologie

Došlo dne 20. X. 1960

Specifická profylaxe Kloboukovy nemoci (KN) v ohrožených chovech pomocí vakcinace se ukázala účinnou jistým snížením národohospodářských ztrát v chovech prasat. První vakcínu připravil akademik Klobouk s fenolovaným virem infekční obrny prasat; od té doby bylo připraveno několik dalších preparátů, především vakcína formolová a formoladsorbátová, pak éterová, chloroformová a také živá vakcína s adjuvanciemi. Hruška (1950) připravil a zkoušel novou vakcínu krystalvioleťovou z viru KN ve 20% mozkomíšní emulzi po osmidenní inaktivaci 0,5 % formalínem s přidáním krystalvioleťového barviva Du Pont. Měla účinnost dvoutměsíční a podle Hruškova údaje dávala lepší výsledky než vakcína formoladsorbátová.

Dosavadní výroba vakcín z mozkové tkáně činí značné nároky na spotřebu běhounů; proto je snaha nahradit mozkomíšní emulzi tkáňovými kulturami (TK) viru KN.

Po uveřejnění prací Enderse, Wellera a Robinse (1952), dále Dulbecca (1952) a Jounghera, Melnicka a spol. o úspěšné kultivaci poliomyelitického viru se rýsovala možnost aplikace této metody i na virus KN. To se zdařilo v roce 1955 Larskému Maitlandovou metodou množení virů na buňkách z embryonální ledviny prasat, dále Mayerovi a Schwöbelovi (1956) a Patočkově a spol. (1957), stejně jako Bourdinovi, Anastasiovi, Lépineovi, Jacototovi a Valléemu (1957), Bourdinovi, Serresovi (1959) a Mádrovi (1959).

Ukázalo se, že virus KN se vydatně množí na explantátech z embryonálních i dospělých tkání (fragmenty kůže, plic, ledvin — Weller a spol. (1952), a tak bylo již samozřejmé, že virus KN z tkáňových kultur bude moci být zkoušen na imunogenní vlastnosti.

Pokusy Patočky a spolupracovníků (1957) ukázaly, že prasata (váhy 15 kg) onemocní již 5. až 7. den po intrakraniální, resp. intratamické inokulaci

viru KN z TK, zředěného 10^{-1} až 10^{-6} . Autoři připravili z něho formolvakcínu, která se ukázala v modelovém pokuse na prasatech zcela neškodnou; když prasata byla za 21 dní revakcinována a za dalších 6 týdnů podrobena umělé infekci (400 LD₅₀ viru KN), zůstalo 50 % očkovaných uchráněno před infekcí. Tím bylo konstatováno, že imunizace TK je možná, i když v prvotní sestavě vakcína dala jen 50 % výsledků chráněnosti; průměrná efektivnost u běžného formoladsorbátu (ivanovického) se odhaduje asi na 70 %.

Možno předpokládat, že formalín je látka sice vhodná k mitigaci viru KN v mozkomíšní suspenzi s tkáňovými agregáty, sotva však pro obnažený virus z TK.

Výzkum s tkáňovou kulturou KN plánoval Hruška za účelem přípravy tkáňové vakcíny s krystalvioleťovým barvivem. Není známo, zda konal takové pokusy a případně s jakým výsledkem.

Vlastní pokusy

Plán s krystalvioleťovým barvivem na TK jsme počali realizovat v našem oddělení VÚV s použitím viru KN z TK, získaným od prof. Patočky; výsledky první skupiny pokusů — prozatím na 34 prasatech o 20–25 kg ž. v. — zde předkládáme.

Pracovní metodika

Příprava a zkouška krystalvioleťové vakcíny

Krystalvioleťové barvivo jsme aplikovali — na rozdíl od Hruškovy modifikace s formaladsorbátem — přímo na volný virus z TK.

Kultura. Naše vakcína byla připravena z tkáňové kultury KN viru „Praha“ o titru 10^{-4} , na prasatech o infekčním titru $10^{-2,5}$. Krystalvioleť v ethylen-glykolu byla užita v koncentraci 0,06 %. Virus ve vakcíně měl konečné ředění 4×10^{-4} . Jeho inaktivace probíhala 14 dní v termostatu při 37° C.

Zkouška infekciozity

Čistý TK virus byl vyzkoušen na infekciozitu na 4 prasatech intranazální aplikací s pozitivním výsledkem.

Zkouška neškodnosti vakcíny

Touto vakcínou byla očkována 3 prasata ve váze 20–25 kg intrakraniálně dávkou 1 ml/ks za účelem průkazu neškodnosti; všechna tři prasata zůstala zdravá.

Imunizace

a) Vakcinace provedena subkutánně na 2 prasatech dávkou 3 ml na 10 kg živé váhy, infekce intrakraniálně za 21 dní virem z TK v dávce 0,5 ml. Výsledek: obě prasata onemocněla KN.

b) Tři prasata očkována dvakrát intrakraniálně krystalvioleťovou vakcínou (dávkou 0,5 ml) a za 21 dní infikována intranazálně virem TK /2 ml/ks. Výsledek: všechna prasata onemocněla KN.

c) Dvě prasata očkována intranazálně dávkami 2 ml a za 3 týdny podrobena zkoušce imunity intranazální infekcí 2 ml TK viru KN. Výsledek: prasata nebyla chráněna, onemocněla KN.

d) Dvě prasata vakcinována intrakraniálně dávkou 1 ml a za tři týdny podrobena intrakraniální infekci virem KN z TK v dávce 0,5 ml. Výsledek: jedno prase zůstalo zdravé, druhé onemocnělo KN.

e) Skupina tří prasat vakcinována subkutánně jednou dávkou 3 ml/10 kg ž. v. a za tři týdny infikována 2 ml viru KN intranazálně. Výsledek: dvě prasata zůstala uchráněna, jedno onemocnělo KN.

f) Skupina 16 prasat byla subkutánně vakcinována dvakrát v intervalu 21 dní dávkami po 3 ml/10 kg ž. v. a za dalších 21 dnů infikována virem KN intranazálně v dávce 2 ml. Výsledek: jedenáct z nich zůstalo uchráněno před infekcí bez jakýchkoliv příznaků KN.

Tak v předběžných pokusech se sc. revakcinací tkáňovou krystalvioletovou vakcínou, námi připravenou proti KN, se prokázala chráněnost v 68,75 % proti intranazálně aplikovanému infekčnímu viru, což je velmi blízké průměru 70 % účinnosti formoladsorbátu ivanovického. Prasata ve váze 20–25 kg, imunizovaná subkutánně touto vakcínou, nejevila žádných příznaků KN ani před ani po vakcinaci.

Infekci intranazální jsme volili jako cestu nejvíce se blížící přirozené cestě vniknutí infekčního agens KN do organismu prasete.

Výsledky laboratorních zkoušek

V elektroforetické analýze bílkovin krevního séra jsme nenacházeli signifikantní změny v hodnotách jednotlivých frakcí v průběhu imunizace.

Vyšetřením mozkomíšního moku globulinovými reakcemi, kolargolovou podle Riebelinga, reakcí zlatosolovou, dále reakcí Pándyho a Nonne-Apelta jsme zjistili u prasat onemocnělých KN stejné výsledky jak jsou udávány jinými výzkumníky. U prasat, která po vakcinaci přežila infekci viru KN, nebyly zjištěny uvedenými globulinovými reakcemi žádné změny, jak bývají zjišťovány při infekci KN.

Klinické projevy. Během imunizačních pokusů byly sledovány i teplotní reakce, které — jak známo — provázejí toto onemocnění. Prasata, která po vakcinaci přežila infekci, neukazovala podstatných teplotních výkyvů, které by mohly svědčit pro inaparentní, případně latentní, nebo subklinickou infekci.

Histologické vyšetření. U všech prasat, infikovaných virem TK, respektive očkových krystalvioletovou vakcínou z viru TK, byl CNS podroben histologickému vyšetření. Výsledky odpovídaly změnám nacházeným při přirozené infekci a byly prokázány u prasat vakcinovaných, která neodolala následné umělé infekci virem KN.

Patologicko-histologické změny jsme však nezjistili u prasat, která bez klinické reakce přežila jak imunizaci krystalvioletovou vakcínou, tak i kontrolní umělou infekci virem KN.

Souhrn

S krystalvioletovou vakcínou, připravenou inaktivací obrnového viru z TK krystalvioletovým barvivem po dobu působení 14 dnů, jsme dosáhli těchto výsledků:

1. Krystalvioleťová vakcína se ukázala při intrakraniální aplikaci zcela neškodnou pro prasata.

2. Tato vakcína má při dvojí subkutánní imunizaci v intervalu tří týdnů ochrannou působnost vůči intranazální infekci virem KN; v našich pokusech se prokázala tato ochranná účinnost vakcíny v prvotní sestavě zatím v 68,75 %, jež je blízká průměru ochrany dosahované zavedeným již formoladsorbátem z mozkomíšní suspenze.

3. Dalších šest námi provedených modifikací s intrakraniální, intranazální a jednou subkutánní vakcinací nedalo žádoucích výsledků imunity.

Literatura u autorů.

Пробная иммунизация вируса инфекционного энцефаломиелита свиней тканевой культурой, инаktivированной кристаллвиолетом

В опытах с кристаллвиолетвакциной, приготовленной путем инаktivации вируса ИЭМ из тканевой культуры при помощи кристаллвиолетового красителя в течение 14 дней, мы достигли следующих результатов:

1. Кристаллвиолетвакцина проявилась при интракраниальной аппликации и оказалась вполне безвредной для свиней.

2. Эта вакцина, при двукратной подкожной иммунизации с 3-недельным интервалом, имеет защитное действие против интраназальной инфекции, вызванной вирусом ИЭМ; в наших опытах проявилась эта способность пока в 68,75 % случаев, что уже приближается к среднему % защитного действия формолдсорбирующего вещества суспензии головного и спинного мозга.

3. Дальнейших 6 нами произведенных модификаций с интракраниальной, интраназальной и одной подкожной иммунизацией не дало желательных результатов.

Versuchsweise Immunisierung mittels Gewebeskultur des mit Kristallviolett inaktivierten Virus der Klobouk'schen Krankheit

Mit einer Kristallviolettvakzine, die aus Gewebeskulturen des mit Kristallviolett innerhalb von 14 Tagen inaktivierten Virus hergestellt worden war, haben wir folgende Ergebnisse erzielt: 1. Die Kristallviolettvakzine war bei intrakranialer Applikation für Schweine durchaus unschädlich. 2. Diese Vakzine, zweimal im Intervall von 3 Wochen appliziert, schützt gegen eine intranasale Infektion mit dem Virus der Klobouk'schen Krankheit; in unseren Versuchen erreichte der Impfschutz der Vakzine der ersten Zusammensetzung 68,75 %, was dem durchschnittlichen Schutz der schon eingeführten Formoladsorbatvakzine aus Gehirnrückenmarksemulsion nicht ferne steht. 3. Weitere 6 Modifikationen mit intranasaler, intrakranialer und subkutaner Vakzination erzielten nicht die erwünschte Immunität.

Histologická diagnostika a diferenciální diagnostika Kloboukovy nemoci

Гистологическая и дифференциальная диагностика болезни Клобука

Die histologische Diagnose und die Differentialdiagnostik der Klobouk'schen
Krankheit

MVDr. Jaromír TRUNKÁT, MVDr. Ladislav PIVNÍK

Z VVS Pardubice a katedry patologické morfologie VF v Brně, vedoucí akademik
V. Jelinek

Došlo dne 20. X. 1960

Úvod

Sledujeme-li v literatuře kapitoly, pojednávající o změnách v CNS prasat, zjišťujeme, že se tato neustále rozšiřuje a upřesňuje. Rovněž se zpřesňuje klinická diagnostika chorob prasat, u nichž pozorujeme při klinickém vyšetření nervové příznaky, které však nemají v CNS zánětlivého podkladu.

V diagnostice infekční obrny prasat nám zůstává vedle klinického, epizootologického, případně virologického vyšetření i nadále podstatnou diagnostickou pomůckou histologické vyšetření CNS. Nahloučení velkého počtu prasat v společných stájích a na hlubokou podestýlku znamenalo též změněné podmínky v epizootologii, imunobiologii i v klinice této nákazy, neboť nám přibýlo inaparentních forem, zejména KN. Prolínání afekcí infekčních s afekcemi vyvolanými zoohygienickými nedostatky (např. mikroklima), případně dietetickými závadami (jak po stránce zdravotní nezávadnosti, tak i po stránce kvalitativního složení), klade při diagnostice těchto afekcí na klinika i laboratorního pracovníka zvýšené požadavky. Klinicky stejně se manifestující příznaky mohou být různé etiologie, případně podobné změny v CNS mohou vést k chybné diagnóze. To vše tedy histologickou diagnostiku neuroinfekcí prasat značně zkomplikovalo.

Nevýhodou histopatologického vyšetření je to, že se ho dá použít pouze u uhynulých nebo poražených prasat, tedy diagnóza za živa není možná, a dále, že nám i v promořeném prostředí neřekne nic o virusonosičích infekční obrny prasat.

V histologické diagnostice infekční obrny prasat plně platí původní nálezy Kloboukovy. Snahou pozdějších autorů (Domanský, Weidlich, Dobberstein Fischerová, Thordal - Christensen, Manuelidis a dalších) bylo prohloubit histologickou diagnostiku, zjistit lokalizaci procesů a diferenciálně diagnosticky odlišit tuto nákazu od infekcí jiné etiologie, avšak se změnami v CNS.

Vlastní histologický nález lze charakterizovat jako nehnisavý zánět mozku a míchy — *poliomyeloencephalitis non purulenta (sive lymphocytaria)* vyjádřený zánětlivými změnami lokalizovanými převážně v šedé hmotě míšní, v mozečku i mezimozku, při čemž bílá hmota mozková bývá méně zachvácená.

Intenzita změn histopatologickému nálezu je kromě na virulenci viru a imuno-biologickém stavu zvířete rovněž závislá na klinickém stadiu onemocnění. V pre-paralytickém stadiu je změn málo a jejich intenzita se stupňuje úměrně s dobou trvání paralytického stadia, takže nález u selete v premortálním stadiu a *post mortem* při akutním průběhu onemocnění nám obvykle podává plně rozvinutý histopatologický nález. Při přechodu do chronicity procesu je nález poněkud jiný.

Výrazné změny můžeme pozorovat na motýlku šedé hmoty míšní, kde jejich lokalizace je převážně ve ventrálních rozích míšních a kolem centrálního míšního kanálku. Mnohdy pozorujeme téměř difúzní infiltraci šedé hmoty míšní, přičemž dorzální rohy jsou zachváceny vždy méně a mnohé cévky obdané perivaskulárním infiltrátem tvořícím kolem nich jakousi jedno- i vícevrstevnou manžetu, vybíhají do bílé hmoty míšní. Někdy je též možno sledovat slabou ložiskovou lymfocytární infiltraci měkkých plen míšních.

V mozečku můžeme sledovat zánětlivé změny v šedé i bílé hmotě mozečkové, často s ložiskovou zánětlivou infiltrací a edémem. Ze *stratum granulosum* (jádrové vrstvy) do *stratum cinereum* (vrstvy molekulární) přestupují lymfoidní i gliové buňky a zastihují někdy úplně Purkyňovy buňky gangliové vrstvy. V bílé hmotě mozečkové můžeme pozorovat rovněž vaskulární infiltráty o různé intenzitě změn.

Ve čtyřhrbolí zjišťujeme změny v okolí centrálního kanálku, avšak tyto změny je možno sledovat i dále směrem ventrálním, tvořící solitární infiltrace.

Ve velkém mozku se vyskytují změny celkem zřídka. Při intracerebrální infekci zjišťujeme změny plen mozkových, které však můžeme přičíst spíše k traumatickým lezím než následku infekce. Nutno však upozornit, že výrazná lymfocytární infiltrace měkkých plen je téměř pravidlem na mozečku a v oblastech k němu přiléhajících i u spontánních případů nakažlivé obrny. Při intranazální infekci se častěji setkáme se zánětlivými změnami též na *bulbus olfactorius*.

Dosud řádně nedorozšířená je otázka degenerativních změn mozkových buněk. V mnohých případech pozorujeme degenerativní změny na gangliových buňkách, vakuolizaci, jindy zase scvrknutí a vymizení jader, případně úplnou *lysis* buňky. Mnohdy pozorujeme pravou, někdy však též nepravou neuronofagii. Nejčastější degenerativní změny na buňkách lze pozorovat v mozečku a v míše. Názory autorů se různí. Tak Manuelidis, Hartmanová a Sprincer označují vakuolizační procesy na Purkyňových buňkách a primární odúmrť četných nervových buněk v kůře mozečkové jako „nejmarkantnější znak“ pro infekční obrnu prasat. Naproti tomu maďarští autoři Körney a Elek, kteří nepozorovali dostatečnou odúmrť Purkyňových buněk, vyzdvihují jejich vnímavost vůči nedostatku kyslíku. Souhlasně s Dobbersteinem uvádějí zánik Purkyňových buněk jako sekundární následek gliózně-mesenchymální infiltrace korové vrstvy, k čemuž se kloní i Fischerová, která to bere jako pravidlo.

Při histologickém vyšetřování skutečně zjišťujeme degenerativní změny na jádrech Purkyňových i ostatních gangliových buněk, hlavně na motorických buňkách ventrálních rohů míšních a na Purkyňových buňkách gangliové vrstvy mozečku. Nemusí však být pravidelným nálezem a rovněž nejsou specifickým nálezem pro Kloboukovu chorobu. Je nutno rovněž neopomenout ten fakt, že mohou

být následkem autolytických pochodů v CNS, které při posuzování histologických preparátů můžeme s jistotou vyloučit jen u úplně čerstvě uhynulých nebo zabitých kusů. Podle Andrejeva odumřelé gangliové buňky tukově degenerují a mohou být nahrazeny zbuželou glií.

U subakutního a chronického průběhu Kloboukovy choroby změn v mozku ubývá a jak správně podotýká Moravec, je nutno je hledat. Histopatologickými nálezy u chronických případů se zabýval též Zendlka, který uvádí, že právě pro vleklejší formy Kloboukovy choroby je charakteristická převaha histiocytů a plasmatocytů, v zánětlivých infiltrátech.

Vlastní histopatologické změny jsou reakcí na pronikání viru do mozkové tkáně, případně na jeho pomnožení v mozkové tkáni, přičemž se zdá, že jsou zřejmě využívány lymfatické a krevní cesty. Sokol, Rozsocha a Špeník hodnotí lymfocytární infiltrace jako doklad toho, že v zachvácené části mozku proběhlo maximální zmnožení, případně zaktivování obrnového viru. Navazujeme na to pak předpokladem, že po inaktivaci či eliminaci viru z postižených míst, nastává postupné prořidnutí lymfocytárních infiltrací a postupná výměna volných kulatobuněčných elementů zbuželými gliovými elementy.

V akutním stadiu tvoří vlastní buněčné elementy v infiltrátu buňky mesodermálního původu (Michalka). Tvoří je s převahou lymfocyty, méně již nacházíme histiocytů a gliových buněk, případně jiných mononukleárů, nepatrně granulocytů eosinofilních a zcela ojediněle neutrofilních. S přibýváním chronicity procesu přibývá i histiocytů a gliových buněk. Při posuzování histopatologického nálezu v CNS nás zajímají ještě dvě otázky, a to, zda lze v akutním případě onemocnění z rozsahu změn v CNS soudit na dobu trvání choroby a za jakou dobu po infekci se objevují zánětlivé změny v CNS.

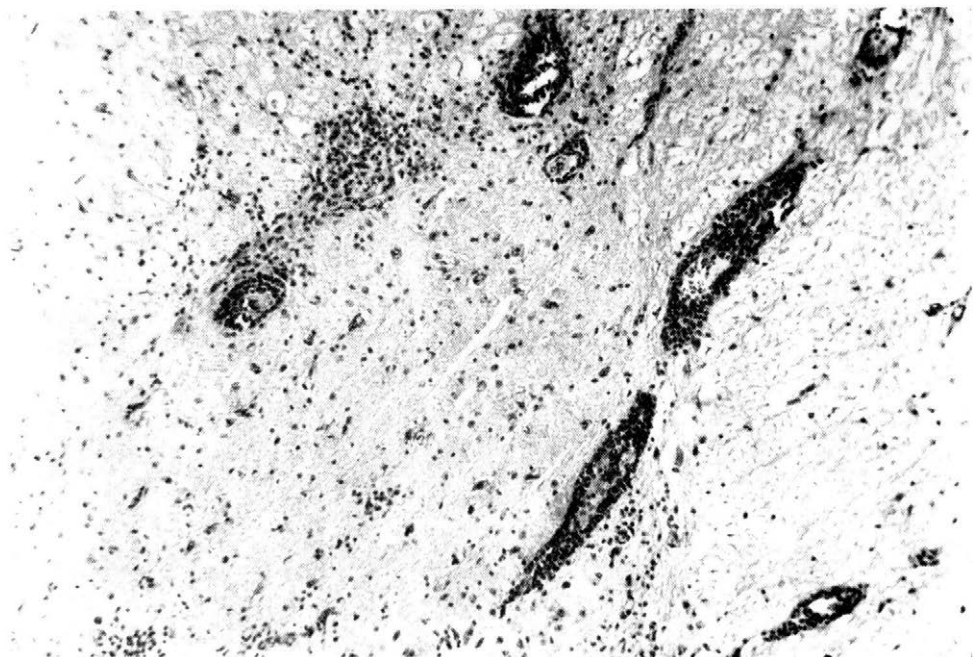
Na první otázku můžeme odpovědět jednoznačně: Podle rozsahu změn nelze soudit na stáří procesu, např. v tom smyslu, že nemůžeme podle histopatologického nálezu stanovit přesně den nakažení.

Druhá otázka je poněkud složitější. Dobbersteinovo tvrzení, že vaskulární infiltráty se objevují již v preparalytickém stadiu, nemá vždy svou platnost. Košťánský nenachází vždy markantních zánětlivých histopatologických změn v CNS u prasat infikovaných *ic.* nebo *in.* 20% mozkovou emulzí, i když prasata byla poražena ve stadiu, kdy projevují první klinické příznaky choroby. V té době se předpokládá rovněž maximální pomnožení viru v mozku. Fischerová ve své práci však zjišťuje při umělé infekci změny v CNS již po třetím dnu, i když ne příliš výrazné. Zdá se tedy, že obranná reakce RES-u v CNS zůstává pozadu za klinickými projevy nemoci, i když na druhé straně zase Mayr a Schwöbl dokázali svým inhibičním testem vzestup protilátek již před prvním objevením klinických příznaků obrny. Všeobecně se dá říci, že histopatologické zánětlivé změny v mozku přirozeně infikovaných prasat se objevují asi 7. až 9. den ode dne nakažení. Stává se, že k histopatologickému vyšetření dostaneme mozky dvou prasat z téhož kotce a od téhož majitele, z nichž u jednoho je nález při rutinním laboratorním vyšetření pozitivní, u druhého negativní na *encephalomyelitis non purulenta*. Někdy je tento poměr ještě větší, třeba 1 : 3. Uvědomíme-li si, že prasata s negativním nálezem v CNS byla třeba poražena v preparalytickém stadiu, kdy změn v CNS je málo a jsou málo výrazné, pak se nám celý tento případ objasní. Nutno připustit, že při provedení mnoha řezů z mozkové tkáně by se v takovém případě snad našel solitární případně perivaskulární infiltrát, avšak při běžné rutinní laboratorní praxi není tento postup zpracování většinou možný. Kromě toho je známo, že ojediněle

infiltráty i gliová ložiska možno nalézt poměrně často i u prasat uhynulých z nej-různějších příčin ba i u prasat jatečných. Negativní nález ve výše uvedených případech však budí v řadách nedostatečně zasvěcených praktiků nedůvěru k vyšetřování. Zapomínají, že je nutno hodnotit komplexně klinický, laboratorní a epizootologický nález. Rovněž nelze souhlasit s praktiky, kteří i přes nedostatečné anamnestické, epizootologické a klinické vyšetření v každém případě negativního nálezu v CNS prasete tvrdí, že šlo o Kloboukovu nemoc. V roce 1957 jsme v opavském SVVÚ vyšetřili celkem 4656 prasečích mozků. Z tohoto počtu bylo zasláno k vyšetření z jatek 3433 mozků, z čehož bylo 2307 mozků pozitivních na *encephalomyelitis non purulenta* a 1116 negativních, u 10 mozků byl nález jiný. U pitvaných selat byl zjištěn nehnisavý zánět mozku z 1212 případů pouze dvakrát. Uvážíme-li, že i když v počtu negativních mozků dodaných z jatek je zahrnuto určité procento vepřů nemocných Kloboukovou chorobou, avšak poražených dříve než se mohly zánětlivé mozkomíšni histopatologické změny markantně vyvinout, přesto je počet negativních nálezu dosti vysoký — tvoří téměř jednu třetinu celkového vyšetření a nutno hledat chybu v klinické diagnostice obrny za živa. Pokud však bylo histopatologického nálezu v CNS použito k případné diferenciaci nákazy, např. od alimentární intoxikace, u které může též být jeden ze symptomů choroby paréza končetin, pak je i toto číslo opodstatněné.

Z hlediska diferenciální diagnostiky s Kloboukovou nemocí přichází v úvahu choroby s klinickým projevem křečí a lokomočních poruch a dále choroby s histopatologickými změnami v mozku. Vlastní encefalitidy si můžeme rozdělit na 3 skupiny: nehnisavé, hnisavé a jiné. Z chorob, u kterých dochází ke vzniku nehnisavého zánětu CNS, přichází v úvahu diferenciálně diagnosticky Aujeszkyho choroba, mor prasat, vzteklna, serózní meningoencefalitida virového původu a dále zcela ojediněle se vyskytující encefalitická ložiska u chřipky selat. Úmyslně opomíjíme encefalitidy u některých nervových chorob prasat, které u nás dosud nebyly diagnostikovány (japonská *B encefalitis* a jiné). Histopatologická diferenciace je mnohdy velice těžká, ba někdy až nemožná. Velmi nám zde pomůže biologický pokus, jako je tomu u Aujeszkyho choroby, vztekliny a virové serózní meningoencefalitidy nebo speciální způsob barvení, jako je tomu při zjišťování Negriho tělísek u vztekliny. Vždy však je nutno řádně hodnotit klinický nález, epizootologické vyšetření a pitevní nález na zvířeti samém.

Z hnisavých zánětů CNS připadá v úvahu listeriová, streptokoková encephalitis nebo meningitis a záněty způsobené jinými pyogenními zárodky, např. *Bact. pyogenes*, *pyocyaneum*, *E. coli*, pasteurely a pod., což bývá při celkovém oslabení těla, kdy může dojít k bakteriemii a k zánětlivému onemocnění mozku, který se může stát za určitých predispozičních momentů, např. při avitaminóze A, jakýmsi *locus minoris resistentiae*. Jinou vstupní branou může být přestup přes *area cribrosa* dutiny nosní, např. při hnisavém zánětu výstelky nosních dutin. Další encephalitis a hlavně serózní leptomeningitis může být leptospirového původu. Převážně hnisavou encephalitis a spinální leptomeningitis zjišťujeme při infekční serozitidě a polyartritidě selat. U toxoplasmózy můžeme zjistit v okolí pseudocyst zánětlivé reakce v mozku, někdy však tyto mohou úplně chybět. Vzácně nacházíme při histologickém vyšetření eosinofilní *meningoencephalitis*. Eosinofilii v játrech prasat nacházíme častěji, v mozku se však eosinofilie vyskytují zřídka. Nutno zde ale připomenout, že tam, kde se mozky barví jen podle van Giesona, mohou lehce ujít pozornosti, jelikož eosinofilní granula se touto metodou neobarví a buňky infiltrátu se považují za jiné polymorfonukleáry. S m i t h ve své práci v roce 1957 poukazuje na podkladě svých pokusů s 53 prasaty na to, že otrava NaCl vyvolává v mnohých případech



Obr. 1. Změny v CNS se u Kloboukovy nemoci odlišují od jiných chorob zejména v míše převážně postižením šedé hmoty.



Obr. 2. Výrazná nehnisavá leptomeningitida je téměř pravidelným nálezem na mozečku u Kloboukovy nemoci.

eosinofilní encefalitidu. Pokud jsme však sledovali prokázané případy otravy NaCl u prasat, zjišťovali jsme v mozku degenerativní změny v buňkách s vakuolizací, avšak eosinofilii jsme dosud nezjistili. Zjištěné eosinofilní encefalitidy neměly určitého jasného etiologického podkladu. Gilko uváděná 2 % výskytu eosinofilních encefalitid, i když uvažuje též o jiné etiologii, se zdají být v porovnání s vlastním materiálem vysoká. Velice zřídka se vyskytne u prasat leptomeningitis event. též encephalomyelitis tuberkulózního původu. Tuto však lze téměř vždy mikroskopicky od ostatních snadno odlišit podle specifické skladby vznikající granulační tkáně.

