

SBORNÍK
ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Veterinární medicína

6 ✓

ROČNÍK 6 (XXXIV) – PRAHA, ČERVEN 1961

CENA 10 Kčs

SBORNÍK
Československé akademie zemědělských věd
VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada: akademik Vincenc Jelínek (předseda), gen. MVDr. Vladimír Chládek, člen korespondent SAV František Nižňanský, 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

- Bárta O.: Hladina konglutininu a relativní zastoupení bílkovin krevního séra u telat od narození do 90 dnů stáří
Уровень конглутинина и относительного содержания белков кровяной сыворотки у телят от рождения до возраста 90 дней
Der Konglutininspiegel und die relative Vertretung der Eiweißkomponenten im Blutserum von Kälbern von der Geburt bis zum Alter von 90 Tagen . . . 417
- Síkula J., Černý L.: Možnost využití *Hieracium pilosella* proti brucelóze
Возможности использования ястребинки волосистой (*Hieracium pilosella*) против бруцеллеза
Possibility to employ *Hieracium pilosella* against Brucellosis . . . 429
- Krajsa V.: K patogeneze některých hereditárních abnormalit nervové soustavy u selat
К патогенезу некоторых наследственных ненормальностей нервной системы у поросят
Zur Pathogenese einiger hereditärer Abnormitäten des Nervensystems bei Ferkeln
To Pathogenesis of some Hereditary Abnormalities of the Nervous System in Piglets . . . 435
- Harnach R., Falada A.: Výzkum o destruktivním účinku roztoku KMnO_4 na *Trichomonas columbae* a virus difterie a neštovic holubů
Исследование деструктивного действия раствора KMnO_4 на *Trichomonas columbae* и на вирус дифтерии и оспы голубей
Erhebungen über die destruktive Wirkung einer Lösung von KMnO_4 auf *Trichomonas columbae* und das Virus der Geflügeldiphtherie und Geflügelpocke . . . 447
- Bogdan J., Jelínek K.: Príspevok k morfolologickej diferenciácii granulómov pečene oviec vo vzťahu k brucelóze
Морфологическая дифференция гранулومات печени овец в отношении к бруцеллезу
Ein Beitrag zur morphologischen Differenzierung von Lebergranulomen der Schafe in Beziehung zur Brucellose . . . 459

Hladina konglutininu a relativní zastoupení bílkovin krevního séra u telat od narození do 90 dnů stáří*)

Уровень конглутинина и относительного содержания белков
кровяной сыворотки у телят от рождения
до возраста 90 дней

Der Konglutininspiegel und die relative Vertretung der Eiweißkomponenten im
Blutserum von Kälbern von der Geburt bis zum Alter von 90 Tagen

The Level of Conglutinine and the Relative Representation of Proteins of Blood
Serum in Calves from Birth on up to 90 Days of Age

Otakar BARTA

Technická spolupráce M. Hrnčířová

Ústav pro zoohygienu veterinární fakulty VŠZ v Brně, vedoucí katedry
doc. dr. Ludvík Černý

Došlo dne 15. I. 1960

Úvod

V literatuře veterinární i humánní hygieny nacházíme zmínky o vlivu vnějšího prostředí na zdravotní stav, výskyt onemocnění, odolnost organismu apod. Vlivy jsou většinou zdůvodňovány daty o výskytu tzv. sezóních chorob nebo jinými údaji statistického rázu. Jinde jde o praktická pozorování různé intenzity průběhu chorob u zvířat držených za různých podmínek ustájení (u skotu např. Amschler, Rupp, 1952, Bergmann, 1953 aj.). Dosud však je hygienická literatura chudá na exaktní zdůvodnění, proč a jakou cestou ovlivňují vnější podmínky zdravotní stav živočichů.

Při statistickém zhodnocení ztrát telat při různých formách odchovu ve Spojených státech se došlo k závěru, že nejmenší ztráty byly při ustájení v boudách nebo vzdušných stájích s denním odklizením hnoje (Esmaý aj. 1953). V daných pokusech jsme zjišťovali možnost ovlivnění obsahu konglutininu a procentuálního zastoupení bílkovin v séru krevním v závislosti na fyzikálních veličinách mikroklimatu a délce výživy mateřským mlékem.

Změnami v zastoupení bílkovinných frakcí séra se zabývala řada autorů, kteří většinou pracovali klasickými metodami na Tiseliově přístroji (Jamesson aj., 1942, Hansen aj., 1947, Pierce, 1955a, b aj.). V posledních letech jsou u nás běžněji vyšetřována séra skotu papírovou elektroforézou

*) Výtah přednesen na „Allathigiénei symposion“ dne 26.—29. 9. 1960 v Budapešti.

(Piskač, 1960 aj.), čímž byla dána základní data o relativním zastoupení bílkovin v séru telat.

Konglutinin je látka bílkovinné povahy, která se vyskytuje přirozeně v séru hovězího dobytka, a která způsobuje za přítomnosti komplementu (nejlépe koňského) shlukování — konglutinaci červených ovčích krvinek. Konglutinaci jako jevem se zabývali již počátkem tohoto století B o r d e t jeho spolupracovníci (1909).

V našich pokusech bylo konglutininu použito jako jednoho z ukazatelů tzv. přirozených protilátek hovězího séra. O rozvoji titru konglutininu v séru telat jsme nenalezli v dostupných pramenech zmínky.

Materiál a metodika

K pokusům bylo použito 10 novorozených telat, z nichž 5 bylo umístěno ihned po porodu a po oschnutí v boudě, dalších 5 v teletníku. Telata 1—5 byla napájena až do 62. dne mateřským nebo plným mlékem s postupným nahrazováním odstředěným od 22. dne. Skupina telat 6—10 byla napájena plným nebo mateřským mlékem jen do 18. dne s postupným nahrazováním egalizovaným od 10. dne a odstředěným od 22. dne. V boudě byla ustájena telata 2, 4, 7, 8 a 9, ve stáji 1, 3, 5, 6 a 10.

Podrobnější rozpis ustájení, ošetřování a krmení je v předchozí práci na str. 410 (Bárta, 1961).

Telatům byla odebírána krev z *vena jugularis* ihned po porodu, pak několikrát denně, později jednou denně až posléze v týdenních až desetidenních intervalech. Nejvhodnější se zdají být intervaly týdenní od 10. dne života. Odebranou krev jsme dali přes noc v chladnu srazit a odstředili při 3000 obrt. po dobu 15 min.

Čerstvá séra jsme dělili elektroforézou. Konglutinace byla prováděna ze sér inaktivovaných při 56°C po dobu 30 min. a uchovávaných v chladničce při 0—4°C.

Elektroforézu jsme prováděli na papíru Whatman No 1. V podstatě bylo užito metody podle Hořejšího (1957) s některými úpravami podle Homolky aj. (1960) a podle Michalce aj. (1959). Séra byla nanášena v množství po 0,02 ml tiskátkem na ovlhčený papír. K dělení bylo použito veronalového pufru o pH 8,6 a iontové síle 0,1 (*acidum barbituricum* 1,84, Na 5,5-*diethylbarbituricum* 10,3, *Aqua dest.* ad 1000,0). Dělení probíhalo při napětí 180 V a 10 mA na papíře po dobu 8 hodin. Po 2 hod. fixaci při 90—120°C byly elektroforetogramy barveny 16 hodin bromfenolovou modří (bromfenolová modř 0,1, chlorid rtuťnatý 50,0, kyselina octová ledová 50,0, destilovaná voda do 1000,0) a vypírány ve 3 lázních s kyselinou octovou (2 %). Po usušení byly proužky rozstříženy v minimech, vyluhovány v 0,1 n NaOH a vyhodnoceny na fotometru Pulfrich.

Titrace konglutininu byla provedena jako modifikace titrace používané před vlastním konglutinačním komplementabsorpčním testu, který jsme používali při brucelóze (Bárta, 1956). Pracovali jsme v 1 ml systému s 0,004—0,1 ml zkoumaného séra, 0,1 ml ovčích erythrocytů o hustotě 100 000 v mm³, 0,2 ml 3 jednotkového koňského komplementu (tj. asi 6,5—7 % koncentrace séra. Do 1 ml byl

obsah všech zkumavek doplněn 0,15 M roztokem NaCl, kterého bylo rovněž užito jako ředidla. Tím byla získána 0,4–10 % koncentrace séra ve zkumavkách. Po 30 min. fixace systému ve vodní lázni při 38° C byly všechny zkumavky krátce odstředěny (20 vteřin při 2500 obrt./min.) a po resuspendaci intenzivním protřepáním byl určen stupeň konglutinace. Výsledky byly kontrolovány znovu druhý den. Za 100 % konglutinaci na +++ bylo pokládáno to ředění séra, které vyvolalo shluknutí všech krvinek, takže v čiré tekutině se vznášely vločky konglutinovaných krvinek. Zkumavky bez vloček byly pokládány za negativní (–) a ostatní stupně ohodnoceny + až ++. Ve většině případů byl přechod od +++ k – po jedné až dvou zkumavkách přechodu. (Ke konglutinaci byla zkoušena také různá jiná ředidla, která se však vesměs neosvědčila. Nejlepších výsledků bylo dosaženo s fyziologickým roztokem a 0,15 M NaCl.)

Během pokusu byla sledována teplota a relativní vlhkost u telat v boudě a ve stáji thermohygrografem, jehož funkce byla týdně kontrolována. V grafu na obr. 1 odvedené průměrné denní hodnoty byly vypočteny ze tří údajů ve 4, 12 a 20 hodin.

V ý s l e d k y

Poměrné zastoupení bílkovinných frakcí séra. Jejich průměrné hodnoty od 1. do 90. dne jsou zachyceny na grafu 2. Graf v pravé polovině ukazuje kolísání percentuálního zastoupení bílkovin skupiny ustájené v boudě a ve stáji. K vyhodnocení pro celou skupinu byla vzata jen 4 telata č. 2, 4, 7 a 8, pro skupinu stájovou rovněž 4 telata č. 1, 3, 6 a 10. Graf 2 v levé polovině ukazuje kolísání průměrného percentuálního zastoupení frakcí séra u skupiny I (telata 1–4), vyživované plným mlékem do 62. dne a u skupiny II (telata 6, 7, 8 a 10) vyživované plným mlékem jen do 18. dne. U každé skupiny jsou v textu k obrázku udány průměrné hodnoty u matek vyhodnocených telat v den porodu.

Albuminy. Průměrné percentuální zastoupení albuminů (graf 2 A) bylo vyšší u skupiny v boudě než u skupiny stájové po celou dobu pokusu. Hodnoty však poměrně značně kolísají kolem průměru. Po porodu relativní obsah albuminů prudce klesá, později pomaleji stoupá a dosahuje maxima kolem 50.–60. dne.

Na grafu 2 A je také patrné, že relativní obsah albuminů byl do 30. dne (tedy po dobu téměř shodné výživy) nižší, po 30. dnu o něco vyšší u skupiny I. Rozdíl však není významný.

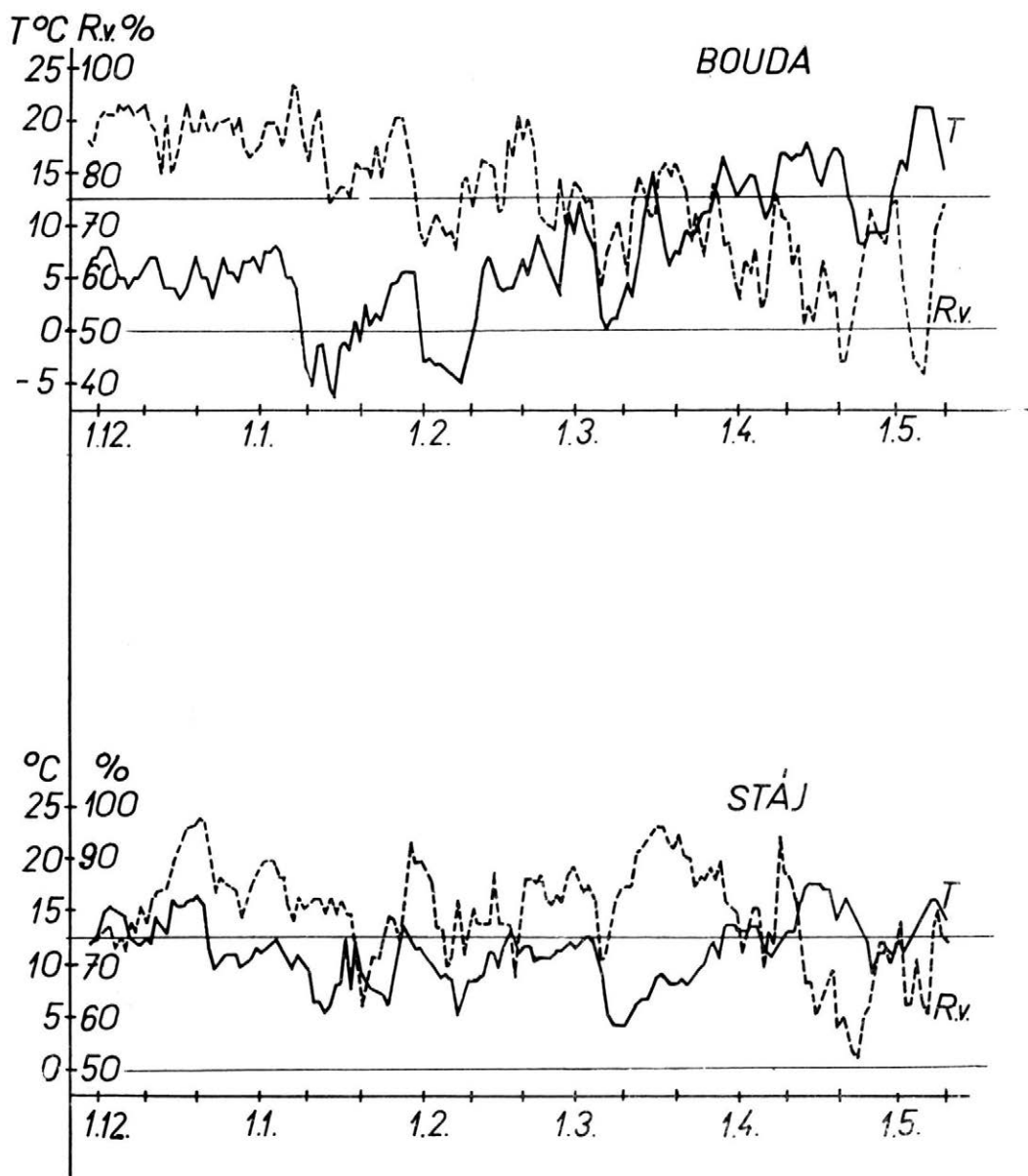
α -globuliny. U obou skupin na grafu 2 α je poměrný obsah α -globulinu prakticky shodný a má od porodu do 40. dne stálou klesající tendenci.

β -globuliny se rovněž nijak významně od sebe u obou skupin na obou grafech neodlišují. Po porodu mají stoupající tendenci asi do 10.–20. dne, od kdy pozvolna jejich relativní obsah klesá.

γ -globuliny vykazovaly v daných pokusech ku podivu daleko markantnější rozdíl při dělení skupin podle ustájení (obr. 2 γ) než podle výživy. Po porodu jejich relativní obsah prudce stoupá do 2.–3. dne, tj. během intenzivního vstřebávání lakto-globulinů, a pak klesá asi do 30.–40. dne stáří, od kdy má opět pomalou stoupající tendenci. Rozdíly průměrných hodnot mohou v daném případě být statisticky významné, avšak vzhledem k malému počtu případů nelze vyvozovat předčasné závěry. Počáteční nízké hodnoty po porodu mohou být značně nepřesné

vzhledem k chybám, kterých je se možno dopustit při veliké světelné prostupnosti na Pulfrichově fotometru.

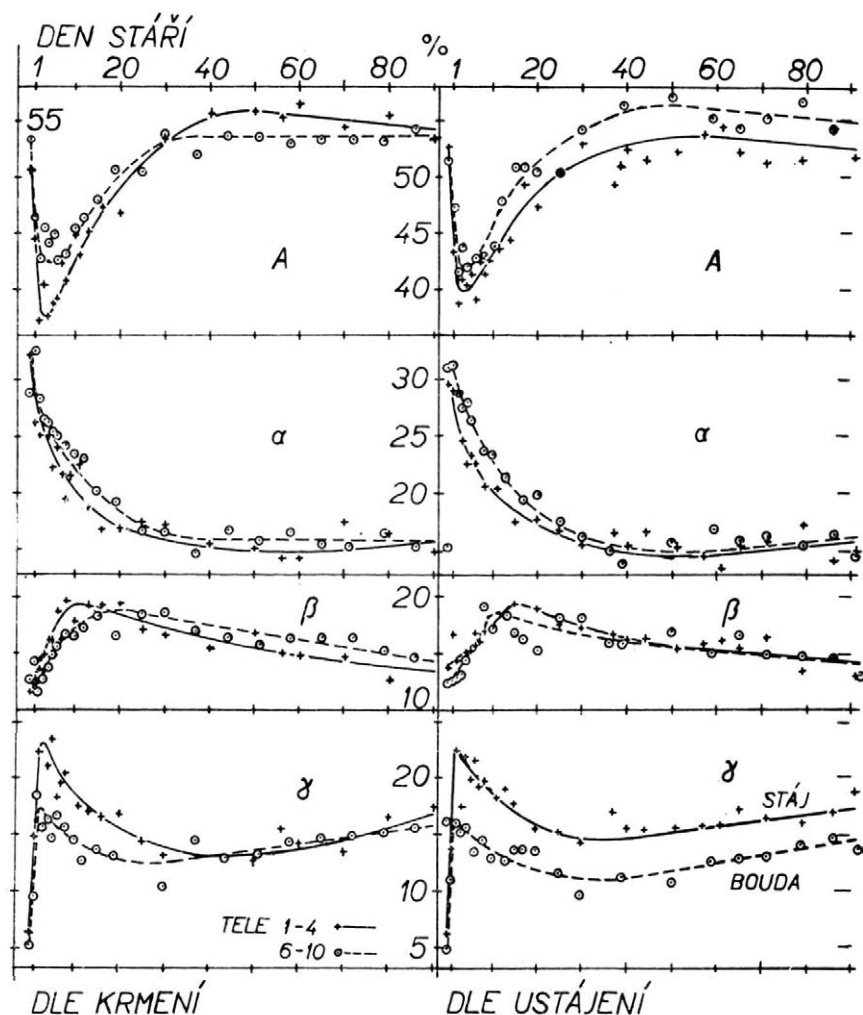
Na obr. 3 a 4 jsou zachycena individuálně telata skupiny boudové (obr. 3) a stájové (obr. 4). Grafy jsou rýsovány se vztahem k datu, aby bylo možno zjistit reakci telat na teplotní nebo vlhkostní změny. Do grafů byla zařazena i telata 5 a 9, která nebyla vyhodnocena ve skupinách. Nápadný je pokles obsahu albuminů



Obr. 1. Průměrná denní relativní vlhkost a teplota v boudě a ve stáji pokusných telat. Průměrné denní hodnoty vypočteny z údajů ve 4, 12 a 20 hodin. Na grafu je čarou vyznačena optimální hodnota vlhkostní a teplotní (75 % r. v. a 12,5° C) a bod mrazu. Graf zachycuje údaje od 29. listopadu do 10. května

u všech telat v boudě mezi 7. — 20. únorem, který však není souběžný, ale je opožděný proti prudšímu poklesu teploty mezi 1. — 12. únorem. Na rozdíl od toho však kolísání teploty mezi 10. — 20. lednem podobně jako pokles teploty v teplém období 22. — 30. dubna jsou doprovázeny menším stoupnutím hladiny relativního obsahu albuminů. Nelze tedy předpokládat, že by teplotní poměry přímo ovlivnily pokles albuminů nebo jejich vzestup.

Neprůběh odlišný, nepravidelný obraz nám dává i srovnání křivek poměrného zastoupení α -, β - a γ -globulinů.



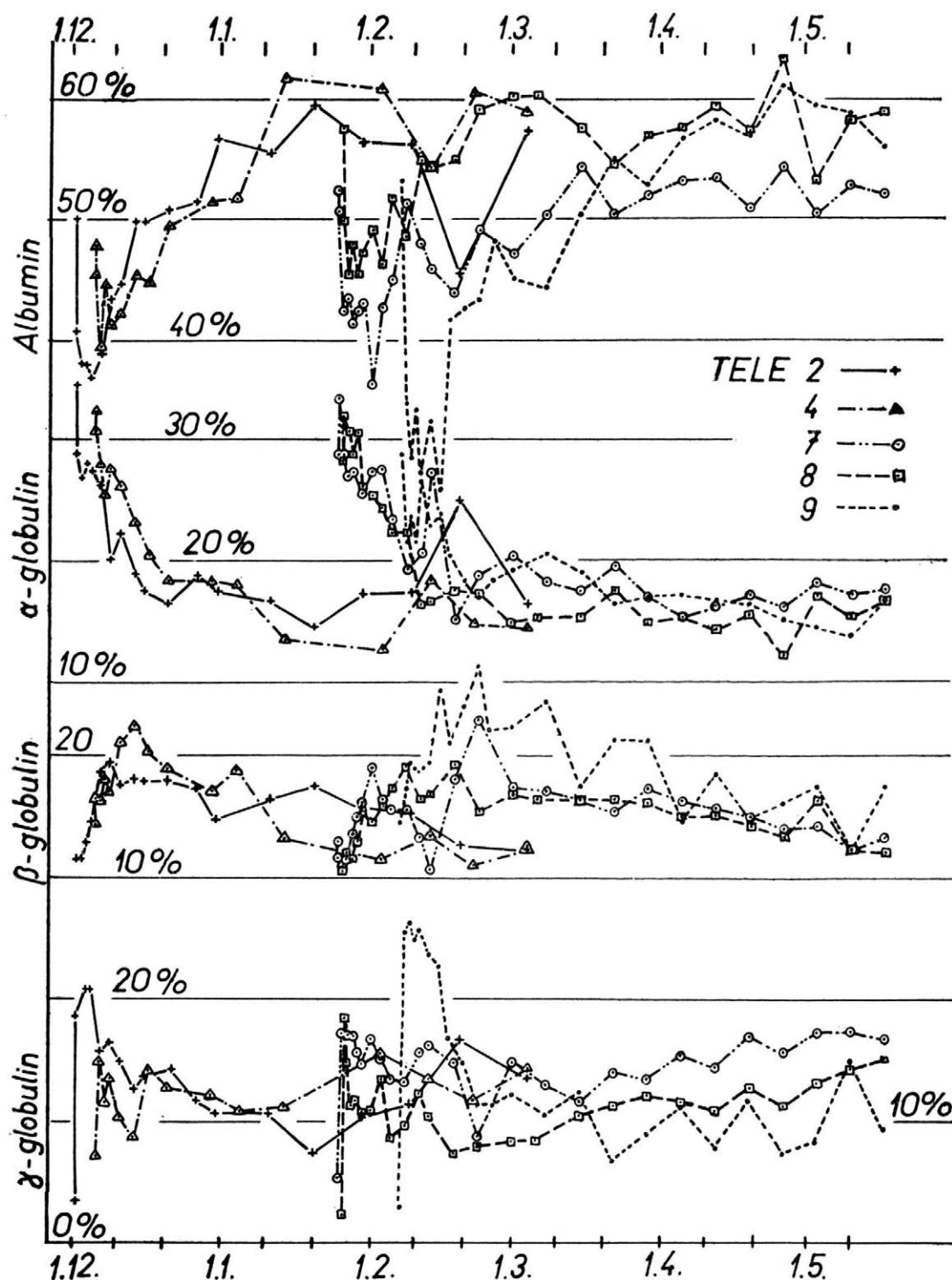
Obr. 2. Grafické znázornění kolísání průměrných hodnot relativních % zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí. V pravé polovině jsou srovnány skupina boudová se stájovou, v levé polovině skupina telat vyživovaná plným mlékem do 62. dne (1—4) a jen do 18. dne (6—10). K porovnání uvádíme rel. % bílkovin u matek jednotlivých skupin

Bouda: A — 43,88, α — 12,75, β — 10,05, γ — 33,37

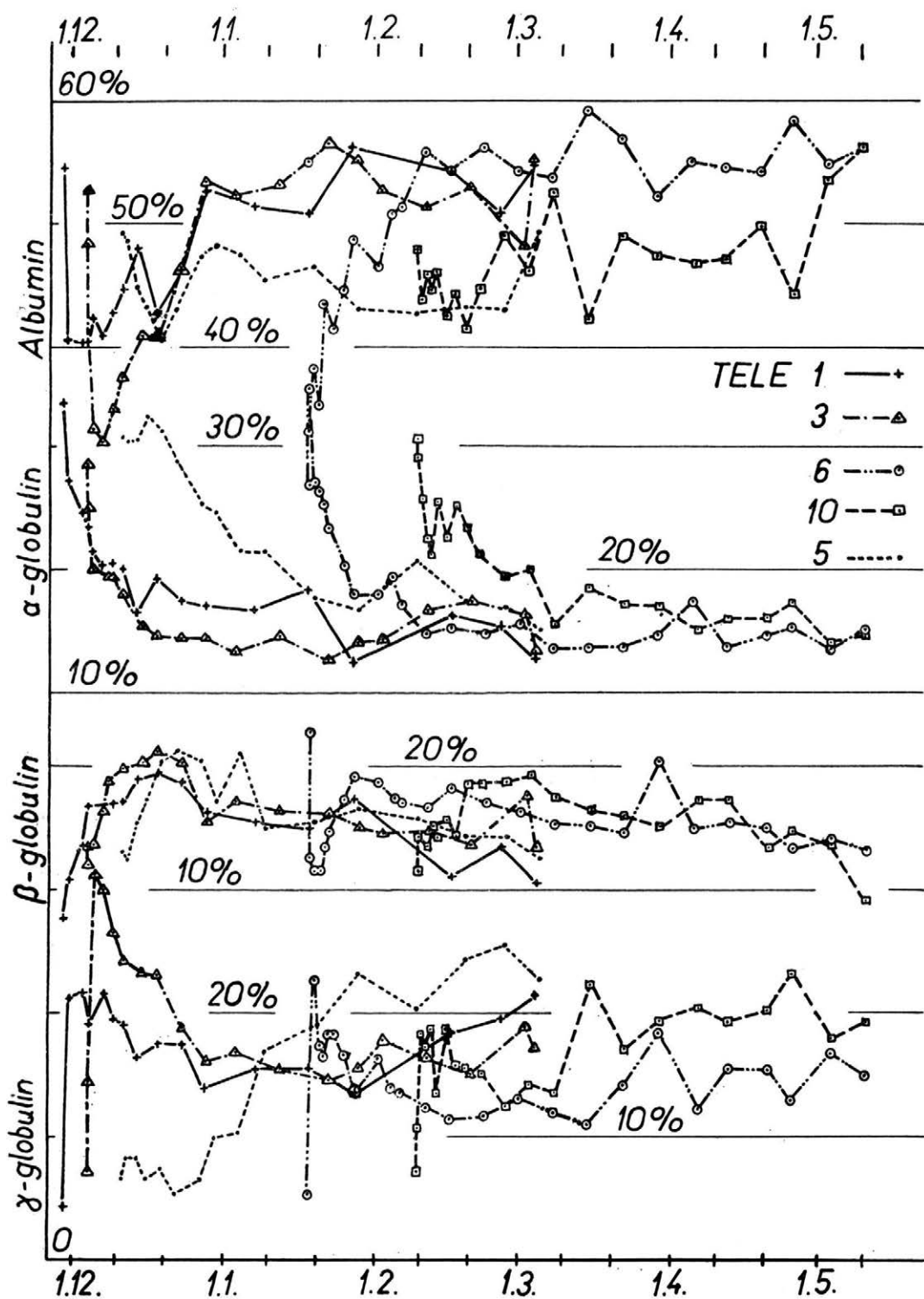
Stáj: A — 41,47, α — 13,64, β — 10,12, γ — 34,77

Matky telat 1—4: A — 39,57, α — 13,17, β — 10,54, γ 36,72

Matky telat 6, 7, 8, 10: A — 45,78, α — 13,22, β 9,63, γ — 31,37



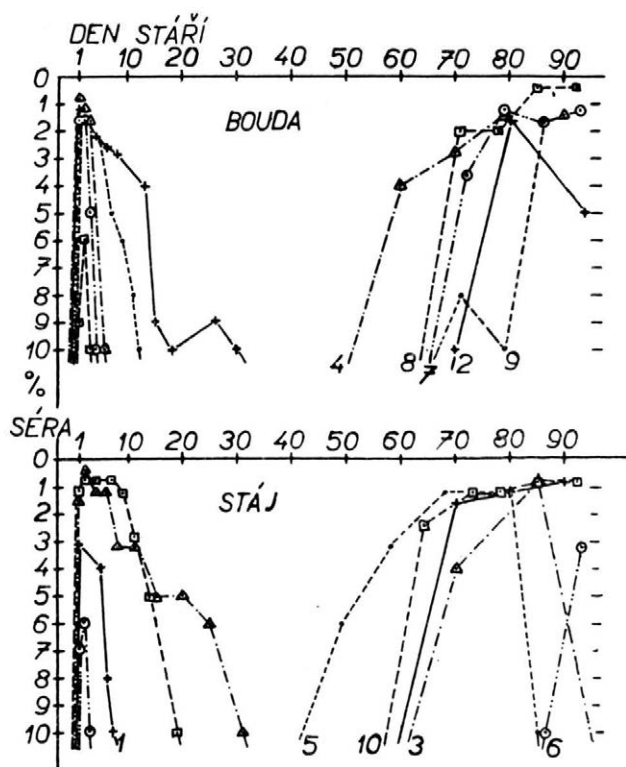
Obr. 3. Grafické znázornění kolísání relativního zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí u telat skupiny boudové. Kolísání je zachyceno s ohledem na datum



Obr. 4. Grafické znázornění kolísání relativního zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí u telat skupiny stájové. Kolísání je zachyceno s ohledem na datum

Ani u skupiny stájové není možno nalézt korelaci mezi relativním zastoupením jednotlivých bílkovinných frakcí a mikroklimatem.

Konglutinin (viz graf 5) nebyl ani v 10% koncentraci séra ve zkumavce prokázán před napitím. Po napití byl prokazatelný ve stoupající míře s maximem 2.—3. den v koncentraci séra ve zkumavce 6—0,04 %. Jeho výskyt a pokles v prvních dnech po porodu je velmi podobný křivce vzrůstu a poklesu relativního obsahu γ -globulinů v séru. Znovu se objevuje prokazatelný nad 10 % konc. séra ve zkumavce kolem 60.—70. dne života.



Obr. 5. Grafické znázornění kolísání konglutininu v séru. Čísla na ose y udávají koncentraci séra v celém objemu zkumavky, která vyvolala za přítomnosti 4 jednotek koňského komplementu úplnou aglutinaci červených ovčích krvinek. Čísla u jednotlivých křivek udávají číslo telete, k němuž křivka patří

Z neznámých důvodů, aniž by byla zaznamenána nějaká souvislost s relativním zastoupením γ -globulinu, došlo u telat 2, 3 a 5 k poklesu konglutininu mezi 80.—90. dnem života. Protože tato telata nemohla být déle sledována, není možno říci nic určitého o dalším obsahu konglutininu. U ostatních vyšetřovaných telat se pokles neobjevil.

Tele 5, které nebylo zahrnuto do celkového vyhodnocení skupiny, bylo teletem od jalovice s malým množstvím mléka, které bylo pro napájení doplňováno mlékem ostatních krav. Proto došlo jen k nepatrnému vzestupu γ -globulinu a neprůkaznosti konglutininu. Zajímavé však je, že vzestup hladiny γ -globulinu je u tohoto telete rychlejší a rovněž i konglutinin je prokazatelný již od 49. dne.

Tele 6 bylo rovněž od jalovice. Po porodu dosáhlo poměrně menšího vzestupu konglutininu i když relativní zastoupení γ -globulinu bylo téžé úrovně jako u ostatních telat. Avšak na rozdíl od telete 5 nebyl dřívější, ale naopak pozdější průkaz konglutininu až po 86. dnu.

Tele 8 v boudě bylo od krávy černostrakaté. Přestože vypilo v prvních 3 dnech 16,25 l mleziva, tedy shodně s ostatními, vykazalo menší vzestup γ -globulinu a konglutininu než ostatní telata. Průkaz konglutininu vlastní tvorby byl shodný s ostatními telaty od 71. dne.

Tele 9 bylo stíženo průjemem 3. a 30. dne života, aniž by došlo k podstatnějšímu narušení relativního zastoupení bílkovin nebo průkazu konglutininu.

Diskuse

Vyjma počáteční koncentrace γ -globulinů, nerozcházejí se podstatně naše údaje s údaji o relativním zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí telecích sér u jiných autorů (Pierce, 1955, Hansen aj., 1947, Jameson aj., 1942, Piskač, 1960).

Rozdíly v počáteční koncentraci γ -globulinu mohou vyplynout z výše uvedených metodických nedostatků vyhodnocování na fotometru, takže naše údaje jsou většinou vyšší než u klasické elektroforézy.

Na hladinu γ -globulinů a tedy celé poměrné zastoupení bílkovinných frakcí mělo vliv počáteční napájení mlezivem v prvních 3 dnech života, i když jsou patrné individuální rozdíly. To, že nejvyšší koncentrace konglutininu byla prokázána 2.—3. dne života potvrzuje také, že přímé vstřebávání protilátek z kolostra v těchto dnech končí. Rychlost poklesu hladiny konglutininu není zatím uspokojivě vysvětlitelná.

Konglutinin vlastní tvorby byl v našem případě prokázán u telat po 49. až 86. dnu. Vzhledem k tomu, že byl konglutinin prokazován až ve vyšších koncentracích, lze mít za to, že k tvorbě dochází dříve, takže data odpovídají i některým jiným údajům o tvorbě protilátek u telat (Burnet aj. 1949, Pierce, 1955b aj.).

U telete, které nezískalo protilátky a získalo jen málo γ -globulinu kolostrem, je možná dřívější vlastní tvorba protilátek, jak tomu nasvědčuje případ telete 5.

S tímtož úkazem se pravděpodobně nebudeme setkávat tam, kde tele sice nezískalo protilátky, ale získalo γ -globulin z mleziva, jak tomu nasvědčuje případ telete 6.

Při získávání γ -globulinů a protilátek není vyloučen vliv plemene; tele 8, které mělo jen malý obsah globulinů a konglutininu při plné mlezivové výživě bylo černostrakatého plemene, zatím co ostatní telata byla červenostrakatá.

Koncentrace γ -globulinů a konglutininu v séru matky v den porodu je jen v částečném vztahu k maximální koncentraci těchto složek u telat po 30—48 hod.

Vzhledem k tomu, že uvedené pokusy je možno pokládat za orientační předpokusy, pokračuje se ve studiu těchto otázek na větším počtu telat se zlepšenými metodikami.

Souhrn

1. Teplota, relativní vlhkost ani rozdíly v krmení telat po 14 dnech stáří neměly samy o sobě přímého vlivu na relativní obsah bílkovin v séru krevním.

2. Není vyloučen celkový vliv ustájení telat v boudách od porodu do 90. dnu na relativní zastoupení albuminů, které bylo v boudě o něco vyšší a γ -globulinů, které bylo v boudě o něco nižší ve srovnání se skupinou umístěnou ve stáji.

3. Průměrné zastoupení sérových bílkovin a konglutininu u matek bylo jen v částečném vztahu ke koncentraci týchž látek u telat ve stáří 2—3 dnů.

4. Konglutinin získaný telaty mlezivem se ztrácí poměrně rychle z oběhu krevního mezi 3.—21. dnem života. Vlastní konglutinin tvořený teletem je prokazatelný ve > 10% koncentraci séra ve zkumavce v průměru od 60.—70. dne života.

5. Tele bez mlezivové výživy nemělo prokazatelný konglutinin v prvních dnech po porodu, ale od 49. dne, tj. o 11—21 dní dříve prokazatelný konglutinin vlastní tvorby.

6. Jsou diskutovány možnosti ovlivnění tvorby vlastního konglutininu teletem.

Literatura

1. Amschler J. W., Rupp G.: Untersuchungen über die Wirkung der Freilandhaltung auf Futterverbrauch und Leistung einer Braunvieherde in Tirol. Z. f. Tierzücht. u. Züchtungsbiol. 1952, 173-192. — 2. Bártá O.: Konglutinační komplementabsorpční test u bruceloso skotu a lidí. Čs. epid. mikrob. imun., 5, 305-312, 1956. — 3. Bártá O.: Příspěvek k problematice ustájení telat v chladných podmínkách. Veterinární medicína, 6 (34), 409-416, 1961. — 4. Bergmann H.: Zkušenosti z letních stájí. Překlad z Tierzucht, 1952, 330-334. — 5. Bordet J., Streng O.: Les phénomènes d'adsorption et la congutinine du sérum de boeuf. Zblt. Bact. etc., I. Orig., 49, 260, 1909. — 6. Burnet F. M., Fenner F.: The Production of Antibodies. Melbourne, 1949. — 7. Esmay M. L., Williams H. F., Guyer B. E.: Young Dairy Calf Housing in Missouri. Research Bull. 527, Univ. of Missouri, 1953. — 8. Hansen R. G., Phillips P. H.: J. Biol. Chem., 171, 223, 1947. — 9. Homolka J., Masopust J., Mojžíš J.: Elektroforéza bílkovin na papíře. ČLČ, '99, 78-84. — 10. Hořejší J. aj.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. Praha 1957. — 11. Jameson E., Alvarez - Tostado C., Sortor H. H.: Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y., 51, 163, 1942. — 12. Michalec Č., Kořínek J., Musil J., Růžicka J.: Elektroforesa na papíře a v jiných nosičích. Praha 1959. — 13. Pierce A. E.: Electrophoretic and Immunological Studies on Sera from Calves from Birth to Weaning. I. J. Hyg. Camb., 53, 247-260, 1955a. II. J. Hyg. Camb., 53, 261-274, 1955b. — 14. Piskač A.: Využití elektroforesy na filtračním papíře ve veterinární medicíně. Kompil. práce, Brno, 1960.

Уровень конглютинина и относительного содержания белков кровяной сыворотки у телят от рождения до возраста 90 дней

1. Температура, относительная влажность и разница в кормлении телят после 14-дневного возраста сами по себе непосредственно не влияли на относительное содержание белков в сыворотке крови.

2. Не исключено общее влияние содержания телят в будках от рождения до 90-дневного возраста на относительное количество альбуминов, которое в будках было немного выше и γ -глобулинов, которое в будках было немного ниже по сравнению с группой, помещенной в телятнике.

3. Среднее содержание белков сыворотки и конглютина у коров только частично зависело от концентрации тех же веществ у телят в возрасте 2—3 дней.

4. Конглютинин, полученный телятами из молозива, теряется из кровообращения сравнительно быстро, между 3 и 21 днем жизни. Собственный конглютинин, создаваемый теленком, может быть доказан в концентрации сыворотки $> 10\%$ в пробирке приблизительно в возрасте 60—70 дней.

5. У теленка без питания молозивом в первые дни после рождения нельзя было достоверно установить конглютинин, но от 49 дня, т. е. на 11—21 день раньше, был достоверно доказан конглютинин, созданный самим теленком.

6. Дискутировались возможности влияния на образование теленком собственного конглютина.

Der Konglutininspiegel und die relative Vertretung der Eiweißkomponenten im Blutserum von Kälbern von der Geburt bis zum Alter von 90 Tagen

1. Die Temperatur, die relative Feuchtigkeit sowie Unterschiede in der Fütterung der Kälber, älter als 14 Tage, hatten an und für sich keinen direkten Einfluß auf den relativen Gehalt an Eiweißkörpern im Blutserum.

2. Nicht ausgeschlossen ist der allgemeine Einfluß der Aufstallung der Kälber in Hütten von der Geburt bis zum 90. Tage auf den relativen Gehalt an Albuminen, der in den Hütten etwas größer war, und von Gama-Globulinen, der in den Hütten etwas niedriger war im Vergleich zu der in Ställen untergebrachten Gruppe.

3. Der durchschnittliche Gehalt an Serumeiweiß und Konglutinin bei den Müttern war nur in teilweiser Beziehung zur Konzentration derselben Stoffe bei den Kälbern im Alter von 2—3 Tagen.

4. Das von den Kälbern mit dem Kolostrum aufgenommene Konglutinin schwindet verhältnismäßig bald aus dem Blutkreislauf zwischen dem 3. und 21. Lebenstage der Kälber. Das von den Kälbern erzeugte eigene Konglutinin ist in höherer Konzentration als 10% im Serum im Probierröhrchen durchschnittlich vom 60.—70. Lebenstage nachweisbar.

5. Ein Kalb, das kein Kolostrum erhielt, hatte in den ersten Tagen nach der Geburt kein nachweisbares Konglutinin, aber vom 49. Tage an, d. h. um 11.—21. Tage früher, war Konglutinin eigener Erzeugung nachweisbar.

6. Es werden die Möglichkeiten besprochen, die Erzeugung eigenes Konglutinins bei Kälbern zu beeinflussen.

The Level of Conglutinine and the Relative Representation of Proteins of Blood Serum in Calves from Birth on up to 90 Days of Age

1. Neither temperature, nor the relative humidity nor the differences in feeding of calves after 14 days of age had, in themselves, any direct effect on the relative contents of proteins in blood serum.

2. There is not excluded the all-round influence of housing of calves in creeps from birth on up to 90 days on the relative representation of albumens which in creep was somewhat higher, and γ -globulins which was in creep somewhat lower in comparison with the group housed in barn.

3. The average representation of the serum proteins and conglutinine in mothers was only in a partial relation to concentration of the same substances in calves at the age of 2—3 days.

4. Conglutinine acquired by calves through colostrum vanished relatively quickly from blood circulation between the 3rd and 21st day of life. The conglutinine proper, created by the calf itself, is demonstrable in the $> 10\%$ serum concentration in a test tube on the average from the 60th—70th day of life.

5. The calf without the colostrum nutrition did not have demonstrable conglutinine in the first days after birth, but from the 49th day on, i. e. by 11—21 days earlier there appeared the demonstrable conglutinine of the calf's own creation.

6. There are being discussed the possibilities of influencing the creation of the calf's own aglutinine.

Možnost využití *Hieracium pilosella* proti brucelóze

Возможности использования ястребинки волосистой
(*Hieracium pilosella*) против бруцеллеза

Possibility to employ *Hieracium pilosella* against Brucellosis

Jaromír ŠIKULA, Ludvík ČERNÝ

Ústav zoohygieny a botaniky veterinární fakulty v Brně
Technická spolupráce M. Hrnčířová a Libuše Froňková

Došlo dne 18. I. 1961

Úvod

Možnost využití účinných látek z vyšších rostlin, nazvaných P. B. Tokinem fytoncidy, je dnes v terapii obecně uznávána. Poslední výzkumy v některých případech ukazují i přednost fytoncidů proti antibiotikům z nižších rostlin, poněvadž u patogenních mikroorganismů nevzniká tak snadno rezistence proti fytoncidům z vyšších rostlin, jako je tomu u antibiotik z rostlin nižších. Proti brucelóze byla zkoušena z vyšších rostlin řada preparátů i čerstvé natě bylin, avšak poměrně s nepatrným úspěchem. Jedině použití natě z *Hieracium pilosella* se ukázalo klinicky cenným.

Podnět k využití léčivých účinků této rostliny je dán jejím historickým užíváním v lidové medicíně, v níž byly ceněny zejména její vlastnosti protihorečnaté. Užívala se dále při rozličných poraněních. Novější data ukazují na terapeutickém využití *Hieracium pilosella* jako diuretika, doporučeného ve složení 4 g extraktu z *Hieracium pilosella*, 100 g citronového sirupu a 500 g vody (1). Dále jsou zprávy o účincích proti horečnatým onemocněním z Německa (2, 3) a stejně i z Francie (4).

Na možnost využití extraktu z *Hieracium pilosella* proti brucelóze upozornily však teprve pokusy Greiba a Duquénóa (5). Tito autoři sledovali kromě antibiotik streptomycinu, chloramphenikolu, aureomycinu, terramycinu aj. látek i extrakt z *Hieracium pilosella*, který podávali perorálně pacientům hospitalizovaným s chronickou brucelózou. Výsledky léčby extraktem z *Hieracium pilosella* se ukázaly velmi slibnými; vymizely horečnaté stavy a došlo i k vymizení sérových protilátek. Tyto výsledky byly potvrzeny Strauchem, Winterem a Schmidtem (6).

Bližší zkoumání obsahu účinných látek z *Hieracium pilosella* (7) ukazuje na přítomnost hořčin, diuretik a látek antibakteriálních, které chemickou povahou jsou řazeny jako umbeliferon (7, hydroxykumarin), dále jako metyl-umbeliferon a hydroxy-6-umbeliferon (8, 9). Cenné zjištění Greiba a Duquénóa (5), Straucha a spol. (6), o neškodnosti pilosellového extraktu na složení a rozvoj intestinální

mikroflóry, jakož i zjištění první, že po podávání extraktu nedochází ke komplikacím u nefritid, hepatitid, tuberkulózy a chorob srdce. Výhodou je jednoduchost aplikace při perorálním podávání.

Klinické výsledky i výsledky dosažené *in vitro* Strauchem a spol. (6), ukazují účinnost extraktu z *Hieracium pilosella* na *B. abortus*, *melitensis* i *suis*, kde bylo testování provedeno na 12 kmenech. Nejvhodnější koncentrace *in vitro*, které vykazovaly antibakteriální vliv extraktu, byla pro všechny kmeny mezi patnácti až třiceti miligramy na cm³. Při koncentraci 62,5 mg/cm³ bylo dosaženo úplného zastavení růstu všech dvanácti zkoumaných kmenů.

Naše pokusy založené na pokusech Greiba a Duqueénoye (5) sledovaly zjištění toxicity extraktu z *Hieracium pilosella* u morčat, účinnost extraktu na *brucella abortus in vitro* a na morčatech infikovaných kmenem BAB bylo zjišťováno ovlivnění akutně septické a metastatické fáze brucelózy. Sledován byl vliv soustavného zkrmování *Hieracium pilosella* mladými i dospělými jedinci, a to jak u infikovaných brucelami, tak i u zdravých, které byly infikovány později, aby byl ověřen případný protekční účinek *Hieracium pilosella*.

Materiál a metodika

Jestřábník chlupáček (*Hieracium pilosella*) náleží do čeledi rostlin hvězdnicovitých *Asteraceae* a náleží k rodu, který je velmi proměnlivý a druhově, varietami a formami velmi bohatý. Rovněž jeho areál rozšíření je značně velký a zaujímá celou řadu odlišných společenstev. Některé druhy jsou si zvláště podobné, jako je tomu u *Hieracium pilosella* a *Hieracium auriculla*. První má pouze listy ke konci mírně zúžené a tvoří výběžky bíle chlupaté, plazící se po zemi. Květy má na bezlistých stopkách v úborech. Nejčastěji na jedné stopce jeden, zřídka 2 úbory. Koruny květů jsou žluté a na vnější straně mají jemné rezavé čárky. *Hieracium auriculla* má nejčastěji na stopce 3 úbory, avšak nejsou výjimkou i úbory dva, čtyři až pět. Květy jsou rovněž žluté, ale nikdy nemají rezavých čárek. Již z této druhové složitosti a těžkosti identifikace vyplývá potíž při srovnávání údajů získaných při experimentech jednotlivými autory, poněvadž není vždy zaručeno přesné botanické určení použitého druhu. Rovněž odlišná stanoviště jednotlivých sběrů mohou značně ovlivňovat dosažené výsledky; velké rozdíly v účinnosti jsou u rostlin z vápenatých a kyselých stanovišť a též z jednotlivých částí rostlin a fází růstu během roku. Že ekologičtí činitelé mají velký vliv na účinnost sledovaných drog i dobu sběru drogy nebo fázický vývoj rostliny, potvrzují pro řadu druhů v našich podmínkách práce Martince a jeho školy (10).

Na podkladě těchto znadostí jsme pokusy uvedené v této práci prováděli výlučně s definovaným druhem, jehož stanoviště byla přesně známa a po stránce ekologické a půdoznalecké byla shodná. Jestřábník byl sbírán jednak na botanické zahradě veterinární fakulty v Brně, jednak v blízkém i vzdálenějším okolí Brna, přičemž byl i se sběrem sledován i pedochemický rozbor zemin, kde pH se pohybovalo v rozmezí 6,6–7,1. Poněvadž byly zjištěny značné rozdíly účinnosti čerstvé a sušené natě ve prospěch natě čerstvé, bylo k pokusům užíváno výhradně drogy čerstvé. Doba trvání pokusů však znemožnila, aby bylo ke všemu použito čerstvé nati se shodnou fází vývinu rostlin; proto byly pokusy z počátku s vegetativní natí jestřábníků, později s kvetoucím a konečně i z téměř klidového období podzimu a zimy, kdy jestřábník vytrvává přizemními listovými růžicemi, často vlivem chladu silně zbarvenými zmoženým anthokyanem v epidermálních buňkách. Ke všem pokusům byla používána

nať čerstvá, nejvíce 24 hodin stará. Drcení a extrakce rostlin se provádělo nejprve rozřezáním nožem na malé kousky, které byly pak dále drceny ve třecí porcelánové misce, nebo po přidání fyziologického roztoku homogenizovány v turmixu. Kromě částí rostliny byl zkoušen i latex, který vytéká u čerstvě poraněných rostlin z mléčnic. Vzhledem k tomu, že latex velmi rychle (během několika minut) podléhá oxydaci a mění se v čirou tekutinu, muselo být postupováno velmi rychle bez možnosti další koncentrace získaného latexu. Extrakt získaný z natě byl vyšetřován nezředěný a v ředění 1:4 s fyziologickým roztokem. Dále byla vyšetřována koncentrace 1:10 zahuštěním z alkoholického extraktu na vodní lázni, kdy teplota nepřestoupila v extraktu 78°C.

Pro zkoušky *in vitro* bylo jako živného extraktu použito játrového agarů s přísadou kvasnicového extraktu. Na suchý povrch plotny v Petriho miskách o Ø 8 cm byla rozlévána 24hodinová kultura brucel v játrovém bujonu — kmen č. 4042, u něhož trypaflavinovým testem byla ověřena jednotná populace S-forem. Po odpaření živné půdy při 37°C na vysoký povrch byly kladeny sterilní kotoučky filtračního papíru o Ø 1 cm (SSch) a na kotoučky napipetováno 0,01 ccm extraktu. Poté byly misky inkubovány v termostatu při 37°C a zjišťována zona za 24, 48 hodin.

Morčata použita k pokusům byla z ústavního chovu, samičky ve váze 370—640 gr, z nichž některé byly březí; byly před pokusem krmeny ovsem a zelenou pící. Pro každý pokus vybráno 6 zvířat samiček a stejný počet kontrol, které byly vystaveny infekci BAB bez podávání *H. p.* První skupina morčat a stejný počet kontrol infikováno množstvím 10^{-7} zárodků BAB a současně zkrmována čerstvá nať *H. p.* v množství 47 g na kg ž. v. po dobu 30 dní. Druhé skupině morčat před infekcí měsíc podávána čerstvá nať v množství 47 g na kg ž. v. a poté provedena infekce. U třetí skupiny bylo započato s podáváním *H. p.* za měsíc po infekci po dobu 30 dní. V každé skupině polovina morčat infikována s. c., druhá polovina i. p.

U morčat denně měřena rektální teplota a týdně vážena. Sérologické vyšetření protilátek prováděno aglutinačním testem a VK běžnou technikou. U první a druhé skupiny krev získávána kardiální punkcí 14., 30., 60. den po infekci; u třetí skupiny za 40, 60 a 75 dní. Očista organismu od brucel prokazována z 10% čerstvé suspenze sleziny ve fyziologickém roztoku z usmrčených pokusných a kontrolních morčat, jimž byl zkrmován jestřábník za 90 dní po infekci inokulací 2 ml suspence s. c. zdravým morčatům. Morčata konzumovala v ranním krmení nejvýše 12 g zelené natě jestřábníku. Zbývající množství ponechává nepovšimnuto. Pak dosycena 15 g ovsu a 30 g jetelotravy (řepy, při počátku zimního údobí), při odpoledním krmení. U druhé skupiny morčat byl jestřábník podáván od počátku infekce po 40 dnů.

Experimentální práce

1. Zkouška toxicity natě *Hieracium pilosella*

6. morčatům samičkám po dobu 30 dní byla podávána čerstvá nať *Hieracium pilosella* v množství 12 g zelené píce na kus a den. Morčata byla přikrmována dále 15 g ovsu a 30 g jetelotravy v odpoledním krmení. V průběhu pokusu nebyly shledány žádné příznaky intoxikace. Po usmrcení morčat patologicko-anatomický a histologický nálezy zažívacího traktu (žaludek, tenké a tlusté střevo), parenchymy, játra, ledviny, nadledvinka a slezina byly bez pat.-anat. nálezu. U březích samiček k zmetání nedošlo. 2 ze 6 pokusných zvířat porodila 4 mláďata, která již 4. den po porodu požírala jestřábník a vykazovala normální vzrůst.

Dosažené výsledky poukazují na to, že množství 47 g čerstvé natě *Hieracium pilosella* na kg ž. v. pokusných zvířat (morčat) neovlivnilo v žádném případě u dospělých a mláďat jejich zdravotní stav.

2. Účinnost extraktu *Hieracium pilosella* in vitro

Podle postupu popsaného v metodice pokusů byla třikrát opakovaně kontrolována účinnost nezředěného extraktu i fyziologickým roztokem zředěného v poměru 1 : 4. Po 24 a 48 hodinách nebyl pozorován inhibiční účinek na růst brucel. I v bezprostřední blízkosti filtračních kotoučků docházelo k růstu BAB. Při použití 10násobné koncentrace byl pozorován účinek extraktu, který inhiboval růst brucel v šířce 1 mm po 24 hodinách. Byly odečítány jen ty výsledky testování, u nichž nedošlo ke kontaminaci sporogenními zárodky.

Z těchto pokusů lze vyvodit závěr, že k výraznému inhibičnímu vlivu na BAB je třeba vyšší koncentrace extraktu z *Hieracium pilosella*, tj. koncentrace 100, příp. 1000krát vyšší.

3. Účinnost *Hieracium pilosella* in vivo

Zkouška účinnosti *H. p.* byla *in vivo* provedena na morčatech ve třech sériích. První série morčat 6 kusů byla infikována virulentním kmenem BAB č. 4042, množství 10^{-7} zárodků, a to polovině zvířat i. p. a druhé polovině sc. Současně s infekcí bylo započato s krmením čerstvou natí *H. p.* v množství odpovídajícím 47 g na kg ž. v. Po době 1 měsíce bylo takto probíhajících pokusy zjištěno, že vnitřní tělesná teplota pokusných zvířat ve srovnání s kontrolními nedoznala průkazných hodnot zvýšení a pohybovala se v rozmezí mezi 37°C — $38,9^{\circ}\text{C}$. Měření bylo prováděno u všech pokusných zvířat denně v ranních hodinách. U všech zvířat došlo v průběhu pokusu k značnému snížení tělesné váhy až o 40 % v průběhu prvního měsíce a v následujícím došlo k výraznému zvýšení tělesné váhy, takže u některých došlo i k překročení váhy v počátku pokusu. Průměrné hladiny aglutinačních titrů za 14 dní po infekci se pohybovaly kolem 640, za 60 dní výše titrů v krevním séru 1280. Vazba komplementu za prvních 14 dní vykazuje výši titru 8, za 32 dní je výše titru 32.

Týž stav odezvy protilátek byl zjištěn i u kontrol, které byly infikovány týž množstvím zárodků; těmto morčatům nebyla nař. *H. p.* zkrmována.

V druhé sérii bylo 6 zvířat, která před infekcí byla krmena denní dávkou 47 g na kg ž. v. čerstvou natí *H. p.* Po této době byla provedena infekce za stejných podmínek jako u první série. Odezva protilátek u této skupiny je shodná s výsledky u skupiny první i s kontrolami.

V třetí sérii bylo 6 zvířat, která začala dostávat nař. *H. p.* v údobí 1 měs. po infekci. Sérologické vyšetření vykazuje za 40, 60 a 75 dnů aglutinační titry ve výši 1280—2500, vazbou komplementu zjištěny titry 128—512.

Mimo sérologické vyšetření bylo pátráno po tom, zda zkrmování *H. p.* ovlivňuje očistu organismu od brucel. Za tím účelem byl proveden dílčí pokus s infekcí slezině tkáně 10% suspenzí pokusných a kontrolních morčat morčatům zdravým za 90 dnů po infekci.

I když poměrně vysoká hladina sérových protilátek nedávala naději na podstatný efekt čistoty, zaměřili jsme se na vyšetření sleziny infikovaných pokusných a kontrolních morčat, které by ověřilo dílčím způsobem vztah aktivního mesenchymu ve slezině k očistě brucel. 2 ml čerstvé 10% suspenze sleziny z usmrčených a kontrolních morčat bylo inokulováno zdravým morčatům. Za 21 dní u těchto morčat byly prokázány signifikantní titry, které dokazují, že u obou kategorií, tj. u pokusných a kontrolních morčat, přežívají brucely po dobu 90 dnů a u pokusných morčat nedochází tudíž k očistě organismu.

Diskuse

Při srovnávání výsledků dosažených Greibem a spol., Strauchem a spol., kteří vesměs vykazují zcela průkazné výsledky při použití extraktu z natě *H. p.* proti brucelám, v našich pokusech *in vitro* lze potvrdit inhibiční účinek drogy na množení BAB, jestliže tento extrakt je zkoncentrován 1:10. Naproti tomu v pokusech na morčatech jsme nezjistili podstatné ovlivnění brucelózního procesu. V našem pokusu jsme morčata zatížili neobyčejně mohutnou nárazovou infekcí, kde se uplatnila těžká alterace zdravotního stavu spojená s prudkým snížením tělesné váhy morčat. Současně je nutno vzít v úvahu dobu našich pokusů od počátku infekce do nástupu chronické fáze brucelózního procesu. V našich pokusech je to období 3 měsíců, takže naše výsledky přímo nekorespondují s údaji Greibovými, který měl ve svém pokuse účinek především u chroniků, kde chronická fáze u brucelózního procesu byla zasažena účinkem extraktu *H. p.* nejméně za 6 měsíců po vzniku infekce.