Mor prasat

Tato nákaza prošla v posledních desetiletích změnou ve svém klinickém průběhu i v patologicko-anatomickém obraze. Přesto, že původcem je organotropní virus, nezjišťujeme pitvou již tak často příznaky septicemie jako u klasického moru, zato však klinicky můžeme mnohdy pozorovat cerebrospinální symptomy a histologicky pak změny v CNS.

Histopatologickým nálezem v mozku morových prasat se zabývala celá řada autorů (Zeifried, Röhrer, Eberbeck, Potel, z našich pak Doležel a jiní). Změny v mozku lze pozorovat podle těchto autorů asi v 70–80 % případů, podle Pallaskeho až v 90 %. Změny nacházíme roztroušeny po celém mozku, tj. jak v šedé, tak i v bílé hmotě mozkové a na rozdíl od infekční obrny prasat též výrazněji ve velkém mozku. Alterovány jsou převážně cévy, u nichž pozorujeme aktivaci až nápadné bujení endotelu, se souběžnými změnami regresivního charakteru. V sousedství cév můžeme mnohdy pozorovat výlevy krevní *per rhexin*. S přibývajícimi orgánovými změnami stávají se i změny v CNS více výraznými. Často se však stává, že pitevní nález bývá celkem nevýrazný. Tehdy pozitivní histopatologický nález nám pomůže při stanovení diagnózy. I při pozitivním nálezu v CNS nesmíme však opominout klinický a pitevní nález, případně i epizootologickou situaci.

Celkově možno říci, že gliové reakce jsou u moru oproti obrně méně výrazné a taktéž změny v míše nejsou zdaleka tak výrazné a nejví kromě toho zvláštní převahu v šedé hmotě.

Nervová forma moru prasat by mohla přijít diferenciálně diagnosticky v úvahu nejen při infekční obrně prasat, nýbrž i u Aujeszkyho chorobě, kde by histopatologická diferenciace byla téměř nemožná pro shodnou lokalizaci a charakter změn.

Aujeszkyho choroba

Může se u prasat projevovat jako forma nervová a septická. Sama o sobě působí diagnostika této choroby často potíže pro velkou početnost symptomů a pro různou vnímavost zvířat podle stáří. U selat pozorujeme onemocnění hlavně asi do stáří 4 týdnů, přičemž zdroj infekce je nutno hledat u prasnice, která se většinou zdá zdravá. Při histologickém vyšetření zjišťujeme změny v šedé i bílé hmotě mozkové, přičemž rozlišení od změn při moru prasat je někdy velmi nesnadné. Bývají někdy značně intenzivní a gliové reakce mnohdy překvapí svou mohutností. Poměrně často lze pozorovat i nekrobiózu zánětlivých infiltrátů. Na Aujeszkyho chorobu usuzujeme při nálezu nehnisavých encefalitických změn zejména v případech, kdy pitvou byly u některých kusů zjištěny drobné nekrózy v játrech, slezině a někdy i v plicích.

Pro rychlé stanovení diagnózy obou uvedených nákaz je mimořádně důležité vyšetřit co největší počet zvířat a jej vhodně zaslat k vyšetření všechna zvířata, která jsou k dispozici.

Konečnou diagnózu si zajistíme biologickým pokusem na králíkovi. Při vyšetřování jednotlivých případů je nutno též zjistit, zda se onemocnění nevyskytlo též u jiných domácích zvířat, případně u komensálů.

Vzteklina

Vyskytuje se u prasat celkem vzácně, přesto je vhodné se o ní zmínit již z toho důvodu, že tato nákaza je, i když ne u prasat, v jednotlivých krajích čas od času diagnostikována. K infekci dochází obvykle po pokousání nebo poškrábání infikovaným masožravcem. Po různě dlouhé inkubaci, závislé od místa pokousání a trvající 1–3 týdny, mnohdy i déle, následuje pak velice rychlý průběh onemocnění a k uhynutí dochází během 1–2 dnů. Objevují se chronické, jindy tetanické křeče a brzy po nich paralýza. Průkaz se provede zjištěním Negriho tělísek, případně biologickým pokusem.

Dalším onemocněním s histopatologickým nálezem v mozku a míše je *infekční serositis et polyarthritis* u selat. Histologicky zjišťujeme v mozku a míše v počátečním stadiu nemoci převážně nehnisavou leptomeningitidu, v dalším průběhu pak dochází v prostoru mezi arachnoideou a *pia mater* a částečně i mozku k prostoupení neutrofilními granulocyty. Taktéž centrální kanálek bývá silně napěchován fibriózním výpotkem a neutrofilními granulocyty. Histopatologický nález je podpořením klinického a pitevního nálezu.

U literiální meningoencefalomyelitidy je možno často nalézt značně rozsáhlé okrsky, kde převládají značně v infiltrátech monocyty a lymfocyty, což může svádět k úsudku na nehnisavý zánět virusového původu. Proto je důležité posoudit vždy celý preparát podrobně. Z tohoto hlediska je též důležité provádět bakteriologické vyšetření mozku systematictěji, než se dosud děje.

Diferenciálně diagnosticky jsou důležité i změny občas námi zjišťované, dosud neobjasněné etiologie, u níž ostatní okolnosti ukazují na infekční chorobu. Jde o gliové reakce různého rozsahu v bílé hmotě mozku, ale zejména míchy. Jelikož někdy je zasažena i šedá hmota a jsou i reakce ze strany adventicie cév, může být podobnost se změnami při nakažlivé obrně prasat značná. Též leukostase v cévách mozku, zejména při rozmístění bílých krevních elementů na obvodě lumina cévy, mohou tvořit dojem vaskulárních a perivaskulárních infiltrátů.

K degenerativním změnám v mozku dochází při avitaminozách A a B, které se u vepřů mohou vyskytnout hlavně v zimních a jarních měsících. Klinicky se nám onemocnění jeví kolísavou chůzí, nekoordinovanými pohyby a konečně ochrnutím končetin v různém stupni. Histologickým vyšetřením CNS zjišťujeme degenerativní procesy na gangliových buňkách a demyelinizaci nervových vláken.

Z hlediska klinické diagnózy je též zajímavý *hydrocefalus* (případně *encephaloporus*, event. *pseudoencephaloporus*), který se může vyskytnout i u více selat stejného vrhu a může dokonale imitovat infekční obrnu prasat. S Burešem jsme mohli sledovat nervové příznaky u selete asi 8 kg těžkého, které upadlo do křečí, objevoval se u něho nystagmus, avšak bylo u něho možno sledovat i období, kdy sele mohlo stát normálně na nohou a dělalo celkem dojem zdravého zvířete. Záchvaty se neustále stupňovaly a po uhynutí byl pitvou prokázán hydrocefalus.

Taktéž různá poškození míchy kontusemi nebo kompreseми imitují klinicky někdy vleklou formu Kloboukovy nemoci. K jejich odhalení je však někdy potřeba otevřít celý páteřní kanál.

Velmi závažná diferenciální diagnóza je u komplexu onemocnění zahrnutých pod stejný název alimentární intoxikace, kdy klinicky pozorujeme nervové příznaky, avšak histologický nále z až na degenerativní změny na buňkách je negativní. Nervové příznaky zde souvisí jednak s toxickým působením vstřebaných látek na nervovou buňku, jednak s různým stupněm oligoxemie, při kterém pak v organismu neprobíhá normální úplná oxydace, vznikají meziproducty kyselého charakteru a reakce krve je ohrožena ve smyslu acidózy. Diferenciaci u intoxikací provedeme pitvou, bakteriologickým vyšetřením a histologickým vyšetřením CNS.

Správné určení diagnózy může však i v této skupině chorob být ztíženo, a to tím, že i u smíšených karencí vitaminových a minerálních s následným vznikem intoxikace organismu prasat producty životní činnosti střevní mikroflory (enterotoxemie) se mohou vytvořit buněčné reaktivní změny, jak o tom referují Novikova Ivanov. Tito autoři popisují v takových případech hromadného hynutí prasat, kdy byly nakažlivé choroby vyloučeny, v mozku části prasat hyperemii, extravazáty krevní, bujení glie, u některých kusů i její difúzní proliferaci v bílé hmotě mozku a buněčné infiltráty kolem malých cév a kapilár. Též u zakrslíků s různým patologicko-anatomickým nálezem se někdy zjišťují v mozku histologicky obdobné změny, ovšem nevelkého rozsahu (Kotische).

Tím by byl ukončen stručný výčet diferenciálních diagnóz Kloboukovy nemoci z hlediska histologického, který jistě neobsáhl veškerou širokou paletu diferenciace této nákazy; přesto však doufáme, že se nám podařilo poukázat na širší diagnostickou problematiku této nákazy. Závěrem bychom chtěli říci, že za poslední léta se nám podstatně mění odchov prasat, v zemědělství přecházíme z malochovy k velkochovu, kde se nám nahloučením zvířat epizootologická situace vyostří, nebo mnohdy naopak zastře. Z toho důvodu musí veterinární praktik důkladně ovládat diferenciální diagnostiku i diagnostiku vlastní, aby mohl stanovit co nejpresněji za pomoci klinického, epizootologického a laboratorního vyšetření správnou konečnou diagnózu. Ta mu pak pomáhá k zavedení dalších účinných opatření.

Souhrn

V práci byla zhodnocena histologická diagnostika Kloboukovy nemoci. Byl proveden rozbor diferenciální diagnostiky celého komplexu onemocnění, která přicházejí v úvahu při diferenciální diagnostice histologických afekcí v CNS.

Гистологическая и дифференциальная диагностика болезни Клобука

В работе дается оценка гистологической диагностики болезни Клобука. Был проведен анализ дифференциальной диагностики общего комплекса заболеваний, которые следует учитывать при дифференциальной диагностике гистологических афекций в центральной нервной системе. (ЦНС).

Die histologische Diagnose und die Differentialdiagnostik der Klobouk'schen Krankheit

Die Arbeit enthält eine Auswertung der histologischen Diagnostik der Klobouk'schen Krankheit. Analysiert wurde die Differentialdiagnostik des ganzen Komplexes der Krankheiten, die für eine Differentialdiagnostik histologischer Veränderungen am Zentralnervensystem in Frage kommen.

Kloboukova nemoc z hlediska hygieny masa

Болельнь Клобука с точки зрения гигиены мяса

Die Klobouk'sche Krankheit vom Standpunkt der Fleischhygiene

Doc. MVDr. et RNDr. Miroslav DOBEŠ

přednosta katedry pro hygienu a technologii potravin živočišného původu, veterinární fakulta VŠZ, Brno

Došlo dne 20. X. 1960

Úvod

Dnes, kdy se Kloboukova nemoc vyskytuje nejen v ČSSR, ale i v NDR, Rakousku, Polsku, Jugoslávii, Maďarsku, SSSR, USA a na Madagaskaru, stává se stále více předmětem intenzivního zájmu veterinárních lékařů — potravních hygieniků, protože v řadě uvedených států nejsou dořešeny otázky prohlídky a posuzování masa. Přitom onemocnění způsobuje značné škody. Weidlich např. uvádí, že v roce 1940 bylo ve Slovinské republice v některých okresech postiženo 30—50 % všech prasat, z nichž 40 % uhynulo. Ke ztrátám dochází i na zvěřině. Bábík našel 28 nemocných divočáků, z nichž 4 uhynuli. V posledních letech, vlivem vakcinace, se situace lepší, jak je zřejmé z krajské jatečné statistiky (ČB), podle které bylo ze všech pozastavených kusů jatečných zvířat v r. 1954 25,14 % vepřů s Kloboukovou chorobou, v r. 1955 18,01 % a v roce 1956 17,4 %. Přesto je ročně ztraceno a znehodnoceno statisíce kg masa.

Pro hygienu potravin je důležitá patogenita viru. Je považován za patogenní pouze pro vepře, jak domácího tak divokého, a za nepatogenní pro člověka. Přesto se nyní stále více poukazuje na některé podobnosti epidemiologického charakteru (Pellegrini) nebo morfologické, jako velikost, nebo kultivace, tvorba protilátek, neurotropie apod. (Fortner, Scheuer) s virem poliomyelitidy lidské. Experimentální objasnění těchto domněnek může zásadně změnit názory na posuzování masa.

Vlastní práce

Prohlídka jatečného prasete za živa je založena na klinických příznacích nemoci. To znamená, že nález není vždy zcela spolehlivý, pro podobnost Kloboukovy nemoci s jinými chorobami. Rovněž Heckeho zjištění, že při koncentraci viru 10^{-4} jsou ještě klinické příznaky, kdežto při koncentraci 10^{-5} již nejsou, znamená, že nelze bezpečně na základě prohlídky za živa rozhodnout, která zvířata mají být porážena na sanitních jatcích. To podstatně snižuje hodnotu jatek jako protinákazového činitele. Proto snad bude nutné porážet na sanitních jatcích všechna prasata, pocházející z chovu, kde byla objektivně (histologicky) zjištěna

Kloboukova nemoc, a z epizootologických důvodů převést zásadně všechny domácí porážky na jatky.

Prohlídka masa nemá u Kloboukovy nemoci téměř význam a provádí se především proto, aby byly nalezeny i ty změny, které s Kloboukovou nemocí nesouvisí, ale ovlivňují posouzení. Na mase nenacházíme totiž žádné afekce, specifické pro Kloboukovu nemoc, vyjma občasné silnější nastříknutí cév v centrálním nervovém systému, zduření a překrvení sliznice nosní a pach po moči, který ihned po porážení mizí (Z á b o j n í k). Při dlouho probíhajícím onemocnění i hypostase plic, případně jejich oedem a perikarditidy (K o š t a n s k ý). Někdy i atrofie svalů.

Z pomocných zkoušek přichází v úvahu histologické vyšetření mozku a míchy, které je sice nejprůkaznější, ale nelze je z technických důvodů provádět u každého kusu. Bakteriologické vyšetření není opodstatněné, vyjímaje u horečkujících zvířat, protože je obvykle buď negativní nebo poskytne nález banálních nepatogenních mikrobů. Lze doporučit stanovení pH ve svalovině. Biologický průkaz viru je při prohlídce masa nepoužitelný, protože jediné pokusné zvíře je prase a jeho maso by bylo znehodnoceno.

Přítomnost viru v organismu vepřů a jeho lokalizace má pro hygienu masa vůbec největší význam. Je obligátně v mozku, míše a mozkomíšním moku, avšak pouze v období, počínajícím krátce před začátkem onemocnění a končící prvním nebo druhým dnem po nastoupení příznaků obrny. Je zde ve vysoké koncentraci, takže se podaří vždy mozkomíšní emulsi onemocnění přenést na další vepře. V ostatních orgánech, případně exkretech a sekretech se nalézá nepravidelně. V trusu se vyskytuje dosti často ve stejném časovém období jako v centrálním nervovém aparátu a přechází tak masivně do prostředí. V krvi bývá velmi krátkou dobu a v malé koncentraci, takže nepřekvapuje, že K l o b o u k jej zde neprokázal ve fázi horečky. D r a ž a n ani po použití osmsetkrát vyšší dávky, než je obvyklé u míchy, S c h ä f e r a H e y n e n jen nepřímo (nevznikly klinické příznaky, nýbrž zvířata po infekci virem onemocněla později), kdežto F i s c h e r našel virus v krvi selat, a to čtvrtý den po jejich umělé perorální infekci. Ve svalovině měl negativní výsledky F o r t n e r, dále S c h ä f e r a H e y n e n (*per os*) stejně jako M a r c i n, který vyšetřoval u vepřů poražených pro Kloboukovu nemoc na jatkách, svalovinu krční z blízkosti míšního kanálu, jakož i stehenní a lopatkovou (*s. d., s. c., i. n.*), při čemž M a r c i n u těžče prasat prokázal Kloboukovu nemoc histologicky i biologickým pokusem. V ostatních částech těl poražených vepřů nenalezli F o r t n e r, S c h ä f e r a H e y n e n virus ani v játrech, ani v plicích, ani ve slezině, ani v srdci, ledvinách a také ne v částech, které se nepoužívají jako potravina, tj. v žluči, slinách, nervu ischiadiku. V moči může být virus výjimečně přítomen. Uvedené negativní nálezy pochopitelně nevylučují možnost infekce popsaných orgánů, avšak je téměř jisté, že je v nich virus nejvýše zcela vzácně, v krátkých časových obdobích a v nízkých koncentracích, neschopných vyvolat klinické příznaky Kloboukovy nemoci.

Diferenciálně diagnosticky má veterinární lékař prohlídky masa vzít v úvahu mor prasat, červenku, Aujeszkeho chorobu, paratyf, artritidu, rachitidu, silné parazitární invaze (*ascariasis*), chřipku a intoxikaci solaninem.

Posouzení masa vychází u nás z nálezu při prohlídce za živa, výjimečně z histologie a z obecně platné zásady, podle které je maso infikované zárodky méně nebezpečné nákazy a s mírně sníženou biologickou hodnotou podmíněně požitelné. Mícha a mozek je nepoživatelný. Maso lze zpracovat do konserv, případně do výrobků dostatečně zahříváných. V některých státech nemají dosud vůbec předpisy pro posuzování masa.

Odolnost viru v masě a masných výrobcích je v základě dána skutečností, že patří mezi nejrezistentnější viry. Ve zmrazeném masě vydrží několik měsíců, čistý virus je ve zmrazeném stavu intaktní až 2 roky. Mozek a mícha je infekční i po 3 měsících zmrazení při -15°C . Hnijící mícha a mozek je infekční po 6 dnech a teprve po 21 dnech se virus inaktivuje (F o r t n e r). Teplota 45°C po 42 hod. na virus v mozkomíšni suspenzi nepůsobí, po 48 a 98 hod. oslabila virus tak, že nevyvolává klinické příznaky Kloboukovy nemoci. (P o s p í š i l.) Čistý virus bez balastních látek je ničen při 50°C za 20 minut (P a t o č k a a spol.) při 58°C za 10 minut, při 60°C za 2–5 minut, při 80°C za 10 vteřin (R e v o). Je-li v mozkomíšni suspenzi, pak na něj působí teplota 65°C až za 20 minut (P a t o č k a a spol.) a 70°C za 30 minut (F o r t n e r). Zdá se tedy pravděpodobné, že je inaktivován též virus případně přítomný v míše nebo mozku, jsou-li podle norem zpracovány do lahůdkového mozkového salámu, kde působí teplota $75-85^{\circ}\text{C}$ po 35–40 minut, nebo do jemné pomazánky s přísadou míchy, kde působí teplota $90-95^{\circ}\text{C}$ po 15–20 minut, a pak ještě teplota $68-70^{\circ}\text{C}$ po dobu 45 minut. U uzených výrobků, ovárených a pasterovaných nemůžeme rovněž předpokládat, že by došlo k inaktivaci viru. To potvrdily pokusy na ústavu pro hygienu a technologii potravin veterinární fakulty v Brně, při kterých byly vyrobeny uzenice z masa vepřů s Kloboukovou nemocí a zkrmovány selatům s negativním výsledkem. V neovárených (nepasterovaných) výrobcích — např. čajovky, trvanlivé salámy, — zůstává s velkou pravděpodobností intaktní, protože nakládání masa, používané při jejich výrobě, jej neničí ve 25% láku ani za 18 týdnů (K o d r n j a) ani po 30 dnech naložení a 2 dnech uzení (B r a u n e r). Uvedené výsledky mají význam pro objasnění možnosti rozvlékání viru odpadky z jídel.

Rozvlékání nákazy surovinami živočišného původu, zvláště odpady z jatek, je třeba rovněž sledovat. Již K l o b o u k upozorňoval na odpady z jídel a z jídel. K o š t a n s k ý sice neprokázal infekci z jatečných splašek po aplikaci p. o., avšak je jisté, že na sanitní porážce, kde vytéká hodně mozkomíšního moku by byl nález pozitivní. Mozek a mícha, která se na jatkách sbírá pro technické zpracování, se zmrazuje a expeduje do farmaceutických závodů. Tam se z ní vyrábí thrombokináza, lecitin a kefalín extrakcí etanolem, acetonem apod., jejichž účinnost kolísá podle použitého extrakčního postupu. Konečně také fekálie z jatečných stájí, je nutno zneškodnit přímo na jatkách, má-li být hygienická uzávěra úplná. Č e r n o v s k ý doporučuje zakvácení, protože prokázal, že inaktivuje při 25°C virus infekční obrny 10. den, při 9°C až 25. den.

Dezinfekce na jatkách se musí provádět razantnějšími prostředky, a při vyšších koncentracích. Virus snáší 0,5% roztok kyseliny karbolové po 48 hodinách, pH 2 po 20 hodinách jej inaktivuje; pH 2–pH 12 je bez vlivu (P a t o č k a). F o r t n e r pak uvádí, že NaOH 3% je bez vlivu, formalin 2% inaktivuje za 1,2 a 3 hodiny, chlorové vápno 1%, chloramin 1% mezi 1–2 hod., v hnisavém prostředí působí chlorové vápno 2% za 2 hodiny. Virus je tedy v bílkovitém prostředí vůči dezinfekci daleko odolnější.

Souhrn

V referátu byla probrána otázka Kloboukovy nemoci vzhledem k hygieně masa na základě některých novějších poznatků.

Za dnešní nálezové situace v Kloboukově nemoci bude účelné spolehlivě zajistit, aby všechna prasata, která pochází z chovů s Kloboukovou nemocí, bez

ohledu na výsledek prohlídky za živa, byla porážena zásadně na sanitních jatkách a v ohrožených oblastech převést všechny domácí porážky bez rozdílu na jatky. Tím se zabrání masivnímu zamoření virem Kloboukovy nemoci přímo v chovatelském prostředí.

Mozek a míchu prasat z chovů s Kloboukovou nemocí považovat vždy za nepoživatelné, stejně jako krev. Tuto krev nesusit v rozprašovacích sušárnách, nýbrž zpracovat pokud možno při kafilerických teplotách.

Maso zvířat s paralytickým stadiem KN vyšetřit na pH, případně bakteriologicky. Maso zvířat poražených na základě spolehlivě pozitivního nálezu při prohlídce za živa, tj. se zvýšenou teplotou a s příznaky, svědčícími nejvýše pro začátek obrny, posouditi jako podmíněně požitelné a určit pro sterilizaci a potom k prodeji do nuceného výseku.

Maso zvířat s příznaky jiného stadia Kloboukovy nemoci posoudit rovněž jako podmíněně požitelné, ale s určením na výrobu méně jakostních konserv, nebo do některých vysoce zahříváných výrobků.

Věnovat zvýšenou pozornost hygieně jatečního provozu, zvláště střevárně, splachování vepřových pülí a dezinfekci zařízení a odpadních vod.

Vytvořit v ČSSR světové koordinační středisko pro Kloboukovu nemoc a tam mimo jiné dosáhnout sjednocení předpisů pro prohlídku, posuzování a dovoz i vývoz masa ve vztahu ke Kloboukově nemoci.

Výzkumně dorešit problém vztahů viru Kloboukovy nemoci k viru lidské poliomyelitidy.

Болезнь Клобука с точки зрения гигиены мяса

На основании некоторых новейших данных в докладе был рассмотрен вопрос болезни Клобука в связи с гигиеной мяса.

При существующем состоянии заражаемости болезнью Клобука целесообразным будет принять надлежащие меры, чтобы всех свиней из неблагополучных по болезни Клобука хозяйств, независимо от результатов прижизненного осмотра, забивать принципиально только на санитарных убойных пунктах, а в угрожаемых районах весь убой без исключения производить только на бойнях, но не в коем случае не в хозяйствах. Таким образом можно предотвратить массовое заражение вирусом болезни Клобука непосредственно в самих свиноводческих хозяйствах.

Головной и спинной мозг свиней из неблагоприятных по болезни Клобука хозяйств следует считать безусловно несъедобным так же, как и кровь. Эту кровь нельзя сушить в распыляющих сушильнях, а надо перерабатывать по возможности при утилизационных температурах.

Мясо животных, находившихся в паралитической стадии болезни Клобука, необходимо исследовать на pH или подвергнуть его бактериологическому исследованию. Мясо животных, забитых на основании надежно положительного диагноза при прижизненном их осмотре, т. е. животных с повышенной температурой и с признаками, указывающими на начальную стадию паралича, следует считать условно годным и после стерилизации назначить его к продаже в мясных магазинах с дефектным мясом.

Мясо животных с признаками иной стадии болезни Клобоука нужно также считать условно годным, но предназначенным для производства менее качественных консервов или других до высоких температур нагреваемых продуктов.

Необходимо обратить повышенное внимание на гигиену и санитарию производства в боенских помещениях, в особенности в кишечном цехе, на обмывание свиных полутуш и на дезинфекцию оборудования и сточных вод.

Предлагается в ЧССР создать всемирный координационный центр по болезни Клобоука и, кроме прочего, достичь в нем унификации предписаний по осмотру, оценке и импорту, и экспорту мяса в связи с болезнью Клобоука.

Необходимо завершить научно-исследовательским путем решение проблем отношения вируса болезни Клобоука к вирусу полиомиелита человека.

Die Klobouk'sche Krankheit vom Standpunkt der Fleischhygiene

Im Referat wurde die Frage der Klobouk'schen Krankheit im Hinblick auf die Fleischhygiene auf Grund einiger neuerer Erkenntnisse erörtert.

Bei der heutigen Seuchensituation der Klobouk'schen Krankheit ist es angezeigt, verlässlich sicherzustellen, daß alle Schweine, die aus Zuchten mit der Klobouk'schen Krankheit stammen, ohne Rücksicht auf die Ergebnisse der Lebendbeschau grundsätzlich auf Sanitätsschlachthäusern geschlachtet werden und in den bedrohten Gebieten alle Hausschlachtungen in Schlachthäusern vorgenommen werden. Dadurch wird einer massiven Ausbreitung des Virus der Klobouk'schen Krankheit direkt im Zuchtbereich vorgebeugt.

Gehirn und Rückenmark von Schweinen aus Zuchten mit der Klobouk'schen Krankheit sind stets als untauglich zu betrachten, ebenso das Blut. Dieses Blut soll nicht in Sprühtrocknern getrocknet werden, sondern ist bei hohen Temperaturen zu verarbeiten (wie in der Kafflerie).

Das Fleisch von Tieren im paralytischen Stadium der KK ist auf pH Konzentration zu untersuchen, eventuell auch bakteriologisch. Fleisch von Tieren, die auf Grund eines verlässlich positiven Lebendbefundes, d. i. erhöhte Temperatur und Anzeichen einer beginnenden Lähme, zur Schlachtung kamen, ist als bedingt tauglich zu beurteilen und unterliegt der Sterilisation und dem Verkauf auf der Freibank.

Das Fleisch von Tieren mit Anzeichen eines anderen Stadiums der KK ist ebenfalls als bedingt tauglich zu beurteilen, aber mit der Bestimmung zur Erzeugung von Konserven zweiter Qualität oder in Erzeugnisse, die hohen Temperaturen ausgesetzt werden.

Eine erhöhte Aufmerksamkeit ist der Hygiene des Schlachthofbetriebes, besonders der Darmwäscherei, dem Abspülen der Schweinehälften und der Desinfektion der Einrichtung und der Abwässer zu widmen.

In der Tschechosl. Sozialist. Republik ist ein Welt-Koordinationszentrum für die Klobouk'sche Krankheit zu errichten und dort unter Anderem eine Verein-

heitlichung der Vorschriften für die Untersuchung, Beurteilung, Einfuhr und Ausfuhr von Fleisch im Hinblick auf die Klobouk'sche Krankheit zu erzielen.

Der Forschung obliegt es, das Problem der Beziehungen des Virus der Klobouk'schen Krankheit zum Virus der menschlichen Poliomyelitis endgültig zu lösen.

Příspěvek k likvorologii Kloboukové nemoci

Ликворология болезни Клобука

A Contribution to the Liquorology of the Klobouk's Disease

Tibor LAX

Veterinární fakulta VŠZ, Brno

Došlo dne 20. X. 1960

Úvod

Četné choroby u prasat se projevují velmi podobnými klinickými příznaky jako Klobouková nemoc (*polioencephalomyelitis enzootica suum*), takže jejich klinické odlišení naráží dosud na velmi značné obtíže. Máme na mysli především chorobné stavy projevující se příznaky nervových poruch, buď už ve směru excitace (předrážděnost, křeče, konvulze), nebo deprese (malátnost, paréza a paralýza). Na prvním místě stojí zde otázka exaktního klinického rozpoznání K. n. od jiných chorob zejména od toxikoinfekčních meningoencefalitid, edemové nemoci, Aujeszkého choroby a jiných. Slibné jsou v tomto směru sérologická vyšetřování, jak o tom referoval P a t o č k a a sp. Další cesty exaktního průkazu obrny budou možné pomocí izolace viru na tkáňových kulturách. Všechny tyto metody jsou však poněkud složité a vyžadují velmi dobrá laboratorní vybavení. Získávání moku mozkomíšního je pro praktické vet. lékaře mnohem přístupnější a provedení rozboru likvoru je možné i za jednoduchých laboratorních podmínek. Podaří-li se zjistit v likvoru nález specifický pro K. n., klinické rozpoznání této nákazy bude usnadněno. F r a n k h a u s e r (1953) zdůrazňuje obtíže při stanovení diagnóz nervových chorob u prasat vůbec, pro nesnadnou přístupnost zvířete a zvláště pak jeho CNS k podrobnějšímu vyšetřování.

Tato práce shrnuje výsledky vyšetření moku mozkomíšního získaného od 96 prasat, z nichž 68 trpělo v době odběru moku různými formami K. n. 64 z těchto případů je experimentální K. n. a 4 jsou terénní případy.

Materiál a metody

Vzhledem k tomu, že likvorologické údaje o moku zdravých prasat jsou minimální, bylo nutno vyšetřit nejprve zdravá prasata a stanovit cytologické a jiné hodnoty za fyziologického stavu. Zdravá prasata byla získána z plemenných chovů,

kde se enzootická bronchopneumonie, nebo jiné nakažlivé choroby nevyskytují, a z vlastního chovu naší kliniky.

Nemocná prasata pocházejí z ambulantní a polyklinické praxe II. interní kliniky v okolí Brna a přiléhajících i jiných oblastech a z Biovet v Ivanovicích na Hané a v Opavě, určených pro výrobu vakcín proti K. n., kde se provádějí experimentální infekce 1 ml virulentní mozkomíšni emulze intracraniálně.

Mok mozkomíšni byl získán od prasat lumbální nebo subokcipitální punkcí převážně v chloralhydrátové narkóze vyvolané 4 ml 5% chloralhydrátu na 1 kg ž. v. intraperitoneálně. Tlak moku mozkomíšního byl měřen manometrem podle Claude-a, a v některých případech pomocí vertikálně postavené pipety o vnitřním průměru 1 mm, spojené pomocí gumové hadičky a násadky s punkční jehlou. Vzorky byly vyšetřeny makroskopicky a mikroskopicky — cytologický obsah ve Fuchs-Rosenthalových komůrkách. Proteionové zkoušky: Pandy, Nonne-Apelt, Ross-Jones a jiné zkoušky zde uvedené byly prováděny obvyklým způsobem, jak to bylo popsáno již v dřívějších pracích. Vzorky moku byly vyšetřeny nejpozději do 24 hod. po odběru, mezitím uloženy při lednickové teplotě. Zjistili jsme, že — na rozdíl od některých literárních údajů — během 24. hod. při tomto způsobu uskladnění nedochází k podstatným změnám v cytologickém složení likvoru, nebo ve výsledcích jiných zde uváděných zkoušek.

V tabulce I je uvedeno několik ilustrativních případů.

Queckenstedtova reakce u 6 zdravých prasat vyvolala vzestup tlaku o 60 až 85 mm H₂O. Srovnáme-li případy K. n. u prasat punktovaných 9. den po infekci převážně již v paralytickém stavu s nálezy mozkomíšního moku prasat punktovaných 7 dní po infekci, zjišťujeme, že pleocytóza je mnohem častější v moku mm prasat 7. den po infekci než 9. den a také počet buníček je mnohem vyšší. Tato skutečnost ukazuje, že na začátku onemocnění převládá meningeální fáze, což se projevuje právě častější pleocytózou a výraznějšími hodnotami buněčných elementů. Později v průběhu nemoci buněčný obsah v mm moku klesá, kdy probíhá již fáze encefalitická.

Lymfocytární pleocytóza byla zjištěna u 6 z 10 prasat (60 %) při punkci 12 dní po infekci, ačkoliv zvířata byla až do okamžiku punkce bez příznaků klinického onemocnění; svědčí to o možnosti subklinicky probíhající infekce.

Diskuse

Na základě uvedených nálezů můžeme říci, že mok mozkomíšni zdravých prasat je čirá, bezbarvá tekutina. Ani po delším stání se z ní nevysráží sediment, nebo fibrin v podobě pavučinky. Tlak moku mm zjištěný při lumbální punkci v narkóze v pravé boční poloze se pohyboval v mezích 90—160 mm H₂O.

Jelikož speciální údaje o obsahu a složení moku mm u prasat jsou velmi skrovné (G y a r m a t i : 20 bb v 1 ccm moku, obecně vztahovaný na domácí zvířata), vyšetřil jsem nejprve klinicky zdravá prasata, pro orientační zjištění normálních hodnot.

Cytologický nález u zdravých prasat

V našich případech se pohybuje od 2/3—29/3 lymfocytů. V převážné většině případů zůstává cytol. nález pod 20/3; pouze ve dvou případech ze 23 je vyšší než 20/3. I když tyto poslední nálezy byly zjištěny u klinicky zdravých prasat,

I. Několik likvorologických náálezů u prasnů zdravých, při Kloboukové nemoci a intoxikační gastroenteritidě

P. č.	Ž. v. prasnů v kg	Klinická dg.	Způsob punkce		Tlak mm H ₂ O	Makroskopický vzhled				Pásky	Noone Appelt	Ross Jones	Celk. bílkov. (Kafka) mg %	Zlatozol (Fowcather)	Cytologický náález* (Fuchs - Rosenthal)			Poznámky
			Lumb.	Subok.	Nark & Claude	čirý	opal	bezbarvý	zkrvavý						č. č. k.	lymfo	leuko	
1/45	18		+		+	+		ZDRAVÁ	PRASATA	—	—	—			196	6	0	
2/46	17		+		+	+		+	+	—	—	—			91	10	0	
3/47	19		+		+	+	+	+	+	—	—	—			1216	5	0	
4/65	2		+		—	+		+	+	—	—	—		000000	157	20	0	
5/66	2		+		—	+		+	+	—	—	—			28	16	0	
6/52	30		+		+	+		+	+	—	—	—	26	000000	5	18	0	
7/54	35		+		+	+		+	+	—	—	—	27		26	7	0	
8/55	28		+		+	+		+	+	—	—	—	36		0	3	0	
9/57	35		+		+	+		+	+	—	—	—	36		6	15	0	
10/58	35		+		+	+		+	+	—	—	—			0	15	0	
11/59	30		+		+	+		+	+	—	—	—			0	3	0	
12/60	35		+		+	+		+	+	—	—	—	40		0	4	0	
13/61	40		+		+	+		+	+	—	—	—	28		2336	17	0	
14/62	30		+		+	+		+	+	—	—	—	25	00000	0	19	0	
15/63	30		+		+	+		+	+	—	—	—	28		14	24	0	
Prasata postižená Kloboukovou nemocí.																		
16/67	120	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+			783	158	0	Lymfocyt. pleocytóza. Terénní případ.
17/70	30	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+			210	77	0	Lymfocyt. pleocytóza. Terénní případ.
18/69	25	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+			9805	29	0	Lymfocyt. pleocytóza. Terénní případ.
19/71	15	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+			323	131	2	Lymfocyt. pleocytóza. Terénní případ.
20/73	22	5	+	+	+	+		+	+	+	+	+			444	89	0	Experimentální případ.
21/122	21	5	+	+	+	+		+	+	+	+	+			12	92	5	
22/75	22	6	+	+	+	+		+	+	+	+	+			896	46	0	
23/76	24	6	+	+	+	+		+	+	+	+	+		00012210	970	12	0	
24/77	18	6	+	+	+	+		+	+	+	+	+		00001210	5504	20	5	Pouze zlatozol jeví pat. změna.
25/80	26	6	+	+	+	+		+	+	+	+	+		00012110	40	4	0	
26/86	25	6	+	+	+	+		+	+	+	+	+		00012210	970	46	0	
27/94	20	7	+	+	+	+		+	+	+	+	+		00001210	10	40	0	
28/95	22	7	+	+	+	+		+	+	+	+	+			0	41	0	
29/96	16	7	+	+	+	+		+	+	+	+	+		0000	2	78	4	I plazmatická b., 4 křehové bñ.
30/97	22	7	+	+	+	+		+	+	+	+	+		0000	2	41	0	
31/100	20	7	+	+	+	+		+	+	+	+	+		000001110	12	19	0	
32/101	18	7	+	+	+	+		+	+	+	+	+		0001220	376	448	80	
33/111	18	7	+	+	+	+		+	+	+	+	+			21	25	0	Dubiozní cytol. hodnoty při silné výrazné klinické K. n.
34/129	18	9	+	+	+	+		+	+	+	+	+			6	2	0	
35/137	24	9	+	+	+	+		+	+	+	+	+			47	66	0	
36/149	20	11	+	+	+	+		+	+	+	+	+			1205	8	1	Albuminocytologická disociace
37/112	22	12	+	+	+	+		+	+	+	+	+			7	34	0	Dosud bez klinických příznaků.
38/114	18	12	+	+	+	+		+	+	+	+	+			90	10	0	
39/117	22	12	+	+	+	+		+	+	+	+	+			12800	525	1	Značná lymfocytární pleocytóza ukazuje na
40/118	20	12	+	+	+	+		+	+	+	+	+			12288	319	0	možnost subklinicky probíhající infekce K. n.
41/104	22	7	+	+	+	+		+	+	+	+	+		00010	7	29	0	15 dní po první neúspěšné, 7 dní po reinfekci.
42/105	22	7	+	+	+	+		+	+	+	+	+			1112	112	0	15 dní po první neúspěšné, 7 dní po reinfekci.
43/109	20	7	+	+	+	+		+	+	+	+	+		0001110	72	58	0	15 dní po první neúspěšné, 7 dní po reinfekci.
Prasata postižená gastroenteritidou s intoxikací.																		
44/150	35		+	+	+	+		+	+	+	+	+			10 496	531	0	Zmíněný hlas, edematózní víčka.
45/151	25		+	+	+	+		+	+	+	+	+			8	13	0	P. a. náález: <i>hemorag. gastroenterit.</i>
46/152	15		+	+	+	+		+	+	+	+	+	96, B. k. 0,5		35	22	0	P. a. náález: <i>hemorag. gastroenterit. akut., degenerace jater.</i>
47/153	25		+	+	+	+		+	+	+	+	+		012210	24	1007	81	P. a. náález: <i>katar až hemorag. gastroint. v likvoru albuminocytologická disociace.</i>
Punkce opakována za 9 dní			+	+	+	+		+	+	+	+	+			299	133	3	
48/154	25		+	+	+	+		+	+	+	+	+	98		699	6	0	P. a. náález: <i>gastroint. hemorag.</i>
49/155	15		+	+	+	+		+	+	+	+	+	38		312	28	0	Therap.: i. p. glukóza. Uzdravené.
50/157	14		+	+	+	+		+	+	+	+	+	58	0001110	1472	89	0	
51/159	30 Edmova choroba		+	+	+	+		+	+	+	+	+						
			+	+	+	+		+	+	+	+	+			12	4	0	Therap.: 150 ml 30% invertový i. p. Umělé krmivo <i>per os</i> . Uzdravené.
			+	+	+	+		+	+	+	+	+						P. a. náález: edém střední žaludku, <i>hemorag. enterit.</i> , edém kůže hlavy, transudace v dutině břišní a perit.
Aujeszkého nemoc																		
52/202	8		+	+	+	+		+	+	+	+	+	1200, B. k. 0,36		112	19038	927	Afonie.
53/203	7		+	+	+	+		+	+	+	+	+	24		4	11	0	Krátká inf. t. c. likvorem neomocnění. Krátké inf. mozkovou suspenci onemocněl typicky.
54/204	6		+	+	+	+		+	+	+	+	+	72		498	641	3	
55/205	12		+	+	+	+		+	+	+	+	+	114		337	2227	30	
56/206	6		+	+	+	+		+	+	+	+	+	28		2257	11	0	Sele oslepo v průběhu nemoci.

přece jsou podstatně vyšší než převážná část ostatních případů. To znamená, že kdybychom tyto nálezy považovali ještě za normální, připustili bychom možnost několikanásobného vzestupu počtu buněčných elementů nižších hodnot zjištěných v mezích $2/3 - 7/3$, které jsou velmi časté.

Tím by nám mohly uniknout případy skutečné pleocytózy. K tomu ještě, četní autoři zdůrazňují, že nelze stanovit přesnou hranici mezi patologickými a normálními hodnotami likvoru.

Soudím proto, že pravdivá skutečnost bude lépe vystižena, budeme-li považovat cytol. nález $0/3 - 20/3$ za normální, nález $21/3 - 30/3$ za dubiozní, a $31/3$ a vyšší za patologický.

Běžné globulinové zkoušky dávají s normálním mokem prasat negativní výsledky. Celkové množství bílkovin stanovené metodou podle K a f k y obnáší $24 - 40 \text{ mg } \%$.

Koloidní reakce zlatosolem dávají negativní výsledek, pouze ve 4. – 6. zkum. bývá někdy výchylka do I.

K likvorologickému nálezu při KO

Naše výsledky ukazují:

1. Mok mozkomíšni při nakažlivé obrně vepřů je čirý, bezbarvý.
2. Asi v 50 % případů do 24 hod. se z něj vysráží fibrinová pavučinka.
3. Globulinové zkoušky ukazují negativní, nebo lehce zvýšené hodnoty.
4. Cytologický nález ukazuje lymfocytární pleocytózu. Výskyt pleocytózy je závislý do určité míry na časovém faktoru: na pokročilosti nemoci v terénních případech nebo na odstupu mezi provedenou infekcí a odběrem moku mm při experimentálních případech.

Největší je výskyt a nejbohatší jsou hodnoty pleocytózy 7 dní po infekci = u 87,5 % případů. (Případy č. 93–101.) Téměř stejně vysoký – 85 % byl výskyt pleocytózy u prasat 5 dní po infekci (případy č. 122–128). Cytologický nález na 12. den po infekci se snižuje a výskyt pleocytózy je menší.

5. V četných případech, kdy cytologický nález bývá v mezích normálu, zjistil jsem patologické úchyly ve složení obsahu bílkovin projevující se změnou křivky zlatosolu znázorněného podle L a n g a (případy č. 76, 77, 79 a 80).

6. Případy č. 117, 118, 120 vykazující značnou lymfocytární pleocytózu u infikovaných prasat 12 dní p. i. obrnovým virem, dosud však bez klinických příznaků, připouští možnost subklinicky probíhající infekce, což je velmi časté při dětské obrně (Heine-Medin-ova nemoc, *Poliomyelitis anterior acuta*).

Vztah pleocytózy ke klinickým příznakům

Ze 68 vyšetřovaných vzorků likvoru prasat s K. n. klinické příznaky Kloboukovy obrny byly zjištěny u 55 prasat; 13 prasat bylo bez klin. příznaků.

Z 55 případů klinické obrny pleocytóza byla zjištěna u 35 případů, tj. 63 %.

Z 13 případů intracranálně infikovaných prasat bez klinických příznaků Kloboukovy obrny, pleocytóza byla zjištěna u 7 prasat, tj. 53,8 %.

Ze srovnání výskytu pleocytózy u klinických případů experimentální KO s případy latentními vysvítá, že pleocytóza je častější při klinických formách KO. Avšak velmi pozoruhodný je 53,8 % výskyt pleocytóz u případů „latentních“, do okamžiku provádění punkce bez klinických příznaků.

Tato skutečnost poukazuje na možnost výskytu i rozpoznání subklinických forem obrny, dají-li se vyloučit jiné příčiny pleocytózy.

Likvorová reakce na působení viru KO se projevila dále vznikem pavučiny v četných případech i cytologicky negativních.

Zjištěná dynamika pleocytózy ukazuje, že 5.—7. den po infekci je nejbohatší nález a v následujících dnech dochází k poklesu buněčných elementů. To odpovídá obecným pravidlům, která lze sledovat i v průběhu jiných neurotropních infekcí, jako u lidské poliomyelitidy. V pozdní fázi nemoci zjistili jsme i při K. n. albuminocytologickou disociaci.

Je-li mok obrnových prasat uschován v lednici, cytol. nález zůstává do 24 hod. v podstatě nezměněn: 122/3 a 118/3 (případ č. 146), 13/3 a 16/3 (případ č. 151).

Za 12 dní je již pokles cytol. obsahu značný: z původních 47/3 pokles na 11/3, čili z hodnoty pleocytózy na normální hodnotu (případ č. 141).

K případům intoxikace prasat

Při rozboru těchto případů snažil jsem se především zjistit možnosti klinického odlišení intoxikace prasat od nakažlivé obrny vepřů, jelikož obě tyto choroby se vyskytují velmi často v praxi a jejich diferenciaci může být velmi nesnadná. Některé naše údaje o intoxikacích skotu, jakož i některé humánní případy naznačují, že při intoxikaci může být likvorologický nález negativní. V tomto případě by bylo klinické odlišení zmíněných chorob prasat — platí-li tato analogie i pro prasata — velmi usnadněné.

O likvorologickém nálezu u prasat při alimentární intoxikaci nemáme zatím zprávu.

U případu č. 44/150 zjištěna značná lymfocytární pleocytóza: 531/3 lymfo při prudké hemoragické gastroenteritidě s intoxikací.

V případě č. 45/151 zjištěna albuminorhachie s normálním počtem elementů u intoxikovaného selete v paralytickém stavu.

Likvor selete s hemoragickou gastroenteritidou a intoxikací reaguje silně pozitivně na globulinové zkoušky podle Pándyho, Ross-Jonese a Nonne-Apelta, bílkoviny v moku jsou zmnoženy: celkové bílkoviny: 96 mg%, B. K. 0,5 při dubiozním cytol. nálezu. (Albuminocytologická disociace.) (Případ č. 46/152.)

Případ č. 47/153 selete jevícího příznaky meningoencefalitidy pravděpodobně následkem alimentární intoxikace, ukazuje rovněž značnou pleocytosu s albuminorhachií. V průběhu onemocnění pleocytóza se snížila; hodnoty bílkovin zůstávaly stále zmnoženy.

Případ č. 50/157 — toxikoinfekční meningoencefalitidy ukazuje lymfocytární pleocytózu a proteinorhachii v moku mm. s pozitivními globulinovými reakcemi a se zmnožením bílkovin: 58 mg%.

V případě č. 156 jsou bílkovinné i cytologické hodnoty moku mm. při intoxikaci v normálních mezích.

V případě č. 48/154 je opět silná albuminocytologická disociace s celkovým množstvím bílkovin 98 mg%.

U případu č. 50/157 stojí za zmínku zlepšení stavu dosaženého včas zaváděnou parentální a pak enterální umělou výživou. Potřeba umělé výživy se ukázala, jelikož bylo zjištěno ochrnutí bulbárních nervů v průběhu intoxikační meningoencefalitidy. Intraperitoneální podávání glukózy nebo invertózy je málo známé v terapii chorob prasat. Oprávněnost této léčby je podepřena názorem, že hlavní výživou nervových bb. mozků je glukóza; zvýšený přívod glukózy může tedy zmírnit komatózní stav a zlepšit činnost nervových buněk. Hormonální léčba

na podkladě stresové teorie se zakládá do určité míry rovněž na principu mobilizace cukru.

Hodnotíme-li celkově případy gastroenteritid s intoxikacemi u prasat probíhajících za velmi zřejmých poruch nervových, můžeme říci, že likvorologický náález se vyznačuje ve většině případů zvýšeným obsahem bílkovin, často spolu s lymfocytární pleocytózou, vzácněji při albuminocytologické disociaci. V některých případech zůstává cytologický náález i bílkovinný obsah v normálních hodnotách.

Jedině na základě likvorologického nálezu nelze proto odlišit intoxikační g. e. od KO.

Případ č. 51/159 ukazuje, že při edémové chorobě může být likvorologický náález v mezích normálu.

K případům Aujeszkyho nemoci prasat

V moku mozkomíšním selete (případ č. 52/202) onemocnělého Aujeszkyho nemocí za velmi nápadných příznaků poruch pohybových a nervových bylo zjištěno enormní množství 1200 mg % celkových bílkovin (Kafkovou metodou), B. k. 0,36. Globulinové reakce Pándyho, Nonne-Apelta, Ross-Jones byly velmi silně pozitivní. Cytologický náález ukazuje enormní pleocytózu kolem 20 000/3 leukocytů, převážně malých lymfocytů. Zlatosol ukazuje hluboký cíp ve středních zředěních. Obdobně velmi výrazná proteinorhachie a pleocytóza s převahou lymfocytů byla zjištěna v dalších případech infekční bulbární paralýzy (morbus Aujeszky) s významnými klinickými symptomy u selat, případy č. 54/204, 55/205.

Případy č. 53/203 a 56/206 u proběhlé nebo již delší dobu trvající Aujeszkyho nemoci ukazují již normální hodnoty likvorologické.

Likvorologické nálezy při Aujeszkyho nemoci můžeme tedy charakterizovat silnou pleocytózou a převahou lymfocytů a značnou proteinorhachií. Zjištěné nálezy likvorové znamenají velmi široké možnosti variability změn v moku mm při Aujeszkyho nemoci.

Souhrn

Mok mozkomíšní 96 prasat byl vyšetřen nejméně jednou, a v některých případech opakovaně. 22 prasat z uvedeného počtu byla zdravých. Zbývajících 74 případů shrnuje klinické případy a experimentálně nakažená zvířata. Likvorologický náález při Kloboukově nemoci byl sledován u 64 případů experimentálně infikovaných prasat a u několika dalších terénních případů.

Autor zjistil: Mok mozkomíšní zdravých prasat je čirá, bezbarvá tekutina. Obsahuje 0/3—20/3 buněčných elementů, hlavně lymfocytů a vzácně jeden nebo dva segmentované leukocyty. Autor považuje hodnoty 20/3—30/3 za dubiozní, i když v některých případech se vyskytovaly i u klinicky zdravých prasat. Cytologické hodnoty 31/3 a vyšší jsou považovány za patologické. Reakce Pándyho, Ross-Jones, Nonne-Apelt jsou negativní s normálním mokem zdravých prasat. Celkové množství bílkovin stanovené Kafkovou metodou obnáší 24—40 mg %. Zlatosol (Fowweather) je negativní; pouze někdy ve zkumavkách 4 a 5 dochází k výkvěmům do I.

Mok mozkomíšní u prasat při Kloboukově nemoci je čirý, bezbarvý. Asi v polovině případů se objeví do 24 hod. fibrinová pavučinka. Globulinové zkoušky jsou negativní nebo slabě pozitivní. Cytologický náález: lymfocytární pleocytóza v převážné většině případů. Výskyt pleocytózy v moku mm 5. den po infekci

je: 85 % případů. 7. den po infekci byla zjištěna pleocytóza u 87,5 % případů. Pleocytóza se do 12. dne po infekci snižuje.

U prasat infikovaných intracranálně virem K. n. byla zjištěna lymfocytární pleocytóza v 53 % i v těch případech, kdy prasata zůstala až do punkce bez klinických příznaků onemocnění.

V pozdějším paralytickém stadiu obrny zjistil autor albuminocytologickou disociaci v moku mm.

Mok mm prasat trpících klinickou formou Kloboukovy nemoci, s pleocytózou a albuminorachií, nevyvolal příznaky onemocnění u vnímavého selete po intracranálním vstříknutí. Sele však po i. cran. reinfekci virulentní mozkomíšni suspenzí podleho klinickému onemocnění nakažlivou obrnou.

Při alimentární intoxikaci (gastroenteritis s intoxikací) často zjistil autor pleocytózu a proteinorachii. Albuminocytologická disociace nebo i negativní likvorologické nálezy byly zjištěny také dosti často.

Intraperitoneální aplikace 30 % inverózy prasatům s příznaky těžkých poruch motility a činnosti CSN (bulbární paralýza) a umělé krmení *per os* (pro ochrnutí polykacích svalů) vedly v několika případech k velmi dobrým výsledkům a vyléčení.

V moku mm prasat trpících Aujeszkyho nemocí za těžkých příznaků poruch CSN zjistil autor velmi silnou pleocytózu: až 20 000/3 s převahou lymfocytů, za současné proteinorachie 1200 mg % celkových bílkovin s bílkov. kvocientem 0,36. Pándy, Nonne-Apelt, Ross-Jones byly velmi silně pozitivní. Zlatosol (Foweather): 00123210.

Mok mm prasat v akutní fázi Aujeszského nemoci vstříknutý podkožně králíkovi nevyvolal žádné příznaky infekční bulbární paralýzy.

Literatura u autora

Ликворология болезни Клобука

Спинномозговая жидкость 96 свиней исследовалась не менее одного раза, а в некоторых случаях это исследование проводилось повторно. Из указанного числа 22 свиньи были здоровыми. Остальных 74 — представляли собой клинические случаи заболевания и экспериментально зараженных животных. Ликворологический диагноз при болезни Клобука изучался в 64 случаях экспериментально зараженных свиней и нескольких других случаях заболевания на местах.

Автор установил, что спинномозговая эмульсия здоровых свиней представляет собой прозрачную, бесцветную жидкость, которая содержит 0/3 — 20/3 клеточных элементов, главным образом лимфоцитов и изредка один или два сегментированных лейкоцита. Автор считает величины 20/3 — 30/3 сомнительными, даже если в некоторых случаях они и встречались у клинически здоровых свиней. Цитологические величины 31/3 и выше считаются патологическими. Реакции Панди, Росс - Джонс, Нон - Апелт со спинномозговой жидкостью здоровых свиней отрицательны. Общее количество белков, установленное по методу Кафки, составляет 24—40 мг %. Гистологическая реакция «Златосол» (Foweather) отрицательна, только иногда в пробирках 3 и 4 наблюдаются отклонения до I.

Спинномозговая жидкость свиней при болезни Клобука прозрачная и бесцветная. Примерно в половине случаев в течение 24 часов появляется фибриновая паутина. Глобулиновые анализы негативные или слабо позитивные. Цитологический анализ: лимфоцитарный плеоцитоз в подавляющем большинстве случаев. Наличие плеоцитоза в спинномозговой жидкости на 5-ый день после заражения составляет 85 % случаев. На 7-ой день после инфекции был установлен плеоцитоз в 87,5 % случаев. Плеоцитоз на 12 день после заражения снижается.

У свиней, интракраниально зараженных вирусом болезни Клобука, был установлен лимфоцитарный плеоцитоз в 53 % даже и в тех случаях, когда свиньи до самой пункции остались без клинических признаков заболевания.

При более поздней паралитической стадии энцефаломиелита свиней автор установил альбумино-цитологическую диссоциацию в спинномозговой жидкости.

Спинномозговая жидкость свиней, страдающих клинической формой болезни Клобука, с плеоцитозом и альбуминорахией, у здорового поросенка после интракраниального введения не вызвала признаков заболевания. Однако поросенок после псевторной интракраниальной инфекции вирулентной спинномозговой суспензией погиб от клинического заболевания инфекционным энцефаломиелитом.

При алиментарной интоксикации (гастроэнтерит с интоксикацией) автор часто устанавливал плеоцитоз и протеинорахию. Альбуминоцитологическая диссоциация или даже отрицательные ликворологические результаты также встречались довольно часто.

Интраперитонеальные применения 30 % инвероза у свиней с признаками тяжелых нарушений подвижности и деятельности центральной нервной системы (бульбарный паралич) и искусственное кормление *per os* (в связи с параличом глотательных мышц) в некоторых случаях дали очень хорошие результаты лечения.

В спинномозговой жидкости свиней, страдающих от болезни Ауески, при тяжелых признаках нарушения центральной нервной системы автор установил очень сильный плеоцитоз: до 20000/3 с преобладанием лимфоцитов, при одновременной протеинорахии 1200 мг% общих белков коэффициентом 0,36. Гистологические исследования Панди, Нон-Апельт, Рос-Джонс были сильно позитивными. Исследование «Златосол» (Fowweather): 00123210.

Спинномозговая жидкость свиней в острой фазе болезни Ауески, подкожно введенная кролику, не вызвала никаких признаков инфекционного бульбарного паралича.

A Contribution to the Liquorology of the Klobouk's Disease

The cerebrospinal fluid of 96 pigs has been examined at least once, in some cases repeatedly. 22 of the pigs were healthy. The remaining 74 were clinical cases or experimentally infected animals. The liquorological findings in KD were studied in 64 experimentally infected pigs and in some further field cases.

The author found the cerebrospinal fluid of healthy animals to be a clear and colourless liquid, containing 0/3 — 20/3 cell elements, mainly lymphocytes and rarely 1 or 2 segmented leukocytes. Values of 20/3 — 30/3 are considered by the author to be dubious, even if in some cases they were also encountered in clinically healthy pigs. Cytological values of 31/3 and higher must be considered to be pathological. Pandy's, Ross-Jones and Nonne-Apelt's reactions are negative in the CSF of healthy pigs. The total proteins determined by Kafka's method amount 24—40 mg%. The goldsol test (Fowweather) is negative, only sometimes a deviation up to I may occur in test tubes 4 and 5.

The cerebrospinal fluid in KD is clear and colourless. Half of the cases show a fibrinous cobweb after 24 hours. The globuline tests are negative or faintly positive. The cytological findings: pleocytosis in the greater part of the cases. 5 days after infection the pleocytosis in the liquor is found in 85 %, after 7 days in 87,5 %, the 12th day the pleocytosis begins to decrease.