Souhrn

Byl sledován antibakteriální účinek čerstvé drogy z *Hieracium pilosella* z lokalit bližšího a vzdálenějšího okolí Brna a z botanické zahrady na BAB *in vitro* a *in vivo*.

1. V první části pokusu na morčatech bylo zjištěno, že droga v dávce 47 g na kg ž. v. podávaná perorálně po 30 dní je zcela netoxická a dieteticky nezávadná.

2. V pokusech *in vitro* s kulturou BAB č. 4042 byla zjištěna účinnost fytoncidů z *Hieracium pilosella* u alkoholického extraktu koncentrovaného 1:10 vytvořením inhibiční zóny v rozsahu 1 mm do 24 hodin.

3. V pokuse na morčatech dávkou 10^{-7} BAB, kmenem č. 4042 pro morče, nedošlo po perorálně podávané čerstvé nati *H. p.* k podstatnému ovlivnění průběhu brucelózní infekce do 3 měsíců po infekci.

Literatura

1. Leclerc Henri: Précis de phytothérapie, Paris 1922, str. 65-66. — 2. Nägeli C., Peter A.: Die Hieracium Mitteleuropas, München 1885. — 3. Engler A., Prantl H.: Die natürlichen Pflanzenfamilien, Ed 36, Leipzig 1893. — 4. Duguénois P.: Régards sur les antibiotiques tirés des végétaux supérieurs, Bull. Sec. bot. Fr. 102, 3877, 1955. — 5. Greib E., Duguénois P.: Contribution à l'étude du traitement des brucelloses par la piloselle, La presse med., 1955, 31, 63. — 6. Strauch D., Winter H., Schmidt W.: Klinische und bakteriologische Untersuchungen über das Versagen eines Extraktes aus *Hieracium pilosella* L., bei der Behandlung der Brucellose, Arzneimittelforschung, 8, 1958, 564, 566. — 7. Greib E.: Acad. des Sciences, 1953, 273, 1354. — 8. Greib, Duguénois: Bull. Acad. Médic. 1954, 138, 63. — 9. Greib E.: La Pilosella, *Hieracium pilosella* L. et ses printor, Aulendorf 1956. — 10. Martinec I.: Příspěvek k metodice studia fytoncidů. Práce brněnské zákl. ČSAV, 1958, XXX, 10-11, 435, 521.

Возможности использования ястребинки волосистой (*Hieracium pilosella*) против бруцеллеза

Исследовалось антибактериальное действие свежего лекарственного сырья из *Hieracium pilosella* из мест более или менее отдаленных от города Брно и из ботанического сада на BAB (*Bacillus abortus* Bang) *in vitro* и *in vivo*.

1. В первой части опыта на морских свинках было установлено, что лекарственное сырье в дозе 47 г на 1 кг живого веса, подаваемое перорально в течение 30 дней, вообще нетоксично и в диетическом отношении безвредно.

2. В опытах *in vitro* с культурой ВАВ № 4042 была установлена эффективность фитонцидов из *Hieracium pilosella* у алкоголического экстракта в концентрации 1 : 10 в результате образования ингибиционной зоны величиной 1 мм в течение 24 часов.

3. В опытах с морскими свинками при дозе 10^{-7} ВАВ, штаммом № 4042 для свинки, после перорально подаваемой свежей зелени *H. p.* не произошло существенного изменения в процессе бруцеллезной инфекции в течение 3 месяцев после инфекции.

Possibility to employ *Hieracium pilosella* against Brucellosis

Studied was the antibacterial effect of the fresh drug from *Hieracium pilosella* from the nearer and wider surroundings of Brno and from the botanic garden upon *Brucella abortus* Bang *in vitro*.

1. In the first part of the experiments on guinea pigs it was found, that the drug in the dose of 47 g/kg live weight, given perorally during 30 days is not toxic and dietetical innocuous.

2. In experiments *in vitro* with the culture of *Brucella abortus* Bang No 4042 the phytoncides from *Hieracium pilosella* in alcoholic extract in concentration of 1 : 10 showed an activity creating an inhibition zone of 1 mm during 24 hours.

3. In experiments on guinea pigs with the dose of 10^{-7} of *Brucella abortus* Bang, strain No 4042, pro animal after peroral application of fresh leaves of *H. p.* no considerable influence upon the course of the brucella infection during 3 months after infection could be found.

K patogeneze některých hereditárních abnormalit nervové soustavy u selat

**К патогенезу некоторых наследственных ненормальностей
нервной системы у поросят**

Zur Pathogenese einiger hereditärer Abnormitäten des Nervensystems bei Ferkeln

To Pathogenesis of some Hereditary Abnormalities of the Nervous System in Piglets

Dr. Vojtěch KRAJSA, ředitel Krajské veterinární nemocnice v Kroměříži
*Katedra pro patologickou fyziologii a morfologii veterinární fakulty VŠZ v Brně,
přednosta akademik Vincenc Jelínek*

Došlo dne 19. II. 1961

Úvod

Jednou z poměrně častých vývojových anomálií u selat jsou úchyvky ve vývoji očí, známé pod pojmy anophthalmus, mikrophthalmus a makrophthalmus. Jako anophthalmus popisuje Doberstein (1937) vývojovou poruchu základu očního spočívající v tom, že na místě bulbu je jen malý solidní vazivový útvar, obsahující uvnitř pigmentové buňky. *Nervus opticus*, *chiasma* a *tractus* chybí. Naproti tomu u mikrophthalmii běží o zastavení dokončení vývoje bulbu očního na určitém stupni a bulbus podle autora prezentuje se jako cystě podobný rudiment, vystlaný pigmentovým epitelem a hypoplastickou retinou. Orbita je u obou jmenovaných poruch vyvinuta, jen šterbina víčková zdá se menší a víčka jsou zkrácena. Shodně popisují tyto anomálie Nieberle a Cohrs (1939), zabývající se podrobně poruchami časného vývoje nervového systému, uvádí rovněž vedle anophthalmie pouze mikrophthalmii. Až Hubrig (1954) popisuje vedle mikrophthalmii také vrozené zvětšený bulbus, doprovázený současně zánětlivými změnami, a označuje tuto úchytku jako „Glottzauge“. Silným zvětšením bulbu nemohla být víčka ani důvěna a byla při tom silně edematózní. Hlavně dolní víčko bylo nápadně zánětlivě změněno. Podobně popsali vrozené zvětšené oční bulby u selat Škarda a Zendulka (1955). Zvětšený bulbus v jejich případech promínoval nad povrch. Bulbus byl suchý, slzami neomývaný, drsný a svažštělý. Víčka byla edematózně změněna s nepravidelně vyvinutými brvami, zatím co u mikrophthalmů byly vždy brvy normálně vyvinuty. Dále zaznamenáno rosolovité prosáknutí pojivové tkáně a muskulatury oka, která i takto byla málo vyvinuta. Nedošlo také k diferenciaci stěny bulbu na sklěru a korneu. U živých kusů nebyl zjišťován aktivní pohyb oka.

Aby zjistil etiologii těchto anomálií, provedl Hubrig (1954) podrobnou analýzu svých případů, při čemž vyloučil serologicky brucelózní infekci matek i kanců, na kterou měl zprvu podezření, a vyloučil pokusem na zvířatech také jinou infekci. Mimo to analyzoval způsob chovu, výživu a prostředí ve třech chovech prasat (ABC), z nichž pocházela selata s anomáliemi vývinu očí, a zjistil, že matky selat byly krmeny krmivem chudým na vitamíny, hlavně vitamín A, a to v kritické době foetálního vývoje, a matky nadto byly chovány v nepříznivých životních podmínkách. Dědičné faktory autor vyloučil v chovu A a B porovnáním krevních linií, avšak v chovu C pokrevní plemenitbu přiznává, ač ji naopak nepřiznává sílu etiologického činitele. Autor uzavírá, že příčinou zrůdnosti očí byl nedostatek vitamínu A. Rovněž Škarda a Zendulka pokládají za příčinu vrozených anomálií očí u selat nedostatek vitamínu A v době organogeneze nervového systému. Autoři, stejně jako Hubrig, argumentují tím, že nejčastěji dochází k úchytkám vývinu oka u selat primipar, čili matek, jejichž organismus není plně vyvinut a požadavek organismu na vitamín A je největší. Na vzniku úchytky uplatňuje se také doba připuštění plemene, a to tehdy, kdy krytí kancem a časný foetální vývoj zapadají do ročního období, ve kterém nedostatek vitamínu A v krmivu je největší. Také Bendixen (1944) vyslovuje názor, že deficitní krmivo s nedostatkem vitamínu A u prasníc rezultovalo v jeho případech v mikrophtalmii selat, a shodně se i Manninger a Mócsy (1954) zmiňují o tom, že prasnice krmené krmivem bez vitamínu A vrhají selata slepá, bez očních bulbů. Také Hale považuje výskyt slepých selat s vyschlým bulbem očním za důsledek nedostatku vitamínu A v době krytí prasníc a prvních 30 dnech gravidity.

Marcq a Hennau (1946) zjišťovali svého času v různých lokalitách hynutí selat s anophtalmiemi a mikrophtalmiemi. Za příčinu pokládali nejdříve nedostatek vitamínu A, později se přikláněli k úvahám o chronické intoxikaci z krmiva, kterou připisovali kukuřici obsažené v krmné mouce. Bauer (1950) popsal anomálie očí u selat tří prasníc, primipar, v souvislosti s krmením mlýnskými odpadky v době gravidity. Uvažuje jako příčinu avitaminózu, přestože krmná dávka by ji nepředpokládala, neboť se skládala, kromě mlýnských odpadků, z ječného šrotu, živočišné moučky, krmného vápna a malého množství zeleného krmiva.

Naproti uvedeným náhledům staví Schulz (1957) názor, že vývojové poruchy očí selat mohou se vyskytovat nejen při avitaminóze A, ale mohou být vyvolány dědičnými, málo známými pochody. Také Kitchell a spoluprac. (1957) vysvětlují mozkové vrozené anomálie u selat jednou jako důsledek poruchy ve výživě, jindy však jako dědičné choroby. Již Glässer v r. 1944 mluví o tom, že vrozené změny na očích napadají celé vrhy selat a sestávají ze zánětů rohovky a více méně silných zákalů očí. Mnohé formy slepoty a atrofie a úplně nevyvinutý bulbus mohou být dědičné a lze mít za to, že jsou v souvislosti s pokrevní plemenitbou. Také Roberts v r. 1948 popsal mikrophtalmie selat v souvislosti s dědičnými faktory a Jelínek (1954) získal na svém ústavě mnoho poznatků o tom, že v celých vrzích selat se vyskytly úchytky ve vývoji mozku, rozštěpy a nedostatečné vývinu očí v souvislosti s úzkou pokrevní plemenitbou.

Konstituční anomálie očí byly popsány také u jiných hospodářských zvířat. Malou zmínku o kongenitálnímu hydrophthalmu u hříběte a jehňat uvedl Mørkeberg (1944) a v roce 1959 popsal van Groot výskyt mikrophtalmií a anophtalmií u jehňat texelského plemene v souvislosti s úzkou příbuzenskou plemenitbou zdravých rodičovských párů, při čemž nedostatek vitamínu A vylučuje, jelikož matkám v době vývoje plodů byla poskytována dobrá a dostatečná pastva. Saunders a Fincher (1951) studovali pak kongenitální katarakta u pěti telat různých matek. Tři telata pocházela po býku označeném jako II. a dvě po dcerách býka označeného jako I., jenž byl otcem býka II. Studium genealogických linií došlo se k tomu, že oba býci byli příbuzní s býkem S, po kterém se rodila telata s kongenitálními změnami na očích, které pozůstávaly z irideremie, mikrophakie, ectopia lentis a kataraktů. Mikrophtalmie však v této souvislosti zaznamenány nebyly.

Vidíme, že výskyt kongenitálních anomálií očí u selat, příp. i jiných hospodářských zvířat je přičítán jednou exogenním faktorům a z nich nejvíce nedostatku vitamínu A u matek prvoroďek v době březosti, jindy dlouhodobému nepříznivému působení určitého krmiva (kukuřice), a konečně také faktorům vnitřním, genetickým. Podle Schulze u genetických afekcí očí je málo známo o dědičném pochodu a málo také bylo pátráno po všech dědičných okolnostech. Podle Jelínka (1948) je o konstitučních anomáliích nervové tkáně u zvířat oproti lidem velmi málo známo a uvádějí-li se již vnitřní příčiny jako dědičný činitel, pak chybějí přesnější průkazy pro podobná tvrzení.

Vlastní pozorování

S vrozenými úchylkami vývojovými ve formě mikrophtalmů a makrophtalmů v celých vrzích selat setkali jsme se na podzim 1954, a to u potomstva tří kontrolovaných prasníc plemenného stáda devatenácti prasníc JZD v T.

Šlo o prasnice a vrhy:

1. G 1416/5 — multipara, která porodila 13 selat, z nichž 5 bylo stíženo mikrophtalmem a 4 makrophtalmem a 4 selata byla klinicky nepodezřelá.

2. 672/41 — multipara, která porodila 11 selat, z nichž 5 bylo stíženo mikrophtalmem a 3 makrophtalmem, 3 byla klinicky nepodezřelá.

3. G 1270/3 — primipara, která porodila pouze 4 selata, všechna stížená mikrophtalmem.

4. P 3900 Pecen — kanec, používaný na všechny prasnice plemenného stáda po dobu jedné sezóny.

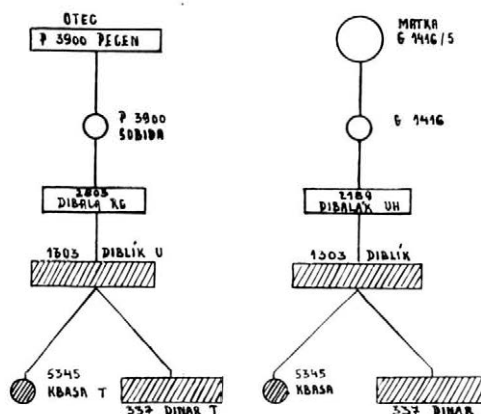
Celkem se ve velmi krátkém časovém odstupu narodilo třem výše uvedeným prasicím 28 přibližně stejně starých selat, z nichž vývojovou poruchou očí bylo napadeno 21 kusů a 7 kusů bylo klinicky nepodezřelých. Selata s makrophtalmem měla zvláštní strnulé držení hlavy a uhynula záhy po narození, nebo v prvních dnech života. Druhá skupina s mikrophtalmy presentovala se zapadlými nebo přivřelými víčky, takže selata činila dojem slepých, avšak čas od času při otočení hlavy nebo při přidržení proti světlu probleskoval šterbinou víčkovou šedavý bulbus. Palpací ve všech případech se dal zjistit různě velký elastický bulbus. Anophtalmie klinicky nebyly v našich případech zjištěny, ač diagnóza palpací je obtížná. Do osmi týdnů uhynulo ze skupiny mikrophtalmů 5 selat a ještě jedno sele, prosté změn na očích, takže celkem od těchto tří prasníc bylo odstaveno 14 selat, z nichž 8 bylo postiženo mikrophtalmem. Všechna odstavená selata byla krmena krmnou pestrá směsí, ve které bylo pamatováno na všechny potřebné složky, odstávcata byla očkováána Adevetinem a do krmiva jim byl přidáván rybí tuk, suchá krmná vojtěška a krmná mrkev v domněni, že jde o avitaminózu. Zvířata s vývojovou poruchou byla životná, přijímala normálně potravu a jejich vývoj v porovnání s partnery vlastních vrhů, avšak bez klinických změn na očích, probíhal stejně. Ve srovnání se selaty přibližně stejně starými jiných matek a normálních vrhů byl však opožděn. Byly konstatovány také velké individuální rozdíly v růstu ve skupině osmi běhounů s mikrophtalmy, takže váhové rozdíly se později objevily velmi zřetelně. Jedna prasata měla přes 50 kg ž. v. a jiná 30–35 kg. Postupně pro ztráty chuti k žrádлу bylo odsunuto na jatky pět prasat a v dalším dokrmu zůstala pouze 3 nejlepší prasata s mikrophtalmy, která potom rychle přibývala na váze a dosáhla jatečné váhy 90–100 kg.

Přes to, že matky selat s vývojovými úchylkami byly v době připuštění a době březosti, tj. od konce jara a přes léto krmeny všestrannou a pestrá krmnou dávkou, od jara byly příkrmovány dostatečným množstvím zeleného krmiva, byly drženy ve vyhovujících stájích a po všechny povětrnostně příznivé dny byly vyháněny do odpovídajících výběhů a porod byl v časově nejprůhodnější období časného podzimu, považovali jsme za příčinu vývojových úchylek nedostatek vitamínu A v krmivu matek v době formování nervové soustavy a během dalšího foetálního vývoje, a to pod vlivem tehdejších jednostranných názorů na etiologii takových zrůdností a dobového přeceňování vitamínů vůbec. Avšak na jaře r. 1955 vyskytly se nám tytéž anomálie ve dvou vrzích prasníc, primipar v JZD ST. M., krytých vlastním otcem. Tento případ poukazoval na zřejmý vliv nejužší pokrevní plemenitby a hereditární původ afekce. Vzhledem však k tomu, že obě prasnicky patřily k užitému chovu a neměly potvrzení o původu, nemohlo být provedeno porovnání rodokmenů s rodokmenem otce. Vrátili jsme se proto zpět k prvním třem případům, jelikož šlo o kontrolované prasnice známého původu, a pokusili jsme se o přesnější analýzu příčin na základě studia genealogických linií rodičů.

Případ I. (schéma 1)

♂ P 3900 Pecen — ♀ G 1416/6

V rodokmenu rodičů vyskytují se prvky příbuzenské plemenitby, ato ve IV. a V. parentální generaci (//), a to jak ze strany matčiny matky, tak ze strany otcovy matky. Praděd, prapraděd a prabába otce i matky jsou shodní, jak vidno z následující reprezentace.



Mimo to však se uplatnily — počítáno vzhledem k postiženým organismům — další prvky příbuzenské plemenitby (■ — schéma 1):

- ze strany otcovy matky:
v V. a VI. parentální generaci — 766 Vukal U a 13 Vulkan T
- ze strany otcova otce:
ve IV. a V. parentální generaci — 766 Vukal U a 13 Vulkan T
- ze strany matčiny matky:
v V. a VI. parentální generaci — 766 Vukal U a 13 Vulkan T
- ze strany matčina otce:
v V. a VI. parentální generaci — 806 Vulgo NC a jeho otec 13 Vulkan T.

Případ II. (schéma 2)

♂ P 3900 Pecen — ♀ 672/41

Také v druhém případě byly zjištěny tytéž prvky příbuzenské plemenitby (■ — schéma 2):

- ze strany otcovy matky:
v V. a VI. parentální generaci — 766 Vukal U a 13 Vulkan T
- ze strany otcova otce:
ve IV. a V. parentální generaci — 766 Vukal U a 13 Vulkan T
- ze strany otcova otce:
v V. a VI. parentální generaci — 806 Vulgo NC a jeho otec 13 Vulkan A.

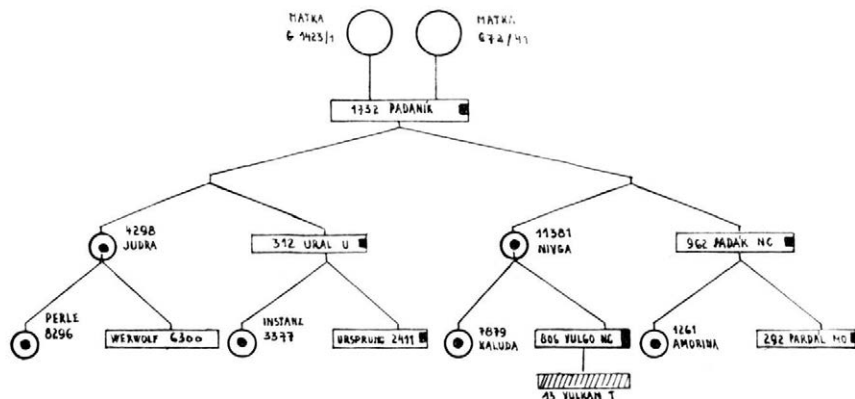
Případ III. (schéma 3)

♂ P 3900 Pecen — ♀ G 1270/3

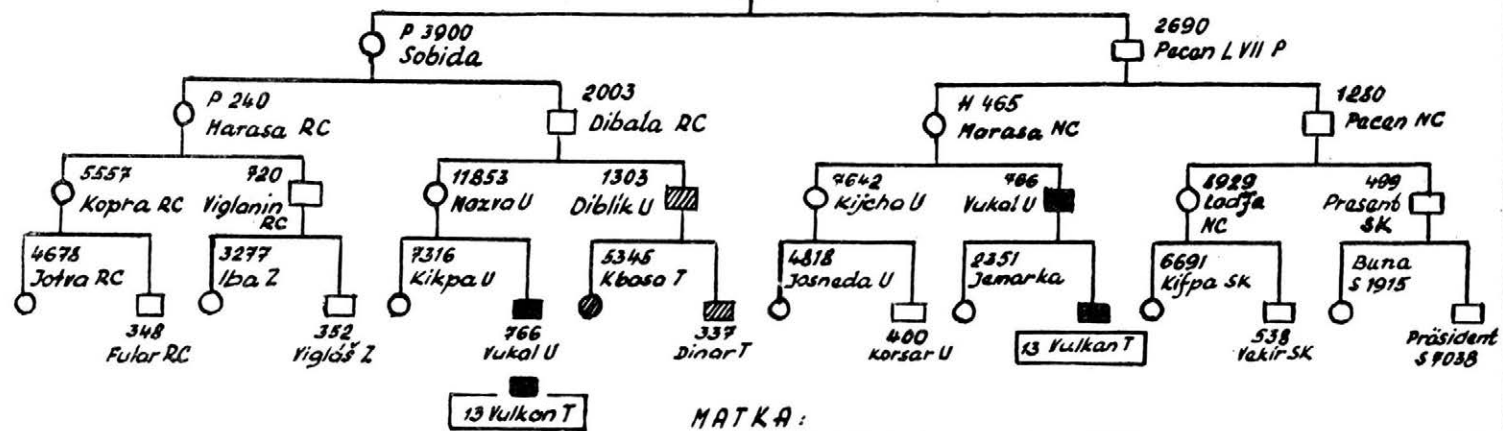
I v třetím případě jsou tytéž prvky příbuzenské plemenitby (■ — schéma 3):

- ze strany otcovy matky:
v V. a VI. parentální generaci — 766 Vukal U a 13 Vulkan T
- ze strany otcova otce:
ve IV. a V. parentální generaci — 766 Vukal U a 13 Vulkan T
- ze strany matčiny otce:
ve IV. a V. parentální generaci 973 Vuliš a jeho otec 13 Vulkan T.

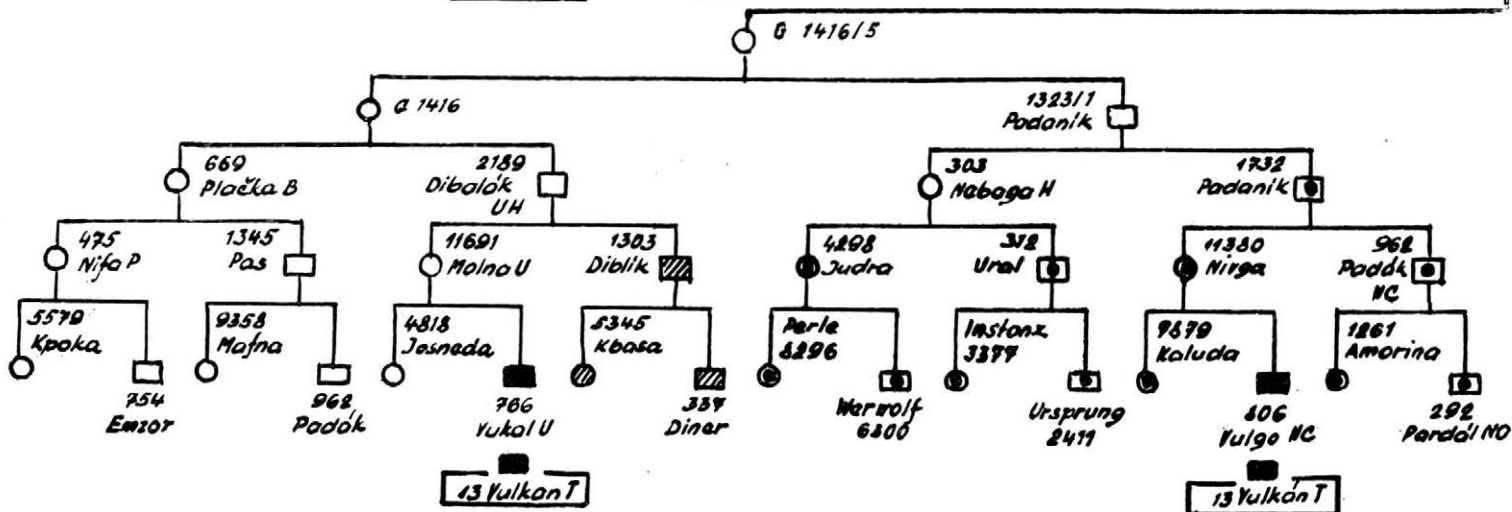
Mimo to matky v případě I. a v případě II. měly stejný původ po dědu (○ □) jímž byl 1732 Padaník, jak ukazuje přehled:



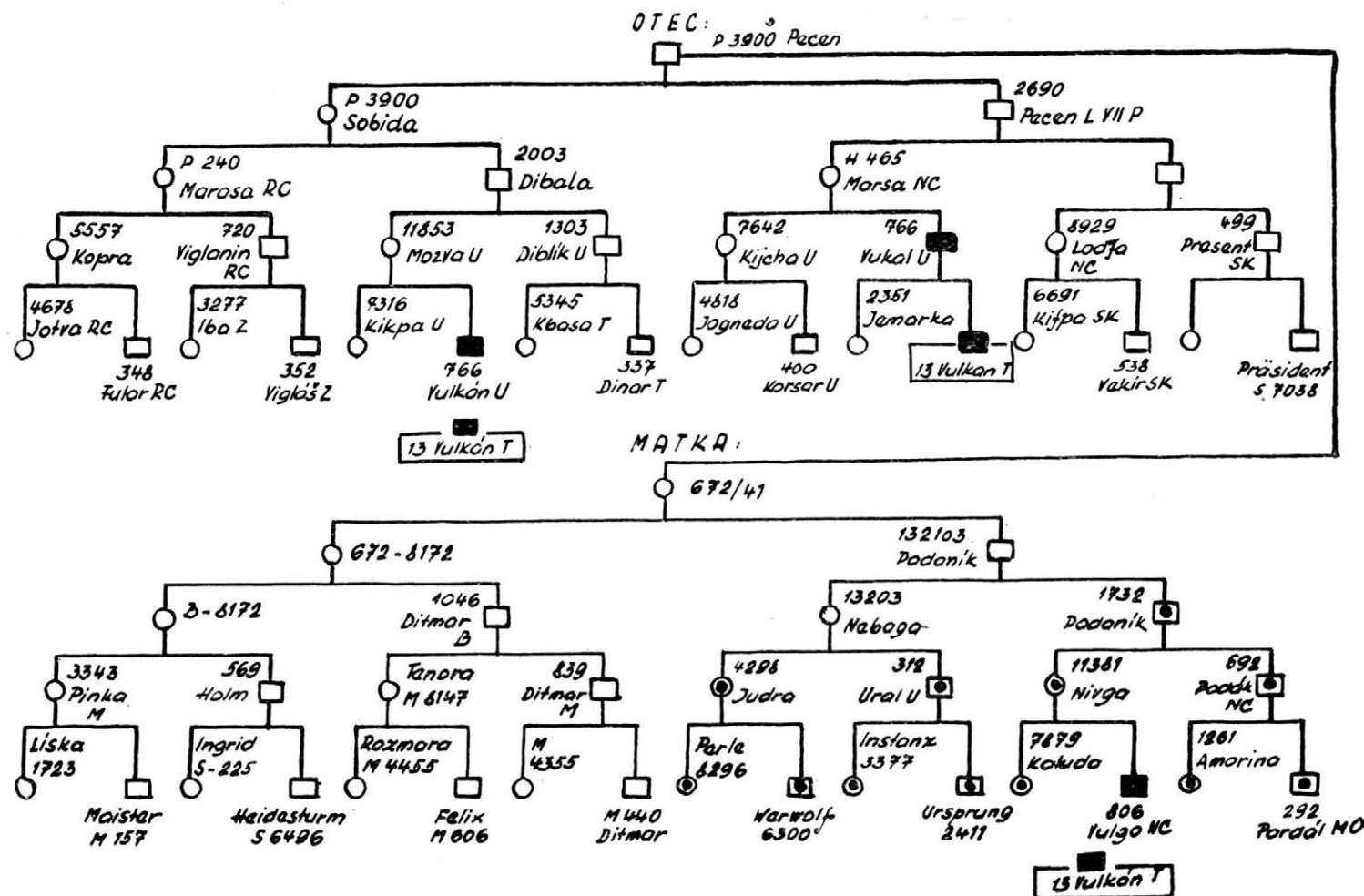
OTEC: P 3900 Pacen



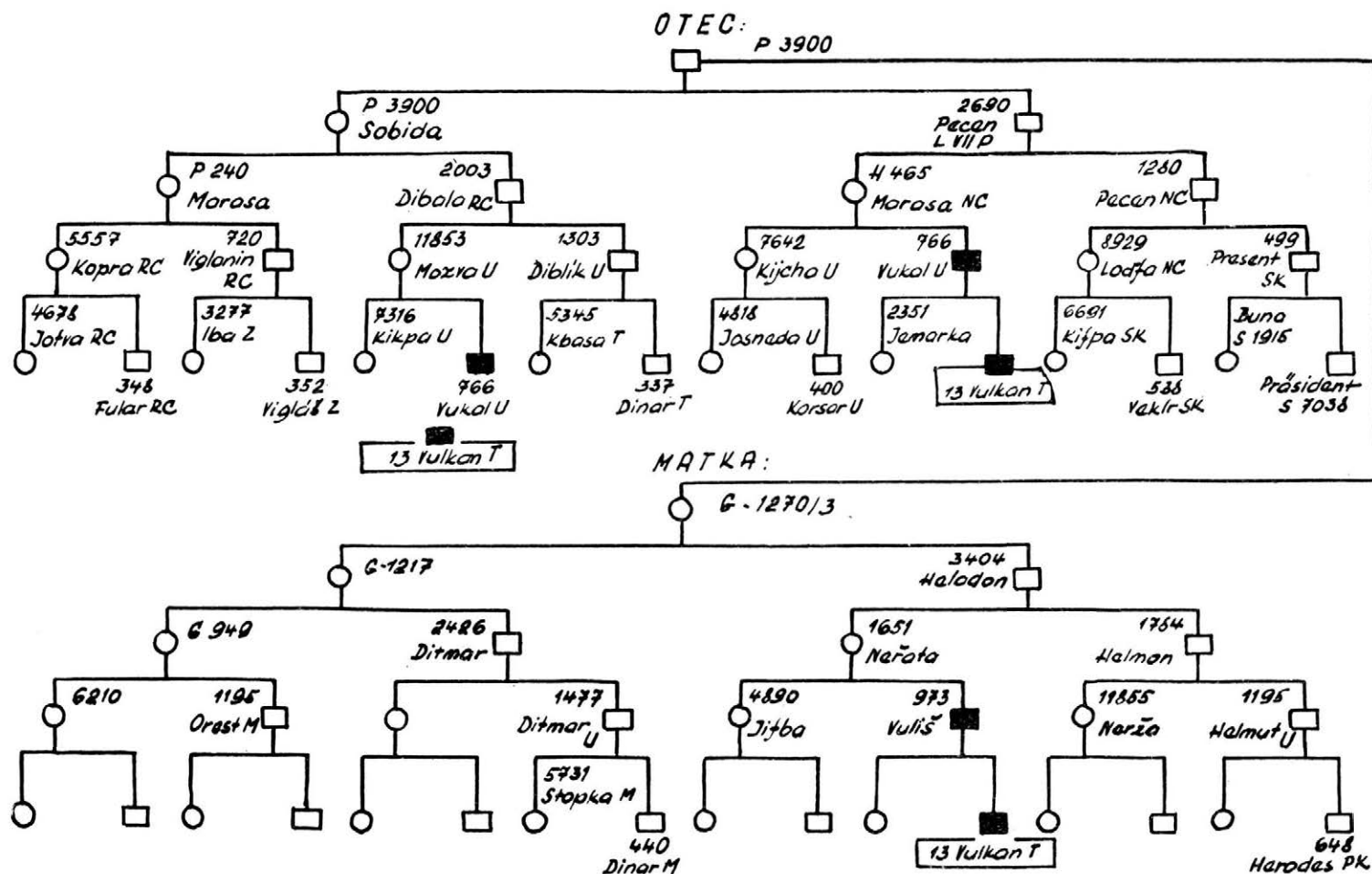
MATKA:



1. Rodokmen rodičovského páru, v jehož potomstvu, vrhu 13 selat, vyskytl se 5× microphthalmus, 4× marcrophtalmus



2. Rodokmen rodičovského páru, v jehož potomstvu ve vrhu 11 selat vyskytl se 5X microphtalmus, 3X macrophtalmus



3. Rodokmen rodičovského páru, v jehož potomstvu – 4 selata, všechna selata měla microphthalmus

Diskuse

Předmětem našeho studia byl výskyt kongenitálních mikrophtalmů a makrophtalmů ve třech vrzích kontrolovaných a dvou vrzích selat nekontrolovaných prasníc. Zajímala nás především otázka, zda příčiny vyvolávající tyto vrozené zrůdnosti nervového systému byly v našem případě exogenní nebo byly endogenní, genetické povahy. Cohrs (1957, 1958) na podkladě po dlouhá léta shromažďovaného materiálu došel k názoru, že vrozené choroby a poruchy vývoje mohou být vyvolány jak endogenními, tak exogenními faktory. Z exogenních uvádí fyzikální škodliviny, poruchy výměny látkové, chemické jedy a činitele infekčně toxické. Nachtsheim (1939) jako zevní faktory vypočítává mechanická a chemická agens, přímé působení ultrafialového světla, extrémní teploty, jak také dokázal pokusy na nižších obratlovcích. B. K. BoI (1954) zabývá se také touto otázkou a ze zevních faktorů jmenuje trauma, zářivou energii, vysoké teploty, vlivy chemické, avšak také choroby matky, poruchy krevního oběhu, snížené množství plodové vody, předčasné uzavření štěrbin, změny vaječných obalů, jejich srůsty apod. Cohrs podtrhuje, že k osvětlení etiologie musí být uváděno v souvislosti krmení gravidních matek, horečnatá onemocnění, očkování, medikamentózní léčba atd.

Při studiu dědičných vad a vyhledávání nositelů nežádoucích a škodlivých faktorů je podle Winningstedta (1957) důležité oddělit tyto od zrůdného vývoje způsobeného zevními vlivy. Proto při analýze případů tří prasníc plemenného stáda bylo námi zkoumáno především krmení prasníc v době připouštění a během foetálního vývoje plodů. V daném případě bylo toto krmení bez závad, ježto prasníc v kritické době bylo podáváno různorodé, hodnotné krmivo za přídavku minerálních směsí, bílkovinných směsí a prasnice od jara do podzimu dostávaly odpovídající dávky zeleného krmiva. Týmž krmivem bylo krmeno mimo jiné dalších 16 většinou březích prasníc, u kterých se však zrůdný vývoj očí u selat nevyskytl. Můžeme proto nedostatek vitamínu A jako příčinu vyloučit.

Podle některých autorů (Bauer, Bendixen, Škarda a Zendulka) vyskytují se anomálie očí hromadně ve vrzích prvoroďek, které jako nehotový organismus mají velký požadavek na vitamíny, z nichž Bendixen pokládá za důležitý nejen vitamín A, nýbrž také vitamín D, jehož nedostatek působí jako podpurný exogenní faktor při vzniku afekcí. V našem případě byla jedna prasnička primipara, ostatní dvě byly multipara, avšak v plemenném stádě bylo několik březích prvniček, které však v té době porodily normálně vyvinutá selata. Tato okolnost potvrzuje, že obsah vitamínů, a hlavně vitamínu A, byl v krmné dávce dostačující i pro individua ve stádiu dospívání.

Také prostředím nebylo možno v našem případě obvinít, jak činí Hubrig ve svých pozorováních, kde prasnice byly chovány v boudách na bahnitěm, rozbláceném výběhu, bez možnosti příjmu hlíny a kde vlhkost a zima spolupůsobily jako zdraví oslabující faktor. V našem případě zvířata byla chována v lehké typové stavbě, porodně s měkkými i tvrdými výběhy, za příznivého počasí měla možnost zdržovat se na osluněném výběhu, měla možnost rytí a příjmu hlíny. Nešlo také o prasničky vybrané ze žíru jako v Hubrigových případech, nýbrž o plemenný materiál cílevědomě od mládí odchovávaný.

Zvířata byla v mládí dvakrát vakcinována proti nakažlivé obrně a jednou ročně simultánně očkována proti července vepřů a přeočkována kulturou. Proti moru vepřů vakcinována nebyla. Očkování snášela dobře a po celou dobu roku byla klinicky z jakýchkoli nemocí nepodezřelá, byla čilá, životná, dobře žrala i pila a nemusela být u nich podnikána nějaká medikamentózní léčba. Prasnice neproděly žádná horečnatá onemocnění a jakákoliv traumatizace byla vyloučena.

Při tomto rozboru mohli jsme vyloučit všechny exogenní faktory.

Obrátili jsme dále svůj zřetel k faktorům endogenním, o nichž B. K. BoI praví, že jsou to všechny ty, které v té či oné formě mají vliv na jakost vaječné buňky a též na další vývoj a dělení zygoty v děložce po oplození. Z těchto faktorů jistě přední místo zaujímá charakter asimilace pohlavních buněk. Jelínek (1954) charakterizuje asimilaci v chovech s příbuzenskou plemenitbou, o kterou jsme se nejvíce zajímali, jelikož bývá příčinou degenerativních úkazů hromadně se vyskytujících anomálií, doslovně takto: „Při asimilaci pohlavních buněk s poměrně stálým typem výměny látkové má potomstvo takto vzniklé úzce vymezené požadavky na vnější prostředí, což vede v řadě generací k postupnému narušování protikladnosti živého organismu, k snižování přizpůsobivosti k podmínkám zevního prostředí, k snižování životnosti a k vytváření vysoce specifikovaného konzervativismu dědičnosti“.

Začali jsme proto provádět analýzu genealogických linií kance a tří prasnic. Analýza rodokmene vystoupila zřetelně teprve po převedení do grafických znázornění doporučených Thérétem (1951). Zprvu nám byla nápadná skupina 1303 Diblík U (III) a jeho rodiče 5345 Kbsa (II) a 337 Dinar T (III), kterážto skupina se vyskytovala ve IV. a V. parentálním stupni jak ze strany otce, tak ze strany matky případu I. Porovnávali jsme proto tuto skupinu linie Dinar s linií Ditmar, která se vyskytuje v případě II. a III. Úvaha, že linie Dinar je v přímém příbuzenském vztahu k linii Ditmar, vedla k mylným předpokladům, že nositelem nežádoucích faktorů je 337 Dinar T a 440 Ditmar M. Dodatečně bylo zjištěno, že obě linie jsou odlišné, jak vidno ze schématu obou linií:

a) 337 Dinar T

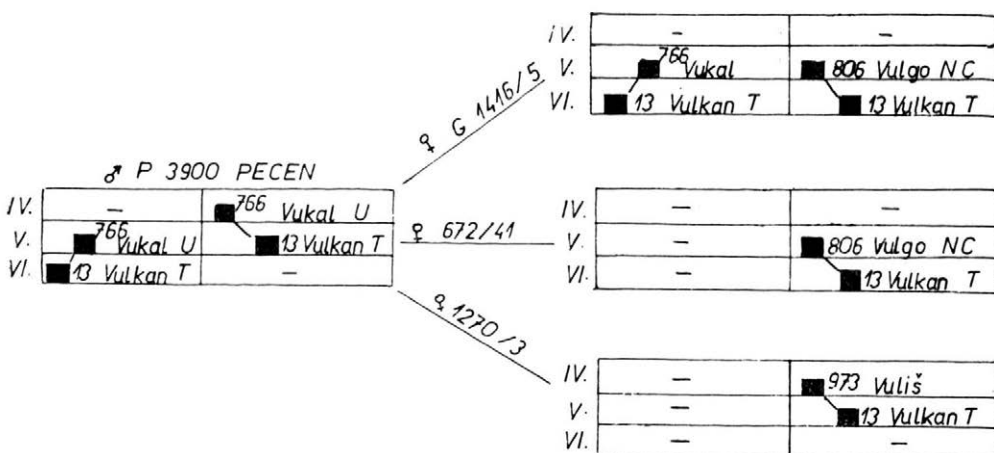
Dingo 8798
Gaukler 8418
Gessler OPS 521
Felix PS 428
Färber OPS 393

b) Ditmar M 440

Dietmar S 6890
Drache S 4321
Dienstmann S 3387
Deichgraf S 2560
Darwin PS 3210

Byly proto hledány eventuální další prvky pokrevní plemenitby, které by potvrdily domněnku uplatnění endogenních faktorů. Teprve po doplnění grafických tabulek údaji z plemenné knihy prasat, které v potvrzeních o původu tak dalece nesaňaly, bylo zjištěno že to byly ve všech třech případech stejné prvky příbuzenské

plemenitby (■), které se uplatnily ve IV.—VI. parentálním stupni jak u otce, tak u všech tří matek které porodily selata s vrozenými afekcemi očí jak ukazuje následující přehled:



Mimo to v rodokmenech matek I. a II. případu je stejný původ po dědu, jímž je 1732 Padaník, kterážto okolnost v těchto dvou případech mohla mít rovněž vliv.

Vidíme, že ve všech třech případech uplatnily se prvky příbuzenské plemenitby tak, že mohly vyvolat degenerativní proces. Vedoucí endogenní faktor ukazoval na kance 13 Vulkan T, který působí v V. a VI. parentálním stupni a objevuje se oboustranně ve všech genealogických liniích. Další podpůrný faktor, opět genetický, je pokrevní skupina 1303 Diblík (III), 5354 Kbsa a 337 Dinar T (III). Z rozboru lze soudit, že v našem případě vyskytl se kongenitální mikrophtalmus a makrophtalmus jako hereditární afekce. Mikrophtalmus a makrophtalmus ve dvou vrzích prasníků, připuštěných otcem dokresluje obraz vrozených úchylek nervového systému (očí) na genetickém podkladě.

Vzhledem k tomu, že počet jednotlivých linií kanců v českých krajích podle Fulíka (1956) se značně snížil a počet kanců v některých liniích je udržován nesrovnatelně vysoko, zvýšil se stupeň příbuznosti v chovech našich prasat. Tato přílišná spřízněnost nese sebou nebezpečí zvýšeného přenosu nežádoucích endogenních faktorů. Mnozí autoři (C o h r s) trdají názor, že stejný druh zrůdného vývoje může být vy-

volán jedenkrát faktory dědičnými, jindy faktory zevními, faktory prostředí, a naproti tomu mohou stejné faktory naopak vyvolat rozličné formy znetvoření organismu. Erikson (1959) dělí pak dědičné choroby na dvojí, a to jedny čistě dědičné, vyvolané genetickými faktory bez vlivu prostředí, a dědičné choroby prostředí, vyvolané kombinováním účinkem dědičných a exogenních faktorů. S přihlédnutím k těmto všem okolnostem bude nutno častěji provádět v terénu diagnostickou genealogickou analýzu s grafickou reprezentací než dosavad. Ale nejen to. Jelikož dědičné choroby jsou dány fylogenetickým vývojem v dědičném základu, avšak k realizaci potřebují podle Jelínka specifické realizační faktory vnějšího a vnitřního prostředí, bude potřeba při podezření na hereditární afekce a vlohy provádět systematický průzkum všech endogenních faktorů a také všech faktorů prostředí za účelem objasnění etiologie choroby, jako jednu z nejdůležitějších metod prevence našich chovů. Genealogická analýza je jen jednou z metod systematického průzkumu.

Pro účely uvedeného průzkumu bude nutno vědecky a podrobně zpracovat nové vydání plemenné knihy prasat, aby také prvky vzdálenějších parentálních stupňů mohly být při výskytu nebo podezření na hereditární afekce a hereditární choroby studovány a uvažovány.

Souhrn

1. Byly popsány vrozené hromadné úchyly vývoje očí (mikrophtalmus, makrophtalmus) u selat pěti vrhů prasníc ze dvou soc. hospodářství.
2. Příčinou byla u dvou prasníc nejužší pokrevní plemenitba a u tří dalších prvky vzdálené příbuzenské plemenitby které se uplatnily, i opakovaně, jak u kance, tak u všech tří prasníc.
3. Genealogická analýza vedla k jednomu kanci v pozadí, který se ve všech rodokmenech uplatňoval prostřednictvím svých synů ve IV. a V. parentálním stupni.
4. Dvě z těchto prasníc měly mimo to stejný původ po otci od III. parentálního stupně.
5. U jedné prasnice vyskytla se ještě jiná, s kancem shodná příbuzenská skupina ve IV. a V. parentálním stupni.
6. Ve všech těchto pěti případech hromadných vrozených anomálií centrálního nervového systému (očí) u selat uplatnily se genetické (endogenní) faktory.
7. Přímé exogenní faktory prostředí nemohly být nikde dokázány.
8. U všech hereditárních afekcí, chorob nebo vlohy a jejich podezření musí být vždy proveden systematický průzkum exogenních a endogenních faktorů, jehož součástí je genealogická analýza spolu s grafickým vyjádřením.
9. Pro účely podrobného genetického průzkumu z hlediska zdravotního je nutno vědecky zpracovat plemenné knihy prasat.

Literatura

- Bauer H.: Ferkelsterblichkeit und blindgeborene Ferkel infolge A-Avitaminose T. U. 1950, 19-20, 366. — Bendixen H. C.: Acta Pathol. et Microbiol. Scandinav. 1944, 54, 161. — Bendixen H. C.: Einige Schäden, die durch Vitamin A-armes Futter bei Schweinen hervorgerufen werden. - D. T. W. 1950, 6, 151. — Boř K. G. - Boř B. K.: Základy pathologické anatomie dom. zvíř. Překl. Bratisl. 1954. — Cohrs P.: Gameto-Embryo-Foetopathien. - Bericht 2. Kongr. dtsch. vet. med. Gess. 1957. — Cohrs P.: Angeborene Veränderungen bei Haustieren brauchen nicht vererbbar zu sein. - Tierzüchter 1957, 9, 421-424. — Cohrs P.: Angeborene, aber nicht erbliche Krankheiten der Haustiere. - Züchtungskd. 1958, 29, 418-426. — Doberstein J.: Joest's Handb. d. spec. path. Anatomie d. Haustiere, II. Berlin 1937. — Erikson K.: Genetics of Disease. - XVI. Internat. vet. kongr. Madrid 1959. — Fulík J.: Plemenná kniha prasat. Praha 1956. — Gläser K. - Schmidt F. - Hupka E.: Die Krankheiten des Schweines. - IV. A., Hannover 1944, pp. 369, 405. — de Groot Th.: Blind geboren lammeren. - Het Schaap 1957, 1, 819, ref. Züchthyg. 1959, 6, 387. — Hale: cit. podle Škardy a enZdulky. — Hubrig Th.: Gehäuftes Auftreten blindgeborener Ferkel in Thüringen. - Monatsh. Vet. Med. 1954, 6, 132-136. — Jelínek V.: Konstituční pathologie ve vztahu k prevenci nemocí. - Čas. čs. vet. 1948, 2, 31. — Jelínek V.: O dědičnosti chorob. - Za další rozvoj zeměděl. vědy. Praha 1954. — Kit-

chell R. L., Stevens C. E., Turbes C. C.: Cardiac and aortic arch anomalies, hydrocephalus and other abnormalities in newborn pigs JAVMA 1957, 130, 453-457. — Manning - Mócsy: Hutyry-Marek: Handb. Spec. Path. u. Therap. d. Haustiere. Jena 1954, 665. — Marcq J. - Henna u L.: Microphthalmie congénitale chez le porc. - Bull. Inst. agr. et stat. de Rech. de Gembloux, 1946, XV, 1-4. — Mørkeberg A. W.: Handbook i Veterinærkirurgi. - København 1944. — Nachtsheim H.: Just's Hand. der Erbbiologie des Menschen, V. Berlin 1939. — Nieberle - Cohrs: Handb. der Spec. path. Anatomie der Haustiere. - Jena 1952. — Roberts L. D.: Journ. of Heredity, 1948, 39, 147. — Saunders L. Z., Fincher M. G.: Hereditary Multiple Eye Defects in Grade Jersey Calves. - Cornell Vet. 1951, Oct. 351-366. — Schulz G.: Über Augenveränderungen beim Schwein unter besonderer Berücksichtigung des Vitamin A. - Vet. Diss. Humboldt Univ. Berlin 1958, Ref. Med. Vet. 1958, 6, 574. — Skarda R., Zendulka M.: Hromadne sa vyskytujúce anomálie očí vo vrhoch prasiatok. - Sborník ČSAZV - Vet. medicina, 1955, 4, 313-326. — Thérét M.: Représentation graphique des familles et des pédigrees. - Rec. med. vet. 1951, 1, 40. — Winningstedt R.: Die Frage der Erbfehler in klarem Licht. - Tierzüchter, 1957, 9, 553.

К патогенезу некоторых наследственных ненормальностей нервной системы у поросят

1. Автор дает описание врожденных массовых отклонений развития глаз (*mikrophthalmus*, *makrophthalmus*) у поросят из пяти опоросов свиноматок в двух хозяйствах.
2. У двух свиноматок причиной было самое тесное родственное разведение, а у трех дальнейших — элементы отдаленного родственного разведения, которые проявились даже повторно, а именно как у хряка, так и у всех трех свиноматок.
3. В результате произведенного генеалогического анализа было установлено участие одного хряка, который во всех родословных через своих сыновей посявлялся в IV и V степени родства.
4. Кроме того две из этих свиноматок имели одинаковое происхождение со стороны отца в III степени родства.
5. У одной свиноматки была установлена еще другая, одинаковая с хряком родственная группа в IV и V степени родства.
6. У всех этих пяти случаев массовых аномалий нервной системы (глаза) у поросят проявились генетические (эндогенные) факторы.
7. Прямые экзогенные факторы среды нигде не могли быть подтверждены.
8. У всех наследственных состояний, болезней или способностей и подозрений необходимо всегда произвести систематическое обследование экзогенных и эндогенных факторов, в составную часть которых входит генеалогический анализ вместе с графическим изображением.
9. С целью детального генетического обследования в отношении состояния здоровья следует научно разработать племенные книги свиней.

Zur Pathogenese einiger hereditärer Abnormitäten des Nervensystems bei Ferkeln

1. Beschrieben wurden angeborene, gehäuft auftretende Anomalien der Entwicklung der Augen (Mikrophthalmus, Makrophthalmus) bei Ferkeln von 5 Würfen aus 2 sozialistischen Wirtschaften.
2. Bei zwei Sauen war die Ursache engste Inzucht und bei den 3 übrigen weitere Inzucht, die sich wiederholt sowohl bei dem Eber als auch bei den 3 Sauen äußerte.
3. Die genealogische Analyse wies auf einen Eber im Hintergrunde hin, der sich in allen Stammtafeln durch seine Söhne in der IV. und V. Parentalstufe auswirkte.
4. Zwei dieser Sauen hatten überdies dasselbe Vätertier von der III. Parentalstufe.
5. Bei einer Sau trat noch eine andere, mit dem Eber identische Verwandtschaftsgruppe in der IV. und V. Parentalstufe auf.
6. In allen diesen 5 Fällen gehäuft auftretender Anomalien des Nervensystems (Augen) bei Ferkeln handelte es sich um die Wirkung genetischer(endogener)Faktoren.

7. Direkte exogene Faktoren der Umwelt konnten nirgends nachgewiesen werden.

8. Bei allen hereditären Affektionen, Krankheiten und Anlagen und beim Verdacht auf solche muß stets eine systematische Erforschung der exogenen und endogenen Faktoren erfolgen, wozu eine genealogische Analyse mit graphischer Auswertung gehört.

Zum Zwecke einer gründlichen genetischen Durchforschung vom gesundheitlichen Standpunkt ist es notwendig die Zuchtbücher der Schweine wissenschaftlich zu verarbeiten.

To Pathogenesis of some Hereditary Abnormalities of the Nervous System in Piglets

1. There have been described the congenital deviations of the eyes development (microphthalmus, macropthalmus) in piglets from five litters of sows in two socialist enterprises.

2. The cause with two sows was the closest inbreeding and with three further ones the elements of remote parental breeding which asserted themselves also when repeated, as in the boar as in all three sows.

3. The genealogical analysis led to a boar in the background who asserted himself through the agency of his sons in the fourth and fifth parental degree.

4. Two of the sons in question had, besides, the same origin after the father of the third parental degree.

4. Two of the sons in question had, besides, the same origin after the father of the third parental degree.

5. In one sow there occurred still another parental group-identical with the boar — in the fourth and fifth parental degree.

6. In all these 5 cases of the mass congenital anomalies of the central nervous system (of eyes) in piglets there asserted themselves the genetic (endogenous) factors.

7. Any direct exogenous factors of environment could nowhere be proved.

8. With all hereditary affections, diseases or predispositions and their suspicions there must always be carried out a systematic research of exogenous and endogenous factors the component of which is the genealogical analysis together with a graphic representation.

9. For purposes of the genetic research from the sanitary point of view it is necessary to work up scientifically the herdbook of swines.

Výzkum o destrukčním účinku roztoku KMnO_4 na *Trichomonas columbae* a virus difterie a neštovic holubů

Исследование деструктивного действия раствора KMnO_4 на *Trichomonas columbae* и на вирус дифтерита и оспы голубей

Erhebungen über die destruktive Wirkung einer Lösung von KMnO_4 auf *Trichomonas columbae* und das Virus der Geflügeldiphtherie und Geflügelpocke

Richard HARNACH a Antonín FALADA

Ustav mikrobiologie a imunologie veterinární fakulty VŠZ v Brně

Došlo dne 26. IV. 1960

Ú v o d

Chov holubů se těší velké oblibě v řadách jak městských pracujících a zemědělců, tak i u pracujících inteligence a chov holubů poštovních má nemalý význam také v národní obraně.

S chovem je spojena produkce křehkého, dietního masa z holoubat, které znamená nejen zpestření jídelního lístku, ale zvláště vysoce hodnotný doplněk stravy pacientů.

Úspěšnému chovatelství holubů jsou na překážku palčivé otázky nakažlivých nemocí holubů, které napadají zvláště prošlechtěné a vysoce hodnotné chovy. Je to snad v souvislosti s určitou organickou oslabeností takových prošlechtěných ptáků v jednostranně zaměřeném chovu — a současně, což nutno zvláště zdůrazňovat, v souvislosti s hygienickými závadami. Proto zde hraje tak důležitou roli hygiena zařízení v holubnicích stejně jako volba zdravých, nezamořených plemenných párů, udržování čistoty, dobrá, vydatná výživa a včasná izolace nemocných ptáků, jakož i rychlý zákrok léčivý a prevenční. To platí především u větších stavů holubů, kde je nebezpečí hygienických závad daleko větší než v chovu malém.

Z nakažlivých nemocí holubů — zvláště mladých — jsou trichomoniasy a difterie a neštovice holubů asi nejzávažnější. Jejich etiologie je celkem objasněna.

Otázka prevence trichomoniázy a difterie holubů v chovech

Trichomoniasis ptáků vyvolávají cizopasní prvoci — bičenky. Z nich u holubů cizopasí bičenka holubí (*Trichomonas columbae*, Rivolta 1878). Někteří badatele ji pokládají za shodnou s *Trichomonas gallinae* u kura domácího.

ciho a krůt. Holubí bičenka je u holubů značně rozšířena (Zavádil — 31). Tvar této bičenky má hruštkovitou formu, má velikost $3-6 \mu \times 7-16 \mu$. Dobře se barví Giemsou-Romanovským. Na předí těla má 4 bičíky, 2 kratší a 2 delší. Středem těla se táhne opěrná tyčinka — axostyl; z bazálního tělíska vystupuje ještě parabazální aparát a okrajová fibrila. Z blefaroplastu vychází undulující membrána a bičíky. Jádru je v přední části těla, jádérko je uloženo excentricky.

Kultivace trichomonád se daří v umělých půdách sérových a žloutkových, v bujonu s peptonem a kousky jater; k růstu je nutný cholesterol. Možno užit k pěstění také živné půdy, užívané Jírovcem (15) pro *Trichomonas vaginalis*: prostého bujonu s přísadou 10 % séra, 0,1 % maltózy s 500 m.j. penicilinu na 1 ml půdy; kultivace při 37° C, zpravidla s převrstvením parafinovým olejem. Tak možno izolovat čisté kultury z infekčního materiálu (Jírovec).

Patogenita

Trichomonas columbae, stotožňovaný namnoze s *Tr. gallinae*, má četné varianty, odlišné stupněm virulence (B. M. Stabler) a vyskytuje se u domácích ptáků i u volně žijících. Přestupuje od nakažených rodičů při krmení asi záhy po vylihnutí na mláďata a příznaky onemocnění se ukáží zpravidla již 7. den. U mláďat se projevuje zpomalený růst, ukazuje se zarudlost v krajině hltano-hrtanové, rozpad, zánět a pablány, vytvářejí se nekrotické uzlíčky na sliznici hltanu i volete, dosahující velikosti hrachu nebo i více, načež zužují lumen dýchací trubice a mohou vést k zadušení. Boolestivost a zduření této zanícené krajiny hltanu ztěžuje přijímání potravy, mládě slábne, jeho růst se zastaví a do 14 dnů často uhynie anebo zakrnl. Onemocnění pupku, tzv. žlutý knoflík, se vyskytuje sporadicky. Rodiče bývají velmi zhusta nositeli a vylučovateli trichomonád.