In pigs intracranially infected with the KD virus a lymphocytic pleocytosis occurred in 53 %, even in cases, where the pigs had been without clinical signs till the puncture.

Later on, in the paralytic stage of the disease the author found an albuminol-cytological dissociation in the liquor.

The cerebrospinal liquor of pigs with clinical signs of KD showing pleocytosis and albuminorachia did not produce the symptoms of the disease in a susceptible piglet after intracranial injection. After intracranial reinfection with virulent brain-marrow suspension the piglet succumbed to a clinical form of infectious swine paralysis.

In alimentary intoxications (gastroenteritis with intoxication) the author often found pleocytosis and proteinorachia. Albumino-cytological dissociations or negative liquorological findings have also been found quite often.

The intraperitoneal application of 30 % invertose to pigs with signs of severe motility disturbances and with disturbances of the functions of the CNS (bulbar para-

lysis) and also artificial feeding per os (because of the paralysis of the chewing muscles) led, in some cases, to remarkable recoveries.

In the liquor of the pigs with Aujeszky's disease with severe symptoms of affection of the CNS, the author found a very strong pleocytosis up to 20.000/3 with prevailing lymphocytes, together with proteinorhachia 1200 mg% and the protein-quotient 0,36. The Pándy's, Nonne-Apelt's and Ross-Jones' tests were strongly positive. The goldsol test (Foweather) : 00123210.

The cerebrospinal liquor of pigs in the acute stage of Aujeszky's disease subcutaneously injected to a rabbit did not provoke signs of an infectious bulbar paralysis.

Atrofická rinitida prasat

Атрофический ринит свиней

Atrophische Rhinitis des Schweines

Prof. K. P. ČEPUROV, doc. C. Ch. VACHIDOV

Uzbecká vysoká škola zemědělská Samarkand

Došlo dne 20. X. 1960

Atrofická rinitida prasat je značně rozšířena mezi prasaty a působí velké ekonomické ztráty jak v zahraničí, tak i v Sovětském svazu. Etiologie atrofické rinitidy byla až do poslední doby studována nedostatečně a opatření k tlumení této choroby byla velmi chabá.

Před našimi pracemi o studiu atrofické rinitidy byly vysloveny v literatuře domněnky o etiologické úloze symbiotického pomnožení filtrovatelného viru, mikrobů a trichomonád. Jelikož úloha filtrovatelného viru, mikrobů a trichomonád není objasněna s konečnou platností, soustředili jsme své výzkumy na zjištění jejich etiologického významu, především u trichomonád.

K objasnění úlohy trichomonád, mikrobů a filtrovatelného viru v etiologii atrofické rinitidy a k stanovení metod tlumení těchto nemocí založili jsme 12 sérií pokusů.

V prvním pokusu jsme infikovali intranazálně 28 selat nativním materiálem, tj. výplaškem z nosních dutin prasat, onemocnělých atrofickou rinitidou. Ve výplašku bylo obsaženo velké množství pohyblivých trichomonád a mikroflóra. U všech 28 selat, plnohodnotně krmených, se objevila po přesunu nákazy atrofická rinitida s deformitami obličejových kostí a s atrofií nosních skořep. Dokazuje to, že choroba je nesporně nakažlivá a snadno ji lze reprodukovat experimentálně.

Ve druhé řadě pokusů, ve které se měly zjistit možnosti alimentární nákazy, byl 7 selatům vpraven nativní materiál, tj. výplasek z nosní dutiny prasat, onemocnělých atrofickou rinitidou perorálně. Pokus ukázal, že při této aplikaci patologického materiálu se selata nakazí lehčí formou než po intranazální infekci.

Po perorální infekci se vyvinula u selat jen částečná atrofie nosních skořep, asi z 20–30 %, hlavně na distálních koncích. Je důležité podotknout, že u těchto selat bylo pozorováno rychlé zmizení trichomonád. Tak ze 7 selat byly na konci pokusu, tj. za 2 měsíce po pokusném přenosu nákazy, zjištěny trichomonády v nosní dutině jen u dvou. U těchto selat došlo i k značnějším atrofickým změnám orgánů dutiny nosní. Tento pokus ukázal, že atrofická rinitida se do značné míry přenáší perorálně, ale hlavně intranazálně, jak o tom také bezpečně svědčí i první pokus.

Ve třetí řadě pokusů byla nakažena intranazálně 4 selata směsí bakteriálních kultur, izolovaných z nosní dutiny prasat, cnemocných atrofickou rinitidou (stafylokoky, *bac. pyocyaneus*, diplokoky, sarciny, pasterelly, *bac. pyogenes*). Atrofická rinitida nebyla vyvolána. Tento pokus ukázal, že směs kultur uvedených mikrobu samostatně nevyvolává atrofickou rinitidu.

Ve čtvrté řadě pokusů byla nakažena intranazálně 2 selata laboratorní kulturou trichomonád 1. generace. Pokud se konal v zimě. U těchto selat byla atrofická rinitida vyvolána, jak bylo potvrzeno klinickým i patologicko-anatomickým vyšetřením.

Pokus dokázal, že kultura trichomonád 1. generace vyvolává atrofickou rinitidu při intranazálním přenosu nákazy.

V páté řadě pokusů byla infikována 2 selata laboratorní kulturou trichomonád 1. generace společně s průvodní mikroflórou, izolovanou z nosní dutiny nemocných prasat — *bac. pyocyaneus*, pasterellami a stafylokoky. U těchto dvou selat byla též pokusně vyvolána atrofická rinitida, a to v těžší formě než při přenosu nákazy jen čistou kulturou trichomonád.

V šesté řadě pokusů bylo nakaženo 18 selat laboratorní kulturou trichomonád 1. generace. Pokus se konal v létě. Za 4 měsíce po infekci byly pitvou selat zjištěny velmi výrazné patologické změny s atrofií nosních skořep na 50–75 % 6 selat, tj. 33,8 % mělo v nosní dutině trichomonády. U ostatních 12 selat byla zjištěna slabší atrofie nosních skořep — asi na 15–20 %, kdežto trichomonády nebyly v nosní dutině zjištěny. Tímto pokusem bylo potvrzeno, že kultury trichomonád I. generace mohou vyvolat atrofickou rinitidu při intranazální infekci.

V sedmé řadě pokusů bylo nakaženo intranazálně 15 selat laboratorní kulturou trichomonád 3–4–5–6–7 generace.

Tento pokus měl objasnit, zda je možno reprodukovat atrofickou rinitidu u selat po infikování laboratorní kulturou trichomonád několika generací. Proto se k přenosu infekce použilo zejména trichomonád 3–4–5–6–7 generace, vyřezávaných na mediu s přidávkou antibiotik.

Tento pokus prokázal, že selata nakažená laboratorní kulturou trichomonád 3–4–5–6–7 generace onemocní zpočátku klinickými příznaky. Za 30 dní po nakažení bylo pozorováno zkřivení rypáku, kýčání, funění a hlenový výtok z nosních otvorů.

Z nosních výplachů byly v prvních dnech (15–20) izolovány trichomonády. Později u části selat trichomonády z nosní dutiny zmizely a za 2 měsíce po infikování, jak bylo zjištěno patologicko-anatomickým, mikroskopickým a kultivačním vyšetřováním, byly zjištěny v nosní dutině jednoho z 10 selat, v žaludku 4 selat z 10 a ve střevech u dvou z 10. U pěti selat nebyly trichomonády zjištěny.

Tento pokus dokazuje, že laboratorní kultury trichomonád několika generací, zavedené do nosní dutiny selat, jsou schopny se v ní na krátkou dobu udržet a vyvolají jen nepatrnou atrofii nosních skořep. Po zmizení trichomonád z nosní dutiny byl zjištěn ústup patologického procesu.

Vyvstává otázka, proč laboratorní kultury trichomonád 3–4–5–6–7 generace nezpůsobují atrofii nosních skořep, jak to pozorujeme při infikování selat nativním materiálem nebo kulturou trichomonád 1. generace.

Vysvětluje se to změnou patogenity trichomonád při jejich dlouhodobé kultivaci a pasážování na umělých živných půdách. Laboratorní kultury třetí a dalších generací jsou slabě virulentní, a tak nemohou vyvolat výrazné atrofické změny v nosní dutině. S těmito slabě virulentními trichomonádami se organismus prasat rychle vypořádá a vypudí je.

V osmém pokusu jsme si vytkli za úkol rozdělit infekční agens nosní dutiny prasat onemocnělých atrofičkou rinitidou na „frakce“ a objasnit jejich etiologický význam při vývoji atrofičké rinitidy.

Proto jsme výplašky z nosních dutin nemocných prasat třikrát odstředovali při 5000 ot. po dobu 5—10 minut. Tím se trichomonády, část mikroflóry a část event. viru usadily na dně zkumavky. V supernatantu odstředěného výplašku se trichomonády nevyskytovaly, zatímco mikroby a event. virus tu zůstaly, poněvadž sedimentace mikrobů a tím spíše virů odstředováním není při 5000 ot. možná. Supernatant byl opatrně odčerpáván do zvláštní baňky a byl pečlivě vyšetřen na trichomonády. Zpravidla již při jednom odstředění trichomonády neobsahoval, zatímco mikroby se udržovaly ve velkém množství i po trojím odstředění, jak bylo zjištěno kultivací v mediích.

K infikování sedimentem, obsahujícím velké množství trichomonád, mikroflóru a event. virus, bylo použito 5 selat, kterým byl vpraven centrifugát intranazálně v dávce po 2 ml. U všech 9 nakažených selat se objevily během jednoho měsíce typické příznaky atrofičké rinitidy s deformitami obličejových kostí a téměř úplnou atrofií nosních skořep. Tak rychlý vývoj klinických a patologicko-anatomických příznaků atrofičké rinitidy svědčí o nadměrné síle infekčního agens v sedimentu. U těchto selat bylo zjištěno v nosních dutinách velké množství trichomonád v průběhu celého pokusu.

Výsledky patologicko-anatomického a bakteriologického vyšetření odporazených pokusných selat znovu potvrdily zákonitost, kterou jsme již dávno zjistili, že totiž při výrazné atrofií nosních skořep je v nosní dutině velké množství trichomonád.

Supernatantem (výplašků) obsahujícím mikroflóru a event. virus, nikoliv však trichomonády, jsme infikovali 9 selat. Nákazu jsme přenesli intranazálně v dávce 7,5 ml (tj. dávkou 3,7krát větší než při infikování sedimentem). U všech těchto selat bylo klinicky i patologicko-anatomicky zjištěno, že nemají žádné příznaky atrofičké rinitidy. Hlenovitý hnisavý exsudát nebyl v nosních dutinách — kanálcích, zjištěn. U těchto selat nebyly zjištěny trichomonády v nosní dutině po celou dobu pokusu. Trichomonády nebyly nalezeny ani po porážce.

V deváté řadě pokusů bylo nakaženo 9 podsvinčat výplaškem z nosní dutiny běhounů onemocnělých atrofičkou rinitidou s výrazným klinickým obrazem. Před přenosem nákazy byl výplašek uložen 21 dní při teplotě -20° a tak všechny trichomonády v něm uhynuly, mikroflóra však zůstala živá, jak bylo zjištěno kultivačním pokusem. V zmraženém výplašku musí zůstat na živu i předpokládaný virus nebo rikettsie, které, jak známo, se konzervují zmražením a nehytnou ani při nižší teplotě a dlouhodobém udržování v zmraženém stavu.

Z 28 selat, z nichž každé dostalo intranazálně 3,5 ml výplašku, ponechaného v zmraženém stavu, neonemocnělo ani jedno. Při pitvě selat za 46 dní po přenosu nákazy nebyly zjištěny žádné patologické změny v nosní dutině a ani trichomonády. Nativní materiál, zbavený trichomonád, a to zmražením, nevyvolává tudíž infekci.

V desáté řadě pokusů bylo 17 selat nakaženo čtyřikrát výplaškem z nosní dutiny selat, onemocnělých rinitidou. Desíti z nich se jednou za 4—5 dní vystříkovala nosní dutina 5% silicí česneku a 7 bylo ponecháno pro kontrolu. Během dvou měsíců šetření všech 7 kontrolních selat onemocnělo atrofičkou rinitidou a 4 z nich uhynula. 10 selat, která byla ošetřována fytoncidy česneku, snadno přestálo chorobu a všechna zůstala na živu.

Po ukončení této řady pokusů byla kontrolována možnost profylaxe atrofické rinitidy intranazálním ošetřením fytoncidy česneku ve dvou sovchozech. V těchto hospodářstvích bylo ošetřeno 140 chovných prasnic dvakrát před oprásením — 10 až 15 dní, a třikrát po oprásení — za 2, 12 a 22 dní.

10% roztok česnekové silice se vpravoval stříkačkou do každé nozdry v dávce 40–50 ml. 920 selat těchto prasnic bylo ošetřeno intranazálně 5% česnekovou silicí jednou týdně, od sedmého dne do odstavu.

Dávka roztoku pro selata do stáří 1 měsíce byla 1–2 ml, od dvou měsíců 2–4 ml.

Po takovém ošetření nemocnost i úhyn selat následkem onemocnění atrofickou rinitidou klesly více než desetinásobně.

Získaný příchovek — odstavená selata — se dobře vykrmoval.

Pokus ukázal, že k zamezení onemocnění selat postačí intranazální ošetření prasnic trichomonadocidními preparáty, aby nepřenesly nákazu na zvířata a také intranazální ošetření selat.

Tento pokus současně potvrdil, že při atrofické rinitidě se nákaza přenáší hlavně intranazálně a patologický proces se soustřeďuje v nosní dutině. Stačí předejít infekci selat přes nosní dutinu a počet případů onemocnění značně klesne.

V jedenácté řadě pokusů bylo 42 selat od prasnic nemocných atrofickou rinitidou. Tato selata byla v prasečnicku v kontaktu s nakaženými selaty a dostávala jednou za 7 dní intranazálně trichomonadocidní preparáty.

Během dvou měsíců průzkumu onemocnělo z 42 selat 5, ostatních 37 bylo zdravých, dobře se vyvíjely a ve stáří 2 měsíců vážily 442 kg. Trichomonády v nosní dutině byly zjištěny v malém množství jen u dvou selat.

Tento pokus ukázal, že intranazální ošetření selat trichomonadocidními preparáty zabraňuje vzniku atrofické rinitidy.

Ve dvanácté řadě pokusů bylo 25 chovných prasnic, nosičů trichomonád s klinickými příznaky atrofické rinitidy ošetřeno intranazálně dvakrát před oprásením — 10 a 15 dní a třikrát během měsíce po oprásení. Při vyšetřování v průběhu měsíce po ošetření nebyly trichomonády v nosních výpláskcích těchto prasnic zjištěny.

Selata od těchto prasnic dostávala jednou za 7 dní intranazálně trichomonadocidní preparáty. Při vyšetřování jejich nosních výpláskků nebyly trichomonády zjištěny a selata se dobře vyvíjela.

Tento pokus ukázal, že intranazální ošetření prasnic onemocnělých rinitidou a jejich selat trichomonadocidními preparáty umožňuje získat od nich zdravá selata.

Souhrn

1. Nativním materiálem, tj. výpláskem z nosních dutin nemocných selat, který obsahuje trichomonády a mikroby, se snadno podaří vyvolat u pokusných selat intranazální cestou infekce atrofickou rinitidu s patologicko-anatomickými změnami.

2. Intranazální aplikace nativního materiálu selatům vede ke 100% infekci, kdežto při perorálním přenosu nákazy onemocní jen část selat. Proto za hlavní cestu přenosu nákazy nutno pokládat nosní dutinu.

3. Pokusy k objasnění etiologické úlohy trichomonád, mikrobů a předpokládaného filtrovatelného viru obsažených v nativním materiálu při atrofické rinitidě bylo zjištěno:

a) kultura trichomonád první generace při intranazálním infikování selat vyvolává klinické i patologicko-anatomické změny, typické pro atrofickou rinitidu;

b) kultura trichomonád 3—4—5 generace vyvolává v důsledku snížené virulence při pasážování na umělých médiích po přenosu nákazy na selata málo výrazný klinický obraz a patologicko-anatomické změny;

c) kultura trichomonád 1. generace vyvolává při intranazální aplikaci spolu s mikroby izolovanými z nosních výplachů typickou atrofickou rinitidu;

d) intranazální aplikace směsi mikrobiálních kultur (*bac. pyocyaneus*, pasteurel a diplostreptokoků) atrofickou rinitidu u selat nevyvolává;

e) intranazální aplikace supernatantu nativního materiálu (odstředěného při 5000 ot.) s velkým obsahem mikrobů a předpokládaného filtrovatelného viru, avšak bez trichomonád, nevyvolává onemocnění. To dokazuje, že virus nemá etiologický význam;

f) intranazální aplikace sedimentu centrifugátu téhož nativního materiálu s obsahem trichomonád vyvolává typickou atrofickou rinitidu;

g) intranazální aplikace výplachů z nosní dutiny klinicky nemocných běhounů, zbavených trichomonád zmrazováním při -20°C po dobu 21 dní, avšak obsahující živou mikroflóru, nevyvolává infekci selat.

4. Provedené pokusy ukázaly, že onemocnění atrofickou rinitidou se podaří vyvolat jen takovým nativním materiálem, který obsahuje trichomonády.

Těžší onemocnění nastane při současné aplikaci trichomonád a mikrobů. Aplikace nativního materiálu (výplachů z nosních dutin prasat nemocných atrofickou rinitidou), zbaveného trichomonád odstředěním a zmrazením, avšak s obsahem mikrobů a předpokládaných filtrovatelných virů nevyvolává onemocnění.

5. Profylakční intranazální ošetření prasnic a selat trichomonadocidními a antimikrobiálními preparáty chrání před onemocněním atrofickou rinitidou.

6. Zjištění trichomonády ve 100% těžkých případech atrofické rinitidy, okolnost, že selata neonemocněla, když byla nakažena nativním materiálem, z kterého byly trichomonády odstraněny odstředěním nebo zmrazením, pozitivní výsledky pokusů, v nichž byla selata nakažena kulturou trichomonád 1. generace, vývoj atrofické rinitidy, dobré výsledky profylaxe a léčení trichomonadocidními preparáty — svědčí o tom, že hlavní etiologická úloha při atrofické rinitidě přísluší trichomonádám. Hnilobná mikroflóra doplňuje patogenní účinek trichomonád, což nakonec vede k synergismu a k působení trichomonád a mikrobů, vyvolávajících nemoc.

7. Intranazální ošetření prasnic před porodem a po porodu, jakož i selat trichomonadocidními a baktericidními preparáty v hospodářstvích zamořených atrofickou rinitidou, umožňuje získat zdravý příchovek.

Атрофический ринит свиней

1. Нативным материалом, т. е. смывом из носовых полостей больных поросят, в котором содержатся трихомонады и микробы, легко удастся вызвать при интраназальном заражении атрофический ринит у экспериментальных поросят с патологоанатомическими изменениями.

2. Интраназальное введение поросятам нативного материала дает 100% зара-

жение, в то время как при пероральном заражении заболевает лишь часть поросят. Поэтому основным путем заражения следует признать интраназальный.

3. Опытами по выяснению этиологической роли при атрофическом рините содержащихся в нативном материале трихомонад, микробов и предполагаемого фильтрующегося вируса выявлено, что:

а) культура трихомонад первой генерации при интраназальном заражении поросят вызывает клинические и патологоанатомические изменения, типичные для атрофического ринита;

б) культура трихомонад 3-4-5 генерации, вследствие снижения вирулентности при пассажировании на искусственных питательных средах, после заражения вызывает у поросят слабо выраженную клиническую картину и патологоанатомические изменения;

в) культура трихомонад первой генерации при интраназальном введении вместе с микробами, выделенными из носовых смывов, вызывает типичный атрофический ринит;

г) интраназальное введение смеси микробных культур (синегнойной палочки, пастерелл, диплостептококков) не вызывает у поросят атрофического ринита;

д) интраназальное введение верхней части нативного материала, подвергнутого центрифугированию при 5 тысячах оборотов, содержащего в большом количестве микробов и предполагаемый фильтрующийся вирус, но не содержащего трихомонад, не вызывает заболевания. Это говорит об отсутствии этиологической роли вируса;

е) интраназальное введение нижней части центрифугата того же нативного материала, содержащего трихомонады, — вызывает типичный атрофический ринит;

ж) интраназальное введение смыва из носовой полости клинически больных подсосунков, освобожденного от трихомонад замораживанием при -20°C в течение 21 дня, но содержащего живую микрофлору, не вызывает заражения поросят.

4. Проведенные опыты показали, что заболевание атрофическим ринитом удается вызвать лишь тем нативным материалом, в котором содержатся трихомонады. Более тяжелое заболевание возникает при одновременном введении трихомонад и микробов. Введение нативного материала (смыва из носовых полостей больных атрофическим ринитом свиней), освобожденного от трихомонад центрифугированием или замораживанием, но содержащего микробы и предполагаемый фильтрующийся вирус, не вызывает заболевания.

5. Профилактические интраназальные обработки свиноматок и поросят трихомонадоцидными и антимикробными препаратами позволяют профилактировать заболевание атрофическим ринитом.

6. Обнаруженные трихомонады в 100 % тяжелых больных атрофическим ринитом, отсутствие заболевания у поросят при заражении их нативным материалом, освобожденным от трихомонад центрифугированием или замораживанием, положительные опыты заражения поросят культурой трихомонад первой генерации, с развитием атрофического ринита, положительные результаты профилактики и лечения трихомонадоцидными препаратами позволяют признать, что основная этиологическая роль при атрофическом рините принадлежит трихомонадам. Гное-родная микрофлора дополняет патогенное действие трихомонад, что в итоге приводит к синергизму в проявлении болезнетворного действия трихомонад и микробов.

7. Интраназальные обработки супоросных и опоросившихся свиноматок и поросят трихомонадоцидными и бактерицидными препаратами в хозяйствах, неблагополучных по атрофическому риниту, позволяют получить здоровый молодняк.

Atrophische Rhinitis des Schweines

1. Mit Nativmaterial, d. i. Nasenspülflüssigkeit kranker Ferkel, die Trichomonaden und Mikroben enthält, gelingt es leicht bei Versuchsferkeln auf intranasalem Wege eine Infektion der AR mit pathologisch-anatomischen Veränderungen hervorzurufen.

2. Die intranasale Applikation von Nativmaterial an Ferkel führt in 100 % der Fälle zur Infektion, während bei peroraler Eingabe nur ein Teil der Ferkel erkrankt. Deshalb ist als hauptsächlichste Eintrittspforte der Seuche die Nasenhöhle anzusehen.

3. Versuche zur Klärung der ätiologischen Rolle der Trichomonaden, Mikroben und des vorausgesetzten filtrierbaren Virus, die im Nativmaterial bei AR enthalten sind, haben ergeben:

a) Eine Trichomonadenkultur erster Generation ruft bei intranasaler Infektion von Ferkeln klinische und pathologisch-anatomische, für die AR typische Veränderungen hervor.

b) Trichomonadenkulturen der 3—4—5. Generation rufen infolge Senkung der Virulenz im Verlaufe der Passagen auf künstlichen Medien nach Infektion der Ferkel nur ein wenig ausgeprägtes klinisches Bild und ebensolche pathologisch-anatomischen Veränderungen hervor.

c) Die Trichomonadenkultur 1. Generation intranasal verabreicht zusammen mit aus der Nasenspülflüssigkeit isolierten Mikroben ruft eine typische AR hervor.

d) Die intranasale Applikation eines Gemenges von Mikrobenkulturen (*Bac. pyocyaneus*, Pasteurellen und *Diplostreptokokken*) ruft bei Ferkeln eine AR nicht hervor.

e) Die intranasale Applikation des Supernatants von nativem Material (zentrifugiert bei 5000 Umdrehungen) mit großem Gehalt an Mikroben und dem vorausgesetzten filtrierbaren Virus, aber ohne Trichomonaden, ruft keine Erkrankung hervor. Das beweist, daß dem Virus keine ätiologische Bedeutung zukommt.

f) Die intranasale Applikation des Sediments desselben nativen Materials, enthaltend Trichomonaden, ruft eine typische AR hervor.

g) Die intranasale Applikation von Nasenspülflüssigkeit aus der Nase klinisch erkrankter Läuferschweine, aus der durch Einfrieren auf -20°C in der Dauer von 21 Tagen die Trichomonaden entfernt worden waren, die jedoch lebende Mikroflora enthielt, ruft keine Infektion der Ferkel hervor.

4. Die durchgeführten Versuche zeigten, daß es gelingt die AR nur mit solchem Nativmaterial hervorzurufen, das Trichomonaden enthält. Eine schwerere Erkrankung entsteht, bei gleichzeitiger Applikation von Trichomonaden und Mikroben. Eine Applikation von Nativmaterial (Nasenspülflüssigkeit von an AR leidenden Schweinen), das durch Zentrifugieren oder Gefrieren von Trichomonaden befreit worden war, das aber Mikroben und das vorausgesetzte Virus enthält, ruft keine Erkrankung hervor.

5. Eine prophylaktische intranasale Behandlung von Sauen und Ferkeln mit trichomonadoziden und antimikrobiellen Präparaten schützt vor der Erkrankung an AR.

6. Die Feststellung von Trichomoniasis in 100 % von schweren Fällen der AR, der Umstand, daß Ferkel nicht erkrankten, wenn sie mit nativen Material infiziert waren, aus dem die Trichomonaden durch Zentrifugieren oder Gefrieren entfernt worden waren, die positiven Ergebnisse der Versuche, in denen Ferkel mit der Trichomonadenkultur 1. Generation infiziert worden waren, der Verlauf der AR, die

guten Ergebnisse der Behandlung und Prophylaxe mittels trichomonadoziden Mitteln, alles spricht dafür, daß die Hauptrolle bei der Ätiologie der AR die Trichomonaden spielen. Die faulige Mikroflora ergänzt den pathogenen Effekt der Trichomonaden, was schließlich zu einem Synergismus führt.

7. Die intranasale Behandlung von Sauen vor der Geburt und nach ihr, sowie von Ferkeln mittels trichomonadoziden und bakterioziden Präparaten ermöglicht es, in mit AR verseuchten Wirtschaften eine gesunde Aufzucht zu erzielen.

Problém atrofické rinitidy prasat v Polsku

Проблема атрофического ринита свиней в Польше

Zagadnienie choroby ryjowej świń (*Rhinitis infectiose atrophicans*)
w Polsce

Doc. Dr. H. JAVOWSKI

Polská lidové republika

Došlo dne 20. X. 1960

Mou snahou jest podat v krátkosti problémy spojené s výskytem atrofické rinitidy prasat v Polsku. Nemoc byla u nás popsána po prvé v r. 1954, ačkoliv lze předpokládat, že se vyskytovala již mnohem dříve. Sporadicky se vyskytovala již v období válečném, ale neměla hospodářského významu. Výskyt onemocnění začal stoupat zvláště po druhé světové válce, což bylo způsobeno dovozem chovných prasat z krajů, kde se choroba vyskytovala hromadně. Zajímavé je, že choroba byla po prvé diagnostikována a později hlášena především v těch chovech, do kterých byla importována zvířata ušlechtilých plemen, nebo jejich potomstva.

Dnes se onemocnění vyskytuje u nás v různém stupni. Zvláštním problémem je tato choroba ve větších chovných hospodářstvích s produkcí selat. Na základě statistických dat vyskytovalo se často onemocnění ve dvou krajích, proti tomu v jiných krajích vyskytnulo se onemocnění v jednotlivých stájích. V individuálních hospodářstvích se onemocnění vyskytují jen zřídka kdy. Epizootologická pozorování prováděná v nakažených stájích potvrzují názor, že atrofická rinitida prasat, pozorovaná v Polsku, zdá se býti onemocněním nakažlivým, šířícím se však v různých stájích s různou intenzitou. Zaznamenali jsme stále s vysokou produkcí, které v důsledku atrofické rinitidy musely být během 2–3 roků likvidovány. V jiných stájích šíření choroby nebylo vůbec zjevné a poměr nemocných zvířat ke zdravým se nezměnil.

Zjevný rozdíl v šíření onemocnění nemohl býti přesvědčivě vysvětlen různými podmínkami prostředí, zdá se tedy, že kromě vlivu podmínek prostředí a zdravotního stavu zvířat, existují také další neznámé momenty, působící na intenzitu šíření choroby ve stádu.

Konstatovali jsme častokrát, že hlavním zdrojem choroby ve stádě byly prasnice; často také vznikalo onemocnění ve stádě po dovezení kance, na kterém nebylo zjevných klinických příznaků onemocnění. Poslední případy nasvědčují tomu, že existují nosiči bez klinických příznaků onemocnění.

Pozorování o rozšiřování choroby ve stádě svědčí pro infekční a kontagiózní povahu choroby. Toto zjištění potvrzuje, že přenášení nákazy děje se prostřednictvím chovných prasat z nakažených farem do farem prostých nákazy. Přesto, že infekční a kontagiózní povaha choroby je nesporná, tuto nemoc označujeme jako semiinfekční nebo podmíněčně infekční, neboť vedle infekčního faktora k jejímu vzniku a šíření je nutná koordinace i jiných činitelů, snižujících místní nebo generální odolnost u jednotlivých kusů nebo u celého stáda.

Dosud nemáme jednotného názoru na etiologii nemoci. U části selat infikovaných intranazálně patologickým materiálem z dutiny nosní nemocných kusů, zjišťujeme v jádrech některých žlázových buněk přítomnost inklusních tělísek podobných tělískám typu Cowdry.

Tento fakt může nasvědčovat tomu, že v etiologii choroby může hrát úlohu filtrabilní faktor nebo faktory. S unitaristickým názorem R a d k e h o, ke kterému se v poslední době přiklání také B a k o s se svými spolupracovníky, že je *rinitis atrofika* prasat způsobena virem chřipky prasat, my nesouhlasíme.

Atrofická rinitida prasat u nás v Polsku nevystupuje vždy společně s chřipkou prasat a naopak.

Klinický obraz a patologicko-anatomické změny choroby, vyskytující se v Polsku, jsou stejné, jak je popisuje odborná literatura. Je nutno zdůraznit, že rozlišujeme chorobný proces začínající u mladých kusů a chorobný proces vznikající u starších zvířat, např. u mladých prasníc v době laktace. V těchto případech vnější změny tvaru nosu jsou málo znatelné, pitvou však zjišťujeme patologicko-anatomické změny velmi zřetelné. Není nám dosud známo, zda jde o starou infekci v klidu a zaktivovanou stresem (laktace), nebo zda je to infekce nová. Je nutno zdůraznit také to, že existují případy, kdy jsou zřetelné změny ve tvaru nosu a atrofie konch — přičemž sliznice nosní nejeví zánětlivých změn.

Klinická a epizootologická pozorování, jakož i výsledky zkoušek boje proti této chorobě žádají účelnost a potřebu vedení systematického boje s touto chorobou, bez ohledu na těžkosti, vznikající z neznalosti její etiologie a patogenese.

Proto problém boje s atrofickou rinitidou prasat považujeme v Polsku za jeden z hlavních úkolů veterinární a zootechnické služby.

Atrofická rinitida prasat není u nás potlačována v rámci tlumení zvířecích nákaz, nýbrž na podkladě zvláštních instrukcí ministerstva zemědělství, vypracovaných na podkladě nejnovějších vědeckých, světových výsledků.

V boji proti atrofické rinitidě prasat jsme se především zaměřili na ozdravení ušlechtilých chovů. V případě, kdy se vyskytne v chovu onemocnění i u jednotlivých kusů, přestává toto stádo býti stádem chovným. Další postup v nakažené stáji záleží na volbě metody proti nemoci. Zavádíme metodu likvidace chovu — hlavně v chovech malých nebo ve větších při silnějším zamoření nebo metodu postupného ozdravování chovu odchovem selat v izolátech. Při zavedení druhé metody vycházíme převážně z práce S w a h n o v y. Vedle veterinárních sanitárních opatření zlepšujeme také životní podmínky. Nesmíme předčasně tvrdit, že tyto metody už mají praktický význam — zvláště u metody druhé. Jedno však je jisté, že boj s atrofickou rinitidou prasat je těžký a musí být veden přesně a svědomitě. V těchto případech můžeme očekávat kladné výsledky. Již dnes máme celou řadu chovů zbavených této choroby, vyskytují se však i chovy, kde se nemoc vyskytla znovu.

Závěrem svého referátu chci zdůraznit, že první podmínkou úspěšného boje proti této chorobě je provádění dalších usilovných výzkumů v etiologii a patogenезi atrofické rinitidy.

S o u h r n

V předložené práci se zaměřil autor na různé způsoby boje a likvidace sipavky prasat, a to podle různého zamoření chovů a podle chovatelské hodnoty zamořených.

Проблема атрофического ринита свиней в Польше

В представленной работе автор рассматривает разные способы борьбы и ликвидации атрофического ринита свиней, а именно, в зависимости от степени зараженности стад и в зависимости от племенной ценности зараженных животных.

Zagadnienie choroby ryjowej świń (*Rhinitis infectiose athrophicans*) w Polsce

W przedłożonej pracy, autor omawia różne rodzaje walki i likwidacji choroby ryjowej świń zależnie od rodzaju zapowietrzenia hodowli oraz od wartości hodowlanej zapowietrzonych zwierząt.

Příspěvek k etiologii atrofické rinitidy prasat

К вопросу этиологии атрофического ринита свиней

A Contribution to the Etiology of the Atrophic Rhinitis in Pigs

CSc. MVDr. Pavel ČÁNECKÝ

Veterinární fakulta VŠZ Brno

Došlo dne 20. X. 1960

Úvod

Atrofická rinitis prasat (sípavka) je v Evropě známa více než 130 let. Pořád se však do určité míry podobá jiným několika nemocem, nebyla rozlišována jako samostatná nemoc až do roku 1916, kdy byla blíže popsána Jensenem. V té době a částečně i později znamenala nemoc, označovaná v Německu jako „Schnüffelkrankheit“, ve Francii jako „Maladie de reniflement“ a v Dánsku jako „Snovlesyge“ jak rachitické změny v rypáku, tak i vlastní atrofickou rinitis.

Od tohoto data byla etiopatogeneze sítavky studována četnými autory. Zpočátku se většina autorů klonila k názoru, že onemocnění je dědičného charakteru, protože se často vyskytuje v chovech s příbuzenskou plemenitbou. (Schneider, 1871, Jensen, 1916, Krage, 1937, Hoflund, 1937). V současné době však všichni pracovníci se shodují zajedno v tom, že sítavka je kontagiózní onemocnění a původce hledají v bakteriích, virech, event. v trichomonádách.

Bakterie

Z bakteriální flóry byly nejčastěji izolovány *corynebacterium pyogenes*, *pasteurella m.*, *ps. aeruginosa* a *spherophorus necrophorus*. MacKay popisuje jednotlivé druhy bakterií u sítavkových prasat a připisuje těmto mikrobům symptomů a etiologický význam, zatímco Philips je považuje za sekundární činitele.

Braend a Flatla nedávno vyvolali znatelnou atrofii nosních skořep prasat čistou kulturou haemophyla v kombinaci s pasteurellou, přičemž konstatují, že predispoziční faktory mohou hrát důležitou roli při vzniku onemocnění.

Nevylučují také možnost, že i jiné druhy bakterií a virů mohou spolupůsobit při vzniku onemocnění. Posléze tvrdí, že vyvolali atrofii nosních skořep u pokusných selat určitým druhem čisté kultury pasteurelly.

Messmore považuje *erysipelothrix rhusiopathiae* za možnou příčinu onemocnění, avšak Borgmanovi se nepodařilo tyto zároky zjistit u značného počtu rinitických prasat. Navíc materiálem, odebraným od postižených prasat, infikoval holuby, aniž by jeden uhynul.

Bagajevsky a Pašov připisují důležitou roli při vzniku onemocnění *ps. aeruginose* a hlenovitě kapsulovité tyčince, obzvláště při snížení rezistence organismu v důsledku špatného krmení a ošetřování.

Virologie

Schofieldovi a Jonesovi se nepodařilo vyvolat onemocnění na vnímavých selatech infiltráty z materiálu rinitických prasat. Podobné pokusy provedli Gwatkin, Plummer, Byrne a Walker rovněž s negativním výsledkem. Tito také tvrdí, že infekční agens v nosním výplasku ztrácí svoji virulenci při vyšší teplotě nad 45° C, anebo přidavkem penicilinu a streptomycinu. Konstatují, že supernatant při centrifugaci je avirulentní, zatímco sediment je vysoce infektivní.

Roku 1953 Switzer píše, že získal agens přes filtr Selas 02, které na kuřecích embryích vyvolalo zánět. Perikardiální mok kuřat barvil Giemsou a Macchiavelliho, přičemž upozoroval sdružená tělíska po dvou slabě zbarvená. Tato tělíska byla uložena extra- a intracelulárně. Poněvadž se barví tato tělíska podle Macchiavelliho do modra, nezařadil je mezi riketsie, ale do skupiny mycoplasm (PPLO).

Bylo by však prospěšné ukázat, zda jsou tato tělíska initiálními, anebo elementárními, protože první se zbarvují rovněž podle Macchiavelliho do modra a mohla by se pokládat za miyagawanelly. Nejnověji však Gwatkin na podkladě rozsáhlých experimentálních pokusů dokázal, že inkluzní tělíska (IBR), která rovněž popisuje při rinitidách Donne, nejsou nijak nezbytná pro vznik onemocnění.

Carter a Gwatkin se pokoušejí vyvolat onemocnění čistými kulturami mycoplasm (PPLO) na vnímavých selatech, avšak bezvýsledně.

Nejnověji Sergejeva, Čaregradskaja, Popov a spol. píší, že vyvolali onemocnění infekčním agensem, které vykultivovali na kuřecích embryích. K čištění infekčního materiálu, kterými infikovali kuřecí embrya, použili penicilinu a streptomycinu, takže zde není vyloučena možnost růstu trichomonád na chorioalantois, jak jsme to sami upozorovali.

Trichomonády

Switzer (1951) našel u 80 % nemocných prasat trichomonády, zatímco u zdravých pouze ve 2,8 %. Kultury těchto protozoí adaptoval na pochvách jalovic, kde vyvolaly zánětlivý proces.

Spindler, Schorp a Hill 1952 reprodukovali atrofickou rinitis na vnímavých selatech suspenzí trichomonád, a to jak z nosních dutin nemocných, tak i zdravých prasat. Rovněž vyvolali onemocnění materiálem z tlustého střeva zdravého prasete, který obsahoval trichomonády. Konstatují, že přenos onemocnění se nezdařil, jestliže k infekci používali materiálu, který neobsahoval živé trichomonády.

Čánecký, 1958 a Čerkasová se spolupracovníky považují smíšenou bakteriální flóru za přítomnosti trichomonád za vyvolavatele onemocnění v přirozených podmínkách u sajících selat (1959).

Dodnes se ovšem žádnému nepodařilo s jistotou prokázat, které z velkého množství vyskytujících se mikroorganismů v dutině nosní nemocných prasat vyvolává přímo toto onemocnění, protože experimentálně byla atrofie nosních skořep vyvolána různými činiteli: jako zárodky past. multocidy, ps. aeruginosy, haemophyla, tak i bičíkovci, nebo i nazálním sekretem filtrovaným filtrem Selas 02, event. zárodkem vykultivovaných na kuřecích embryích a posléze mechanickým drážděním nosních skořep kyselinou octovou.

To vše ukazuje, že existují nejednotné názory na etiologii této nemoci. Není vyloučeno, že nemoc je vyvolána komplexem všech faktorů, jak to naznačují pokusy naše i kolektivu Čerkasové.

Vlastní výzkum

Etiologická studia

Ve studiu etiologie této nemoci postupovali jsme čtyřmi metodami: mikroskopicky, bakteriologicky, histologicky a biologickým pokusem.

Metodou mikroskopickou jsme vyšetřovali nosní výplasek zdravých a nemocných prasat jednak v nativních preparátech, jednak v obarvených. Pátrali jsme po obsahu bakteriálním, plísňovém, event. protozoárním.

Bakteriologická cesta spočívala v kultivaci z nosních výtěrů na živných půdách.

Pozměněné části nosních skořep byly prozkoumány též histologicky.

Konečně byly provedeny pokusy na pokusných selatech materiálem, který byl porůznu připraven k infekci selat.

Mikroskopické vyšetření

Materiál pro mikroskopické vyšetření jsme odebírali z nosní dutiny nemocných a zdravých zvířat, po očištění nosních otvorů vatovým tamponkem.

Z takto získaného materiálu několik minut po odebrání byly pořízeny především nativní preparáty a pak barveny podle Grama.

Tímto způsobem jsme od 10. 9. 1953 do 29. 3. 1956 vyšetřili výtěry z nosu u 47 zdravých a 63 nemocných prasat s typickými klinickými příznaky onemocnění.

U nemocných prasat ze 63 jsme v 59 případech zjistili mezi množstvím plochých epitelů především čile se pohybující trichomonády. V některých případech v zorném poli bylo zpozorováno 6—8 protozoí, v jiných pouze 2—3.

V mikroskopu s fázovým kontrastem, když byly fixovány kyselinou osmičelou, obarveny Giemsou po dvě hodiny, jevila se průměrná velikost u 35 měřených trichomonád 15×5 mí. Protozoa vykazovala 3 přední bičíky, undulující membrána se rozestírala po okraji a zabírala svou velikostí menší polovinu celého

prvoka. Zřetelný axostyl měl přední okraj tupý. V přední části bylo možno pozorovat oválné jádérko, difúzně granulované. Na spodním okraji bylo možno pozorovat terminální bičík.

U zdravých prasat ze 47 jsme pouze v jednom případě výtěru zjistili přítomnost trichomonád, morfologicky shodných s trichomonádami nemocných prasat.

Bakteriologické vyšetření

Kultury z nosních výtěrů zdravých a nemocných prasat byly získány obyčejným kultivačním postupem na univerzálních živných půdách za aerobních a anaerobních podmínek.

Identifikace jednotlivých kmenů mikrobů byla provedena za pomoci bakteriologického ústavu veterinární fakulty VŠZ.

Tímto způsobem bylo rovněž vyšetřeno 63 nosních výtěrů od nemocných prasat a 47 prasat zdravých.

Z čistých kultur byly izolovány u chorých prasat: *past. multocida* v 59 případech, *alcaligenes bronchiseptica* v 57 případech, *corynebacterium pyogenes* v 60 případech, *pse. aeruginosa* v 27 případech, *staphylococcus pyogenes* v 35 případech, *proteus* v 55 případech.

U zdravých prasat *past. multocida* byla izolována dvanáctkrát, *staphylococcus pyogenes* ve 40 případech, jakož i kvasinky a plísňe.

Histologické vyšetření

Histologické vyšetření bylo prováděno běžnými histologickými metodami.

Biologické pokusy

Biologické pokusy měly za úkol objasnit, do jaké míry se uplatňuje při vzniku onemocnění nosní výplasek nemocných prasat, bakteriální flóra vykultivovaná na živných půdách, některé druhy čistých bakterií i v kombinaci s filtráty, resp. působení různých vnějších faktorů na patogenní agens i v přítomnosti trichomonád.

Materiál a metodika

Selata, použitá k pokusům, byla při zahájení infekce jeden den stará a pocházela od prasnic z prostředí nezamořeného atrofickou rinitis. Skupiny, sloužící k infekci, byly po porodu od matky odebrány a živeny uměle.

Kontrolní skupiny selat infikovány nebyly a zůstaly po dobu sledování u matek.

Zdroje infekčního materiálu

Materiál byl získáván vyplachováním nosních dutin nemocných prasat fyziologickým roztokem solí.

Filtráty byly získané Seitzovými filtry EK odsáváním při tlaku 30 cm Hg.

Čisté kultury mikrobů byly pěstovány kultivací na plotnách agaru, krevního agaru a buillonu.

Za účelem získání čistých kultur trichomonád byl k nosním výplaškům přidán penicilin a streptomycin.

Plán pokusů a způsob infekce

Pro objasnění patogenické vlastnosti nosního výplašku nemocných prasat, jeho bakteriální flóry, filtrátu, filtrátu v kombinaci s některými bakteriemi a trichomonád, považovali jsme za nutné prozkoumat:

1. zda nosní výplasek od rinitického prasete aplikován vnímavým selatům vyvolává onemocnění.
2. zdali filtrát v kombinaci s bakteriemi, které se nejčastěji vyskytují u sýpavkových prasat, vyvolává onemocnění.
3. zdali filtrát nosního výplašku nemocného prasete vyvolává onemocnění.
4. zdali smíšená bakteriální flóra kultivovaná na univerzálních půdách, vyvolává onemocnění.
5. aby série pokusů byla úplnější, považovali jsme za nutné objasnit, zdali nosní výplasek od rinitického prasete, ke kterému byl přidán penicilin a streptomycin, vyvolá rovněž onemocnění selat.

Výsledky pokusů

V pokusu, ve kterém bylo použito nosního výplašku nemocného prasete k infekci selat starých jeden den, z 10 onemocněla všechna, při aplikaci infekčního materiálu 1 ccm třikrát ve třídenních intervalech. Klinické příznaky ve formě deformace obličej se projevíly do 30 dnů od započetí infekce.

4 kontrolní selata do 30 dnů nevykazovala žádných klinických příznaků onemocnění.

K pokusu o vyvolání onemocnění filtrátem, filtrátem v kombinaci s bakteriemi a smíšenou bakteriální flórou bylo použito 12 selat z vrhu zdravé prasnice.

Vrh 12 selat před započatou infekcí bezprostředně po porodu byl rozdělen po 3 selatech do 4 skupin.

Nosní výtěry pokusných selat, získané bezprostředně po narození, kultivací na univerzálních půdách, nevykázaly přítomnost bakterií.

První skupina selat byla infikována první, třetí a devátý den nosním filtrátem v dávce 1 ccm do obou nosních otvorů injekční stříkačkou bez jehly.

Druhá skupina selat byla infikována filtrátem od rinitického prasete v kombinaci s past. multocidou, ps. aeruginosou a staphylokoky rovněž první, třetí a devátý den v dávce 1 ccm s fyziologickým roztokem již uvedeným způsobem.

Třetí skupina byla infikována smíšenou bakteriální flórou vykultivovanou na agaru, krevním agaru a buillonu, taktéž první, třetí a devátý den v dávce 1 ccm suspenze.

Čtvrtá skupina tří selat nebyla infikována a sloužila za kontrolu — zůstala u matky.

První, druhá a třetí skupina byla oddělena na různá místa a uměle živena po dobu sledování.

Aplikovaný filtrát byl starý 2 hodiny, bakteriální kultury 48 hodin.

Pokusná a kontrolní selata byla sledována po dobu 4 měsíců.

První skupina (filtrátová) byla odporažena za 4 měsíce. Ani u jednoho nebylo pozorováno nejmenších příznaků atrofické rinitidy.

Druhá skupina (filtrátová v kombinaci s bakteriemi) rovněž po dobu 4 měsíců ne onemocněla.

Třetí skupina (bakteriální) onemocněla do 4 měsíců s typickými klinickými příznaky onemocnění.

Čtvrtá kontrolní skupina (u matky) zůstala zdravá po celou dobu sledování, tj. po dobu 4 měsíců.

Přirozeně se tu hlásí otázka, do jaké míry můžeme pokusy se smíšenou bakteriální flórou, aniž bychom se pokusili izolovat jednotlivé druhy bakterií, tuto experimentálně vyvolanou sípavku považovat za identickou se spontánním onemocněním. Lépe řečeno, zda experimentálně vyvolané změny v nose jsou pouhým umělým produktem, který je způsoben nepřirozenou silnou infekcí a není tedy nakažlivý. Usuzuji tak proto, protože podobné afekce v nosní dutině u prasat je možno vyvolat instilací kyselinou octovou (S w i t z e r).

Na základě těchto poznatků je nutno počítat také s tím, že určité změny konch mohou být nespecifické povahy a mohou být způsobeny náhodnými infekcemi nosu. Bylo by žádoucí pro lepší objasnění tohoto bodu přesnější vyšetření konch u většího počtu prasat v oblastech, kde se nakažlivá sípavka vyskytuje.

V dalším pokusu bylo k nosnímu výplašku přidáno 3000 m. j. penicilinu a 4000 m. j. streptomycinu na 1 g výplašku.

Po $\frac{1}{2}$ hodině doby styku při pokojové teplotě byl infekční materiál bakteriologicky sterilní, avšak obsahoval množství trichomonád.

S tímto materiálem bylo infikováno 10 selat již uvedeným způsobem a byla pozorována po dobu 3 měsíců. Za kontrolu sloužila 3 selata z téhož vrhu.

V době pozorování, která trvala 90 dnů, nebyly pozorovány klinické příznaky onemocnění, poukazující na atrofickou rinitis. I přes to, že v nosním výtěru infikovaných selat byly nalezeny trichomonády.

Diskuse

Zamýšlíme-li se tedy nad získanými výsledky a uvedenými literárními údaji, musíme konstatovat, že nedovedeme teoreticky správně a hlavně v empirické praxi odpovědět u tohoto onemocnění na otázku: patogenní mikrob, podmíněně patogenní, komensál, saprofyt, nebo dokonce apatogenní mikrob.

Stav našich současných poznatků nám sice umožňuje v některých případech diagnózu „směs patogenních mikrobů“, avšak vůbec nás neopravňuje zatím k závěru o absolutní patogenitě kteréhokoliv známého mikroba při atrofické rinitidě.

Na základě vlastních bakteriologických, experimentálních a klinickoterapeutických poznatků nemůžeme pro tuto nemoc zatím přiznat určitému specifickému

původci, neboť infekční teorie ve smyslu rinoautochtonním se dá zdůvodnit experimentálními pokusy, u nichž bylo použito různých činitelů.

Abychom etiopatogenezi tohoto onemocnění lépe osvětlili, bylo by žádoucí vědět více o tom, co má skutečně vliv na atrofii konch a obličejových kostí, zda je to vliv bakteriálních jedů, nebo zda mají větší účinek změny ve výživových poměrech ve tkáni.

Snad anatomické poměry ústí vedlejších dutin hrají podle našeho úsudku etiologickou úlohu při vzniku sýpavky, že totiž nedochází k typickým, více méně retenčním empyemům přilehlých nosních dutin, nýbrž následkem volného odtoku k neustálému zaplávání veškeré sliznice dutiny nosní, k trvalé iritaci sliznice dutiny nosní a její povrchové infekci, fibróze vrstev podslizničních, chronickým zánětem a konečně k její atrofii.

Vnikání infekce do přilehlých dutin možno pravděpodobně připsat trichomonádám, které tam zjišťujeme již v počátečních stádiích onemocnění.

Nepopíratelnou skutečností je ten fakt, že v přirozených podmínkách k infekci selat dochází nosním sekretem, který obsahuje smíšenou bakteriální flórou, a bičíkovce.

Nelze ovšem zde vyloučit jiné okolnosti, které již předem připravují příznivé podmínky pro lokalizaci onemocnění v dutině nosní jako je slabá baktericidní schopnost sliznice nosní a celková snížení odolnost organismu, nebo předchozí zánět sliznice nosní virózního původu!

Souhrn

Rinitis prasat je nutno považovat za komplexní onemocnění.

Atrofii skořep lze vyvolat řadou různých činitelů.

V přirozených podmínkách k infekci dochází u sajících selat nosním sekretem, který obsahuje smíšenou bakteriální flóru a bičíkovce.

Penicilin a streptomycin mají inhibiční účinek na virulenci nosního výplašku nemocných prasat.

К вопросу этиологии атрофического ринита свиней

Атрофический ринит свиней следует считать комплексным заболеванием.

Атрофию носовых раковин можно вызвать целым рядом различных факторов.

В естественных условиях инфекция возникает у поросят-сосунков посредством носового секрета, содержащим смешанную бактериальную флору и жгутики.

Пенициллин и стрептомицин оказывают ингибиционное действие на вирулентность смыва из носовой полости больных свиней.

A Contribution to the Etiology of the Atrophic Rhinitis in Pigs

The rhinitis of pigs must be considered as a complex disease. The atrophy of the conchi can be produced by a number of different factors. Under natural con-

ditions the infection of suckling pigs takes place by the nasal secret, which contains a mixed bacterial flora and vibrios.

Penicilline and Streptomycine have an inhibiting effect upon the virulence of the nasal secrete of pigs.

O současné situaci v sípavce prasat v ČSSR

Современное состояние атрофического ринита свиней в ЧССР

Die gegenwärtige Situation der Schnüffelkrankheit (SK) in der Tschechoslowakischen Sozialistischen Republik

MVDr. Hubert WURZINGER

Zemědělská technická škola — odbor veterinární, Kroměříž

Došlo dne 20. X. 1960

Historický úvod

Podle zpráv současného odborného tisku rozšířila se sípavka prasat téměř do všech států s vyspělým chovem vepřů. Ve většině těchto států se usilovně pracuje na výzkumu a tlumení této choroby, jak o tom svědčí četné publikace.

Původní vlastí této choroby je pravděpodobně Německo, kde tato choroba byla rozpoznána již před stotřiceti léty a kde ji roku 1893 poprvé popsal Frank jako Schnüffelkrankheit. Podle nám přístupných publikací bylo rozšíření této choroby před první světovou válkou asi omezeno na Německo a Dánsko. (Jensen, Bang, 1916.)

Po první světové válce se vyskytla v Maďarsku (Maninger, 1930), USA (1935), Francii (1937, Zarackij), Švédsku (1937, Hoflund), SSSR (1937).

Po druhé světové válce byla sípavka zjištěna a popsána v řadě dalších zemí v Kanadě (1944), Norsku (1945), Itálii, Polsku (1954, Janowski), Anglii (1954), Rumunsku (1959) a jiných. Z uvedeného nápadného šíření sípavky po válkách je zřejmé, že rozšíření, po případě zavlečení sípavky do stále většího okruhu je způsobeno především importem sípavkou nemocných chovných prasat. Po válečné stagnaci oživuje obvykle mezinárodní obchod, a tudíž i import chovných prasat.

Nedá se předpokládat, že by nákupní komise, složené ze zkušených odborníků vědomě nakoupily nemocná prasata nebo přehlédly klinicky zjistitelné příznaky sípavky u nakupovaných plemenných prasat. Proto se musíme domnívat, že nakoupily v dobrém vědomí, že kupují zdravá, sípavkou latentně nemocná prasata.

Na latentnost sípavky jako nejdůležitější faktor jejího rozšíření první upozornil Kraige v r. 1937.

Na území ČSSR byla sípavka dlouho neznámým onemocněním. Z doby mezi

první a druhou světovou válkou se zachovaly ústní zprávy o deformitách rypáku, vyskytujících se sporadicky u prasat v oblasti okresu Uherské Hradiště na Moravě. Věc však nebyla podrobněji zkoumána a šlo-li skutečně o sípavku, pak se z tohoto ohniska nerozšířila. Není ovšem vyloučeno, že šlo o plemenné znaky jorkshirského plemene prasat, tenkrát velmi oblíbeného.

První písemná publikace o sípavce od dr. K y s e l y v roce 1940 byla psána německy a omezila se na citování jiných autorů, především R a d k e h o a popisu onemocnění, aniž uvádí konkrétní výskyt sípavky na území ČSR.

Nutno se tedy domnívat, že první konkrétně zjištěný, ohlášený a popsáný případ sípavky na území ČSR byl zjištěn na školním statku Milotice u Kyjova v r. 1952. Tento výskyt sípavky byl prozkoumán a publikován jednak kolektivem dr. P r o k ů p e k, dr. W u r z i n g e r a MUDr. K o l o m a z n í k, jednak dr. Č á n e c k ý m v r. 1954.

Současná problematika

Od tohoto data byla sípavka prasat zjištěna v řadě zemědělských závodů v různých krajích ČSR a bylo o ní publikováno více prací, z nich některé velmi cenné.

K dnešnímu dni, podle dat sdělených ministerstvem zemědělství je sípavka rozšířena v 63 okresech, 253 obcích a 282 zemědělských závodech.

V historii tlumení nakažlivých chorob se pravidelně setkáváme s několika závažnými činiteli, které podstatně ovlivňují možnosti tlumení a konečný úspěch likvidace těchto chorob. Jsou to především znalost etiologie a možnost včasné a spolehlivé klinické diagnózy. Navazujícím na předchozí, ale neméně důležitým faktorem je možnost účinné prevence, případně úspěšné kurativy. Ekonomické ztráty jsou důležitým činitelem, který je tím účinnější, čím jsou ztráty bezprostředně citelnější. Časový průběh choroby je velmi důležitým činitelem právě u vleklých onemocnění, poněvadž lidská bdělost v průběhu dlouhého úseku časového má sklon k ochabnutí.

Promítneme-li si tyto činitele na sípavku, dojdeme nutně k názoru, že naše výzbroj pro boj se sípavkou je nedokonalá.

Etiologie

Přesto, že v řadě prací poslední doby mnozí autoři ohlásili objev původce sípavky, nezdá se etiologie vyřešena s konečnou platností. Pestrá paleta původců od bakteriálních přes viry k trichomonádám a riketsiím sama o sobě již poukazuje na to, že infekční agens je složitý. Pokusy s umělým přenosem se obvykle velmi dobře daří výplašky nosními z nemocných prasat. Přenos izolovanými infekčními činiteli je však málo přesvědčivý. Většina posledních publikací se kloní k názoru, že jde o komplexní činitele. Čím více je komponent v etiologii, a k tomu ještě neznámých, tím těžší je účinný boj. Choroba postihuje především velkochovy, kde má možnosti snažšího šíření. O stupni infekciozity infekčního agens není jednotného názoru. Většina autorů se shoduje v tom, že přenos je nejčastěji možný přímým stykem, a to především sekrety z nosní dutiny. Přenos zamořeným prostředím se zdá méně častým. Krví nemocných zvířat, vstříknutou zvířatům zdravým, se přenos nepodařil. Na odolnost infekčního agens vůči prostředí jsou různé názory. Sípavka má výrazně infekční charakter. Pravidelně se objevuje po zastavení latentně chorých plemenných prasat do zdravého chovu. Tak např. sípavka do školního statku v Miloticích byla zavlečena kancem Frechem, jehož prarodiče byli importováni z Německa.