Formy trichomoníazy jsou (podle Zavádila — 32) slizniční, a to akutní nebo chronická, a střevní forma, rovněž akutní nebo chronická. Zatímco akutní forma slizniční se vyskytuje již v prvních dnech života mláďate a je charakteristická změnami v hltanu nebo na patře (a beze změn na játrech), vyskytuje se chronická forma u starších výletků a vytváří na sliznici šedobílé pablány. Uzdraví-li se holub, stává se nosičem a vylučovatelem bičenek.

Střevní forma akutní se projevuje ponejvíce u výletků — zvláště ve voliérách (Zavádil — 31) — a vytváří nekrózy horních cest zažívacích, v dutině zobáku a po celé sliznici střeva. Chronická forma střevní u starších holubů je provázána občasnými průjmy; na játrech se vytvářejí kruhovitě nekrózy, podobné nekrózám na sliznici střeva.

Program práce

Po určitých zkušenostech s léčbou a prevencí trichomoníazy v chovech, kterou prováděl Harnach po více let, jsme podrobili experimentálnímu studiu *in vitro* i *in vivo* otázku citlivosti bičenek vůči odstupňovaným roztokům KMnO_4 . Současně jsme sledovali účinek těchto roztoků na virus difterie a neštovic holubích.

Tak se výzkum zaměřil na několik úkolů:

a) Určit citlivost holubích bičenek ke stupňovaným koncentracím KMnO_4 , určit způsoblost destrukce a stopovat jejich použitelnost v prevenci a terapii trichomoníazy.

b) Vyšetřit v několika chovech holubů zamoření bičenkami a sledovat účinek KMnO_4 na tyto parazity u živých holubů bez klinického onemocnění.

c) Zjišťovat prevenční a terapeutický vliv KMnO_4 na viditelné změny trichomoniázy.

d) Prokázat virocidní účinek, poměr a zředění roztoků KMnO_4 na virus difterie a neštovic holubích v alantoidní tekutině nebo v suspenzi z chorioalantoidních blan kuřecích zárodků.

Působnost roztoků KMnO_4

Tento roztok je — jak známo — neškodný pro zdraví živočichů, a je dokonce mnohými lidmi používán v pitné kuře. Harnach (11) jej pokládá za použitelný při trichomoniázi i difterii. Také Lebeduška (19) upozorňuje na jeho virocidní účinnost. Naproti tomu Zavadil (31) jej nepokládá za plně spolehlivý.

Pracovní metodika

Jako vyšetřovacího materiálu jsme používali živých holoubat s klinickými změnami trichomoniázy, k pokusům pak kuřecích zárodků (11–12denních) a zdravých holubů. Živé trichomonády jsme získávali tamponkem, smočeným ve fyziologickém roztoku NaCl , ohřátém na 38°C , jednak výtěrem v dutině zobáku, jednak (jinými tampónkem) z volete. Z tampónku byla kapka vytlačena na podložní skličko (rovněž zahřáté a udržované při teplotě těla). Zjištění bičenek se dařilo podle cílého pohybu v mikroskopickém poli při zvětšení $\frac{10}{10}$. Nato byl do kapiláry nasát roztok KMnO_4 a vkápnut na podložní skličko s trichomonádami, načež bylo počítáno, za kolik vteřin ustane všechen pohyb bičenek. Množství roztoku KMnO_4 bylo asi stejné jako suspenze s trichomonádami. Každá koncentrace KMnO_4 byla vyzkoušena na dobu zastavení pohybu na 80 preparátech. Po delší době se pohyb bičenek již nikdy neobjevil a to ani tehdy, když bylo přikápnuto teplého fyziologického roztoku. Kontrolně byl sledován pohyb bičenek v suspenzi bez přidání roztoku KMnO_4 . Trval vždy 25–30 minut, případně po celou dobu, než preparát vyschl (teplota místnosti $18\text{--}20^\circ \text{C}$).

Zkouška citlivosti trichomonád ke čtyřem koncentracím KMnO_4

K ovlivnění trichomonád *in vitro* — stejně jako pak také *in vivo* — bylo použito koncentrací roztoku KMnO_4 0,005 %, 0,05 %, 0,5 %, 0,1 % a 0,2 %. Po jeho spojení se suspenzí bylo sledováno, za kolik vteřin ustane pohyb bičenek v zorném poli mikroskopu.

Podle uvedeného vzoru byly zaznamenávány i doby působení dalších zředění, tj. 0,1 %, 0,05 %, 0,005 % KMnO_4 . Výsledky: účinek koncentrace 0,1 % roztoku, sledovaný rovněž na 80 různých preparátech, se projevil zastavením pohybu bičenek za 8 a nejpozději za 12 vteřin, tj. zřetelně později než u předešlé koncentrace (0,2 %, tj. za 2–5 vteř.).

Účinek koncentrace 0,05 % roztoku se projevil zánikem pohyblivosti za 16–20–24 vteřiny.

Účinek roztoku 0,005 % se projevil nejdříve za 34 a nejpozději za 46 vteřin zastavením pohybu bičenek.

Z výsledků je patrna vysoká účinnost roztoků KMnO_4 na bičeny.

Rychlost, s jakou došlo k zániku pohybu trichomonád a tím i k jejich inaktivaci, je přímo úměrná stupňované koncentraci použitých roztoků KMnO_4 . U řidších roztoků (0,005, 0,05 %) zaniká pohyb za 16–24–46 vteřin, u koncentro-

I. Použití koncentrace 0,2 % KMnO_4

Preparát číslo	Pohyb ustal za vteřin	Preparát číslo	Pohyb ustal za vteřin	Preparát číslo	Pohyb ustal za vteřin
1	5	28	3	55	4
2	3	29	4	56	5
3	4	30	4	57	3
4	5	31	5	58	2
5	5	32	3	59	3
6	4	33	3	60	4
7	2	34	5	61	4
8	5	35	2	62	3
9	4	36	5	63	5
10	3	37	4	64	3
11	3	38	4	65	3
12	4	39	4	66	4
13	4	40	3	67	4
14	5	41	4	68	3
15	5	42	4	69	4
16	6	43	4	70	3
17	4	44	3	71	5
18	4	45	3	72	5
19	3	46	5	73	4
20	4	47	3	74	5
21	4	48	3	75	4
22	5	49	4	76	3
23	5	50	5	77	3
24	3	51	3	78	3
25	3	52	3	79	4
26	3	53	5	80	3
27	5	54	3		

vanějších (0,1 a 0,2 %) již za 2—8 vteřin. Při opakované aplikaci roztoků se dosáhne účinku i u nejslabších roztoků, které dovedou také inaktivovat pohyb trichomonád.

Vyšetření pěti chovů holubů na přítomnost trichomonád u živých klinicky nepodezřelých holubů. Efekt roztoků KMnO_4 na trichomonády v živém organismu

Vyšetření bylo prováděno individuálně u každého holuba, vždy novým tamponem, namočeným ve fyziologickém roztoku 38°C teplém, zjištěním pohybujících se parazitů na podložním sklíčku pod mikroskopem. Holubi s pozitivním nálezem bičenek byli odděleni od ostatních a podrobeni hypermanganové kůře tak, že každému bylo aplikováno 5 ml 0,1 % roztoku KMnO_4 dvakrát po hodině. Současně jim byla podávána po 3 dny k pití voda s 0,005 % roztoku hypermanganu.

Po této době bylo provedeno vyšetření, a to jednak z krajiny hltano-hrtanové, jednak z volete. Výsledky šetření v 5 chovech:

I. Vyšetření chovu s 36 holuby tří plemen, majitel M. Ú., Brno ukázalo pozitivní nález trichomonád v hltanu i ve voleti a negativní nález za 3 dny po aplikaci 5 ml 0,1 % roztoku u 8 holubů. Negativní nález trichomonád v hltanu, pozitivní ve voleti a negativní po aplikaci roztoku byl u 11 holubů. Negativní nález po 3násobném vyšetření byl u 17 holubů. Pouze u 1 holuba zjištěn zánik trichomonád teprve 6. dne.

2. Vyšetření chovu s 62 holuby (maj. V. B. Brno). Postup byl stejný jako předešle. Z vyšetřovaných 62 holubů zjištěny trichomonády v hltanu jen u 1 samičky. Po dvojí aplikaci roztoku KMnO_4 nebyly u ní již prokázány.

3. V chovu s 25 holuby, maj. V. W. Opařany, byly trichomonády prokázány ve voleti jen u dvou holubů, u nichž po dvou aplikacích 0,1 % roztoku do volete byl nález negativní.

4. V chovu s 20 holuby mor. pštrosů (maj. A. T., Podboří) nebyly živé trichomonády zjištěny ani u jediného holuba.

5. V chovu s 25 holuby anglickými pávíky (maj. F. H., Podboří) byl u všech nález pozitivní. Po jejich uzavření a napájení 0,05 % roztokem KMnO_4 po 5 dní byl nález u všech negativní.

Z á v ě r. Byl tudíž z celkového počtu 148 vyšetřovaných holubů pozitivní nález holubích bičenek u 28, tj. 18,9 %. Nutno podotknout, že šlo o období zimní a tudíž chovatelského klidu. Jak ukazují výsledky na preparátech se suspenzí trichomonád i na živých holubech, nelze pochybovat o promptním a vydatném smrtícím účinku roztoku KMnO_4 na živé trichomonády, jak to již dříve zaznamenal Harnach (11). Za dobu 3 dnů (a jen v 1 případě na 6 dní) zanikli živí bičíkovci po požívání i slabých roztoků KMnO_4 . Ani tuto dobu nelze pokládat za nevýhodnou, uvážíme-li na jedné straně nesmírné obtíže s tlumním trichomoníázou a pronikavé škody v chovatelských poměrech, a na druhé straně celkem jednoduchý způsob aplikace neškodného roztoku KMnO_4 , který lze podávat bez větších obtíží do běžného nápoje. V době výskytu trichomoníázy — zvláště v horkých měsících jarních a letních — je účelné přikapávat roztoku do vody dvakrát denně.

Pokusy s virem difterie a neštovic holubích

Poněvadž jde u difterie a neštovic holubů o klinické onemocnění velmi podobné trichomoníáze, se kterou se někdy vyskytne i jako spoluinfekce, podrobili jsme zkoušce účinnosti tytéž roztoky KMnO_4 na virus difterie a neštovic holubů. Usuzovali jsme, že prostředek upotřebitelný se stejným efektem u obou těchto druhů onemocnění — které se ostatně bez vyloučení mikroskopického nebo vyšetření virologického těžce rozlišuje — by měl mimořádnou praktickou výhodu.

Virus difterie a neštovic holubů a virocidní účinek KMnO_4

Původce difterie a neštovic drůbeže a holubů je filtrabilní virus (Marx a Sticker, 1902) rozměrů 150–250 μ . Vrabčí varianta měří jen 125–175 μ . V epitelích tvoří inkluse s elementárními tělísky Bollingerovými, velikosti do 0,25 μ , barvícími se Romanowským-Giemsou. Rozlišují se 3 typy viru: 1. virus slepičího epitelionu, 2. virus holubích neštovic (bipatogenní), 3. virus vrabčí a kanárčí (patogenní jen pro vrabce nebo kanárky).

Na změnách sliznic se při difterii přidruží četná sekundární mikroflóra (B. nekrozy aj.). Přenos viru se děje nečistým krmivem, vodou, stykem („hubičkováním“) a asi také hmyzem.

V n í m a v o s t. Pro difterii a neštovice je nejvímavější mladá drůbež a holoubata. Kromě drůbeže a domácích ptáků byla zjištěna také u výra (Šobra, 1954).

I m u n i z a c e se provádí buď virem umrtveným (Panisset a Verge, de Blieck a Heelsbergen), v nové době hlavně ovodifterinem. Lze imunizovat současně proti difterii a moru drůbeže (Komorov, Goldschmidt a Kabana — 1948, Žuffa a Škoda 1959).

Rezistence viru je značná v přírodě, avšak osvědčeným prostředkům desinfekčním podléhá virus snadno (louh, KMnO_4 aj.).

Pracovní postup u viru diftérie a neštovic holubů

Výzkum jsme založili na předpokladu, že je třeba zkoušet prostředek účinný proti viru diftérie i proti trichomoniáze jako dvěma klinicky velmi podobným onemocněním. Zkoušku devitalizace viru jsme prováděli smíšením viru s roztoky KMnO_4 jednak v poměru 1 : 2, jednak 2 : 1. Pak byly kultivovány do kuřecích embryí a živým holubům.

Kmeny jsme získali lyofilizované z Biovety v Nitře. Šlo o kmeny: I. kmen Di—R15—E3 a II. kmen Di—Ph—E4.

Zkouška KMnO_4 . Abychom zjistili, zda má KMnO_4 virocidní účinek, byla připravena suspenze z alantochoriových blan, k nim přidán roztok KMnO_4 a pak a) přímo inokulována na alantochoriové blány kuřecích embryí, b) nanášena po mírné skarifikaci na sliznici dutiny zobáku a do folikulů per na stehně živého holuba.

Vybírání alantochoriových blan

Po třech dnech se otvor ve skořápce odkryje a skořápka se odstraní do úrovně alantochoriové blány. Sterilní pinzetou se blána přidrží a odstříhne nůžkami podél hranice umělého vzduchového prostoru tak, aby se podchytila celá inokulovaná oblast. Alantochoriová blána se potom přenesle do sterilní Petriho misky a posoudí se případné změny na bláně. Posuzujeme proti černému pozadí. Materiál též kontrolujeme na sterilitu kultivací na masopeptonový agar a pozorujeme případně vzniklé nespecifické změny. Pro další pasáže se zpracují alantochoriové blány rozetřením v třecí misce (s pískem, fyziologickým roztokem s nárazníkem), udržuje se v mrazicím pultu (při -5°C). K pomnožení se virus inokuluje do vyvíjejících se zárodků kuřecích. Na jejich alantochoriových blanách se po 72 hodinách ukáží změny ve tvaru provazců s ložisky (fokusy), ostře ohraničenými od okolí. Při pomnožení zůstanou kuřecí zárodky na živu. Po odebrání alantochoriových blan se tyto rozetrou, odstředí (15 min. při 2000 otáček za min.) a supernatant se použije k pokusu.

Pokusy

Odstředěný a sedimentu zbavený supernatant byl v dávce 2 ml smíchán se 4 ml 0,1% roztoku KMnO_4 po dobu 5 minut. Takto ovlivněnou směsí byly prováděny pokusy:

1. Očkování dávky 0,2 ml na alantochoriové blány třech kuřecích embryí.
 2. Očkování živých holubů na sliznici zobáku a do pérových folikulů na stehně.
 3. Kontrolně naočkována do embryí výchozí virulentní kultura.
 4. Směsí viru s 0,1% KMnO_4 po 10 min. byla naočkována tři embrya v dávkách 0,2 ml.
 5. Směsí viru a roztoku 0,1% KMnO_4 v poměru 1 : 2 po ovlivnění po 20 min. byla naočkována dávkami o 0,2 ml tři embrya.
 6. Virem ovlivněným 0,1% KMnO_4 po 30 min. v poměru 1 : 2 očkovaná tři embrya.
 7. Virem ve směsi s 0,1% KMnO_4 v poměru 1 : 2 naočkována tři embrya.
- Všechna naočkována embrya byla vložena do líhně.

Výsledek pokusu s kultivacemi

a) Všechny kultivace sub 1. a 2. a sub 4 až 7. ukázaly, že alantochoriové blány zůstaly beze změn, v jednom případě se změnou v důsledku traumatizace při očkování. Výsledek svědčí o tom, že virus, ovlivněný 0,1 % roztokem KMnO_4 po 5 až 40 minut, byl inaktivován a nevyvolal u žádného embrya specifické změny na blanách.

b) Naproti tomu očkování sub 3. živým virem způsobilo na alantochoriových blanách typické změny ve formě provazců a fokusů, svědčící o virulenci použitého kmene.

Pokus na živých holubech

Pokus I. byl proveden se stejným materiálem (kmenem Di R 15) jako předešlý, užitý na kuřecích embryích. Byli jim očkováni holubi.

1. Materiálem kontrolním, tj. virem bez ovlivnění roztoky, a to jednak na sliznici zobáku, jednak do folikulů po vytržených pérech na stehně. Výsledek se projevil již druhý den v dutině zobáku jako žluté skvrnky, které vytvořily paplány a rozpad sliznice jako typické onemocnění. Také ve folikulech stehna se vytvořil zánět ve formě uzlíků-neštovic. Během 20 dnů pozorování se zahojily obojí změny, tj. na zobáku i na lýtku.

2. Holub č. 2, očkovaný 0,1 % roztokem KMnO_4 (účinek 5 min.), zůstal beze změn jak na sliznici dutiny zobáku, tak na lýtku po celou dobu čtyřtýdenního pozorování.

3. až 6. Stejně zůstali beze změn další čtyři holubi očkovaní virem ve směsi 1 % roztoku KMnO_4 po 10 min., po 20 min., po 30 min. a po 40 min.

Výsledek pokusů ukazuje, že virus diftérie, vyvolávající na sliznici zobáku a v kožních folikulech lokalizované neštovičky, byl inaktivován již po pěti-minutovém působení 0,1 % KMnO_4 , neboť nevyvolal žádné lokální změny ani na sliznici, ani v kožních folikulech.

Pokus II. proveden s kmenem Di-Ph-E5 zcela obdobně jako pokus I. a s obdobnými výsledky. Také tento výchozí virus vyvolával na alantochoriových blanách zárodků typické změny a uzlíčky s neštovičkami u zdravých holubů. Naproti tomu virus ovlivněný směsí s roztoky KMnO_4 v poměru 1 : 2, tj. v nadbytku, po dobu 5, 10, 20, 30 a 40 minut, byl již po pětiminutovém působení usmrcen, neboť nevyvolával změny ani na embryích, ani po nanesení na sliznici nebo do kůže (folikulů) holubů.

Jestliže však byly oba kmeny preparovány 0,1 % roztokem KMnO_4 v obráceném poměru, tj. dva díly viru na jeden díl KMnO_4 , nebylo dosaženo ani po 20 hod. usmrcení viru, neboť ten se 1. množil v kuřecích embryích a 2. vyvolával změny na sliznici zobáku a v pérových folikulech lýtko jako virus plné virulence.

Výsledek dává poučení resp. potvrzení toho, že virus diftérie je v bílkovitém prostředí chráněn proti menšímu množství roztoku KMnO_4 , jež váže, a teprve po zředění nadbytkem tohoto roztoku — asi v poměru 1 : 2 — dochází k devitalizaci viru, a to již za pouhých pět minut.

Zkoušky preventivního a terapeutického účinku KMnO_4 na viditelné změny při trichomoniáze holoubat

V posledních deseti letech se jeden z nás (R. H.) obíral prevencí a terapií trichomoniázy — která je nepoměrně rozšířenější než diftérie — v chovatelské praxi, a to především za použití roztoků KMnO_4 . Zvláště od roku 1956 byly na mikrobiologický ústav dodány anebo z chovatelské organizace hlášeny četné případy one-

mocnění a uhynutí holoubat v prošlechtěných chovech, především holubů moravských pštrosů a německých výstavních.

Když se zkouškami *in vitro* i *in vivo* prokázala vynikající destrukční účinnost KMnO_4 na trichomonády i diftérii, používali jsme těchto roztoků léčebně i preventivně. Zákroky tohoto druhu se u chovatelů setkaly s příznivou odezvou; ze zákroků provedených osobně a sledovaných po delší dobu máme v evidenci výsledky asi u 120 onemocnělých holoubat ze 14 chovů zamořených trichomoníází. Uvedeme tři příklady postupu a výsledků dosažených pomocí 0,1 % roztoku KMnO_4 .

1. V chovu 52 holubů moravských pštrosů (majitel V. B. v Brně) pozorovány v březnu 1958 čtyři případy onemocnění holoubat ve stáří asi osmi dnů. Na sliznici dutiny zobáku holoubat, zřetelně zeslabených touto slizniční formou trichomoníázy, se ukázaly po straně hltanu, jindy i na čípku patra, uzlíčky velikosti jáhly až ječného zrna na zarudlé základně. Po jejich rozrušení pinzetou byly mikroskopicky zjištěny v jejich materiálu velmi četné trichomonády. Jindy byly zjištěny silné vrstvy pablán a nekróz.

O š e ř e n í po odstranění uzlíků nebo pablán s nekrózami provedeno nanesením 0,1 % roztoku KMnO_4 pomocí štětečku anebo postříkem z pipetky, což opakováno nejméně pětkrát po sobě; vždy potom byl lehkým stisknutím hltanu roztok zadržen v místě změn po dobu 8 až 20 vteřin, což zaručovalo potřebný účinek roztoku na parazity i onemocnělou sliznici. Stejný postup proveden druhý, třetí a čtvrtý den. Uzlíky se vytrátily, zarudlost zanikla a 5. až 6. den bylo holoubě úplně zotaveno. Pokud šlo o párek mláďat, z nichž druhé bylo klinicky beze změn, byla mu do hltanu nakapána stejná tekutina (jiným kapátkem); v žádném případě nedocházelo u nich k onemocnění.

2. V chovu 46 holubů (majitel O. V. ve Šl.) se od roku 1957 vyskytovala trichomoníáza u mláďat (zjištěny i případy onemocnění pupku) i u vylétků. Ošetření změn na sliznici hltanu a patra vedlo u vylétků k rychlému zániku onemocnění. Také prevence s roztokem KMnO_4 v pitné vodě byla úspěšná, neboť nákaza se již neobjevovala. Když však po pětíměsíčním klidu majitel již neužíval KMnO_4 do nápoje, došlo opět ke změnám v krajině faryngální. Po zavedení systematického podávání roztoku permanganátu do hltanu a do vody zaniklo onemocnění na dlouhou dobu. Opět se vyskytlo sporadicky v dalších dvou letech. Dospěli jsme k poznatku, že v době letních paren anebo v době výskytu trichomoníázy se osvědčuje podávat roztok dvakrát denně (ráno, odpoledne). V posledním roce bylo ošetření holoubat úspěšné v 10 případech, k uhynutí došlo u jednoho holoubě s pokročilými změnami.

3. Chov německých výstavních v K. v počtu 42 holubů, rovněž zamořený trichomoníázou; roztokem permanganátu bylo ošetřeno pět mláďat jednorázově v ústavě, načež si je majitelé ošetřovali podle pokynů po dobu celého týdne. Z onemocnělých pěti mláďat se všechna zachránila, u dalších se nemoc po aplikaci permanganátu do vody nevyskytla.

Za poslední tři léta jsme ošetřili asi 110 mláďat, z nichž se vyléčilo 96 % případů. U ostatních byly pokročilé změny, které zasahovaly až na kost zobáku nebo do hloubky tkání, a došlo k celkovému onemocnění.

V ý s l e d k y a d i s k u s e

V našich pokusech se nám jevil účinným devitalizující účinek roztoků 0,1 % a 0,05 % KMnO_4 , zředěný materiálem zpravidla na polovinu, na živé trichomonády mimo tělo živého holuba, i na živých holubech.

Při sledování zamoření je účelné stanovit diagnózu mikroskopickým vyšetřením na základě výtěrů z volete. Po dobu léčení a také případné reinfekce nesmí holubi pít jinou vodu než s obsahem KMnO_4 .

Jako nejlepší aplikaci lze doporučit podávat podezřelým holubům 0,05% roztok KMnO_4 ve vodě, zvláště na jaře před započatím chovné sezóny — snad již počátkem února, a případně opakovat před každou líhni holoubat. Je nutno uvážit, že jde zpravidla o holuby klinicky sice zdravé, avšak nositele živých trichomonád. Tam, kde jsou již změny na vnitřních orgánech, bude účinek permanganátu často asi stejně problematický jako i u jiných chemických prostředků. Z dalších preparátů doporučuje S o p i k o v (1953 — 26) podávat po dva až tři dny po sobě denně roztok síranu měďnatého v koncentraci 1 : 2000 třikrát denně místo pitné vody. Také sublimátem (0,05 %) dosáhli někteří značně sníženého promoření trichomoniázou (např. F l o r e n t).

Podstatným pokrokem je léčba Trypaflavinem, kterou vyzkoušel A. B o s s (1941 — 2) ve formě kapek na nemocnou sliznici (roztok 1 : 100), čímž utlumil příznaky onemocnění; předpokládá, že recidiva není možná bez nové invaze parazitů, jak ukazují individuální chovy v jednotlivých holubnících (např. pod střechou) proti hromadnému výskytu v komorovém holubníku.

V roce 1953 byly uveřejněny pokusy R. S t a b l e r a a R. M a l l e n t i n a, kteří u moderních léčiv zjistili nejbezpečnější účinek u léku ANT (—2 amino-nitrathiazol), zvaného „Enheptin“. Podává se v želatinových kapslích anebo v rozpustné formě *Enheptin solubile*, s nímž F r i t s c h e (1956 — 7) v NSR měl plně uspokojivé výsledky. B a m b e r g e r (1948 — 1) pokládá za dobré profylaktikum 0,8% kyseliny solné, která se po tři týdny podává místo pitné vody. V USA má postřelek Histosep - S složení stejné jako Enheptin.

Pokud jde o lokalizaci trichomonád, pokládá F r i t s c h e (1956 — 7) za hlavní středisko jejich pobytu — v době bez klinického onemocnění — vole, nikoli hltan. B o s s (2) však pokládá za hlavní výskyt sliznici hltano-hrtanovou. F a l a d a (6) zjistil, že bičíkovci se mohou vyskytovat na obou uvedených místech. Již dříve se podařilo H a r n a c h o v i (11) léčit s úspěchem trichomoniázu pomocí roztoků permanganátu draselného. M a n n i n g e r — M ó c s y (1954 — 21) pokládá účinnost doporučeného hexametylen-tetraminu za nejistou. Doporučuje odstraňovat pablány a vyplachovat sliznici borovou vodou nebo heřmánkovým roztokem. J u h r e a K o c k e l (1952 — 17) doporučují různé dezinfekční prostředky, jež lze nanášet ptačím pérem. H o r v á t h (1947 — 14) léčí onemocnění sliznice 2% lapisového roztoku a 2% kyseliny borité. L e b d u š k a (1955 — 19) uvádí KMnO_4 jako velmi účinný prostředek, působící i na viry, oslabovaný však bílkovinami. Do pitné vody doporučuje 0,02% roztoku.

Poněvadž klinické příznaky trichomoniázy jsou skoro shodné s diftérií, není snadné obě etiologie rozlišit bez mikroskopické prohlídky a případné virologického vyšetření.

Proto jsme se snažili nalézt prostředek asi stejně účinný na oba tyto původce infekcí a takovým se nám jeví roztoky KMnO_4 v koncentracích 0,1% až 0,05%. Tak se nám ukázalo, že dva díly roztoku 0,1% smíšené s jedním dílem suspenze difterického viru, usmrtí virus již do pěti minut; účinek předpokládá určitý nadbytek roztoku, aby tento nebyl bílkovitým prostředím oslaben v účinnosti. Naproti tomu vyšší obsah viru (2 : 1) bílkovinou ve větší dávce oslabí KMnO_4 tak, že se jeho virocidní účinek stává nespolehlivým.

V našich pokusech *in vivo* stejně jako *in vitro* se ukázal roztok KMnO_4 v koncentracích od 0,1% do 0,05% spolehlivě účinným v prevenci infekce bičenkové i difterie. Může dokonce vyléčit onemocnění viditelných sliznic, pokud nejsou

afekce komplikovány těžkými jaterními změnami, je-li aplikován po čtyři až šest dní na místní změny. Stejně se osvědčuje v prevenci bičenkové nákazy, přičemž stejně dobrý účinek virocidní se nám ukázal vůči původci diftériie a holubích neštovic.

Souhrn

1. Trichomoníazi holubů nutno pokládat za daleko rozšířenější nákazu našich chovů holubů než diftérii a neštovice. V době klidu, v zimním období, jsme prokázali vyšetřením pěti chovů se 148 holuby zamoření trichomonádami ve čtyřech chovech u 28 holubů, tj. v 18,9 %. V období teplem a v chovné sezóně bývá zamoření velmi rozsáhlé, zvláště v chovech s komorovým holubníkem.

2. Zkouškou účinnosti roztoků KMnO_4 v koncentraci 0,05 % až 0,1 % jsme zjistili, že usmrcují *Trichomonas columbae* v několika vteřinách. Pitím roztoků došlo k zániku parazitů ve voleti ve třech, v ojedinělém případě v šesti dnech. Denní podávání KMnO_4 v pitné vodě neznamená podstatné zatížení chovatelské praxe.

3. Byl-li 0,1 % roztok KMnO_4 smíchan s virem diftériie a neštovic v určitém nadbytku, nejméně 2 : 1, byl virus (v alantoidní tekutině) usmrcen do pěti minut. Naopak ve směsi 0,1 % roztoku s virem jen v poměru 1 : 2 se devitalizační účinek KMnO_4 neuplatnil, ježto došlo k jeho vazbě a neutralizaci bílkovitým prostředím.

4. Terapeuticky se zdařilo u holoubat (ošetřeno 110 kusů) potlačit v 96 % případů slizniční formu trichomoníazy v krajině hltano-hrtanové po pětidenním ošetřování lokálních změn roztokem KMnO_4 , podávaném současně také v nápoji.

5. Na základě delších pozorování a pokusů *in vitro* a *in vivo* pokládáme roztok KMnO_4 za vyhovující, neškodný a účinný prostředek v prevenci a při lokálním ošetření změn vyvolaných holubími trichomonádami. Tento prostředek má rychlý destrukční účinek i na virus diftériie a neštovic holubích, je-li použit v nutném nadbytku.