Diagnostika

Klinická diagnostika sípavky je vcelku značně obtížná. Rozeznat bezpečně počáteční příznaky sípavky od obyčejné rýmy je jistě velmi těžké. Vyvinou-li se deformity obličejových kostí, pak je ovšem klinická diagnóza sípavky celkem snadná. Toto stadium lze však považovati spíše za následek sípavkového onemocnění. Ostatní popisované klinické příznaky sípavky jsou spíše pomocným než průkazným symptomem.

Klinické diagnostice unikají však jedinci s latentní formou sípavky.

Jsou to taková prasata, která při naprosto nezměněných obličejových kostech a skusu čelisti mají více nebo méně rozsahlou atrofii skořep nosních. Nejčastěji je to částečná atrofie ventrální skořepy nosní. Takových jedinců je poměrně dost, jak jsme se četnými pitvami prasat ze zamořených stád i prasat pokusně nakažených sípavkou sami přesvědčili. Domníváme se, že zde jde o jedince později infikované, kdy již kosti rypáku odolaly deformaci. Ostatní klinické příznaky, jako je výtok z nosu, kýčání, sípání, funění, krvácení z nosu, otírání rypáku o okolní předměty jako zřetelný příznak svědění, jsou klinicky cenné, mohou však býti nesprávně hodnoceny nebo přehlédnuty.

Právě tato latentně chorá plemenná prasata jsou hlavními šířiteli sípavky do dosud zdravých stád.

Doplnění klinického vyšetření rhinoskopem by mělo nesporně určité klady v diagnostice. Není však doposud spolehlivě pracováno, není vhodných rhinoskopů a není vybavena terénní služba.

Rentgenologické vyšetření ve vertikální projekci, jak ho užili Norové Braend t a Flatla, je poměrně nejspolehlivější klinické zjišťování forem latentního sípavkového onemocnění. Je však poměrně komplikované, vyžaduje speciální ústavní zařízení a provádění v narkóze. Unikají však i při tomto zjištění ty formy latentní sípavky, kde jde o partiální atrofii ventrální skořepy nosní, poněvadž tato je při vertikální projekci stísněna skořepou dorzální.

Laboratorní vyšetření nosních výtoků nebo výplašků s případnou kultivací nelze doposud považovati za průkazné.

Zbývá tedy jako doposud nejspolehlivější prostředek diagnostika pitevní. Je snadno kdekoliv proveditelná, dodrželi-li se zásada neomračovati vepře palicí a nerozsekávat hlavu podélně. Na neporušené hlavě vepře provedeme příčný řez pilkou ve spojnici koutků ústních (případně vnitřních koutků očních). V otevřených dutinách nosních můžeme velmi dobře posouditi stupeň atrofie skořep, při čemž nám jako kontrola slouží skořepy druhé strany, případně skořepa horní.

Pitevní diagnostika má ovšem ten zásadní nedostatek, že se děje až na mrtvém zvířeti. Poněvadž však prase je především zvíře jatečné, má tato diagnostika značné klady.

Naskýtá se přirozeně otázka, proč neposuzovat celé stádo prasat jako celek. V takovém stádě by se měly přece najíti jedinci s manifestačními formami sípavky, kteří by prokázali zamoření celého stáda. Ve většině případů tomu tak skutečně je. Přesvědčil jsem se však sám i někteří moji kolegové, že latentní formy sípavky se objevovaly ve stádě prasat po 3 roky, aniž v něm byli jedinci s manifestačními formami. V podobných případech není též vyloučena možnost odstranění jedinců s manifestačními formami sípavky.

Pro úplnost je třeba se zmínit ještě o diagnostice alergické a sérologické, které vzhledem k nevyjasněné etiologii pracovány nejsou, i když některé pokusy v tomto směru byly učiněny.

Z uvedeného krátkého přehledu diagnostiky je zřejmé, že nejspolehlivější je doposud diagnostika pitevní a při manifestních formách i klinická. Nejsprávnější je obojí doplňovati.

Prevence a kurativa

Nejúčinnější prevence spočívá v zabránění umístění přenašečů sípavky v doposud zdravých stádech prasat. Poněvadž těmito přenašeči jsou především latentně chorá plemenná prasata, znamená to zvláště přísnou veterinární kontrolu stád plemenných vepřů. Klinická vyšetřování je správné doplnit pitevním vyšetřením na sípavku těch vepřů, kteří pro různé vady exteriéru jdou na porážku.

Prevence ve formě ochranného očkování, případně diagnostického, vypracována není.

Někteří autoři (Čerkašova 58) doporučují preventivní výplachy dutiny nosní slabými roztoky rivanolu, jódu nebo hypermanganu. Vzhledem k tomu, že infekční agens se pravděpodobně omezuje na sliznici dutiny nosní, je myšlenka velmi cenná. Technické provedení je celkem snadné a všude proveditelné. Jistota, že roztok se dostane do všech částí čichového labyrintu a bezpečně zničí infekční agens, však nebude asi stoprocentní.

Kurativa je velmi problematická. Především je nutno si uvědomiti, že atrofie nosních skořep je proces následný a ireparabilní. Má-li tedy léčení být úspěšné, musí být prováděno v akutním stadiu onemocnění. Různí autoři doporučují výplachy nosní dutiny slabými roztoky jódu, hypermanganu, případně antibiotik. Pokusy Gvatkinovy prokázaly, že výplašky z nosní dutiny sípavkou nemocných prasat ztrácejí infekciozitu po preparaci antibiotiky, především streptomycinem a penicilinem.

Použití antibiotik k léčení sípavky v terénu je dosti sporné, aspoň naše pokusy nevedly k přesvědčujícím výsledkům.

Zajímavá je zpráva Spiridinova (1959) o úspěšném použití silic česneku při léčbě sípavky. Silně prchavé silice jistě zasáhnou při výplachu dutiny nosní i ta místa sliznice čichového labyrintu, kam se roztok nedostal. Následné kýchání pravděpodobně přispěje k vyčištění sliznic. Zpráva stojí jistě za pokusné ověření.

Ekonomika

Ztráty, způsobené sípavkou, jsou poměrně velmi vysoké, i když málo názorné. Všeobecně lze říci, že doba výkrmu sípavkou nemocných prasat se prodlužuje asi o jeden měsíc při stejné spotřebě krmiva. Váhový přírůstek je asi o 30 kg nižší než u stejně starých zdravých vepřů v 8 měsících.

Deklasování plemenného prasete v důsledku onemocnění sípavkou na jatečně představuje ekonomickou ztrátu, která je tím vyšší, že zpravidla bývá postižena část chovu nebo celý chov tak, že se ztráta násobí. Poměrně vysoké jsou náklady, spojené s tlumením sípavky a ozdravením chovů, zvláště tam, kde se přistoupí k likvidaci celých chovů prasat.

Ztráty na sípavku v důsledku uhynutí jsou v našich podmínkách celkem nízké. Přistupují ještě ztráty konfiskací patologicky změněných orgánů, které se zpravidla omezí na konfiskaci 1 až 2 kg hlavy.

V chovech zamořených sípavkou jsou ovšem poměrně větší ztráty na selatech, které se odhadují asi na 7,5 %. Vyčísleme-li finančně ztráty, způsobené v důsledku sípavky ztrátou chovné kvality, nižším přírůstkem na váze, prokrměním, konfiskací patologicky změněných částí, dojdeme k poměrně vysoké částce. Průměrná hodnota ztráty u plemenného prasete bude asi 1250 až 1350 Kčs, a u žirného prasete bude se ztráta pohybovat kolem 500 Kčs, počítáno podle platných tržních cen. Tyto ztráty

se ještě zvyšují o platy ošetřovatelů, kteří přibližně měsíc ošetřují prasata bez přírůstku a o náklady, spojené s tlumením sípavky a ozdravením chovů.

Tlumení

Do roku 1955 nebyly v ČSR žádné směrnice, které by nařizovaly tlumení sípavky. Vezmeme-li v úvahu, že první směrnice vyšly v roce 1955 necelý rok po uveřejnění dvou pojednání o výskytu sípavky, oceníme pohotovost, s jakou reagovala veterinární správa na výskyt sípavky. Tato ochranná a zdolávací opatření byla vydána ve věstníku ministerstva zemědělství ze dne 19. 8. 1955, částka 28.

Ve shodě s tehdejšími poznatky o sípavce zaměřují směrnice boj proti sípavce na plemenná prasata a na plemenná stáda prasat. Nařizují vyšetření plemenných stád a zvířat, izolaci nemocných zvířat, kastraci kanců a vyřazení prasníc, v jejichž potomstvu se sípavka vyskytla, zjištění pravděpodobného způsobu zavlečení nákazy, vyšetření chovných linií nemocných plemenných prasat a desinfekci prostředí. Uzávěra zamořeného hospodářství byla stanovena na 1 rok od posledního výskytu.

I když tato veterinární opatření měla mnoho kladů, měla i nedostatky. Slabinou byla především diagnostika, která prakticky pozůstávala z klinického vyšetření v terénu.

Proto byla nahrazena novými směrnici ze dne 4. února 1960, zveřejněnými ve Věstníku ministerstva zemědělství, částka 8 ze dne 19. 2. 1960.

Nové směrnice zaměřují celý boj se sípavkou především na podkladě pitevních průzkumné diagnostiky na jatkách a státních veterinárních vyšetřovacích ústavech.

Zvláštní pozornost je věnována plemenným stádům prasat, kde je chovatelům uložena povinnost doplňovat chovy prasat především vlastním odchovem, nebo prasaty ze zaručeně zdravých chovů. Současně se ukládá povinnost vyšetřovat všechna prasata těchto chovů, určená na žír, nebo dodaná do stanic výkrmnosti, nebo do veterinárních vyšetřovacích ústavů pitevně na sípavku. Okolnost, že jde o prasata z plemenných hospodářství, musí být vyznačena v průvodních listech.

Plemenná zvířata lze posílat na trhy pro plemenná zvířata jen tehdy, odpovídá-li chov prasat předpisům o trzích na plemenná zvířata. Při zjištění sípavky v plemenných chovech prasat mají být při sledování nákazy vyšetřovány chovné linie kanců.

Plemenná a chovatelská hospodářství pro chov prasat a ostatní hospodářství, produkující plemenná prasata, musejí být prosta sípavky.

Veterinárně zdravotní služba na jatkách musí soustavně sledovat změny při sípavce se vyskytující při prohlídce masa u prasat, a to při předepsané prohlídce hlavy po rozpůlení.

Všechna prasata provozoven zamořených sípavkou musí být označena trojúhelníkovým proděravěním pravého ušního boltce. U tetovaných nesmí toto označení porušit tetovací číslo.

Veterinární služba jatek při podezření na sípavku u prasat neoznačených musí provést vyšetření nerozpůlené hlavy na sípavku příčnými řezy rypákem ve spojnici koutků ústních a v případě zjištění sípavky musí toto ohlásiti s udáním místa původu prasete veterinární službě okresního národního výboru. Veterinární služba ONV pak provede šetření v chovu prasat, odkud prase pocházelo, a zařídí veterinární opatření.

Smyslem těchto opatření je především zjistit všechna skrytá ohniska sípavky, bezpečně zabránit, aby na aukční trhy se dostala zvířata nemocná latentní sípavkou a viditelným označením nemocných prasat zabránit jakékoliv možné machinaci s nemocnými prasaty.

K zpřesnění diagnózy umožňuje toto opatření naříditi poražení jednoho nebo více prasat z vyšetřovaného stáda, a to prasat nemocných nebo podezřelých. Podle potřeby se provede toto vyšetření v součinnosti s veterinárním vyšetřovacím ústavem.

Ohnisko nákazy se vymezí a označí nápisem „Nákaza zvířat — nepovolaným vstup zakázán“. Nemocná prasata v jatečné váze kromě březích prasnic se porazí. Prasata nemocná a podezřelá z nákazy se oddělí od zdravých. Připouští se možnost, aby prasata z chovů, zamořených sípavkou, se přesunula jen do výkrmů k tomu zvláště určených.

Zakazuje se připouštění nemocných prasnic nebo prasnic, které měly vrhy s výskytem sípavky. Takové prasnice a jejich potomstvo se zařazují do výkrmu ve vlastním zemědělském závodě. Výjimka je povolena u užitkových chovů, kde se provádí ozdravování. Plemenní kanci nemocní sípavkou, nebo takoví, kteří mají sípavkou nemocné potomstvo, se vykastrují. Nařizuje se pravidelná kontrola veterinární službou jedenkrát za měsíc, která dohlíží na zdravotní stav prasat a kontroluje dodržování veterinárních opatření. Nařizuje se pravidelné provádění průběžné desinfekce 2% roztokem chloraminu nebo sodného louhu.

Ozdravování užitkových chovů prasat

(pokud nebylo přistoupeno k likvidaci chovu) se provádí:

A. Výběrem prasnic do vlastního užitkového chovu, které nejsou nemocné nebo podezřelé z nákazy.

B. Vyřazováním nemocných a z nákazy podezřelých prasnic, které mají vrhy selat s výskytem sípavky.

C. Zřizováním izolovaných bud pro porod prasnic a odchov jejich selat a sledováním zdravotního stavu selat z jejich vrhů po dobu 6 měsíců.

Nejúspěšnější způsob likvidace sípavky však je založení nového zdravého chovu v nezamořeném prostředí a postupná likvidace zamořeného stáda po vykrmení. Nové stáje lze osazovat zásadně jen zaručeně zdravými prasaty ze zdravých chovů.

Uzávěra zamořeného hospodářství je stanovena na 12 měsíců od posledního výskytu. Je stanoven způsob závěrečné dezinfekce. Výjimky z těchto směrnic může povoliti jedině ministerstvo zemědělství.

S o u h r n

Závěrem stručně shrnuji: Sípavka je známa asi 130 let a její původní vlastní je Německo. Šíří se především latentně chorými plemennými prasaty. Importem takových prasat byla pravděpodobně zavlečena do většiny chovatelsky vyspělých států. V ČSR byla po prvé konkrétně zjištěna a popsána po druhé světové válce na školním statku Milotice u Kyjova v r. 1952.

Etiologie sípavky je dosud nevyjasněna. Poslední poznatky a publikace se shodují na komplexním činiteli. Choroba postihuje především velkochovy prasat a má výrazně infekční charakter. Infekční agens se přenáší nejčastěji přímým stykem, méně již zamořeným prostředím. O životnosti infekčního činitele není jednotných názorů.

Nejspolehlivější diagnostikou je diagnostika pitevní. Provádí se adspektivním posouzením příčného řezu horní čelisti ve spojnici koutků ústních. Atrofické změny skořep jsou zde výrazně patrné. Klinická diagnostika pokročilých sípavkových změn s deformacemi rypáku je poměrně snadná. Obtížná je diagnostika počátečního sípavkového onemocnění a diagnostika latentních forem, které jsou poměrně

časté. Z pomocných diagnostických metod je cenné rentgenologické snímkování nosní dutiny. Ostatní vyšetřovací metody, včetně rhinoskopie nejsou doposud pracovány.

Prevence spočívá především v zabránění styku nemocných prasat s prasaty zdravými. Ostatní prevenční metody, jako je vyplachování nosní dutiny různými roztoky, je nutno ověřiti.

Kurativní zákroky mají význam jen v počátcích onemocnění. Provádí se převážně výplachy nosní dutiny. Potřebují rovněž ověření.

Ekonomické ztráty je možno roztržiti do pěti skupin. Jsou to ztráty na váze zpomalením růstu, ztráty na krmivu zpožděním v dosažení jatečné váhy, ztráty chovné hodnoty u plemenných prasat, ztráty konfiskací změněných částí hlavy a ztráty uhynutím.

Tlumení sípavky a ozdravování sípavkou zamořených chovů se provádí v ČSSR na podkladě směrnic ministerstva zemědělství ze dne 4. února 1960. Předchozí směrnice z r. 1955 byly zrušeny. Sípavka se podle těchto směrnic stává nebezpečnou nákazou, povinnou hlášením. Uzavírací doba je stanovena na 12 měsíců.

Směrnice se opírají především o pitevní diagnostiku sípavky. Hlavní váha boje proti sípavce spočívá na veterinární sanitní službě jatek a veterinárních vyšetřovacích ústavů, které na podkladě povinné prohlídky hlav poražených a pitvaných vepřů na sípavku, odkrývají skrytá ohniska sípavky a hlídají čistotu plemenných stád prasat. Všechna jatečná prasata podléhají povinné prohlídce na sípavku po poražení. Pozitivní nálezy se hlásí veterinární službě ONV, která učiní další předepsaná opatření. Zvláštní důraz je kladen na povinnou pitevní kontrolu vepřů žirných z plemenných stád a vepřů z těchto stád ve stanicích výkrmnosti.

Prasata v zamořených provozovnách musí býti označena proděravěním pravého ušního boltce. Prasata jatečná, pokud jsou nemocná, jsou dodána na jatky. Nemocní kanci a prasnice, nebo podezřelí, se vyřazují na žír.

Ozdravení se provádí především zavedením dvou paralelních chovů v oddělených stájích a postupným převáděním zamořeného chovu na žír a likvidací a narůstáním zdravého chovu. Méně časté je ozdravování výběrem zdravých prasníc a vyřazováním prasníc podezřelých z nákazy a izolováním odchovem vybraných prasníc v izolovaných boudách a pozorováním jejich potomstva.

O nových směrnících lze říci, že dávají všechny předpoklady k úspěšné likvidaci sípavky. Boj bude jistě dlouhý a záleží na svědomitém dodržování směrnic jak veterinární a zootechnickou službou, tak také chovateli prasat a národními výbory, aby byl doveden k vítěznému konci.

Современное состояние атрофического ринита свиней в ЧССР

В заключении работы приводится краткое обобщение. Атрофический ринит известен приблизительно в течение 130 лет и его первоначальной родиной является Германия. Заболевание распространяется прежде всего латентно больными племенными свиньями. В результате импорта таких свиней заболевание вероятно распространилось в большинстве государств с высокорозвитым свиноводством. В Чехословакии это заболевание было впервые конкретно установлено и описано после второй мировой войны в учебном хозяйстве Милолице около Кийова в 1952 г.

Этиология атрофического ринита до сих пор не выяснена. Последние данные и опубликованные работы сходятся на комплексном факторе. Болезнь возникает

прежде всего в крупных свиноводческих фермах и носит явно инфекционный характер. Инфекционный агент чаще всего передается непосредственным контактом животных и, в меньшей степени, зараженной средой. О жизнеспособности инфекционного фактора не существует единого мнения.

Наиболее надежную форму диагностики представляет собой диагностика при вскрытии животного. Она проводится путем адспективной оценки поперечного разреза верхней челюсти по линии соединения уголков рта. Атрофические изменения носовых раковин здесь были ярко выражены. Клиническая диагностика в высокой стадии изменений, вызванных атрофическим ринитом, с деформациями свиного рыла, сравнительно несложна. Наиболее затруднительна диагностика начальной стадии заболевания атрофическим ринитом и диагностика латентных форм, встречающихся довольно часто. Из вспомогательных диагностических методов наиболее ценным является рентгенологическое исследование носовой полости. Остальные методы исследования, включая риноскопию, до сих пор разработаны недостаточно.

Профилактика заключается прежде всего в предупреждении контакта между здоровыми и больными свиньями. Остальные профилактические методы, как например, прополаскивание носовой полости различными растворами, необходимо еще проверить.

Лечебное вмешательство имеет значение только в начальных стадиях заболевания. Проводится главным образом промывание носовой полости. Этот метод лечения также требует проверки.

Экономические потери можно разделить на пять групп. Это потери в весе за счет замедления роста, потери в виде высокого расхода кормов из-за запоздалого достижения убойного веса, далее потери племенной ценности и племенных свиней, потери в связи с конфискацией патологически изменившихся частей головы и, наконец, потери за счет гибели животных.

Подавление атрофического ринита и оздоровление зараженных атрофическим ринитом стад в ЧССР проводится на основании директив Министерства сельского, лесного и водного хозяйства от 4 февраля 1960 г. Предыдущие директивы от 1955 года были отменены. Согласно этим директивам атрофический ринит становится опасной инфекционной болезнью, подлежащей обязательному заявлению. Период изоляции хозяйства установлен на 12 месяцев.

Директивы опираются прежде всего на диагностику атрофического ринита путем вскрытия животных. Основной принцип борьбы с атрофическим ринитом заключается в ветеринарно-санитарном обслуживании на бойнях и в ветеринарных диагностических институтах, которые на основе обязательного исследования голов забитых и вскрываемых свиней, заболевших ринитом, находят скрытые очаги атрофического ринита и следят за благополучием племенных стад свиней. Все убойные свиньи для установления наличия атрофического ринита после забоя подвергаются обязательному осмотру. Положительные диагнозы сообщаются ветеринарной службе районного национального комитета, которая принимает дальнейшие предписанные меры. Особое значение придается обязательному послеубойному вскрытию для контроля откормочных свиней из племенных стад и свиней из этих стад, находящихся на станциях по установлению способностей к откорму.

Свиньи в неблагополучных по атрофическому риниту хозяйствах должны быть помечены выщипом треугольника из правой ушной раковины. Больные хряки и свиноматки, или животные, вызывающие подозрение, выбраковываются на откорм.

Оздоровление проводится прежде всего введением двух параллельных стад в отдельных свинарниках и постепенным переводом зараженного стада на откорм с последующей его ликвидацией путем забоя при одновременном распространении

здорового поголовья. Реже оздоровление проводится путем отбора здоровых свиноматок и выбраковки свиноматок, вызывающих подозрение в отношении атрофического ринита и путем отдельного содержания выбранных свиноматок в изолированных будках с соответствующим наблюдением их потомства.

О новых директивах можно сказать, что они дают все предпосылки для успешной ликвидации атрофического ринита. Борьба безусловно будет еще продолжительной и ее успех будет зависеть от добросовестного соблюдения директив как ветеринарным и зоотехническим обслуживанием, так и свиноводами и национальными комитетами.

Die gegenwärtige Situation der Schnüffelkrankheit (SK) in der Tschechoslowakischen Sozialistischen Republik

Die SK ist schon etwa 130 Jahre bekannt, ihr Ursprungsland ist Deutschland. Verbereitet wird sie hauptsächlich durch latent erkrankte Zuchttiere. Importe solcher Tiere haben sie wahrscheinlich in den Großteil der züchterisch hochstehenden Staaten verschleppt. In der Tschechoslowakischen Sozialistischen Republik wurde sie das erstmal festgestellt und beschrieben nach dem 2. Weltkrieg, auf dem Schulgut Milotice bei Kyjov im J. 1952.

Die Ätiologie ist noch nicht geklärt. Die letzten Erkenntnisse und Veröffentlichungen sprechen alle für einen komplexen Faktor. Die Krankheit befällt vorzugsweise große Schweinezüchten und hat einen ausgeprägten infektiösen Charakter. Die Ansteckung erfolgt meist durch direkten Kontakt, weniger durch die verseuchte Umgebung, Über die Lebensfähigkeit des Ansteckungsstoffes gehen die Ansichten auseinander.

Die sicherste Diagnostik ist die Sektion. Beurteilt wird durch Adspektion ein Querschnitt durch den Oberkiefer in der Höhe der Maulwinkel. Dort sind die atrophischen Veränderungen der Nasenmuscheln ausgeprägt. Die klinische Diagnose fortgeschrittener Veränderungen der SK mit Deformation des Rüssels ist ziemlich leicht. Schwieriger ist das Erkennen der beginnenden Krankheit und ihrer latenten Form, die ziemlich häufig sind. Eine wertvolle Hilfsmethode ist die Skiagraphie der Nasenhöhle. Andere Untersuchungsmethoden einschließlich Rhinoskopie werden noch verbessert.

Die Vorbeuge besteht in der Unterbindung des Kontaktes kranker Schweine mit gesunden. Andere Vorbeugungsmethoden, wie Naselspülung mit verschiedenen Lösungen, sind noch zu überprüfen.

Therapeutische Eingriffe kommen nur zu Beginn der Erkrankung in Frage. Sie bestehen meist in Nasenspülungen und bedürfen der Überprüfung.

Die wirtschaftlichen Verluste können in 5 Gruppen aufgeteilt werden. Verluste am Gewichtszuwachs, Verluste an Futtermitteln infolge verspäteter Erlangung des Schlachtgewichtes, Verlust am Zuchtwert bei Zuchttieren, Verluste durch Konfiskation der veränderten Teile und Verluste durch Verenden.

Die Tilgung der SK und die Gesundung verseuchter Zuchten wird in der Tschechoslow. Sozialist. Republik nach den vom Landwirtschaftsministerium herausgegebenen Richtlinien vom 4. Februar 1960 vorgenommen. Die früheren Richtlinien vom Jahre 1955 wurden außer Kraft gesetzt. Die SK wird als gefährliche Seuche bezeichnet und unterliegt der Meldepflicht. Die Sperrezeit wurde in der Dauer von 12 Monaten festgesetzt.

Die Tilgung der SK beruht auf der Sektionsdiagnostik. Das Hauptgewicht bei der Tilgung trägt der veterinäre Sanitätsdienst auf den Schlachthöfen und in den

staatlichen Veterinäruntersuchungsanstalten, die auf Grund der obligaten Sektion der Köpfe von geschlachteten oder seziierten Schweinen hinsichtlich der SK verdeckte Herde der SK aufdecken und die Seuchenfreiheit der Zuchttiere überwachen. Alle Schlachtschweine unterliegen obligat der Untersuchung auf die SK nach der Schlachtung. Positive Fälle werden dem Bezirksveterinärdienst gemeldet, der die weiteren vorgeschriebenen Anordnungen trifft. Ein besonderes Gewicht wird gelegt auf die obligate Untersuchung bei der Sektion von Mastschweinen aus Zuchtherden und von solchen Schweinen in den Mäststationen.

Schweine in verseuchten Betrieben sind durch eine Durchlochung der rechten Ohrmuschel gekennzeichnet. Schlachtschweine, die krank sind, werden an den Schlachthof abgegeben. Kranke Eber und Sauen, ebenso verdächtige, werden ausgemustert und gemästet.

Die Gesundung erfolgt vorerst durch Einführung zweier nebeneinander bestehenden Zuchten in separaten Ställen, durch stufenweise Überführung des verseuchten Anteils zur Mästung und spätere Schlachtung, sowie durch Anwachsen des gesunden Anteils. Weniger häufig erfolgt die Gesundung durch Auswahl der gesunden Sauen und Ausmerzung der verdächtigen Sauen und durch isolierte Aufzucht von ausgewählten Sauen in isolierten Hütten und Beobachtung ihrer Nachkommen.

Die neuen Richtlinien geben alle Voraussetzungen für eine erfolgreiche Tilgung der SK. Die Bekämpfung wird gewiß lange dauern aber an der gewissenhaften Einhaltung der Richtlinien von Seiten des Veterinärdienstes, des zootechnischen Dienstes sowie auch der Züchter und der Volkskommissariate wird es liegen, daß sie so bald als möglich das erhoffte Ende erreicht.

Problémy ve výzkumu červenyk prasat

Проблемы исследования рожи свиней

Probleme der Schweinerotlaufforschung

Prof. dr. V. GOERTLER

ředitel Veterinárně vyšetřovacího ústavu, Jena, NDR

Došlo dne 20. X. 1960

Klasické nákazy zvířat, sněť slezinná, vozhrivka, neštovice, hřebčí nákaza, tuberkulóza, jsou již jakž takž utlumeny nebo jejich utlumení lze v dohledné době očekávat s jistotou jako utlumení brucelózy. Nyní stojí v popředí — fakultativní — nákazy, hromadně se vyskytující nakažlivé nemoci, u nichž vlastnosti původce jsou stejně proměnlivé jako vnímavost nositele nákazy. Salmonely jsou klasickým příkladem ukázky nesnadnosti, s níž lze dojít k jasným poznatkům o morfologických, kulturních a sérologických vlastnostech původce. Nyní je registrováno 400 různých typů a variant salmonel, lze počítat s dalšími — objevy —; přitom je pochybné, zda jde o neměnné typy nebo o více změněné varianty; tyto výsledky bakteriologického výzkumu ovšem naše epidemiologické znalosti podstatně nerozšířily.

Ne zcela tak nepřehledné, ale v podstatě podobné jsou poměry i u červenyk, nákaze, která je známa více než půl století a odjakživa je tlumena podle stejných zásad. Teprve v posledních 20 letech se výzkum na červenku důkladněji zaměřil, ačkoliv až do té doby panovalo domnění, že všechny problémy jsou známe, i když nejsou zcela rozřešené.

O infekčních poměrech při července nevíme nic jistého. Výskyt zárodků červenyk u prasat nevede v žádném případě vždy a ani ve většině případů, k červenkovému onemocnění. Asi polovina všech prasat — může to být i více — má na tonzilách, ve žlučovém měchýři nebo ve střevě zárodky červenyk, aniž kdy onemocněla. Zda infekce propukne, to závisí jak od virulence červenkových zárodků, tak i od citlivosti, respektive odolnosti prasat a konečně i od zevních podmínek, které mohou mít vliv jak na mikroby, tak i na prasata. Epidemiologie červenyk může být plně hodnocena jen z těchto hledisek.

Virulence zárodků červenyk kolísá v širokých mezích. Dříve obvyklé zkoušení virulence červenkových kmenů na bílých myškách je zcela bezvýznamné a nemůže poskytovat žádné rozhodnutí o virulenci pro prasata. Avšak i zkoušení virulence na prasatech udává jen poněkud více poznání o současném stupni virulence zkoušeného kmene, často jen o jeho virulenci při určitém způsobu infekce, např. o kožní virulenci při skarifikaci. Virulence se může měnit, jak jasně prokázaly kultivační pokusy na různých půdách a při delších pasážích. U zárodků čer-

venky, žijících saprofyticky mimo i v organismu zvířat je třeba ještě více počítati se změnou virulence vlivem vnějších podmínek, nežli při laboratorních kulturách. Přitom ještě zůstává otevřená otázka, zda stejné kmeny nemohou ve stejnou dobu vyvolat u různých prasat onemocnění různého stupně. Je pochopitelné, že mikrobiologové pátrají po znacích, které by dovolily určit virulenci červenkových kmenů podle morfologických, kultivačních a sérologických vlastností se zřetelem k jejich původu (septikemie, kožní červenka, červenkové onemocnění srdečních chlopní, tonzil, mizních uzlin, střevních atd.).

U kolonií rozlišujeme hladké — (S) a drsné — (R) formy. Již toto rozdělení není trvale platné, neboť obě formy mohou být vhodným kultivačním postupem změněny. Otázka je ještě složitější tím, že u obou forem mohou přicházeti tři sérologické typy. Podle specifického, v kyselinách rozpustného antigenu lze rozlišit A—B varianty od N kmenů, které nemají A ani B antigen. Mnozí, zvláště důkladní, badatelé, rozlišují O — formy sérologicky plně hodnotné a o — formy, které ve svých antigenních vlastnostech představují změněné, dissociované varianty. Antigenní strukturu umožňují odhalit aglutinace a precipitace. Ani tyto typy nelze od sebe přesně a trvale oddělit. Při delší kultivaci nastávají — transformace, i když ne u všech kmenů.

Šetření provedená z čerstvě vypěstovaných zvířecích kultur ukázaly, že při septikemii nacházíme převážně typ A, považovaný za silně virulentní, zatímco B typ má jen malou virulenci, N typ je považován za nepatogenní. Avšak i virulence A kmenů kolísá v širokých hranicích a i tyto kmeny mohou ztratit svoji původní virulenci, jinak B kmeny mohou být silně virulentní. Zárodky červenky, které byly izolovány z tonzil nebo ze střeva zdravých prasat, patřily jak k N, B i A typu. Jejich virulence byla nejčastěji, ne však u všech kmenů, nepatrná.

Červenkové kmeny mají pravděpodobně při parazitickém životě v hostiteli nebo v laboratoři vysokou plasticitu ve svých kulturních, sérologických i patologických vlastnostech, které nejsou fixovány na trvalo.

Ve vlastních šetřeních, provedených ve spolupráci s H u b r i g e m, který tyto pokusy plánoval a velmi pečlivě provedl, byly prokázány bakterie červenky u zdravých, neočkovaných jatečních a pokusných vepřů, kterým nebyly žádným jiným způsobem podány bakterie červenky, a to B a N typy těchto mikrobů v tonzylách. V současné době může průkaz imunity podat mimo skarifikaci kůže jen sérologické vyšetřování krve na přítomnost aglutininů, nebo bakteriologicko-sérologická růstová zkouška. Při vysokých titrech séra v růstové zkoušce u vyšetřovaných prasat nebylo lze pokusná zvířata infikovati ani vysoce virulentními kmeny červenky. Při nízkých titrech vyskytly se mírné formy červenky (kopřivka nebo chronická červenka).

I při použití vysoce virulentní kultury nebylo možno v žádném případě infikovat všechny vepře ani kožní skarifikací tak, aby vznikla septikemická červenka. Tato schopnost odolnosti mohla být podmíněna buďto vrozenou vzdorností nebo získanou imunitou. Jen umělou infekcí lze prokázat, zda vyvinutá imunita je skutečná. Sérologická vyšetření jsou sice v pozitivním případě ukazatelem infekce, avšak z výše titru nelze činiti závěry na stupeň imunity.

Značný epidemiologický význam lze jistě přisuzovat různě vnímavosti prasat. Podle mého názoru je tato v popředí příčin červenkového onemocnění (a též škod při očkování) zvláště u prasat, kde jsou setřeny hranice mezi fyziologickým a patologickým stavem organismu. Stačí k tomu jen relativně malé nepříznivé vlivy (chyby v dietetice, ustájení, vliv počasí, nemoci atd., aby se dispozice takového

labilního organismu tak změnila, že i u zdánlivě zdravého prasete vznikne červenková infekce.

U jednotlivých kmenů prasat je různá konstituční odolnost proti července, jak v pečlivých pokusech prokázal Fortner a jeho spolupracovníci. Tím lze vysvětlit, že v některých obcích se často vyskytuje červenková nákaza nebo červenka po očkovaní, zatím co v jiných, sousedních obcích se u zvířat, očkovaných stejnou očkovací látkou, červenková nákaza a komplikace po očkovaní nevyskytují, neboť v jednotlivých obcích při použití stejných plemenů jsou skoro všechna prasata vzájemně příbuzensky blízká a mají proto pravděpodobně též společný dědičný základ pro nebo proti července. Není pochyby o tom, že citlivost prasat pro červenkovou infekci je individuálně různá. Při propuknutí červenkové nákazy zůstávají ve velkých stavech mnohá zvířata klinicky zdravá a to asi polovina nebo dvě třetiny. Kdo pozoroval po desetiletí epidemiologický obraz červenky, ví, že se pozvolna změnil: akutní a ještě více perakutní septikemie ustoupily pomaleji probíhající formám. Červenka není již takovou nákazou jako před sto léty a jako nyní údajně v Americe. Lze to přičítati důsledkům přirozeného vývoje, který vedl ke vzniku odolných jedinců (následkem smrtelného onemocnění citlivých jedinců).

Vzhledem k tomu, že vnímavost prasete v důsledku jeho rezistence proti července je stejně tak různá jako — virulence — jednotlivých červenkových kmenů, setkávají se při vzniku červenkových bakterií do těla prasete dvě neznámé veličiny: vnímavost nebo rezistence prasete a silná nebo slabá virulence mikroba červenky.

Přesto, že většina prasat má ve svém organismu zárodky červenky, nejsou pro to ještě všechna prasata imunní, nýbrž často alergická. Alergie je specifická, to jest antigenem (bakteriálním, toxickým, chemickým, fyzikálním, termickým antigenem) podmíněná změněná reakční schopnost těla. Alergie je nadřazené dění, které se odehrává při styku těla s kterýmkoliv antigenem. Aktivně získaná imunita je jen druhem alergie. Anafylaxe (přecitlivělost) a imunita nejsou svojí povahou protivy, nýbrž jen různé formy, do jisté míry — protipóly — alergie.

Při imunitě se nově vstřebávaný antigen rychle a téměř bez reakce zneškodní. Alergické reakce vznikají tehdy, když účinkem antigenu změněná reakční schopnost těla, tj. množství a druh protilátek, nepostačuje k tomu, aby neutralizoval nově se vyskytnuvší antigen. Pak nastává buďto alergický šok, nebo pomaleji probíhající funkční a strukturální změny pojiva, hladkého svalstva a cév.

Při bakteriálních reinfekcích alergizovaného těla nevyklučují alergické příznaky nikterak usídlení a pomnožení bakterií ve změněných tkáních a zvláště v krevním oběhu; naopak mohou však i při celkové infekci (septikemii) probíhati pochody, které se musí hodnotit jako příznaky alergie v užším smyslu. Při července je to dokonce velmi časté: kopřivková forma může vést k septikemii a po přestálé červenkové septikemii se mohou vyvinouti endokarditidy nebo záněty kloubů, může se vyvinout vleká červenka.

Červenková kopřivka ve své typické formě rhombických skvrn je příkladný vzor — alergického kožního fenomenu. Je pozoruhodné, že rhombická forma červenkové kopřivky nebyla vysvětlena ani patologií ani fyziologií. Krevní zásobení kůže a inervace různě velkých a různě utvářených skvrn nemohou býti použity k objasnění.

Nepoznatelnou formou alergického onemocnění je dále *endokarditis*, která vzniká současně s kopřivkou; kopřivka rychle přechází, zatím co změny na srdečních chlopních se vyvíjejí zvolna.

Dále jsou známy jako vleklé formy červeny záněty kloubů u prasat a u sérových koní, používaných k výrobě červenkového séra, u nichž po každém novém vstříknutí kultury tyto záněty znovu vzplanou. To jsou alergenti, kteří nicméně poskytují dobré červenkové sérum a u nichž vznik hyperalergie a protilátek jde navzájem pospolu.

Výrazný je obraz anafylaktického šoku, při němž se koně během intravenózní injekce červenkových kultur naráz zhroutí a často v několika minutách hynou.

Skutečnost, že i podání červenkové adsorbátové vakciny, tj. mrtvé očkovací látky vyvolává alergii a může vést ke vzniku červeny po očkování, je jasným průkazem pro alergickou povahu mnohých forem červeny.

Vleklá červinka je červenkou alergizovaného zvířete, je alergií.

Jsou možné tři formy nemoci:

1. červinka probíhá v důsledku pravé — nové infekce —, podmíněné vniknutím virulentních zárodků červeny ve vysoce vnímavém organismu jako — septikemie.

2. červinka probíhá jako septikemie proto, že v těle se vyskytující zárodky červeny, dosud neškodné, se stanou patogenní na podkladě paralogické precitlivělosti, nebo též účinkem zevních podmínek, snižujících odolnost organismu tak, že zárodky náhle proniknou do krevního oběhu, zaplaví jej podobně jako je tomu při proniknutí zárodků otravy masem do těla zvířete v důsledku jiného onemocnění. V takových případech může být červenkové alergii zastřena červenkovou septikemií.

3. Červinka probíhá jako — alergie —, vyvolaná pomnožením v těle se vyskytujících nebo do těla nově vniklých bakterií, na něž alergizovaný organismus reaguje neobvykle (patologicky). Alergie může probíhat akutně (urtikaria) nebo vlekle (arthritis, endocarditis, revmatismus).

Jako faktory pro vznik červeny jsou uváděny mnohé zevní vlivy, jako klima (přehřátí, prochlazení), dietní chyby, závady v ustájení apod., Již desetiletí známá epidemiologická pozorování prokazují, že takové vlivy jsou účinné. (Vysoký výskyt červeny v letních měsících, častý výskyt červeny po očkování při špatných povětrnostních podmínkách).

Nakažení červenkou ze zvířete na zvíře, z dvorce do dvorce, je vzácné. V průběhu desetiletí bylo jen málo referováno o rozvlečení a přenosech červeny, domněnky o kontaktní infekci byly jen zřídka prokázány. Epizootie jako na příklad při moru prasat a při slintavce ještě nebyly zaznamenány. Současná masová onemocnění, jako — červenková léta, — vlivy počasí, — letní vedra, — a roční kolísání, poukazují však na význam zevních vlivů v nejširším smyslu. Tyto skutečnosti nemůže a nesmí výzkumník v nálezích opomíjet. Epidemiologické dění je třeba přezkoušet všemi prostředky pečlivé statistiky, meteorologie, klinické kazuistiky (a samozřejmě i bakteriologie a sérologie).

Laboratorním vyšetřením sice může být zjištěno, zda a že bodavý hmyz může červinku přenášet, nikdy však takové, pozitivně probíhající pokusy neprokazují, že červinka je přenášena výlučně nebo převážně nebo i jen často hmyzem. Zde končí hranice laboratorního šetření, i když jsou provedeny jako terénní pokusy na prasatech. Podle epidemiologických zvláštností červeny lze možnosti — tlumení — posuzovat velmi skepticky. Očkování proti července, prováděné více než půl století, nevedlo ani ke zmenšení počtu případů červeny ani k jejímu utlumení. To se podle dnešního stavu našich vědeckých poznatků ani od něj nedá očekávat bez ohledu na to, zda se očkuje simultánně nebo vakcinou. Červinka se vůbec nemůže — utlumit — ve smyslu — klasického boje — proti nákazám, protože není podle

své povahy žádnou nákazou a protože zárodky červanky jsou ubiquitární. Proto také nelze očekávat žádné účinné utlumení nákazy podle opatření, uvedených v zákoně o nálezích zvířat, i když se červanka v jednotlivých krajích — explozivně — vyskytuje, protože hlavní zásada zákona o nálezích zvířat — zabránění přijetí původců nákazy vnímavými zvířaty — nemůže být u červanky realizována. Opatřeními, plynoucími z uzavěrky zamořeného dvorce, desinfekcí stáje se červanka nepotlačí, tím méně utlumí. Ubiquitární bakterie nebo virulentní kmeny nelze skutečně zničit. Zdá se, že cíl dezinfekce je groteskní: zničit jen virulentní kmeny, smířit se s existencí saprofytických zárodků, tedy provádět současně určitý druh — eugeniky — červenkových bakterií.

Červanka nepatří již do skupiny nálezů, které mají být tlumeny veterinárními opatřeními. Prakticky je ještě formálně tlumena tím, že je pojata do statistiky, je-li vůbec ještě hlášena. Jistě se vyskytuje více případů červanky, než je statisticky zachyceno. Zákonitá nařízení o uzavěře a desinfekci jsou celkem velmi povrchně prováděna. Ale i kdybychom proti červance bojovali silnějšími (účinnějšími) opatřeními, nebyl by výsledek lepší a červanku bychom neutlumili.

Jsem si vědom, že jsem poukázal na více problémů, nežli skutečnosti červenkové infekce a epidemiologie přinesly. Výzkum červanky za více nežli pět desetiletí nám objasnil zejména v posledních dvaceti letech mnohé jednotlivosti, ale nepřinesl nám plně jasno. Nelze vystačiti ani s metodami bakteriologie, sérologie, laboratorního výzkumu. Epidemiologická bádání, pozorování a přesný záznam vývoje nákazy, jejího rozvlečení, klinických případů červanky, explozivního výskytu podle zevních vlivů, ustájení, krmení byly již desetiletí opomíjeny a musí se státi rovnocenné vedle laboratorních a terénních pokusů na prasatech, jejich zajištění musí ukazovat základní výzkumné problémy, jejichž rozřešení sice pokusný výzkum napomáhá, ale sám je nemůže provést ani dokončit, poněvadž vždy odpovídají jen částečným otázkám, nikdy však komplexu otázek. Nesmíme být jen mikrobiology, ale musíme se státi epidemiology.

Souhrn

Nákazy červankou ze zvířete na zvíře nebo ze dvorce na dvorec jsou vzácné. O rozvlečení a přenosech červanky bylo průběhem desetiletí referováno jen zřídka. Kontaktní infekce jsou více předpokládány a jen zřídka byly jasně prokázány. Epizootie jako při slintavce a moru prasat se nevyskytují. Současné masové onemocnění — červenková léta, — vlivy počasí, — letní vedra, — a — kolísání podle ročních období — poukazují na význam zevních vlivů v nejširším smyslu. Všechny tyto skutečnosti musí být brány v úvahu v epidemiologickém výzkumu, který musí být proveden všemi prostředky pečlivé statistiky, meteorologie, klinické kasuistiky (a samozřejmě i bakteriologie a sérologie).

Проблемы исследования рожи свиней

Перенос рожи свиней с животного на животное или из хозяйства в хозяйство — редкое явление. В течение десятилетий было лишь немного сведений о распространении и переносах рожи, а также и контактный способ инфекции скорее только предполагается и лишь изредка был ясно подтвержден. Эпизоотии, как при ящуре и чуме свиней, не встречались. Существующие массовые заболевания — «рожистое лето», «влияния погоды», «летняя жара» и «колебание в зависимости от

времени года» — свидетельствуют о значении внешних влияний в самом широком смысле. Все эти факторы должны приниматься во внимание в эпидемиологическом исследовании, которое должно проводиться с использованием всех средств точной статистики, метеорологии, клинической казуистики (и конечно также бактериологии и серологии).

Probleme der Schweinerotlaufforschung

Übertragungen von Schweinerotlauf von Tier auf Tier oder von Hof zu Hof sind sehr selten. Über Ausbreitung und Übertragung des Schweinerotlaufs wurde in 10 Jahren nur selten referiert. Kontaktinfektionen sind nur selten klar nachgewiesen worden und werden nur vorausgesetzt. Epizootien, ähnlich wie bei Maul- und Klauenseuche und Schweinepest, kommen nicht vor. Gleichzeitige Massenerkrankungen, Rotlaufjahre, Witterungseinflüsse, Sommerhitze und die Schwankungen je nach der Jahreszeiten weisen auf die Bedeutung äußerer Einflüsse im weitesten Sinne des Wortes hin. Alle diese Tatsachen sind bei epidemiologischen Forschungen zu beachten, die mit allen Hilfsmitteln einer genauen Statistik, Meteorologie, klinischer Kasuistik (und selbstverständlich auch der Bakteriologie und Serologie) durchzuführen sind.

Krmný odpad z hlediska veterinární hygieny a dietetiky

Кормовые отходы с точки зрения ветеринарной гигиены и диететики

Verfütterung von Abfällen vom Standpunkt der Veterinärhygiene und -Diätetik

MVDr. Zdeněk VESELÝ, prom. vet. lék. Věra JELÍNKOVÁ
Z katedry výživy a dietetiky veterinární fakulty VŠZ v Brně — přednosta
doc. dr. J. Kábrt

Došlo dne 20. X. 1960

Vzrůstající požadavky kladené třetím pětiletým plánem na socialistickou zemědělskou velkovýrobu, a to zejména na podstatné zvýšení živočišné výroby na jedné straně a stále ještě nedostatečné zajištění krmivové základny po stránce kvantitativní i kvalitativní na druhé straně, nutí všechny pracovníky v našem zemědělství k hledání nových zdrojů a způsobů zabezpečení správné výživy a tím i užitekosti zvířat.

Úspěšné splnění úkolu zajištění dostatečného množství kvalitních krmiv rostlinného i živočišného původu je možno v podstatě řešit dvěma způsoby. Jednak hledáním cesty, jak vyrobit ve vlastní produkci zemědělských závodů co nejvíce krmiv při současném dosažení jejich maximálního, racionálního využití, a jednak důsledným podchycením a ekonomickým využitím všech zdrojů odpadových surovin v zemědělství, průmyslu, i odpadových surovin získaných ve formě kuchyňského odpadu v podnicích hromadného stravování, v domácnostech a podobně.

Krmným odpadem rozumíme zůstatek průmyslové nebo jiné výroby, který nevzniká jako vedlejší produkt výroby, ale jako skutečný odpad a který není obvykle jako běžné a vhodné krmivo používán. Jako krmný odpad můžeme označit např. pivovarské kaly, sladový prach, syrovátku, rybí odpad, řadu jatečných odpadů a odpad z konserváren ovoce a zeleniny. K průmyslovým zbytkům patří naproti tomu cukrovarské řízky, melasa, pokrutiny atd. Typickou odpadovou surovinou donedávna vůbec nevyužívanou je kuchyňský odpad, získávaný z podniků veřejného a hromadného stravování.

Vzhledem k tomu, že se zvláště u některých druhů odpadu jedná o kvalitní, s hlediska výživy hodnotnou surovinu, mnohdy nám poskytující cenný zdroj živin, musí být naší snahou zachránit co největší část těchto látek pro krmivovou základnu. Při tom je nutno řešit řadu problémů. Vyskytují se potíže jak se zpracováním odpadu pro krmné účely, tak v některých případech s jeho použitím pro některé dietetické a hygienické nedostatky. U některých krmných odpadů se mění složení a tím také dietetické vlastnosti podle druhu a kvality zpracovaných surovin. Je pochopitelné, že se současně mění také výživná hodnota konečného produktu. Nedostatky vzniklé kolísavou výživnou hodnotou krmného odpadu, nevhodnými dietetickými vlastnostmi, dále případným nadměrným obsahem nebo naopak karencí některých látek, vyvažujeme vhodnou kombinací různých krmiv, kde účinky dalších krmiv uvedené nedostatky vyvažují a zajišťují biologicky hodnotnou, vyrovnanou krmnou dávku. Důležitá

je vhodná úprava krmiva. Odpad zkrmujeme buď za syrova, upravujeme jej vařením, silážováním nebo nejlépe sušením. Velký význam z hlediska dietetického má postupný návyk zvířat na nové krmivo.

Dále si musíme všimnout vlivu některých krmných odpadů na kvalitu živočišných produktů, především masa, tuku a mléka. Špatné zkušenosti v tomto směru byly získány např. se zkrmováním rybiho odpadu prasatům po celé období výkrmu. Maso těchto zvířat vykazovalo silný rybí pach, kterého se nebylo možno zbavit. Chyba byla především ve vadné krmné technice.

Využití krmného odpadu je značně ovlivněno způsobem úpravy. Nejvýhodnější je zpracování odpadu na suchý, bakteriologicky nezávadný produkt. Takto upravené krmivo je dobře skladovatelné, nepodléhá snadné zkáze a má obvykle výhodnější dietetické vlastnosti. Dá se dobře používat pro výrobu bílkovinných koncentrátů a krmných směsí ve výrobních i mísírnách krmiv a je použitelné pro většinu druhů hospodářských zvířat. Další výhodou je možnost rozdělování takto upraveného krmiva do zemědělských závodů v širokém měřítku podle potřeby. (Využití v centrálních londech.)

Tento způsob zpracování je však poměrně náročný na technické zařízení a nelze jej vždy zavést z důvodů ekonomických. Odpad s vysokým obsahem vody a malou koncentrací živin, malá kapacita výroby a jiné okolnosti znemožňují někdy tento způsob zpracování. V takovém případě musíme krmný odpad používat buď v původním stavu (syrovátka, odpad ovoce a zeleniny atd.), nebo upravovat jiným vhodným způsobem např. vařením, pečením nebo silážováním. Takto upravený odpad můžeme zkrmovat pouze v omezeném okruhu od zdroje zpracování. Jednak proto, že musí být rychle zkrmen (snadno se kazí) a také proto, že je neekonomické převážet na dlouhé vzdálenosti vodnatá krmiva. Nejvýhodnější se jeví vzdálenost 20–30 km, často však bývá převáženo i na vzdálenost větší.

Všimneme-li si hygienických a dietetických vlastností krmného odpadu vidíme, že tyto úzce souvisí se způsobem zpracování již ve vlastní výrobě. Jsme toho názoru, že při větší péči o odpad ze strany výrobních podniků získávali bychom nejen větší množství suroviny, ale také surovinu hodnotnější, jejíž zpracování by nám činilo mnohem menší těžkosti. Většina výrobních závodů nevěnuje využití různých odpadů pro krmné účely náležitou pozornost. Týká se to např. průmyslu masného, mlékárenského a dalších. Také hlavní producenti kuchyňského odpadu by mohli s větší pečlivostí dodávat mnohem hodnotnější suroviny.

Z hlediska hygienického je důležitým požadavkem nezávadnost krmného odpadu po stránce bakteriální. Musíme si uvědomit, že zejména odpady v průmyslu masném, mlékárenském a kuchyňský odpad mohou být nositeli řady nákaz. Z těchto důvodů klademe tak velký důraz na vyšetření bakteriologické. Naše zkušenosti ukazují, že obvyklé termické úpravy krmného odpadu zcela postačují ke sterilizaci. Odpady s vyšším obsahem vody jsou často napadány plísněmi. Naše stanovisko v této otázce je zcela jasné s ohledem k četným výskytům intoxikací a dietetických poruch, které jsme zjistili po podání krmiv napadených plísněmi. Nemůžeme souhlasit s názorem, že plesnivá krmiva nejsou škodlivá, nebo že jsou dokonce dieteticky výhodnější. Z náhodných výjimek nelze dělat pravidlo. Na základě získaných zkušeností s ohledem na četné literární údaje považujeme vždy plesnivá krmiva za hygienicky závadná. V některých případech je můžeme po určité úpravě použít, někdy se nedají použít vůbec.

U některých odpadů jsou obavy při jejich využití z nadměrného obsahu soli. Zde se domníváme, že obavy z toxického účinku soli jsou často přehnané. Vhodnou kombinací jednotlivých krmiv můžeme obsah soli v krmné dávce upravit na přiměřenou výši. Kromě toho výsledky našich pokusů prováděných na prasatech ukazují, že zajistíme-li zvířatům dostatek pitné vody snesou tato i velmi vysoké - toxické dávky soli bez následků. Zvířata nás sama upozorní na vysoký obsah soli v krmné dávce tím, že krmivo zpočátku odmítají. To ukazuje, že krmný odpad s vyšším obsahem soli můžeme zcela dobře použít i když jej nebudeme podávat zvířatům citlivým vůči soli — např. kuřatům.

Odpady bohaté tukem se stávají hygienicky závadnými pro malou stabilitu tuku. Tuk u krmiv uložených v nevhodném prostředí podléhá rychle rozkladu. Kromě chemických změn způsobených autooxydaci probíhají v tucích i biochemické procesy rázu enzymatického. Činnost enzymů v tucích je jednou ze základních příčin složitěho rozkladu tuku. Veškeré krmné suroviny jsou napadeny mikroorganismy, kvasinkami a plísněmi a lipofilní enzymy jimi produkované působí štěpení glycerinu na volné mastné kyseliny a glycerin. Typický hydrolytický rozpad tuku působí plísně.

S problémy hygienickými se setkáváme zejména při zkrmování kuchyňského odpadu, což je pochopitelné, uvědomíme-li si, z jak různorodého materiálu se tento odpad skládá. Jelikož se zkrmováním kuchyňského odpadu je dosud málo zkušeností a lze předpokládat, že jeho využití bude v současné době značně rozšířeno, považujeme za vhodné uvést některé základní informace a výsledky našich pozorování. (Zpracování odpadů je řešeno vyhláškou MZ č. 190/1954 Ů. 1.)

Kuchyňský odpad představuje směs surovin jak rostlinného, tak i živočišného původu, jejíž složení je velmi různorodé a nepravidelné. Pochází-li odpad z domácností, pak přibližně dvě třetiny celkového odpadu tvoří bramborové slupky nebo různé znehodnocené brambory (naklíčené, shnilé, namrzlé). Ve zbývajících třetině jsou zastoupeny v rozdílných množstvích odpadky zeleniny, ovoce, zbytky chleba, pečiva, odřezky masa a zbytky jiných jídel. Odpad z domácností představuje ovšem z celkového množství sběru kuchyňských odpadků, organizovaného ve větších městech, jen zcela nepatrný podíl. V největší míře jsou získávány kuchyňské odpady v podnicích hromadného stravování — v závodních jídelnách, nemocnicích, kasárnách, studentských menzách, družinách, dále z podniků, které zpracovávají zeleninu a ovoce, a konečně i ze závodů potravinářského průmyslu (masný, pekárenský, cukrovinkářský aj.). Nelze pochopitelně při tak rozdílném a proměnlivém materiálu v kuchyňských odpadech přesně stanovit jejich krmnou hodnotu. Tato kolísá podle měnícího se složení odpadů. Zhruba je možno u odpadů z podniků hromadného stravování předpokládat, že obsahují přibližně 70—85 % i více procent vody. Středně hustý kuchyňský odpad má kolem 17 % sušiny, 2,6 % stravitelné bílkoviny a 12 % škrobové hodnoty. Hlavní podíl sušiny tvoří uhlohydráty, jejichž stravitelnost (až 90 %) je velmi dobrá. Obsahují-li kuchyňské odpady krmiva živočišného původu, jako např. mléko, maslo, části rybích těl, dále kvasnice a z rostlinných krmiv zbytky zeleniny a ovoce, pak můžeme počítat i s obsahem minerálních látek a vitaminů A, B, C, D v odpadech.