Literatura

1. Bamberger J.: Magiar állatorvosok lapja, 1948, 82. — 2. Boss A.: Die Trichomoniasis der Tauben und ihre Bekämpfung, Amsterdam 1941. — 3. Blount W. P.: Diseases of Poultry, Londýn 1947. — 4. Dyk, Klimeš, Zavadil: Cizopasníci a invazní choroby drůbeže. — 5. Ferianc O.: Chov holubov, Bratislava 1956. — 6. Falada A.: Diplom. práce, Brno, 1959. — 7. Fritsche: Zentralblatt für Veterinärmedizin sv. II, seš. 4-1956. — 8. Harnach R.: Boj proti diftérii drůbeže a holubů, 1932. — 9. Harnach: České holubářství, Praha, 1940. — 10. Harnach R.: Nakažlivé nemoci hospodářských zvířat, Praha 1960. — 11. Harnach R.: Veterinární mikrobiologie, část speciální, Praha 1957 (skripta). — 12. Harnach R.: Zdravotní zásady na výstavách drůbeže. Publikace „Plemena drůbeže“. Vydal čs. svaz chovatelů drob. hospod. zvířectva, Praha, 1959. — 13. Hutýra F., Marek J.: Spezielle Pathologie und Therapie d. Haustiere, I. díl. Jena 1945. — 14. Horváth J.: Póstagalambtényesztés, Budapest, 1947. — 15. Jírovec O.: Protozoologie, Praha, 1954. — 16. Jírovec O.: Parasitologie pro zvěrolékaře, Praha, 1948. — 17. Juhre-Kockel: Rasse und Sporttaubenzucht, Berlin, 1952. — 18. Kniha o drůbeži (kol. autorů), Praha, 1955. — 19. Lebduška J.: Veterinární farmakologie, receptura a toxikologie léčiv, I. díl, Praha, 1957. — 20. Lesbouyries G.: La pathologie des oiseaux, Paris, 1941. — 21. Manninger R. - Mócsy J.: Liečenie virutvorných chorób, SAV, Bratislava 1954. — 22. Mesároš E. - Frýba J.: Chovatel, roč. 1956.

- 23. Nečasová H.: Diagnosa neštovic a differie drůbeže, dipl. práce, Brno, 1956.
 — 24. Nižnánský F., Koppel J.: Trichomonáza holubov v ČSR. Čas. čes. veterinářů, r. 1948, str. 728. — 25. Schacht W., Juhre F.: Das Geflügelbuch, Berlin, 1954. — 26. Sopikov P. N.: Bolezni ptic, Leningrad, 1953. — 27. Svinov P. N.: Ušakov A. A., Skrjabin K. J.: Bolezni ptic, Moskva, 1951. — 28. Szuman J.: Golebie, Warszawa, 1952. — 29. Šobra K.: Choroby drůbeže, Praha, 1955 (skripta). — 30. Willomitzer J.: Endoparasité u holubů, Dis. práce 1953, Brno. — 31. Zavadil R.: Doplňky k poznávání a tlumení trichomoniasy u holubů, Sborník VŠZL, VF, Brno, 1954. — 32. Zavadil R.: Trichomoniasy a její různé formy. Pošt. holubářství č. 2, r. 1957.

Исследование деструктивного действия раствора $KMnO_4$ на *Trichomonas columbae* и на вирус дифтерита и оспы голубей

1. Трихомонад голубей необходимо считать более распространенной инфекцией при разведении голубей, чем дифтерит и оспа. В течение зимнего периода покоя нами было произведено обследование 148 голубей в 5 хозяйствах и была обнаружена инфекция трихомонадами у 28 голубей в 4 хозяйствах, т. е. у 18,9 %. В течение теплого периода и во время сезона разведения голубей инфекция бывает весьма распространенной, в особенности в хозяйствах с камерными голубятнями.

2. В результате испытания эффективности 0,05—0,1 % раствора $KMnO_4$ было установлено, что эти растворы умерщвляют *Trichomonas columbae* в течение нескольких секунд. В том случае, когда голубям дают раствор в форме питья, то паразиты погибают в зобу в течение трех, а в исключительных случаях в течение шести дней. Ежедневное подавание раствора $KMnO_4$ в питьевой воде не вызывает значительных затруднений в практике разведения голубей.

3. В том случае, если 0,1 % раствор $KMnO_4$ был смешан с вирусом дифтерита и оспы с определенным излишком в соотношении, а именно не менее 2 : 1, то вирус в алантоисной жидкости умерщвляется не позже 5 минут. Наоборот, в смеси 0,1 % раствора с вирусом только в соотношении 1 : 2 девитализационное действие $KMnO_4$ не проявлялось, так как происходило его связывание и нейтрализация белковой средой.

4. У голубят удалось терапевтически (была оказана помощь всего 110 особям) в 96 % случаев подавить слизистую форму трихомонады в глоточно-гортанной полости после 5-дневной обработки локальных изменений раствором $KMnO_4$, который подавался вместе с питьевой водой.

5. На основании произведенных дальнейших наблюдений и опытов *in vitro* и *in vivo* раствор $KMnO_4$ был признан удовлетворительным, безвредным и эффективным средством для профилактики и для локальной обработки изменений, вызванных голубиными трихомонадами. Это средство имеет быстрое уничтожающее действие также на вирус дифтерита и оспы голубей, в том случае, если оно применяется в соответственно увеличенной дозе.

Erhebungen über die destruktive Wirkung einer Lösung von $KMnO_4$ auf *Trichomonas columbae* und das Virus der Geflügeldiphtherie und Geflügelpocke

1. Die Trichomoniasis der Tauben ist in unseren Taubenzuchten weit mehr verbreitet als die Geflügeldiphtherie und Geflügelpocke. In der Winterszeit, in der Zeit der Ruhe, konnten wir bei einer Untersuchung von 5 Zuchten mit insgesamt 148 Tauben in 4 Zuchten bei 28 Tauben eine Verseuchung mit Trichomonaden feststellen (d. i. bei 18,9 %). In der warmen Zuchtperiode ist die Verseuchung in der Regel stark verbreitet, insbesondere in Zuchten mit Kammer-Taubenschlägen.

2. Bei der Wirksamkeitsprobe von Lösungen von KMnO_4 in Konzentrationen von 0,05 bis 0,1 % stellten wir fest, daß diese *Trichomonas columbae* binnen einigen Sekunden abtöten. Bei Aufnahme dieser Lösungen mit dem Trinkwasser gingen die Parasiten im Kropfe in 3, in einem einzigen Falle erst in 6 Tagen zugrunde. Die tägliche Zugabe von KMnO_4 zum Trinkwasser bildet keine Belastung in der züchterischen Praxis.

3. Wenn man eine 0,1 % Lösung von KMnO_4 mit dem Virus der Diphtherie und Pocke mischt, u. zw. im Verhältnis 2 : 1, wird das Virus in der Allantoisflüssigkeit binnen 5 Minuten abgetötet. Ist das Mischungsverhältnis umgekehrt, also 1 : 2, trat der devitalisierende Effekt von KMnO_4 nicht in Erscheinung, da das eiweißhaltige Medium seine Bindung und Neutralisation bewirkte.

4. Bei therapeutischer Anwendung gelang es bei 110 jungen Tauben in 96 % der Fälle die laryngo-pharyngitische Schleimhautform der Trichomoniasis innerhalb von 5 Tagen zu unterdrücken, u. zw. durch lokale Behandlung der Veränderungen und gleichzeitige Applikation im Trinkwasser.

5. Auf Grund längerer Beobachtung und von Versuchen in vitro und in vivo halten wir die Lösung von KMnO_4 für ein geeignetes, unschädliches und wirksames Mittel zur Vorbeuge und lokalen Behandlung der durch Taubentrichomonaden hervorgerufenen Veränderungen. Dieses Mittel hat auch eine rasch wirksame abtötende Wirkung auf das Virus der Geflügeldiphtherie und Geflügelpocke, wenn es in entsprechendem Überschuß angewandt wird.

Príspevok k morfolologickej diferenciácii granulónov pečene oviec vo vzťahu k brucelóze

Морфологическая дифференция грануломов печени овец
в отношении к бруцеллезу

Ein Beitrag zur morphologischen Differenzierung von Lebergranulomen der Schafe
in Beziehung zur Brucellose

Józef BOGDAN, Karel JELÍNEK

*Katedra pat. morfológie a fyziológie VF v Košiciach, vedúci: Doc. Dr. K. Boďa C. Sc.
a katedra morfológie, fyziológie, inseminácie a základů veter. prevence AF VŠZ v Brně*

Došlo dne 4. XI. 1960

Úvod

V pečeni oviec vyskytujú sa veľmi často uzlíčkové afekcie, ktoré sa najčastejšie vyskytujú pri rôznych parazitózach. Bývajú tak pri prehliadke mäsa, ako aj pri laboratórnej diagnostike považované za parazitárne uzlíčky. Makroskopický vzhľad uzlíčkov býva veľmi podobný, a preto nie je možné ich touto cestou rozlíšiť. Za účelom diferenciačným, s cieľom použiť uvedené výsledky tak pri pitve, ako aj pri laboratórnej diagnostike, bolo prevedené histologické štúdium uzlíčkových afekcií pečene brucelózného pôvodu vo vzťahu k ložiskovým afekciám inej etiologic.

Prehľad literatúry

Výskyt uzlíčkových afekcií v pečeni je podľa literárnych záznamov častý. Ich genéza, ako uvádza Jelínek (1), môže byť infekčného, toxického, parazitárneho aj nádorového pôvodu (skôr teoretického než praktického významu). Boli zaznamenané pri toxoplazmóze — Jelínek (2), Smith a Jones (3); listerióze; Gray (4), Gill (5) a iní. U toxoplazmózy ide o zápalistý ložiskový proces, v ktorého uzlíku sa nachádzajú toxoplasmy fagocytované alebo aj voľne ležiace v zápalisto novotvorenej tkáni.

Výskyt uzlíčkových afekcií v pečeni uvádza Nieberle a Cohrs (8) pri aktinomykóze hovädzieho dobytku. Podľa Nieberle—Cohrsa aj nekrotické ložiská vo svojich následných organizačných fázach pri opúšťovaní môžu sa javiť ako uzlík.

Uzlíčkové afekcie zaznamenal v pečeni Jelínek (2) u odporazených ovci na *lobus sinister faciei diafragmaticae* a na *facies visceralis lobi sinistri* ako

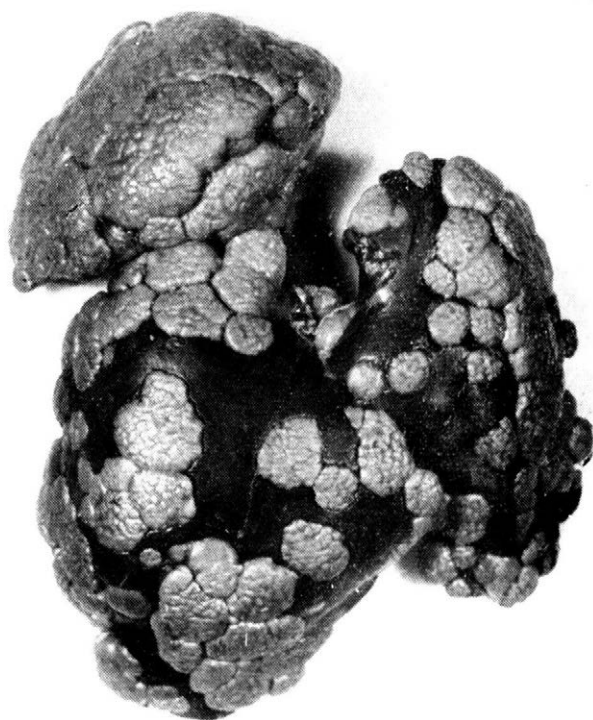
pické reakcie lymfatickej tkane v pečeni — *lymfadenopathia nodularis multiplex hepatitis*. Subserózne ložiskové atypické reakcie lymfatického tkaniva v počiatočnom štádiu pozostávajú podľa Jelínka a Jelínkovej z husto zoriadených lymfoidných elementov bunkových, ktoré svojou štruktúrou, veľkosťou, tvarom atď. pripomínajú lymfocyty. Lymfoidné elementy bunkové ležia tak husto v retikulárnom stromate, že retikulárne elementy bunkové možno zistiť len pri bedlivom hľadaní. Nález epitheloídných elementov bunkových (ako sa tieto nachádzajú v počiatočnom zápalistom infiltráte pri infekčnej epididymitíde) nebol pri lymfadenopathii zaznamenaný. Tieto atypické ložiskové reakcie lymfatického tkaniva sa spočiatku skladajú z lymfoidného — neskoršie z lymfadenoidného tkaniva so štruktúrou pripomínajúcou miazgové uzliny a neboli dosiaľ v svetovej literatúre u ovci spracované. Uzličkovité afekcie aj keď prejavujú dynamičnosť vo vývoji, nevykazujú ani vo svojich ďalších vývojových fázach zápalový charakter.

Výskyt uzličkových afekcií v pečeni pri brucelóze zaznamenali Čerňák (10), Juskové (12) a iní. V pečeni nachádzame u ovci tieto afekcie pri proťahovanej forme brucelózného procesu. Z histogenézie procesu v pečeni pri infekčnej epididymitíde je zjavné, že len v počiatočnej fázi by sa mohli zameniť za ložiskové reakcie lymfatického tkaniva. U infekčnej epididymitídy však popisuje Bogdan v počiatočných lymfoidných a epitheloídných infiltrátoch ich zápalový charakter a tieto sa v ďalšom vývoji zápalistého procesu formujú v granulómy. Granulómy majú (podľa Bogdana) niekoľko morfológických typov:

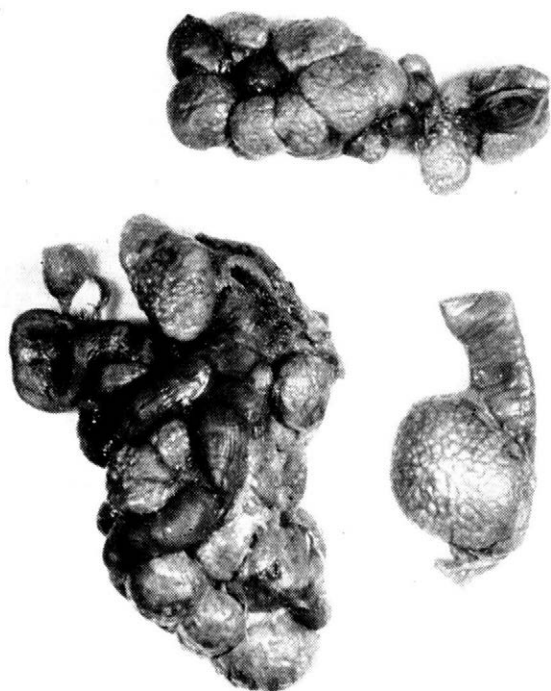
1. granulóm lymfoidný,
2. granulóm epitheloídnno-lymfoidný,
3. granulóm lymfoidno-epitheloídný,
4. granulóm obrovsko-bunkový,
5. granulóm, obsahujúci nekrotické centrum.

Pri infekčnej epididymitíde je mikroskopická štruktúra nasledujúca: V centre uzlíkov prebieha nekrobiotický proces, ktorého výsledkom je nekróza. Okolo nej je granulačné tkanivo, bohaté na eozinofilné granulocyty, bunky epitheliálne a mnohoadrové obrovské elementy bunkové typu obrovských buniek Langhansových, Dorothy Reed a typu obrovských buniek, ktoré sú v reaktívnych procesoch okolo cudzích telies. Na periférii uzlíkov dochádza k demarkačnej zápalistej reakcii, ktorej výsledok je väzivová demarkácia uzlíku od okolného parenchýmu. Na podklade morfológickej štruktúry granulómu a hyperplazie lymfatického tkaniva pri infekčnej epididymitíde možno od tohoto procesu diferencovať ložiskové atypické reakcie lymfatického tkaniva, ktoré nemajú zápalistý charakter, a u ktorých ide o atypický rast preformovaného lymfatického tkaniva, ako zistili Jelínek a Jelínková.

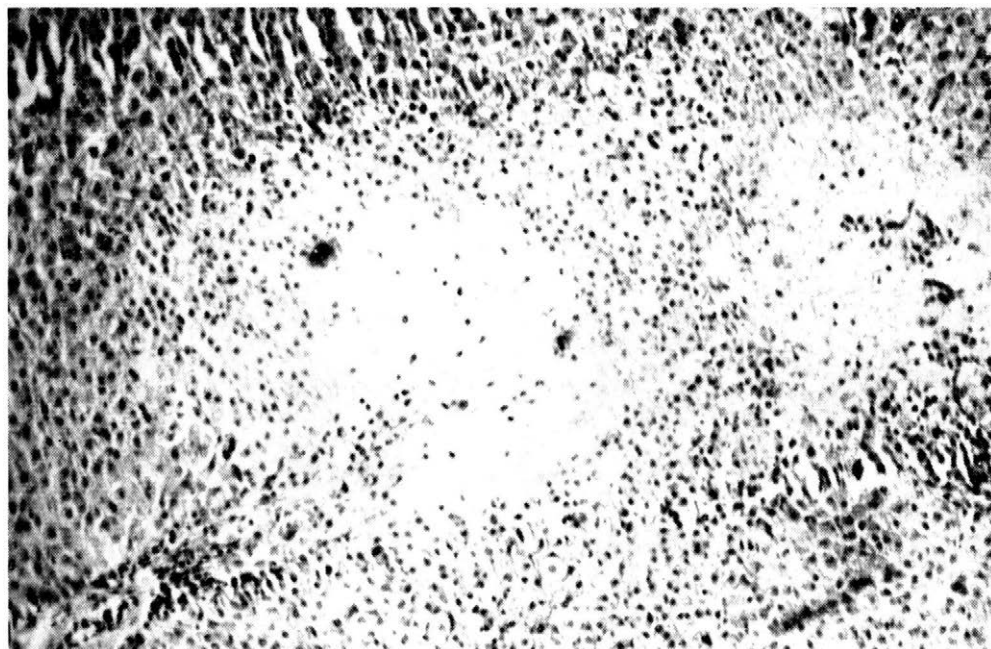
Ďalšie ložiskové uzličkové afekcie v pečeni boli popísané u ovci pri salmonelózach a najmä pri paratyfóze ovci. Paratyfóza je predovšetkým chorobou mladých zvierat. Pri nej boli u ovci popísané v pečeni (tak ako u iných zvierat) nešpecifické lymfómy a paratyfómy. Lymfómy sú zložené zo zhluku lymfocytov v interlobulárnom a portobiliárnom pojivovom tkanive a nachádzajú sa hlavne okolo žlučovodov a perivaskulárne. Paratyfómy sú často lokalizované subserózne. Makroskopická a zvlášť mikroskopická štruktúra paratyfómov bola obzvlášť spracovaná u rôznych zvierat týmito autormi: Joest (9), Bol (7), Nieberle a Cohrs (8), Roulet (13), Karsten, Beck, Mayer, Zingle, Pick, Dobberstein, Schürmann, Faber, Rossi, Jaffe, Gruber, Mestitz, Orlov, Nižnánsky. Uzličkové afekcie v pečeni pri salmonelóze sa vyskytujú tiež intralobulárne a subendotheliálne na centrálnej véne. Sú ostro ohraničené a stlačujú trámce pečenných buniek. V morfológickej štruktúre



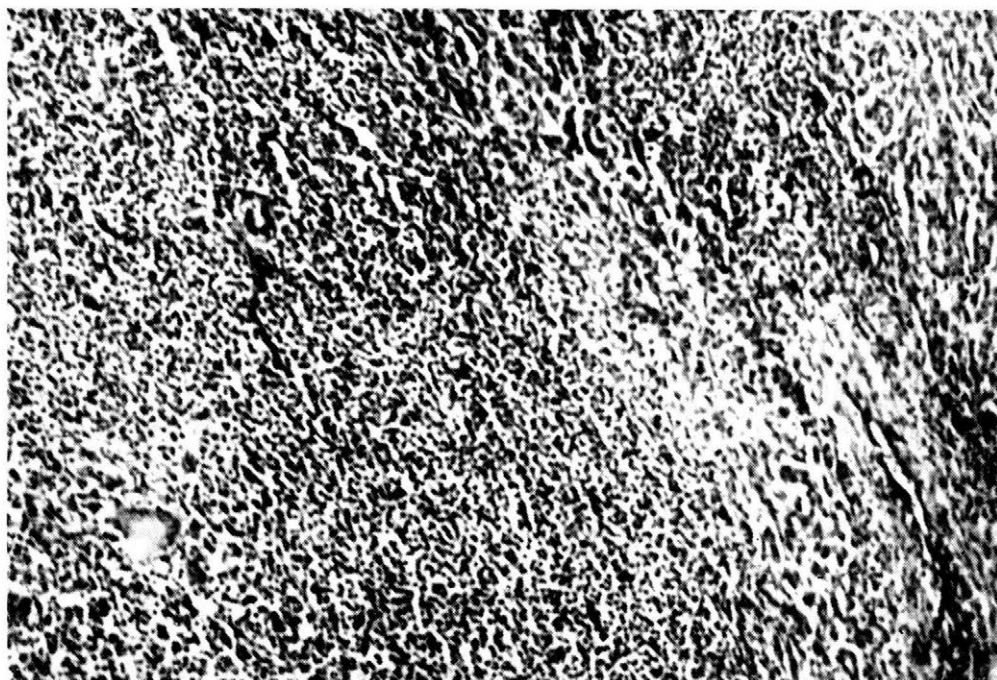
Obr. 1. Konfluujúce granulómy v pečeni kráľika s centrálnou nekrózou pripomínajúce konfluujúce tuberkle. V prebiehu zápalu v novotvorenom väzivu možno zistiť granulačné tkanivo s epitheloídnymi bunkovými elementami a s tvorbou obrovských elementov bunkových typu Langhansových buniek, buniek Dorothy Red a obrovských buniek cudzích telies



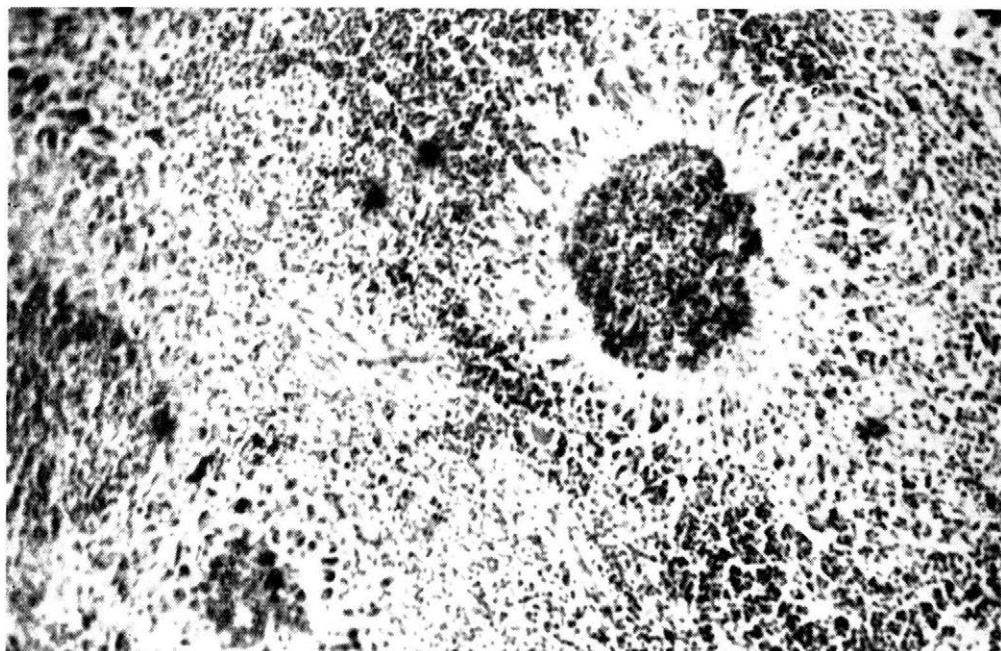
Obr. 2. Konfluujúce granulómy v klučkách črevných u kráľika s centrálnou nekrózou



Obr. 3. Intralobulárne nekrózy pečene. Morča L-1 114 58 infikované brucelozným kmeňom TM 38/56. Uhynuté 11 dní po experimentálnej infekcii



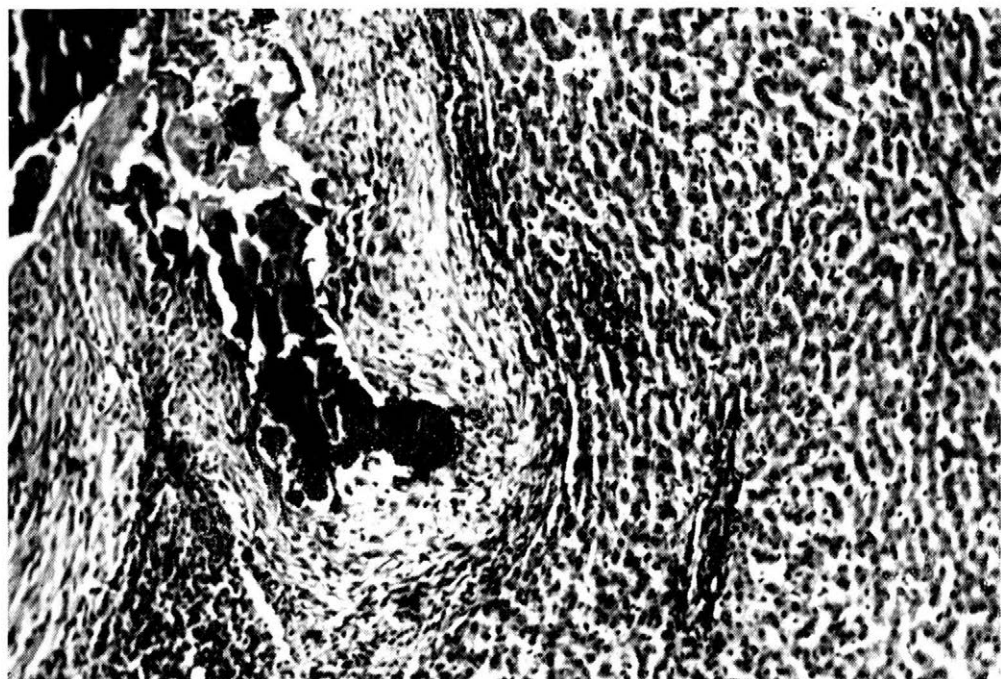
Obr. 4. Časť granulómu pečene s obrovskou bunkou. Baranček 041 L-1 421 58 infikovaný ip. brucelám podobnými zárodkami (kmeň 3000). Odporazený 90 dní po experimentálnej infekcii. Prítomnosť parazitov v organizme nezistená. — Farbenie: HE.
Zväčšenie: 10 × 12



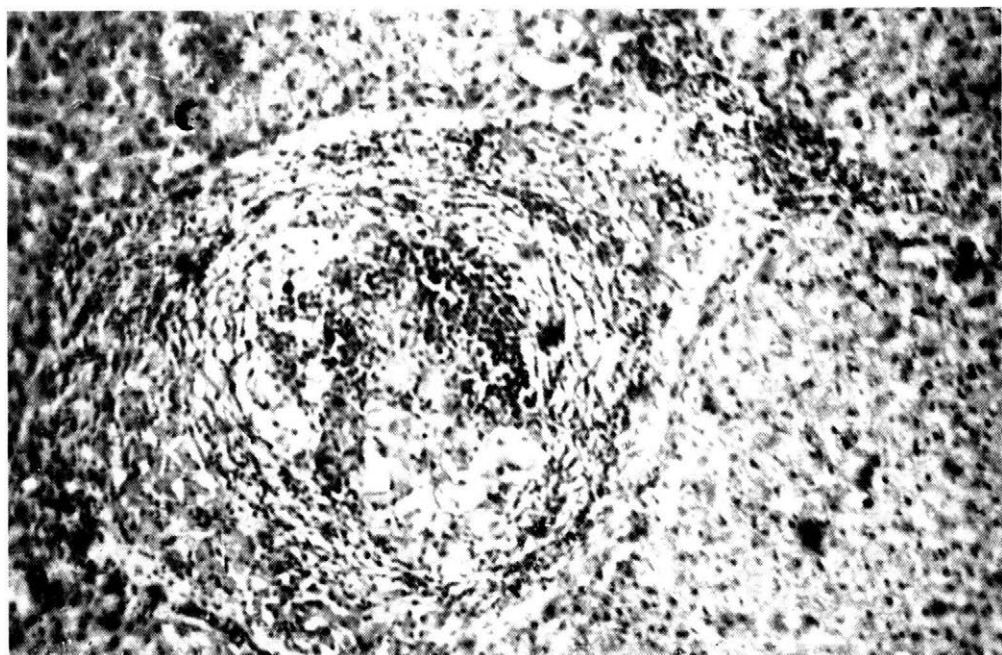
Obr. 5. Časť periportálnych brucelózných granulómov. Baranček 029 L-1/423/58, PZ-1267. Odporazený po 90 dňoch. — Farbenie: HE. Zväčšenie: 10×12



Obr. 6. Konglomerát brucelózných granulómov pečene s nekrotickým centrom. Králik L-1 224,58 experimentálne infikovaný ip. 0,6 ml emulzie stand. roztoku *B. suis*. Odporazený po 210 dňoch. — Farbenie: HE. Zväčšenie: 10×12



Obr. 7. Konglomerát fibrotizovaných granulómov pečene, v strede kalcifikovaných, Ovca L-2/177/58 so silnou cysticerkózou seróz. (*C. tenuicollis*.) Bakteriologický nález: negatívny. — Farbenie: HE. Zväčšenie: 10×12



Obr. 8. Granulóm pečene v štádiu fibrotizácie. Ovca. Bakteriologický a parazitologický nález: negatívny. — Farbenie: HE. Zväčšenie: 10×12

vynikajú lymfocyty, neutrofilné granulocyty, histiocyty, bunky epitheloídne, endotelálne a Kupferove. Hyperplazia retikulo-endotheliálnych lementov bunkových a mobilizácia histiocyto sú najčastejšie ložiskové. Prevalencia lymfocytov v elementoch bunkových dodáva uzlíkom charakter lymfómov. V pečeni sú paratyfózne ložiska tiež lokalizované pod Glissonovým púzdrom ako miliárne špinavožlté ložiská, ktorých množstvo je premenlivé. Histogenetické štúdie dokazujú, že vyššie uvedené ložiskové afekcie majú nerovnakú štruktúru — časť uzlíkov subserózne lokalizovaných má charakter drobných koagulačných nekroz a iná časť uzlíkov vykazuje charakter granulómov.

Ďalšie ložiskové afekcie v pečeni u ovci mikrobiálneho pôvodu sa zisťujú pri listerióze. Z domácich autorov sa zaoberali popisom listeriózy Nižnánsky, Pouska, Harnach, Mráz, Jiran, Hubík, Černovský, Vařejka, Král, Lax a iní. Podľa literárnych údajov (Gray [4], Gill [5], Dedie, Seeliger, Chamlimbekov, Stolnikov, Palaske) sa nachádzajú v pečeni pri listerióze ovci subserózne, ale v hĺbke parenchýme tiež miliárne uzlíčky veľkosti špendlíkovej hlavičky a väčšie, farby sivobielej a niekedy (kde sú vyvinuté nekrozy) žltej. Histologicky ide v centre uzlíkov o koagulačné nekrozy s detritom tkanivovým. V okolí nekrotického tkaniva sú v granulačnom tkanive mononukleáry. Vo zväčšujúcom sa ložisku dochádza k infiltrácii neutrofilnými leukocytami. V granulómoch možno listérie nájsť priamo len celkom zriedka na okrajoch uzlíkov.

Uzlíčkovité afekcie v pečeni pseudotuberkulózného pôvodu sú (Joest [9], Čerňák [10], Terentjev a Markov [11], Smith a Jones [3]) malé čerstvé, transparentné ložiská bielej farby. Mikroskopicky sa jedná spoiatku o histiocyty, ku ktorým sa pridružujú neutrofilné granulocyty. Tým sa mení charakter ložiska, ktoré získava pastovitú konzistenciu a tvorí sa z neho absces so zelenavosivým alebo žltosivým hnisavým obsahom. V neskorších fázach vývoja dochádza k inšpirácii hnisu, v ktorom sa zisťujú kalcifikované zrníčka, takže obsah abscesu sa stáva granulovaným, pastovitým až piesčitým. K úplnej kalcifikácii však nedochádza. Nápadná je taktiež štruktúra pseudotuberkulózného uzlíčka, ktorá je typická svojím koncentrickým, vrstvitým usporiadaním (ako lístky cibule). Pri tuberkulóze (Jelínek [6], Bol [7], Cohrs [8] a iní) vznikajú v pečeni ovci malé aj väčšie sýrovité uzlíky (tiež konglomeráty uzlíkov) typické svojou infiltráciou lymfocytami, prítomnosťou epitheloídnych buniek (monocyty, fibrocyty, histiocyty) a viacjadrových buniek (bunky obrovské). Neskôr v uzlíkoch vzniká koagulačná nekroza a uzlík môže kalcifikovať.

Ložiskové afekcie u Bradsotu podobne ako pri nekrobacilóze sú nekrotické ložiská špinavožltej farby.

U vírusových chorôb u ovci, u ktorých boli nájdené ložiskové zmeny v pečeni, je to choroba, ktorú v roku 1915 popísal Mitchell ako infekčnú endemickú chorobu u ovci a ktorá bola od roku 1893 známa v južnej Afrike ako „Jaagziekte“. Ložiskové afekcie v pečeni u tejto choroby u ovci popísali Bonn, Mitchell, De Kock, Cowdry, Niels, Dundal, Taylor a iní. Dochádza tu k afekciám, v ktorých okrem bujenia fibroblastov nachádzame nahromadenie makrofágov a lymfocytov, inekedy aj ložiskové bujenie výstielkových elementov bunkových s papilomatóznym charakterom, pripomínajúcim atypické bujenie.

Z parazitárnych afekcií Terentjev a Markov (11) uvádzajú uzlíkové afekcie pri linguatulóze, echinokokóze, cysticerkóze, fasciolóze a diktyokaulóze. Lukáčik (14) zaznamenal uzlíkové afekcie v pečeni u odporazených ovci pri tuberkulóze, pseudotuberkulóze, v dvoch prípadoch pri hnisavých procesoch, ale najmä eozinofilné granulómy pri parazitárnych ochoreniach — fasciolóze,

cysticerkóze a diktyokaulóze. Kennedy (15) rozlišuje 4 vývojové štádiá eozinofilných granulómov, spôsobených larválnou migráciou *Ascaris vitulorum* hovädzieho dobytká. Makroskopicky zisťoval uzlíky veľkosti 0,1–2 cm žltej farby s nádychom do zelena. Čerstvé predstavujú extenzívne eozinofilné infiltrácie na periférii lobulov a v okolí *v. portae*. Staršie uzlíky predstavujú v strede nekrózu pečenečných buniek, obklopenú eozinofilnými granulocytmi, plazmatickými bunkami a makrofágami. Na periférii možno pozorovať úkazy fibroplazie. Staré uzlíky majú v strede eozinofilný detritus, obklopený palisádovitými makrofágami a obalom fibroblastov a obrovských buniek. Najstarší typ uzlíku obsahuje v strede eozinofily, obklopené zónou makrofágov s fibróznym obalom.

Nakoľko je potrebná histologická diferenciácia rozdielnych uzlíkovitých a uzlovitých afekcií v pečeni preukazujú nakoniec veľmi názorne pripojené obrazy (č. 1 a 2) patologických afekcií v pečeni a zažívacom aparáte pri experimentálnej brucelóze u pokusného kráľika.

S postupujúcou chronicitou procesu vytvárajú sa z uzlíkov (zložených pôvodne prevážne z lymfocytov a epitheloidných bunkových elementov) granulómy s centrálnou koagulačnou nekrózou, obklopené väzivovými obalmi (ktoré vynikajú v mikroskopických preparátoch elektívne farbených podľa Van Giesona), ktoré sú výslednicou demarkačného zápalu a ktorými sú vlastné uzlovité afekcie oddelené od nezachváteného väziva.

Pokusný materiál a metodika

Štúdium sa zakladá na morfológickom vyšetrení 174 brucelózných oviec vo veku od 8 týždňov do 2 rokov. Z nich 11 spontánne ochorelo na brucelózu a 163 bolo experimentálne infikovaných najrozličnejšími brucelóznymi kmeňmi a spôsobmi. Experimentálna infekcia bola popísaná v predošlých prácach Gdovina (27,30) a Bogdana (28), použité brucelózne kmene popísané Nižnan-ským (29).

K morfológickému štúdiu boli použité len tie brucelózne ovce, u ktorých boli zistené uzlíkové útvary v pečeni. Ku zrovnávajúcemu morfológickému vyšetreniu boli použité 142 spontánne ochorelé ovce, u ktorých bakteriologickým vyšetrením boli zistené brucelám podobné zárodky, *Cor. pyogenes*, *Pasteurela*, streptokoky, stafylokoky, *E. coli* a negatívny bakteriologický nález a histologicky zistená *tbc* pečene. Z uvedeného počtu oviec boli vyšetrené len ovce, u ktorých boli zistené uzlíkové útvary v pečeni.

Ku kontrole boli použité uzlíkové útvary v pečeni 50 oviec, odporazených na verejnom bitúnku v Košiciach, ako aj laboratórne zvieratá experimentálne infikované brucelóznymi kmeňmi (experimentálna infekcia bola popísaná v práci Bogdana (28). Bolo použité 24 kráľiky, 63 morčatá, 21 bielych krys a 20 bielych myší. Bakteriologické vyšetrenie previedol ŠVVU v Bratislave a pobočka ŠVVU v Košiciach.

Pri celkovej pitve bol braný zreteľ aj na súčasný výskyt uzlíkových afekcií v iných orgánoch, ako aj na zistené, prípadne vylúčenie všetkých etiologických činiteľov, u ktorých sa môžu vyskytovať uzlíkové afekcie v pečeni.

V prípade súčasného pridruženía sa rôznych parazitárnych ochorení bola prevedená histologická analýza všetkých nájdených granulómov pečene, v rámci ktorej bolo prevedené tiež bakteriologické a parazitologické vyšetrenie granulómov.

Excízie so zachytenými granulómami boli fixované v 10 % formole, Zenkerovej tekutine a v alkohole. Bolo prevedené bežné farbenie hematoxylin — eozinom a podľa potreby použité doplnujúce metódy bežnými aj špeciálnymi histologickými metodikami.

Výsledky

Granulomatózne útvary v pečeni boli zistené pri najrozličnejších ochoreniach bakteriálneho a parazitárneho pôvodu (tab. I). Veľmi často sa vyskytovali pri brucelóze tak oviec ako aj laboratórných zvierat (tab. II).

Vo vývoji brucelózneho uzlíku po jeho fibrotizácii boli zistené najrozličnejšie a následné vývojové stupne indiferentných mezenchymálnych buniek.

Štruktúra brucelózných granulómov pečene je rôznorodá, v mnohých prípadoch makroskopicky podobná a čiastočne histologicky zhodná s granulómami inej etiológie — paratyfus (brucelám podobné zárodky), tbc, eozinofilné parazitárne granulómy.

Z rozdielu počtu brucelózných oviec so zistenými parazitmi a počtu zistených eozinofilných granulómov sa došlo k uzávieru, že eozinofilné granulómy sa vyskytujú aj pri brucelóze (tab. II) i keď parazity neboli zistené.

Odporazené ovce mali granulómy v pečeni pri fasciolóze a dikrocelióze, verminózne bronchopneumónii, tuberkulóze (8 %), abscedujúcej hepatitíde (18 %), echinokokóze (2 %), nekrobacilóze (4 %) a v prípadoch neznámej etiológie (8 %).

V 80 % prípadov boli zistené eozinofilné granulómy, ktoré sa vyskytovali pri fasciolóze a dikrocelióze, červivosti pľúc, cysticercóze seróz a echinokokóze.

Diskusia

Z vyšetreného materiálu a literárneho prehľadu o morfológii granulómov bakteriálnej povahy vyplýva, že nie je možné na základe mikroskopickej štruktúry izolovane od ostatných pomocných šetrení tvrdiť, že ide o ten ktorý granulóm, nakoľko vývojové štádiá rôznych bakteriálnych granulómov sú na určitom stupni často podobnej, ak nie zhodnej stavby. Na metamorfózu mezenchymálnych buniek ako základnej súčasti granulómu poukazuje celý rad autorov — Janovskij (17), Köhler (18), Roulet (13) a iní.

Parazitárne granulómy majú taktiež veľmi zhodnú stavbu a po odumretí parazita je bližšia jeho identifikácia často nemožná. Z uvedeného poznatku vyplýva teda nutnosť všímať si aj iné pitevné nálezy v ostatných orgánoch a tkanivách ako aj pomocné a rozhodujúce kritériá, nutné k diagnóze toho ktorého ochorenia, u ktorého sa môžu vyskytnúť granulómy.

Bližšej identifikácii toho ktorého uzlíčku značne napomáha nájdenie niektorých pomocných kritérií — cibulovitá vrstevnatosť napr. poukazuje na pseudotuberkulózu Nieberle (8), Joest (9), Salyi (19), Jelínek (1) a iní. Nález chodbičiek v pečeni a súčasný výskyt uzlíčkov budí podozrenie na fasciolózu, cysticercózu a linquatulózu. V takých prípadoch je nutné pátrať po prítomnosti príslušných parazitov.

Cennou pomôckou je aj prehliadka predilekčných miest, najmä ľavý lalok pečene, ktorý je najčastejším miestom výskytu omfalogénnych abscesov a fasciolózných uzlíčkov. Viscerálna a bráničná plocha ľavého laloku pečene je, podľa Jelínka K. (2) najčastejším miestom lokalizácie nodulárnej lymfadenopatie oviec. Nezápalistý charakter zmien dokázateľný histologicky umožňuje diferencovať nodulárnu

I. Prehľadná tabuľka nájdených granulómov pečene odporazených oviec vo vzťahu k pitevnému nálezu

Bežné číslo	Fasciolóza pečene	Tbc pečene	Eozinofilný granulóm	Echinokokóza pečene	Abscesy v pečeni	Vermínózná bronchopneumónia	Tbc pľúc	Uzličky presne neznámej etiológie	Echinokokózne zmeny v pľúcach	Hnisavá bronchopneumónia	Cysticerkóza seróz	Nekrobacilóza pečene	Tbc čriev	Askarióza čriev
15/8			+			+								
2/58	+		+		+	+								
3/58	+		+			+								
4/58	+		+			+					+			
5/58			+			+								
6/58	+		+			+								
7/58	+		+		+	+								
8/58		+					+							
9/58		+	+			+	+							
10/58	+		+											
11/58	+		+								+			
12/58			+			+								+
13/58	+		+			+								
14/58	+		+			+								
15/58			+			+								
16/58	+		+			+								
17/58	+		+			+								
18/58	+		+			+								
19/58	+		+			+								
20/58			+		+	+								
21/58			+			+								
22/58	+		+			+								

23/58	+				+									
24/58	+		+							+				
25/58		+	+			+						+		
26/58	+		+			+								
27/58			+			+								
28/58	+				+									
29/58	+		+			+								
30/58			+	+		+			+					
31/58	+		+		+	+								
32/58	+		+			+								
33/58					+	+				+				
34/58						+		+						
35/58	+		+		+	+		+						
36/58			+			+								
37/58			+			+								
38/58	+		+			+								
39/58			+			+								
40/58			+			+								
41/58												+		
42/58	+				+	+				+				
43/58		+	+			+	+							
44/58			+		+	+				+				
45/58			+			+								
46/58	+							+						
47/58						+		+						
48/58			+			+								
49/58			+			+								
50/58			+			+						+		
Spolu:	25	4	40	1	9	41	3	4	1	3	3	2	1	1

lymfadenopatiu pečene od veľmi častých ložiskových subserózných reakcií parazitárnej etiológie.

Subintimálna lokalizácia granulómov budí podozrenie na brucelózu a paratyfózy. Histologický nález epiteloídno-obrovsko-bunečných granulómov v pečeni budí s najväčšou pravdepodobnosťou podozrenie na tuberkulózu, zatiaľ čo u pseudotuberkulózy sa obrovské bunky nevyskytujú a u brucelózy sú tieto zriedkavé a často viacerých typov.

Eozinofília uzlíčkov zväčša pripisovaná parazitárnym ochoreniam, zatiaľ čo v našich vyšetreniach bola zvlášť častá pri brucelóze, na čo poukazuje aj Roulet (13), Abrikosov (20), Juskovec (12), Brown, Forbus, Kerby (21), Bol (7), Rouxa-Bouvier (22), Tudoriu (23), Bendtsen (24), Harris (25), Löffler a Albertini (26).

Vedľa histologického kritéria javí sa potrebné všímať si celkové zmeny v iných orgánoch ako aj indikovať kultivačný nález, ktorý však je pri kultivácii z granulómu často negatívny (Roulet 13). Stáva sa, že len farbenie baktérii v rezoch na tie ktoré zárodoky môže s konečnou platnosťou potvrdiť etiológiu toho ktorého granulómu. Negatívny kultivačný nález bol zistený v našich vyšetreniach v 95 % prípadov. U fibrotizovaných granulómov bol kultivačný nález vždy negatívny.

Z uvedeného rozboru vyplýva, že etiologia uzlíčkových afekcií pečene je polygenetická, čo vyplýva najmä z niektorých funkcií pečene, z ktorých je treba spomenúť najmä silne vyvinutý RES, fagocytárnu aktivitu kapilárnych endotelií, ako aj Kupferove hviezdicovité bunky pečene. Tieto bunky hrajú dôležitú úlohu pri likvidácii rôznych látok anorganického, organického a biologického pôvodu, ktoré sú privádzané do pečene či už cestou krvnou alebo lymfatickou. Najčastejšie škodlivé elementy patria do skupiny bakteriálnych a parazitárných ochorení, ktoré sú u oviec veľmi časté. Nie je možné však vo všetkých prípadoch považovať uzlíčky v pečeni za *chalicosis hepatis* parazitárneho pôvodu, ale javí sa potrebné všímať si aj komplex zmien iných ochorení, ktoré sa prejavujú vytváraním uzlíčkov, granulómov v pečeni.

Súhrn

1. Bolo prevedené zrovnávacie štúdium granulómov pečene oviec pri najrozličnejších afekciách pečene s brucelóznymi granulómami u brucelózou spontánne ochorelých a brucelózou experimentálne infikovaných oviec a laboratórnych zvierat.

2. Granulomatózne afekcie pečene boli zistené pri brucelóze, tuberkulóze, pseudotuberkulóze, infekcii zárodkami brucelám podobnými, abscesoch rôznej etiológie, ako aj parazitárných ochoreniach, najmä pri diktyokaulóze, fasciolóze, cysticercóze, askaridóze. Granulómy boli zistené aj v prípadoch kedy bol bakteriologický a parazitologický nález negatívny.

3. Podľa charakteru granulómu boli zistené epiteloídne, lymfoídne, lymfoídno-epiteloídne, monocytárne-epiteloídne, obrovsko-bunečné, eozinofilné, fibrotizované granulómy, ako aj granulómy s nekrotickým centrom bez bližšej identifikácie.

4. Brucelózne granulómy vyskytujú sa v pečeni oviec a laboratórnych zvierat veľmi často. Pri ich diferenciacii od granulómov inej etiológie je treba prihliadať na morfológický syndróm toho ktorého ochorenia, ktorého symptóm je pečenný granulóm.

5. Brucelózne granulómy javia polymorfizmus štruktúry a buniek. Najstabilnejšími bunečnými súčasťami brucelózneho granulómu sú epiteloídne bunky,

Tabuľka č. 2.

Prehľad najdených granulómov pečene jednotlivých druhov zvierat spontánne onemocnelých a experimentálne infikovaných bruceloznými kmeňmi.

		Ovce	Barany						Králiky				Morčatá								Krysy		Myši		Poznámka	Vysvetlivky	
			Rôzne brucelózne kmeny	PZ – 1267	PZ – 737	TM – 232.4	PZ – 1276	Rôzne brucelózne kmeny	Spont. onem. angl. na ant. BAB m pozitívna	Brucella bovis	Brucella suis	Od matky exp. inf. kmeťom B. suis	Spont. onemoc. nely B. suis	B – 19	B. bovis	B. suis	H – 13	PZ – 737	TM – 232.4	TM 38/56	PZ 1276	PZ 1267	PZ 1267	TM 38/56			B. bovis
Granulómy	Pečeň	19a 16c	1○ 4	1○ 5	1○ 5	1○ 5	10○ 40	2	5	6	1	2	4		10	4	6	5	4	5	5			3	7		○ obr. bunky Langhans zistené v granulómoch
	Pľúca	12a 2c 1e, 6d	2○ 5	2○ 2		1○ 3	30○ 60	1	3	4		3	2		6	1			2	1		2	2		1		a-lymfoidný granulóm b-lymfoidno epiteloidný
	Slezina								3	4	5	2	3				2	1	2	2				2			c-epiteloidný d-obrovsko bunecný
	Oblíčky								2			1	1			2	2			1	1		4				e-eozinofilný f-fibrotizovaný
	Semenníky						2○ 14																				
	Prisemenníky						4○ 28																		1		
	Deloha																										
Iné orgány														1	2		1										
Periorchitis			4	6	6	5	66	3	1	7	1	2			4							2	3	1			
Orchitis			3	2	3	4	36	2							5		2										
Epididymitis			3	3	4	2	52	2		1													3	1			
Metritis		10																									
Placentitis		7																									
Nefritis interst. lymfocytaria		11	3	2	1	2																					
Zápaly v ostatných orgánoch		10		2						1	1	2	4*	1*	6*	3*	5*	4*	6*	4*	6*			2			*Ložisková katarálna bronchopneumónia
Abscesy v rôznych orgánoch		7		1		2			2	2	1	2			4		3			1							
Fasciolóza		3					21	1																			
Dikrocelióza		9					15																				
Červivosť pľúc		1					36	1																			
Cysticercóza							7																				
Sarkosporidióza			1	2	1	2	41	1																			
Ostatné parazitózy		6	1				10																				
Počet zvierat použitých k pokusu		35	7	7	7	7	100	3	8	8	5	3	7	1	17	7	12	7	7	7	7	6	7	7	20		
Počet kontrolných zvierat		5	1	1	1	1	5		1	1				1	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	4		

obrovské bunky rôznych typov a lymfoidné bunky, uložené v retikulárnom stro-matu. Vedľa nich je častý nálež kapilár, eozinofilných granulocytov, neutrofil-ných polymorfojadrových leukocytov, retikulárnych buniek. Periféria je obklopená zónou nešpecifického granulačného tkaniva, v ktorom pozorovať plazmatické bunky, monocyty, cievy, fibroblasty a fibrocyty.

6. Eozinofilné granulómy boli zistené u fasciolózy, diktyokaulózy, cysticer-kózy seróz, echinokokózy, askaridózy a čiastočne aj pri brucelóze.

7. Diskutuje sa o morfolologickej charakteristike jednotlivých granulómov pe-čene oviec vo vzťahu k ich diferenciácii.

8. Etiológia uzlíčkových afekcií pečene je polygenetická.

Literatúra

1. Jelínek V.: Sborník ČSAZV - Vet. med. č. 1-9, 1956. — 2. Jelínek K.: Nálež subserózných atypických reakcií lymfatickej tkane (nodulárna lymfadenopathia) v pečeni a pľúcach oviec a jej diagnostický význam. Diplomová práca, 1959, Brno. — 3. Smith A., Jones T. C.: Vet. Pathology, Philadelphia, 1958. — 4. Gray - Cito-vané podľa Jelínka K. (2). — 5. Gill - Citované podľa Jelínka K. (2). — 6. Jelínek a kol.: Patologická anatomia dom. zvierat, Praha 1956. — 7. Boř K. G.: Osnovy pa-tologickéj anatomii seľskochozajstvennych životnych, Moskva, 1954. — 8. Nie-berle - Cohrs: Lehrbuch der Spec. Path. Anatomie der Haustiere, IV, 1954. — 9. Joest: Spec. Path. Anatomie der Haustiere II, 1937. — 10. Čerňák V. Z.: Pa-tologoanatomická diagnostika infekcionnych zaboľevanij seľskochozajstvennych Seľchoziz, 1957. — 11. Terentjev - Markov: Infekcionnyje i invazionnyje bo-lezni oviec i koz, Moskva, 1951. — 12. Juskovec M. K.: Bruceloz seľskochozajstvennych životnych, Moskva, 1952. — 13. Roulet F. X.: Entzündung und Immu-nität, Hannover, 1958. — 14. Lukačik L.: Uzlíčkové afekcie pečene oviec a baranov odporazanych na verejnom bitúnku v Košiciach vo vzťahu k ich kauzálnjej genézii, Košice, 1959. Dipl. práca. — 15. Kennedy P. C.: Report of the New York Vet. Col-lege at Cornell University 1956-7. — 16. Braude A. I.: Studies in the Pathology and Pathogenesis of experimental brucellosis. II. The formation of the hepatic granuloma and its evolution. Jour. Diss. 88, 57, 1951. — 17. Janovskij D. M.: Kartina krvi i jejo kliničeskoje značenie. Medgiz, Kijev, 1957. — 18. Köhler H.: RHS in der Veterinär-pathologie, W. T. W., 1958. — 19. Salyi Gy.: Háziállatok részletes kor-bonctana, Budapest, 1954. — 20. Abrikosov, Strukov A. I.: Patologičeskaja anatomija, Moskva, 1953. — 21. Brown, Forbus, Kerby: Amer. J. of Pathology, Vol. 21, 205-232, 1945. — 22. Roux, Bouvier Q.: Schv.-Arch. Tierheilkunde, 568, 1946-48. — 23. Tudoriu, Jonica, Draghici, Kambir: Tipizarea tulpinilor isolate in RPR. Annarul. inst. de patol. si hygiene Animela, Bukuresti, vol. 5., 1955. — 24. Bendtsen H., Christiansen N., Thomsen A.: Nordisk Veterinärmedi-cin Nr. 8, 1-34, 1956. — 25. Harris J.: Brucellosis, New York, 1950. — 26. Löffler a Albertini, vit. podľa Rouleta. — 27. Gdovin T. a kol.: Štúdium klinických a patohistologických zmien barančiat infikovaných kmeňmi inf. epididymitidy. Folia vet. 1960 (v tlači). — 28. Bogdan J.: Štúdium patomorfologických afekcií baranov spontánne a experimentálne infikovaných brucelóznymi a bruceloidnými kmeňmi. Habilitačná práca, Košice, 1959. — 29. Nižnánsky F.: Biologické vlastnosti bru-celových kmeňov, 1960 (v tlači). — 30. Gdovin T.: Folia vet. FMVC I. III. F. I. Op. 72, 1959.

Морфологическая дифференция грануломов печени овец в отношении к бруцеллезу

1. Авторы провели сравнительное изучение грануломов печени овец при самых разнообразных аффекциях печени с бруцеллезными грануломами у спонтанно бруцеллезом заболевших и у экспериментально зараженных бруцеллезом овец и лабораторных животных.

2. Грануломатозные аффекции печени были обнаружены при бруцеллезе, ту-беркулезе, псевдотуберкулезе, при инфекции бруцеллоподобными зародышами, при

абсцессах разной этиологии, а также и при паразитарных заболеваниях, главным образом при диктиокаулезе, фасциолёзе, цистицеркозе и аскаридозе. Грануломы были обнаружены также и в тех случаях, когда бактериологический и паразитологический диагнозы были негативны.

3. Согласно характеру грануломы были установлены эпителиоидные, лимфоидные, лимфоидно-эпителиоидные, моноцитарно-эпителиоидные, крупноклеточные, эозинофильные, фиброзированные грануломы, а также и грануломы с некротическим центром без более точной идентификации.

4. Бруцеллезные грануломы встречаются в печени овец и лабораторных животных весьма часто. При их дифференциации от гранулём иной этиологии необходимо принимать во внимание морфологический синдром соответствующего заболевания, симптомом которого является гранулом печени.

5. Бруцеллезные грануломы характерны полиморфизмом структуры клеток. Самые стабильные клеточные части бруцеллезного грануломы представляют собой эпителиоидные клетки, крупные клетки разных типов и лимфоидные клетки, находящиеся в ретикулярной строме. Кроме них часто встречаются капилляры, эозинофильные гранулоциты, нейтрофильные полиморфоядерные лейкоциты, ретикулярные клетки. Периферия окружена зоной неспецифической грануляционной ткани, в которой можно наблюдать плазматические клетки, моноциты, сосуды, фибробласты и фиброциты.

6. Эозинофильные грануломы были установлены у фасциолёза, диктиокаулёза, цистицеркоза, серозов, эхинококкоза, аскаридоза, а отчасти также и при бруцеллёзе.

7. В работе обсуждается морфологическая характеристика отдельных гранулём печени обобщённо с учётом их дифференциации.

8. Этиология узелковых аффекций печени носит полигенетический характер.

Ein Beitrag zur morphologischen Differenzierung von Lebergranulomen der Schafe in Beziehung zur Brucellose

1. Es wurde ein vergleichendes Studium von Lebergranulomen der Schafe bei verschiedensten Affektionen der Leber mit brucellosen Granulomen bei den spontan an Brucellose erkrankten und bei den experimentell mit Brucellose infizierten Schafen und Labortieren durchgeführt.

2. Granulomatöse Leberaffektionen wurden festgestellt bei Brucellose, Tuberkulose, Pseudotuberkulose, bei einer von brucellenähnlichen Erregern hervorgerufenen Infektion, bei Abszessen verschiedener Ätiologie sowie auch bei parasitären Erkrankungen, insbesondere bei Diktyokaulose, Fasziolose, Zystizerkose und Ascaridose. Die Granulomen wurden festgestellt auch in den Fällen, wenn der bakteriologische und parasitologische Befund negativ war.

3. Dem Charakter des Granuloms nach wurden epitheloide, lymphoide, lymphoid-epitheloide, monozytär-epitheloide, makrozytäre, eosinophile und fibrosierte Granulomen festgestellt sowie auch Granulomen mit einem nekrotischen Zentrum ohne nähere Identifikation.