Při hodnocení jakosti kuchyňských odpadů je se nutno zmínit i o možnosti znehodnocení tohoto odpadu příměsí nejrůznějších cizích předmětů (popela, kovových předmětů, skla, dřeva), které snižují kvalitu kuchyňského odpadu, a dokonce jsou schopny po zkrmení ohrozit i zdravotní stav zvířete. Přítomnost těchto mechanických příměsí je jedním z hlavních důvodů, proč nelze připustit zkrmování kuchyňského odpadu skotu. Lze tedy doporučovat zkrmování kuchyňského odpadu po provedení mechanických a termických úprav, vzhledem k výše uvedeným vlastnostem tohoto krmiva, především pro výkrm prasat a dále pro krmení drůbeže, hlavně žirných i chovných kachen. V současné době ve větších městech je organizován sběr kuchyňských odpadů svážením v nádobách z pocínovaného plechu, uzavřených patentním víkem. Po svozu je nutno použité nádoby řádně desinfikovat. Pro získání nezávadného, dobrého krmiva je závažná nejen správně prováděná organizace sběru kuchyňského odpadu, ale z hlediska veterinárně hygienických a dietetických požadavků i další úprava odpadů před zkrmováním.

V některých městech jsou již v provozu závody na zpracování kuchyňského odpadu. Princip zpracování odpadu v těchto provozovnách je následující: Závody přijaté odpady přečerpávají nejdříve do drtičů, kde se provádí důkladné rozmělnění větších částic krmiva a zároveň se odstraňují větší, hlavně kovové cizí příměsi. Transportér dopraví takto opracovaný odpad do nádrže, v níž je odpad sterilizován parou pod tlakem asi 2 atm. Teploty dosahují 110—130° C a sterilizace trvá 1 až 1,5 hod. Potom je krmivo přečerpáno do míchačky, do které také vyústuje přívod ze zásobníků s obilnými šroti, ořubami, minerálními přísadami a jinými krmivými. V potřebném množství jsou těmto krmivům kuchyňské odpady doplněny a při zahřívání asi na 60° C se provádí míchání po dobu 1 hodiny. Nato je krmivo čerpacími hadicemi

nasáváno do cisternových vozů a ještě v teplém stavu rozváženo odběratelům (tedy do JZD a Státních statků). K vlastní úpravě kuchyňského odpadu a ke způsobu krmení těmito odpady je třeba uvést právě z hlediska hygienicko-dietetického několik připomínek a zkušeností z praxe. Nejruznější zdroje, odkud jsou odpady čerpány, často delší doba skladování ve sběrných nádobách, k nimž mnohdy mají přístup i živočišní škůdci, a jiné ještě okolnosti vytvářejí podmínky pro rozvoj mikroorganismů, mnohdy i patogenních a nebezpečných pro šíření některých nálezů (např. salmonelóz, moru a obrny vepřů, leptospiroz apod.). Z toho vyplývá jak důležitá je především kontrola bakteriologického stavu odpadů a nutnost veterinárně hygienického dozoru. Z praxe jsou nám známy případy rozšíření moru vepřů právě kuchyňskými splašky a odpadky, které nebyly podrobeny předepsané termické úpravě. Odolnost viru moru vepřů k teplotě není příliš vysoká, vždyť hodinovým zahříváním při 60–80°C se virus bezpečně ničí (Hökl, Dobeš). Proto pokud je skutečně dodržována potřebná teplota a doba při sterilizaci kuchyňského odpadu, a pokud je takto ošetřený odpad během 24 hodin zkrmen, pak nehrozí po této stránce žádné nebezpečí. Pro zajištění zdravotní nezávadnosti krmiva dodržováním správné prováděné sterilizace, je nutná stálá kontrola technického zařízení závodů zpracovávajících kuchyňský odpad. Poučení v tomto směru nám poskytly některé podchytené případy z praxe, kdy technická porucha při výrobě páry způsobila, že kuchyňské odpady nebyly zpracovávány při dostatečné teplotě. Tyto odpady používané ke krmení ve výkrmné vepřů, pocházely z dětské nemocnice, kde se v téže době vyskytlo několik případů lehčího ikteru. Přibližně za 2 týdny po zkrmení těchto odpadů, po velmi akutním průběhu onemocnění (za příznaků celkové apatie, anapetence, později i ikterického zabarvení sliznic a kůže), uhynulo několik kusů vepřového brava. Vyšetřením uhynulých kusů byl u nich zjištěn enzootický ikterus leptospirozního původu (Weilova choroba). Z uvedeného vyplývá nutnost náležité sterilizace odpadu a zvláštního postupu při zpracování odpadu získaného z infekčního prostředí. Odběr odpadu z infekčního prostředí bývá upraven zvláštní vyhláškou příslušného NV.

Jak je zřejmé z uvedené krmné hodnoty kuchyňských odpadů, obsahují tyto až 85 % vody. Při delším nevhodném skladování může tedy snadno dojít hlavně v letním období k pomnožení plísní a ke zkvašení odpadů. I když se v literatuře (Kabát) vyskytují názory, že ani kvasící krmivo, ani krmivo napadené plísními není třeba považovat za méně jakostní, ani za zdravotně závadné pro hospodářská zvířata, považujeme za správné, takto napadená krmiva označit jako hygienicky závadná a zdůraznit nutnost jejich ošetření a opatrného zkrmování. Nejnebezpečnější rody plísní, které nacházíme v odpadech jsou: *Aspergillus niger* a *fumigatus*, dále pak *Mucor*. Tyto plísně vyvolávají u zvířat mykotická onemocnění s příznaky gastrointestinálních a nervových poruch. Nelze podceňovat ani přítomnost ostatních, tzv. banálních plísní, neboť jak jsme v několika případech zaznamenali i tyto plísně jsou schopny za určitých okolností vyvolat onemocnění hlavně u prasat, která jsou vůbec značně citlivá vůči mykózám, mykotoxikózám i mykosotokikózám.

Levenstern uvádí, že pro úplné zničení plísní postačí ošetření krmiv při teplotě 90°C 1–2 min., nebo při teplotě 80°C po dobu 5 minut. Uvážíme-li, že při sterilizaci působí na kuchyňský odpad teploty přes 100°C trvajících hodinu i více, pak odpad a možnost nepříznivého působení plísní na organismus zvířat.

Další, méně často se vyskytující závadou hygienického rázu, kterou registrujeme hlavně u těch kuchyňských odpadů, které obsahují větší množství tuků (hlavně živočišného původu), je žluknutí tuků. Jde tu o chemické změny především na nenasyčených kyselinách, při nichž vznikají škodlivé produkty, které mohou vyvolat katary až záněty zažívacího traktu a degenerace parenchymatózních orgánů. Jak však již bylo zdůrazněno, objevují se podobné závady jen zcela ojediněle, neboť kuchyňské odpady zřídka kdy obsahují tak vysoké procento tuku (průměrně obsahují asi 1–1,5 %), aby koncentrace jejich rozkladných produktů mohla ohrozit zdravotní stav zvířat.

Mnohem vážnější hygienickou závadou, jejíž odstranění zatím není úplně vyřešeno je přítomnost cizích předmětů v odpadech. Největší cizí předměty jsou z části

vybírány a odstraňovány při zpracování odpadu v drtičích, z části jsou zde drceny na drobné části a ty pak zůstávají v krmivu. S literárními údaji, které sice připouštějí, že přítomnost cizích předmětů v kuchyňských odpadech je obtížnou příměsí, ale zároveň uvádějí, že menší předměty v krmivech nejsou pro prasata ani drůbež nebezpečné, můžeme souhlasit jen z části. Naše zkušenosti v této otázce se shodují s literaturou jen potud, že prasata skutečně cizí předměty především kovové nebo i dřevěné olízají a nechají v korytě. Je nutno však počítat i s příměsí skleněných předmětů, které většinou procházejí přes drtič ve formě menších úlomků, nebo jsou dokonce rozdrčeny na skelný prach. Tu pak hrozí nebezpečí poranění dutiny ústní většími částicemi skla, a po spolknutí drobných částíček skla a skelného prachu hrozí traumatizování sliznice zažívacího traktu se všemi dalšími nepříznivými komplikacemi (porušení přirozené ochranné bariéry sliznice zažívadla, snadnější pronikání choroboplodných zárodků z obsahu střev do oběhu krevního, porušení resorpce apod.).

Jelikož zatím po technické stránce odstranění skleněných předmětů z kuchyňského odpadu není vyřešeno, je třeba se snažit zamezit odhazování skleněných, kovových a jiných předmětů do krmného odpadu. Jednou z možností je, formou školení např. v závodních školách práce upozorňovat všechny pracovníky v podnicích veřejného stravování a všude tam, kde je získáván kuchyňský odpad na velké nebezpečí a možnost národohospodářských ztrát zaviněných nevhodným zacházením s kuchyňskými odpady.

Mimo veterinární hygienické opatření je nutno dbát i na dodržování dietetických požadavků a správné techniky při zkrmování kuchyňského odpadu. Nejlépe je využít kuchyňský odpad pro výkrm vepřů od živé váhy 50 kg po postupném nárůstu a zařazování do krmné dávky ve zvyšujícím se množství přibližně od 1 do 5 kg na kus a den. Nejlepším způsobem jak získat kvalitní krmivo o celkovém vyrovnaném stabilnějším složení by bylo zpracování kuchyňského odpadu usušením, za přidání ještě některých jiných kvalitních krmiv (krev, obilní šroty a minerální přísady). V sušeném stavu by se dalo krmivo lépe transportovat a především by bylo možno jej snadněji na delší dobu skladovat. Určité možnosti nám skýtá využití kuchyňských odpadů v mokrém samokrmení, za předpokladu zvýšené opatrnosti vzhledem k možným hygienickým závadám.

Jako zdaleka ne úplně využitý zdroj cenných živočišných bílkovin nám mohou sloužit některé jatečné odpady. Jedním z nejvýznamnějších odpadů je jatečná krev, která dodnes zejména na menších jatkách není dostatečně využita a značná část není vůbec zachycována. Nejlepší, avšak také technicky nejnáročnější je přímé sušení krve v různých typech sušáren na krevní moučku nebo krevní vločky. Předpokladem je sušení při náležité teplotě tak, abychom dostali dobrý, zdravotně nezávadný konečný výrobek. Na brněnských jatkách je např. umístěna rozprašovací sušárna, která vyrábí krevní moučku z hlediska výživného vysoce hodnotnou, avšak vzhledem k nízkým teplotám, při kterých sušárna pracuje, není moučka dostatečně sterilizována a je bakteriologicky závadná. Z těchto důvodů je používána pouze pro technické účely. Domníváme se, že tento postup je zcela nesprávný, že je třeba otázku sterilizace řešit a zachránit tak pro naše zemědělství cenné bílkovinné krmivo, které s potížemi jinak dovážíme za valuty ze zahraničí.

Dalším nedostatkem bylo předčasné omezení malých výroben, které zpracovávaly krev na krevní suchary. V současné době je situace taková, že podstatná část krve na jatkách v jihomoravském kraji je vydávána vařená některým zemědělským závodům z nejbližšího okruhu jatek. Krevní šroty nebo suchary bylo možno podle potřeby rozvážet do mnohem širšího okruhu a využít je v mísárnách krmiv jako cenné bílkovinné krmivo. Zkušenosti s výrobou a zkrmováním krevních sucharů a šrotů byly dobré a při dodržení správného technologického postupu bylo vyráběno kvalitní, hygienicky nezávadné krmivo.

Při výrobě krevních sucharů byla použita krev s přídatkem 5–10 % kuchyňské soli jako konzervační činidlo (nyní se používá 0,1–0,2 % formalin podle výnosu MPP ze 16. II. 1954) a smíchána se stejným váhovým dílem otrub, případně s přídatkem minerálních přísad. Vzniklá směs byla dokonale promíchána a pečena při

teplotě kolem 220°C po dobu 45 min. ve vrstvách ne vyšších než 2—4 cm. Vzhledem k vyšší vlhkosti konečného produktu bylo třeba suchary rozšrotovat a dosušovat, nebo včas krmit. Konečný výrobek obsahoval kolem 15 % vody, 20 % stravitelných bílkovin, z toho 15 % živočišné, a 50 škrobových jednotek. Zkrmován byl s úspěchem prasatům v dávkách 20—40 dkg, u drůbeže 5 dkg na kus a den.

Průzkumem výroben jsme zjistili, že hlavní potíže vznikaly delším uskladňováním krve zejména v letních měsících, kdy docházelo snadno k jejímu rozkladu. Pokud byly suchary zpracovány z čerstvé krve, byly nezávadné a zkušenosti s jejich dietetickými i hygienickými vlastnostmi byly uspokojivé. Většina zkoušených vzorků při bakteriologickém vyšetření byla negativní. Pouze tam, kde nebyl dodržen technologický postup a byla pečena příliš vysoká vrstva, nebo byla zkrácena doba pečení, byly zjištěny závady. U takto zpracovaných výrobků byla v sucharech prokázána četná bakteriální mikroflóra, která dokazovala, že nedošlo k patřičné sterilizaci. Kromě toho nedostatečná teplota způsobila, že suchary si podržely větší obsah vody a velmi rychle plesnivěly.

Dokonalejší způsob je zpracování krve na krevní šroty. Postup je celkem stejný jako při výrobě krevních sucharů, jenže místo pečení jsou krevní šroty zpracovávány v bubnových sušárnách. Tato metoda předpokládá plynulý přísun potřebného množství krve, aby nebylo třeba výrobu zastavovat. Stačí zpracovat krev z masných podniků velkého okruhu, je však třeba dořešit problém uskladňování a transportování krve z malých jatek.

Uvádíme tyto způsoby zpracování krve proto, že je nutné znovu se touto otázkou zabývat, a nenajde-li se jiné, vhodnější řešení, zavést v některých místech znovu výrobu krevních sucharů. Rozhodně to bude výhodnější nežli vydávání krve několika málo zemědělským závodům z blízkého okolí. Výhledově je zcela jasná perspektiva výstavby vhodných typů sušáren přímo na jatkách a zpracovávání krve na krevní moučku, krevní vločky nebo krevní šrot.

Za úvahu stojí dále zabývat se možností zpracovat obsah předžaludků skotu a žaludků prasat. Přes to, že tento obsah bude mít proměnlivou hodnotu podle různého složení krmných dávek porážených zvířat, podařilo by se tímto způsobem získat značné kvantum odpadové suroviny. Na zpracování obsahu je několik metod, jejichž princip spočívá v částečném odstranění vody odkapáním nebo vylisováním, smícháním obsahu se stejným dílem krve (M a l o t a). Další zpracování probíhá obdobně jako při výrobě krevních sucharů nebo šrotů, to jest sušením a rozdrcením. Laboratorním rozbořem hotového krmiva bylo zjištěno, že obsahuje v průměru kolem 40 % s. b., 7 % vody a 1 % tuku. Jde tedy o krmivo s vysokým obsahem živin. Tyto výsledky ukazují, že bude nutné provedení poloprovozního pokusu a osvědčí-li se, bude třeba zavést běžnou výrobu.

Zužitkování dalších jatečních odpadů, především konfiskátů (obligátních i neobligátních) je rovněž řešeno z hlediska hospodaření krmivy neuspokojivě. Je třeba urychleně dobudovat síť kafilerií, aby podstatná část těchto odpadů byla zpracována na kafilerickou moučku. Část, kterou není možno zpracovat v kafilerii je nutno vhodným způsobem sterilizovat a takto upravenou použít ke krmným účelům. Zužitkování pozastaveného masa musí být v souladu s příslušnými předpisy ministerstva zdravotnictví (č. j. 24501/12534 — 1951 ze dne 3. III. 52 sbírka oběžníků pro KNV, roč. IV/52 čís. 12 poř. č. 124).

Kromě odpadů kuchyňských a jatečních přichází dále v úvahu zpracování rybiho odpadu. Tento je možno zpracovat sušením na moučku nebo konzervovat kyselinami případně technickým pyrosiřičitanem sodným. V jihomoravském kraji je delší dobu používána konzervace rybiho odpadu kyselinami s velmi dobrými výsledky. Ke konzervaci bývá používána kyselina mravenčí, kyselina solná nebo kyselina sírová. Doba skladovatelnosti závisí na aktuální reakci v konzervované hmotě. Nepřevyšuje-li pH při konzervaci H_2SO_4 nebo HCl 2–2,5 pH nebo při konzervaci kyselinou mravenčí 4 pH, je možno konzervovaný produkt uchevávat až po dobu 1 roku. Množství kyseliny potřebné k dosažení žádoucího pH závisí na složení a kvalitě zpracovávané suroviny. Před zkrmováním doporučujeme zejména tam, kde bylo použito anorganických kyselin, neutralizovat tyto přísadkou pícního vápna nebo pla-

vené křídly. Samozřejmě musíme pamatovat na vliv tohoto krmiva na jakost masa a nejméně 6—8 týdnů před poražením zvířat toto krmivo z dávky vyřadit. Jinak je tento způsob využití rybiho odpadu dieteticky i hygienicky vhodný.

Kromě uvedených odpadových surovin mohli bychom si uvést řadu dalších odvětví průmyslových v nichž nám dosud unikají cenné hodnoty, které by mohly pomoci při rozšiřování krmivové základny. Je to např. syrovátka, jejíž výživná hodnota a dietetické vlastnosti jsou dobře známy a která není dosud plně využita pro nedostatky v organizaci odvozu do zemědělských závodů. Jsou to dále odpadky z konzerváren ovoce a zeleniny, z nichž část je sice zpracovávána společně s kuchyňskými odpady, ale převážné množství není dosud plně využito. Zvláštní problém velmi důležitý pro využití některých druhů krmného odpadu, tvoří výroba kvasničných krmiv. O této problematice se nezmiňujeme, jelikož pro svůj význam a obsáhlost zasluhuje samostatné pojednání.

Souhrn

Pátý sjezd JZD se bude kromě jiného jistě zabývat otázkou zajištění dostatečné krmivové základny. Ve svém pojednání jsme chtěli upozornit na některé dosud málo využitě zdroje, které by mohly sloužit k rozšíření této základny. Záleží především na výrobních podnicích, v kterých odpad vzniká, aby mu věnovaly zvýšenou péči a zachraňovaly tak našemu zemědělství cenné suroviny. Tam, kde tomu odpovídá výrobní kapacita, je třeba zařídit zpracování krmného odpadu přímo ve výrobním závodě. Nejvhodnější formou zpracování je výroba suchého krmiva. Jejím rozšířením značně dopomůže plánované zvýšení počtu vhodných sušáren ve třetím 5 l. p. Kde nelze uplatnit tento způsob, musíme použít jiných vhodných metod ke zpracování krmného odpadu tak, aby ani malé množství nepřišlo nazmar. Z hlediska hygieny výživy a dietetiky musíme mít na krmný odpad stejné požadavky jako na jiná krmiva. S ohledem na sledované zvyšování užitečnosti zvířat a na udržování tomu odpovídajícího zdravotního stavu je to požadavek naprosto oprávněný. To nás musí vést k takovému zpracování krmného odpadu, jehož výsledkem bude kvalitní, hygienicky nezávadné krmivo.

Кормовые отходы с точки зрения ветеринарной гигиены и диететики

На V съезде ЕСХК кроме иного будет разбираться вопрос обеспечения достаточной кормовой базы. В своей статье мы хотели обратить внимание на некоторые до сих пор мало используемые источники, которые бы могли служить делу расширения кормовой базы. Прежде всего это зависит от предприятий, на которых возникают эти отходы; эти предприятия должны уделять им повышенное внимание и таким образом сохранить ценное сырье для нашего сельского хозяйства. Там, где это позволяет производственная емкость, необходимо организовать переработку кормовых отходов непосредственно на предприятии. Самой выгодной формой переработки является производство сухих кормов. Расширению этого вида переработки значительно будет содействовать планируемое повышение числа пригодных сушилен в третьем пятилетнем плане. Там, где нельзя внедрить этот способ, необходимо использовать другие пригодные методы переработки кормовых отходов с тем, чтобы даже минимальное количество не пропадало зря. С точки зрения гигиены питания и диететики к кормовым отходам предъявляются аналогичные требования, как и к иным кормам. Учитывая изучаемое повышение продуктивности животных и сохранение отвечающего этому состоянию здоровья, это требование является совершенно справедливым. Это должно вести нас к такой переработке кормовых отходов, в результате которой будут получены качественные, не вредные с точки зрения гигиены корма.

Verfütterung von Abfällen vom Standpunkt der Veterinärhygiene und -Diätetik

Der 5. Kongreß der ELG wird unter Anderem auch die Sicherstellung einer hinreichenden Futterbasis behandeln. In unserer Arbeit wollen wir auf einige bisher nicht ausgenützte Quellen hinweisen, die einer Ausbreitung der Futterbasis dienen könnten. In erster Reihe ist es Sache der Produktion, bei welcher diese Abfälle entstehen, d. h. Küchenabfälle, Abfall aus den Nahrungsmittelerzeugung, Blut, Fischabfälle usw., diesen das nötige Augenmerk zu widmen und der Landwirtschaft wertvolle Rohstoffe zu retten. Wo es die Produktionskapazität zuläßt, ist die Verarbeitung des Abfalls im Erzeugungsunternehmen sicherzustellen. Die zweckmäßigste Form der Verarbeitung ist die Erzeugung von Trockenfutter. Seiner Ausbreitung kommt die geplante Vermehrung von Trockenanstalten im 5. Jahresplan entgegen. Wo diese Methode nicht angewandt werden kann, müssen andere Arten der Verarbeitung zur Anwendung gelangen, damit nicht einmal kleine Mengen von Abfall verloren gehen. Vom Standpunkt der Ernährungshygiene und Diätetik sind an das Verfüttern von Abfällen dieselben Anforderungen zu stellen, wie an andere Futtermittel. Diese Forderung ist mit Rücksicht auf die erwünschte Steigerung der Nutzbarkeit der Tiere und auf die Erhaltung eines entsprechenden Gesundheitszustandes voll begründet. Das führt uns zu einer solchen Art der Verarbeitung von Abfallfutter, bei der das Erzeugnis ein hygienisch einwandfreies Futter guter Qualität ist.

Биологические свойства вируса инфекционного энцефаломиелита свиней, культивированного на тканевых культурах стабильной линии эпителия почечных клеток свиней (штамм PK) Die biologischen Eigenschaften des auf Gewebeskulturen einer stabilen Linie von Nierenepithelzellen von Schweinen (Stamm PK) gezüchteten Virus der ansteckenden Schweinelähme (AS)	47
Patočka F., Kubelka V., Korych B.: Virus Kloboukovy obrny a lidské polio jako enteroviry Вирус болезни Клобоука и человеческого полиомиелита как энтеровирусы Das Virus der Klobouk'schen Schweinelähme und der menschlichen Poliomyelitis als Enteroviren	53
Korych B., Šrajbr E., Patočka F., Kubelka V., Chýle M.: Serologická diagnostika obrny veprů (Kloboukovy nemoci) Серологическая диагностика паралича свиней (болезнь Клобоука) Die serologische Diagnostik der Schweinelähme (Klobouk'schen Krankheit)	63
Dražan J.: Kolostrální imunita při Kloboukové nemoci Колостральный иммунитет при болезни Клобоука The Colostral Immunity in Klobouk's Disease	69
Patloka A.: Průběh termické inaktivace kulturního viru Kloboukovy nemoci na tkáňových kulturách Ход термической инактивации культурного вируса болезни Клобоука на тканевых культурах Verlauf der thermischen Inaktivierung des Kulturvirus der Klobouk'schen Krankheit auf Gewebeskulturen	75
Brauner I., Malík J.: Hybridizácia — rekombinácia vírusu Kloboukovej choroby (infekčná obrna ošípaných) s vírusmi psinky a moru hydiny Гибридизация — рекомбинация вируса болезни Клобоука (инфекционный энцефаломиелит свиней) с вирусами чумы собак и чумы домашней птицы The Hybridization — a Recombination of the Virus of the Klobouk's Disease (Infectious Swine Paralysis) with the Distemper and Fowl Pest Virus	81
Mádr V.: Použitelnost tkáňových kultur pro množení viru Kloboukovy nemoci a biologické vlastnosti viru pomnoženého na tkáňových kulturách Применимость тканевых культур для размножения вируса болезни Клобоука и биологические свойства вируса, размноженного на тканевых культурах Die Verwendbarkeit der Gewebeskulturen zur Vermehrung des Virus der Klobouk'schen Krankheit und die biologischen Eigenschaften des auf Gewebeskulturen gezüchteten Virus	89
Ursíny J.: Problém Kloboukové nemoci v ČSSR Проблема болезни Клобоука в ЧССР The Problem of the Klobouk's Disease in the Czechoslovak Socialist Republic	97
Mádr V.: Použitelnost vakcín proti Kloboukové nemoci připravených z viru pomnoženého na tkáňových kulturách Применимость вакцин против болезни Клобоука, приготовленных из вируса, размноженного на тканевых культурах The Possibility to employ against the Klobouk's Disease Vaccines prepared with a Virus grown on Tissue Cultures	107
Košťanský K.: Několik poznámek k imunoprophylaxi nakažlivé obrny prasat (Kloboukova nemoc) Несколько замечаний к вопросу иммунопрофилактики инфекционного паралича свиней (болезнь Клобоука) Some Remarks to the Immunoprophylaxis of the Enzootic Swine Paralysis (Klobouk's disease)	113
Larski Z.: Použití vakcín z tkáňových kultur proti Kloboukové nemoci Применение вакцин из тканевых культур против болезни Клобоука Verwendung von Vakzinen aus Gewebeskulturen gegen die Klobouk'sche Krankheit Zastosowanie szczepionek z kultur tkankowych przeciw chorobie Klobouka	119

Hahnefeld H.: Diskusní příspěvek k referátu přednesenému dr. Kubelkou. Serologická diagnostika Kloboukovy nemoci	121
Rossi L.: Simultání (kombinovaná) a sdružená imunizace proti července a na- kažlivé obrně vepřů (Kloboukové nemoci) Симультанная (комбинированная) и совместная иммунизация против рожи и энцефаломиелита свиней (болезнь Клобука) Simultane und bivalente Immunisation gegen Schweinerotlauf und anstek- kende Schweinelähme (Klobouk'sche Krankheit)	123
Harnach R., Mesároš E., Pleva V.: Pokusná imunizace tkáňovou kultu- rou viru Kloboukovy nemoci, inaktivovanou krystalovou violetí Пробная иммунизация вируса инфекционного энцефаломиелита свиней тканевой культурой, инаktivированной кристаллвиолетом Versuchsweise Immunisierung mittels Gewebeskultur des mit Kristallviolett inaktivierten Virus der Klobouk'schen Krankheit	129
Trunkát J., Pivník L.: Histologická diagnostika a diferenciální diagnostika Kloboukovy nemoci Гистологическая и дифференциальная диагностика болезни Клобука Die histologische Diagnose und die Differentialdiagnostik der Klobouk'schen Krankheit	133
Dobeš M.: Kloboukova nemoc z hlediska hygieny masa Болезнь Клобука с точки зрения гигиены мяса Die Klobouk'sche Krankheit vom Standpunkt der Fleischhygiene	141
Lax T.: Příspěvek k likvorologii Kloboukovy nemoci Ликворология болезни Клобука A Contribution to the Liquorology of the Klobouk's Disease	147
Serupov K. P., Vachidov C. Ch.: Atrofická rinitida prasat Атрофический ринит свиней Atrophische Rhinitis des Schweines	155
Janowski H.: Problém atrofické rinitidy prasat v Polsku Проблема атрофического ринита свиней в Польше Das Problem der Schnüffelkrankheit in Polen Zagadnienie choroby ryjowej świń (Rhinitis infectiose athrophicans) w Polsce	163
Čánecký P.: Příspěvek k etiologii atrofické rinitidy prasat К вопросу этиологии атрофического ринита свиней A Contribution to the Etiology of the Atrophic Rhinitis in Pigs	165
Wurzinger H.: O současné situaci v sípavce prasat v ČSSR Современное состояние атрофического ринита свиней в ЧССР Die gegenwärtige Situation der Schnüffelkrankheit (SK) in der Tschecho- slowakischen Sozialistischen Republik	173
Goertler V.: Problémy ve výzkumu červeny prasat Проблемы исследования рожи свиней Probleme der Schweinerotlaufforschung	183
Veselý Z., Jelínková V.: Krmný odpad z hlediska veterinární hygieny a dietetiky Кормовые отходы с точки зрения ветеринарной гигиены и диететики Verfütterung von Abfällen vom Standpunkt der Veterinärhygiene und -Diätetik	189

Sborník CSAZV - Veterinární medicína vydává Československá akademie zemědě-
lských věd. Uveřejňuje studie, rozboru a vědecká pojednání o vyřešených úkolech
výzkumu v oboru veterinární medicíny. — Vychází měsíčně. — Celoroční předplatné
120 Kčs. — Redakce Praha 2, Slezská 7, telefon 577-51, 575-41. — Rozšiřuje Poštovní
novinová služba, objednávky a předplatné přijímá Poštovní novinový úřad a ústřední
administrace PNS, třída Obránců míru 2, Brno. Lze také objednat u každého poštov-
ního úřadu nebo doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje Poštovní novinový
úřad - vývoz tisku, Štěpánská 27, Praha 1. — Vytiskl Mír, novinářské závody, n. p.,
závod 2, provozovna 22, Legerova 22, Praha 2. A-05*01537