4. Brucellose Granulomen kommen in Leber der Schafe und der Labortieren sehr oft vor. Bei ihrer Differenzierung von den Granulomen einer anderen Ätiologie ist das morphologische Syndrom der betreffenden Erkrankung, deren Symptom das Lebergranulom ist, zu berücksichtigen.

5. Brucellose Granulomen weisen Struktur- und Zellenpolymorphismus auf. Die meist stabilen Zellenbestandteile des brucellosen Granuloms sind epitheloide Zellen, Riesenzellen von verschiedenen Typen und die im retikularen Stroma eingelagerten lymphoiden Zellen. Neben ihnen findet man oft Kapillaren, eosinophile Granulozyten, neutrophile polymorphonukleare Leukozyten und retikuläre Zellen. Die Peripherie ist mit einer Zone von nichtspezifischem Granulationsgewebe umgeben, in dem man plasmatische Zellen, Monozyten, Blutgefäße, Fibroblasten und Fibrozyten beobachten kann.

6. Eosinophile Granulomen wurden festgestellt bei Fasziolose, Diktyokaulose, Zystizerkose der Serosen bei Echinokokkose, Ascaridose und teilweise auch bei Brucellose.

7. Es wird über die morphologische Charakteristik von einzelnen Granulomen der Schafleber in Beziehung zu ihrer Differenzierung diskutiert.

8. Die Ätiologie der Knotenaffektionen der Leber ist polygenetisch.

Příspěvek k etiologii infekční žloutenky ve velkovýkrmnách a experimentální vyvolání leptospirosis icterogenes u vepřů

Этиология инфекционной желтухи в крупнооткормочных пунктах и экспериментальный вызов *leptospirosis icterohaemorrhagica* у свиней

Contribution to the Aetiology of infectious Icterus in fattening Establishments and the experimental Induction of *Leptospirosis icterohaemorrhagiae* in Pigs

Vlastimil MRVA

Výzkumný ústav veterinární ČSAZV, oddělení patologické morfologie a fyziologie, vedoucí akademik V. Jelínek

Došlo dne 19. II. 1961

Úvod

Infekční žloutenka původu leptospirózního je onemocnění, které se vyskytuje v našich velkochovech prasat, je přenosné i na jiná hospodářská zvířata a na člověka. Předložená práce v oboru leptospiroz byla vypracována v letech 1950 až 1951 a má znamenat další příspěvek k výzkumných pracím infekční žloutenky.

Výskyt leptospirozy v chovech prasat zjistil u nás první Jelínek (9) nálezem ikerogenních leptospir ve tkáních a orgánech uhynulých vepřů. Tento nález bezpečně prokázal výskyt Weilovy choroby u vepřů, který do té doby byl hypotetický. Jelínkův nález potvrdila serologická vyšetřování Zimy (21), Černého (4) a Karla (13). Rovněž Gilka (7) zjistil a popsal enzootii Weilovy žloutenky u selat 3 až 4 týdny starých. Tuto chorobu prokázal serologickým vyšetřením a nálezem leptospir v ledvině. Gzella Wiesmann (8) vyšetřovali serologicky krev normálně poražených klinicky zdravých prasat z různých krajů Švýcarska. Pozitivní titr s kmenem *L. icterohaemorrhagiae* se pohyboval od 0,5 až 1 %. Také v SSSR prokázali infekční ikerus u selat a prasnic leptospirózního původu serologickými metodami (Musaev — 18, a jiní). Field a Sellers (5) diagnostikovali infekční žloutenku, způsobenou *L. icterogenes* u 4 selat ve stáří 1 měsíce. Mimo žloutenky byla zjištěna horečka a nechutenství.

Poznáním původce Weilovy žloutenky u prasat byla odkryta i epidemiologie tohoto onemocnění. Leptospiry žijí v ledvinách hlodavců, aniž by jim znatelně škodily. Procento zamoření potkanů ve velkoměstech podle Jírovce (12) je značné. Údaje, týkající se leptospirózního onemocnění prasat, se shodují v tom, že v místech, odkud pocházejí infikovaní vepři, se obvykle vyskytuje mnoho krys a potkanů, kteří infikují močí vodu, krmivo a stelivo. Je známo, že leptospiry

mohou žít po týdny ve vodě, která je obvykle znečištěna organickými látkami a různými druhy bakterií. Výskyt leptospir je vázán na velmi příznivé podmínky, které jsou vytvořeny celou řadou činitelů, a proto Jelínek (10) právem poukázal na problém rozšíření leptospiroz u lidí a zvířat, který nelze hodnotit staticky, protože výskyt a rozšíření leptospir je vázán na meteorologické a půdní poměry a vlivy prostředí, který se u jiných nálezů nevyskytuje v takové míře.

Klinický obraz leptospiroz prasat se projevuje ve dvou formách: v typické (ikterogenní) a atypické (anikterogenní). Ikterogenní leptospirozy popisuje Klarenbeek a Winsser (14) u třítydenních selat: akutní žloutenka, u dvou velmi výrazná, kůže a viditelné sliznice intenzivně žluté, skleslost, nechutenství a slabost zadku. Ikterus za 10 dnů vymizel. U nás popsal ikterogenní leptospirozu Jelínek (19), Gilka (7) aj. K anikterogenním leptospirozám patří onemocnění prasat, označované jako „nemoc pastevců vepřů“ (Jelínek — 9). Toto onemocnění se uvádí jako anikterické — není ikterus. Druhý typ anikterogenních leptospir způsobuje onemocnění prasat, pojmenované jako „infekční gastroenteritidy“ (Jelínek — 9, Csontos, Hirt — 3). Podrobnou klinikou všech leptospiroz se zabývá Rimpau (20).

Typický patologicko-anatomický nálezk ikterogenní leptospirozy uvádí Jelínek (9): *icterus gravis totius, gastritis haemorrhagica, enteritis catharalis intestini tenui, collitis haemorrhagica et fibrinosa incipiens, hepatitis degenerativa et haemorrhagica acuta, haemorrhagiae subpleurales*. Chemické vyšetření obsahu zažívacího traktu negativní; bakteriologické vyšetření orgánů: játra, slezina, ojediněle kolonie *Coli*. Makroskopické a histologické změny popisuje také Gilka (7) aj.

Klinický obraz i patologicko-anatomické změny jsou natolik jednotné, že na jejich podkladě není těžké určit toto onemocnění.

Vlastní práce a metodika

Vlastní práce, týkající se infekčního ikteru prasat sleduje dva úkoly: 1. objasnit etiologii infekční žloutenky ve velkovýkrmnách, 2. experimentální vyvolání infekčního ikteru *I. icterohaemorrhagiae* u pokusných selat.

Etiologie infekční žloutenky ve velkovýkrmnách

Tento příspěvek má rozšířit výzkumné práce, které se zabývají výskytem leptospiroz a leptospir u našeho vepřového bratru. Průzkum byl proveden na požádání ve velkovýkrmně vepřů, kde se vyskytla hromadně žloutenka prasat. Výkrmna se skládala ze tří oddělení. V prvním oddělení byla stáj se čtyřmi kotci, rozdělená chodbou, která sloužila jako krmná a hnojná. S tímto oddělením bezprostředně souvisela přípravná krmiv. Uspořádání kotců druhých dvou oddělení bylo obdobné. Onemocnění vypuklo v prvním oddělení výkrmny, kde byli během ustájení ve dvou kotcích. Druhé dva kotce byly prázdné, vyčištěné a vydesinfikované, připravené pro zastavení dalších prasat na žir. V druhém a třetím oddělení nejevila prasata toho času klinických příznaků onemocnění. Vepřin byl postaven jako poslední v řadě hospodářských budov, které spolu s obytnými budovami tvoří čtverec. Výběhy dosud zřízeny nebyly. Celé hospodářství leží v poměrně úrodné nížinné krajině s vlhkým podnebím. Na polích v okolí statku se pěstuje zelenina, která je zavodňována celou sítí kanálů a náhonů. V těsném sousedství hospodářských budov je rozsáhlý rybník s močálovitými okraji. Poblíž rybníka byly

postaveny dva stohy slámy, z nichž byla odebírána sláma na podestýlku pro všechna zvířata. Když jsme ověřovali způsob zavlečení nákazy bylo zjištěno, že v hospodářství se vyskytují potkani, kteří v dřívější době byli značně rozšířeni. Útočištěm těchto potkanů byly hlavně rozházené stohy slámy a strouha, vytékající z rybníka, do níž vyúsťovaly některé odpadní kanály z hospodářských budov. Bylo zřejmé, že k nakažení prasat došlo krmivem a stelivem, které bylo infikováno močí potkanů.

Serologicky bylo vyšetřeno zbývajících 20 prasat, která byla ustájena v prvním oddělení výkrmny. Tato prasata klinicky jevila mimo jiné typické příznaky komplikací po enzootické bronchopneumonii. Z těchto důvodů byl jejich výživný stav ve většině případů podprůměrný a špatný. Typické ikterické změny s citrónově žlutým zabarvením kůže a spojivky na vyskytly u čtyř prasat, u zbývajících poloviny méně výrazné ikterické příznaky, kůže nažloutlá až špinavě žlutá, hlavně na břicho, spojivka citrónově žlutá, cévy nastříklé, v mediálních koutcích očí rezavě hnědé příškvary. U některých kožní ekzém. Nejnížší teplota naměřena 36,2° C, nejvyšší 40° C. Průměrná živá váha běhouna 34 kg.

K mikroaglutinačním zkouškám bylo použito dvou ústavních kmenů ikterogenních leptospir, a to *I. icterohaemorrhagiae*, kmen „Fryšava“ a kmen „Radoš“, a anikterogenního kmene *I. pomona*. Výsledky sérologického vyšetření jsou patrné z níže uvedené tabulky.

I.

Kmen	Vyšetřeno prasat	Výška titru — poč. pos. reagentů			
		1 : 100	1 : 1000	1 : 10 000	1 : 50 000
<i>I. icterohaemorrh.</i> „Fryšava“	20	14	12	8	2
<i>I. icterohaemorrh.</i> „Radoš“	20	14	13	10	5
<i>I. pomona</i>	20	4	1	—	—

Biologický pokus. Byli infikováni křečci a morčata krví nemocných prasat přímo na místě. Dvě morčata uhynula po delší době, která neodpovídala inkubační době a patologicko-anatomickému nálezu infekčního ikteru. Vyšetření emulze orgánů na leptospiry byla v zástinu negativní. Ostatní pokusná zvířata zůstala zdravá.

V odebraných vzorcích vody z močálového rybníka a ze strouhy za hospodářskými budovami podařilo se v nativních preparátech zjistit útvary, připomínající leptospiry. Nepodařilo se však tyto izolovat pro ohromné množství *B. Coli* a jiných saprofytů. Histologickým vyšetřením jater dvou naléhavě odporažených běhounů byla v jednom případě zjištěna chronická interstitiální parazitární hepatitida, ve druhém případě akutní žlutá atrofie jater. Impregnačními metodami v játrech, změněných žlutou atrofií byly zjištěny útvary většinou ve stadiu rozpadu nebo rozpadlé, které odpovídaly typům *I. icterohaemorrhagiae*.

Pro zajímavost uvádím, že podle výpovědi onemocněl koncem května téhož roku osmiletý chlapec B. K. se sousední vesnice po koupání těžkou žloutenkou a byl léčen v okresní nemocnici. Etiologie tohoto ikteru nebyla vysvětlena. Je pravděpodobné, že i zde mohla být určitá souvislost.

Diskuse

Sérologickým vyšetřením krve nemocných běhounů byla zjištěna na základě silně pozitivních reakcí infekční Weilova žloutenka, způsobená *I. icterohaemorrhagiae* u 13 vepřů, s přihlédnutím k titru 1 : 100 u 14 vepřů. U zbývajících šesti prasat byly sérologické reakce negativní. Přenos tohoto onemocnění na pokusná zvířata se nezdařil. Byl prokázán výskyt leptospir ve vodě, bohaté na organické látky a různé mikroorganismy. Jako šířitel a mezipřenositel se zde v plné míře uplatnili potkani. Dále byl popsán spontánní výskyt leptospirózy u prasat, která byla identifikována s *I. icterohaemorrhagica*. Leptospiry nacházejí příznivější pole působnosti v organismu oslabeném na příklad často se vyskytujícím onemocněním chřipkou prasat.

Experimentální vyvolání infekčního ikteru

Úkolem této práce bylo vyvolat infekční ikterus, způsobovaný *I. icterohaemorrhagiae* u pokusných selat.

Podle literárních údajů, známých v době, kdy jsem na práci pracoval, se dosud infekční ikterus u prasat nepodařilo vyvolat. M. Z u e l z e r (22) uvádí o experimentální a přirozené infekci spirochetou ikterogenní, že prase, kůň, skopek, koza a drůbež jsou proti tomuto onemocnění refrakterní. Stejný názor zastávají M ü h l e n s (17) a C o l l i e r (2). Nepodařilo se jim infikovat pokusná prasata *I. icterohaemorrhagiae*. J e l í n e k (10) koriguje údaje M ü h l e n s o v y (17) podle dosavadních výsledků pokusů v tom smyslu, že spontánně je vepř vnímavý vůči *I. icterogenes*, ale experimentálně se dosud nepodařilo vyvolat u vepřů infekční ikterus. Nebyla zjištěna ani tvorba specifických aglutinů, což vysvětluje J e l í n e k (10) tím, že měli v pokusu vepře o živé váze 60 až 80 kg. K l a r e n b e e k a W i n s s e r (14) při umělé infekci selete zjistili jen tvorbu specifických aglutininů v titru 1 : 1000.

Na základě těchto údajů jsem předpokládal, že je nutno ovlivnit organismus tak, aby byl disponován pro vstup nakažliviny, a to poškozením ledvin (*locus minoris resistentiae*).

Je známo, že při nefritidách se vyskytují příznaky uremické. Tak například K l a r e n b e e k (16) původně uváděl, že tyfus psů je souhlasný s nálezem azotemické uremie. U psa, který uhynul na typickou uremickou intoxikaci, zjistil v ledvině spirochety, odpovídající svou skladbou *I. icterohaem*. Pitvou zjištěna subakutní exudativní nefritida. L u k e š, J e l í n e k a Š r á m e k (16) ve své práci dokázali leptospiry v šesti případech u protrahovaných onemocnění, která se vyznačovala chronickým zánětem ledvin. Pro experimentální vyvolání nefritidy mně sloužily údaje výzkumných prací P ř i b y l a (19), J e s e n a a J e s e (11) a F l e c h s e d e r a (6). P ř i b y l (19) jasně dokázal, že při uranových nefritidách exkrete moče rapidně klesá k anurii a stoupá k normální hodnotě se zotavováním ledvin.

Proto byla před umělou infekcí leptospirami vyvolána experimentálně nefritida uranylitrátem nejdříve u pokusných králíků průměrnou dávkou 0,2 mg v 5 ml fyziologického roztoku na 1 kg živé váhy. Průběh a stav pokusu byl denně sledován soustavným vyšetřováním. Moč byla kvalitativně zkoušena na obsah bílkovin a cukru, dále bylo měřeno množství moče a určováno pH.

První příznaky uranové nefritidy se počaly u králíků projevovat 4. až 5. den po parenterální aplikaci. V tutéž dobu byly ve všech případech bílkoviny v moči pozitivní a cukr ve dvou případech pozitivní. V prvním stadiu otravy byla po-

zorována polyurie, která s pokračujícím zánětem ledvin směřovala k amurii. Histologickým vyšetřením ledvin jednoho uhynulého králíka byla zjištěna *glomerulo et tubulonephritis ac.* Při zjištění porušení exkreční činnosti ledvin se současným stoupajícím poškozením glomerulů a tubulů stoupala v krvi hladina zbytkového dusíku. Při pokročilejší otravě nastávala hypotermie s příznaky uremickými. Tento stav v organismu pokusných králíků měl usnadnit experimentální vyvolání infekční žloutenky. Z toho důvodu byli dva králíci s výše uvedeným poškozením ledvin infikováni silně virulentní emulzí *I. icterohaem.*, pasážované na syslech. Před infekcí provedené sérologické zkoušky na leptospirosis byly negativní, což svědčí pro to, že pokusní králíci nepřišli s leptospirami do styku. Za osm dní po pro-

II.

Sele číslo	Pohlaví	Váha kg	1. iet. hem. infikováno dne	Způsob infekce dávka emulze	Odběr krve po infekci dne	Serolog. vyšetř. titr 1. iet. hem.	Poznámka
1.	♀	25	6. 12.	i. p. 10 ml	20. 12.	1 : 10 000	bez klinických příznaků ikteru
2.	♀	18,2	2. 12. 6. 12.	i. p. 10 ml i. p. 4 ml	20. 12.	1 : 50 000	24. 11. — 3,64 mg uranylitrátu sub. cut. bez klinických příznaků ikteru
3.	♀	46	27. 12.	i. p. 8 ml	6. 1.	1 : 1 000	bez klinických příznaků ikteru
4.	♀	14,2	2. 12. 6. 12.	i. p. 10 ml i. p. 4 ml	16. 12.	1 : 50 000	29. 12. uhynulo
5.	♀	16	kontrolní				serologicky a klinicky během pokusu negativní
6.	♀	12	3. 1. 6. 1.	i. p. 10 ml i. p. 10 ml	12. 1.	1 : 50 000	stáří selete 30 dnů 8. 1. klinicky ikterus
7.	♂	13	3. 1. 4. 1.	i. p. 10 ml i. p. 8 ml	12. 1.	1 : 50 000	stáří 30 dnů 8. 1. klinicky ikterus
Mikroaglutinační zkoušky s 1. pomona a 1. canicola byly negativní.							

vedené infekci byly výsledky mikroaglutinace pozitivní, u jednoho králíka v titru 1 : 100 a u druhého 1 : 1000 a 1 : 100.

Tím byla prokázána specifická forma aglutininů. Zjišťování leptospir v moči v nativních preparátech pomocí zástinu bylo negativní. Typický ikterus se nepodařilo vyvolat.

K umělé infekci selat, z nichž u některých byl disponován organismus uranovou nefritidou, bylo použito opět (stejně jako u králíků) silně virulentního kmene *l. ict. hem.*, udržovaného na křečcích a syslech, kteří jsou vůči této leptospíře velmi vnímaví. Selata pro vyvolání experimentální žloutenky, z nichž jedno bylo kontrolní, byla chována ve společném kotci. Byla krmena obvyklými dávkami brambor, směsí šrotu z ječmene, ovsa a vojtěšky. Klinické vyšetřování bylo doplněno sérologickými zkouškami, dále chemickým a histologickým vyšetřením. Před experimentální infekcí byla všechna prasata vyšetřena sérologicky na leptospirosoy s výsledkem negativním.

U pokusného selete číslo 1 tak, jak je patrné z tabulky II, nebyly zjištěny během pokusu mimo zvýšené teploty (41° C) žádné úchytky od normálního zdravotního stavu. Pozitivní titr s *l. ict. hem.* 1 : 1000 a 1 : 100. Pokusné selete č. 2 nevykazovalo rovněž klinicky změněný zdravotní stav. Pozitivní titr 1 : 50.000, 1 : 10.000, 1 : 1000 a 1 : 100. U tohoto selete byly podrážděny ledviny uranyl-nitrátem před infekcí *l. ict. hem.* Klinický ikterus se neprojevil. U pokusného běhouna č. 3 byla zjištěna třetí den po infekci horečka (42° C), zrychlený dech a puls, nechutenství. Tyto úchytky zdravotního stavu se bez zásahu upravily. Jedenáctý den po infekci zjištěn pozitivní titr 1 : 1000 a 1 : 100. Pokusné selete č. 4., opožděné ve vývoji, vykazovalo 10. den po infekci pozitivní titr 1 : 50.000. Teplota třetí den po infekci 40,7° C, 8. den 40,9°. Po dvou týdnech vyřazeno z pokusu. Za 14 dnů po vyřazení bez předběžného klinického vyšetření uhynulo. Současně při pitvě bylo vyšetřeno několik nativních preparátů emulze z jater, ledvin, exsudátu perikardiálního a dutiny hrudní, dále moče, na leptospiry s výsledkem negativním. Biologické pokusy na dvou křečcích, dvou syslech a jedné kryse vyzněly negativně.

Pitvou a histologickým vyšetřením uhynulého selete č. 4 bylo zjištěno: plíce — makroskopicky: pleura pulmonální místy zkalena, bez lesku, zvláště v místech, kde parenchym plicní byl hemoragicky infiltrován. V parenchymu plicním drobné hemoragie a infarkty — obraz hemoragické pneumonie. Mikroskopicky jsou zjevně subpleurálně četné extravasáty, hlavně kolem dilatovaných cév s edematózní infiltrací subpleurální tkáně. Rovněž subpleurální lymfatické prostory jsou dilatované a místy vyplněné sraženou lymfou. V parenchymu plicním jsou hemoragické infiltráty v alveolech, infundibulech a místy i v bronchiolech. V celém histologickém obrazu je zřejmá alterace celého vaskulárního systému plic, s rozsáhlými extravasáty, které ovládají celý histologický obraz. Patologicko-anatomická diagnóza: *bronchopneumonia haemorrhagica et haemorrhagiae subpleurales*.

Srdce — makroskopicky v levé komoře je zjevná *endocarditis valvularis verrucosa* a ložisková *endocarditis parietalis*. Ložiskové afekce endokardu postupují na chlopněvý aparát levé předsíně do vzdálenosti asi 15 mm. Histologickým vyšetřením bylo zjištěno, že endokarditida jak valvulární, tak i parietální, má převážně proliferativní charakter. V histologickém obraze je zjevná proliferace fixních elementů buněčných, fibroblastů a tam, kde je ještě uchovánejší granulační tkáň, jeví tato již stabilnější uspořádání; fibroblasty jsou stejnoměrně uloženy v intercelulární, částečně již diferencované tkáni. Celý proces jeví místy exacerbaci, která je zjevná ve svěžích extravasátech v ložiskové infiltraci lymfocytů a v nekro-

biotických pochodech. Patologicko-anatomická diagnóza: *endocarditis valvularis et parietalis verrucosa*.

Ledviny — makroskopicky po stáhnutí pouzdra jsou na povrchu hladké, lesklé, jinak silně překrvené. Korová část je nezřetelně oddělena od dřene, která je rovněž překrvena. V kortikální části ledvin jsou zjevné zcela drobné, šedavé uzlíčky neostře konturované. V histologickém obraze ze zjevná kongesce, kapiláry silně injikovány, také větší cévy jsou naplněny krví. Výstelka sekretorická i exkretorická vykazuje degenerativní změny. V interstitiu jsou zjistitelné ložiskové lymfocytární infiltráty, disseminované roztroušené v korové části ledvin. Kolem menších cév v interstitiu dochází k bujení adventiciálních elementů a histiocytů. Patologicko-anatomická diagnóza: *nephritis interstitialis lymfocytaria nodosa et degenerativa*.

Slezina — makroskopicky zduřelá, okrajů zaoblených, na řezu zjevná folikulární hyperplasie. Histologicky v celém obraze vystupuje retikulární hyperplasie Malpighiových tělísek, která jsou zvětšená, zmnožená a zjistitelná i v perifolikulární tkáni v podobě uzlíkovitých útvarů. Sekundární folikuly jsou jen někde zřetelné. Siny sleziny jeví rovněž zduření endotelií. Větší cévy v trabekulárním systému jsou dilatované, se zjevnou hyperplasií endotelu. Patologicko-anatomická diagnóza: *tumor lienis folikularis*.

Játra — makroskopicky zvětšená, okrajů zaoblených, barvy červenohnědé, Glissonovo pouzdro ložiskově zbytnělé. Parenchym nestejně zabarven, má tisk do žluta a vedle toho je tmavočervený. Histologicky je zřejmá dilatace cévního systému, místy se značnou angioektasií, zvláště cév v periportální tkáni, které jsou trombotizované. V parenchymu jater je zřejmá ložisková tuková degenerace s nekrobiotickými pochody, zjevnými jak na jádře, tak i v protoplazmě jaterních buněk. RES jeví zduření a je místy naznačena ložisková hyperplasie. Patologicko-anatomická diagnóza: *hepatitis degenerativa ac.*

V dutině peritoneální byly střevní klíčky spojeny fibrinózními vlákny a na viscerální ploše peritonea na některých místech zjevné zduřenin, které se jeví histologicky jako subakutní zánětlivé procesy, při kterých dochází k organizaci fibrinózního výpotku.

Žaludek a střeva — sliznice jeví akutní katarální změny.

Mozek — makroskopicky jsou pleny mozkové zduřelé, místy matné, bez lesku a zkalené. Histologickým vyšetřením bylo zjištěno, že jde o ložiskové zánětlivé změny, které se projevují v buněčných a hlavně lymfocytárních infiltrátech, v edematózní infiltraci subarachnoideálních prostorů a korové části velkého mozku. V mozkové tkáni jsou disseminované uzlíčky, složené ze zbujelých neuroglií, převážně z lymfocytů a ojedinělých leukocytů. Gangliové buňky jeví místy nekrobiotické změny na jádře. Bakteriologickým vyšetřením byly zjištěny v srdci Gr + tyčinky červenky vepřů, v játrech a ve slezině ojedinělé kolonie *Coli*.

Sele č. 5. — kontrolní. Po dobu pokusu neprojevovalo příznaky onemocnění, rovněž výsledky sérologických zkoušek byly negativní.

Pokusné sele č. 6. — váha 12 kg, stáří 30 dnů, dobře vyvinuté, zdravotní stav při přejímání do pokusu výborný. Třetí den po umělé infekci byla zjištěna horečka (41,1° C), spojená s obstipací. Pátý den po infekci počínají se projevovat typické příznaky iktu. Rohovka citrónově žlutá, spojivka oranžově žlutá, kůže na spodní části krku, v předním mezinoží, na břiše, v zadním mezinoží výrazně žluté barvy, na ostatních částech těla, zvláště na hřbetě, málo výrazná. Šestý den typický iktus, kůže celého těla zbarvená intenzivně citrónově žlutě, zvláště

výrazná barva se objevila na břiše, na mediální straně končetin a v okolí řitě. Rohovka žlutá, spojivka oranžově červená, cévy silně nastříklé, v mediálních koutcích očí zaschlý červenohnědý výtok. Zadní nožky při postoji stáví k sobě, při chůzi projevuje slabost zadku. Další čtyři dny všechny uvedené příznaky ikteru trvají. Desátý den se barva poněkud ztrácí, zvláště v krajině hřbetní. Jedenáctý den žlutá barva zůstává na břichu, spodině krku a na vnitřní straně předních nohou. Rohovka žlutá, spojivka růžová, cévy nastříklé. Na ostatních částech těla žlutá barva vymizela. Další tři dny příznaky téměř stejné, s dalším mírným ústupem ikteru. Patnáctý den po infekci žlutá barva úplně vymizela, na rohovce stopy. Specifická tvorba aglutininů a lysinů devátý den po infekci dává pozitivní titr na leptospiru *ict. hem.* 1 : 50.000.

Sele č. 7. Třetí den po infekci třesavka, teplota 41° C, tvrdá stolice. Šestý den ikterus, shodný jako u selete č. 6, který následujícího dne se projevil citrónově žlutou barvou, a to celého těla. Tvrdost barvy není tak výrazná jako u selete č. 6. Příznaky ikteru trvají v plné míře dva dny. Desátý den se začíná žlutá barva ztrácet, třináctý den vymizí úplně. Pozitivní aglutinační titr na *l. ict. hem.* devátý den po infekci 1 : 50.000.

Přenos infekce krví posledních dvou selat, u kterých se projevil klinický ikterus, se na pokusná zvířata nezdařil. Rovněž se nepodařilo prokázat leptospiry v nativních preparátech z krve. Vyšetřením několika nativních preparátů z moče byly zjištěny nepohyblivé, někdy rozpadlé útvary, které silně připomínaly *l. ict. hem.*

Chemickým vyšetřením moče pokusných ikterických selat byly zjištěny následující údaje: nejvyšší obsah bilirubinu v moči byl devátý den po infekci 6,25 mg % u pokusného selete č. 6. Hustota moče v době výskytu ikteru 1,06, pH 6,5.

Diskuse

Po infekci silně virulentní emulzí *l. ict. hem.* byl zjištěn za 14 dní u selete č. 1 pozitivní aglutinační titr 1 : 50.000 a u selete č. 3 1 : 1000. Oběma selatům nebyl aplikován uranylitrát. V obou případech nebyly zjištěny příznaky klinického ikteru. U selete č. 2 byla před infekcí *l. ict. hem.* vyvolána uranová nefritida. Za osm dnů po subkutánní dávce uranylitrátu bylo pokusné sele infikováno silně virulentní emulzí jater uvedené leptospiry. Pozitivní aglutinační titr 1 : 50.000. Klinický ikterus se neprojevil. Sele č. 4 bylo infikováno v intervalu dvakrát za sebou, bez poškození ledvin. Za 10 dnů po druhé infekci vykazovalo pozitivní titr 1 : 1000. Jak již bylo uvedeno, sele čtrnáctý den po skončení pokusu uhynulo. Vyšetření na leptospiry v nativních preparátech a biologický pokus vyzněl negativně. Z patologicko-anatomického nálezu, z bakteriologického a sérologického vyšetření vyplývá, že u tohoto prasete šlo o latentní formu chronické červenky vepřů, která byla vyprovokována umělou leptospirózní infekcí. Tím se kombinovalo toto onemocnění leptospirózou. Je nutno ještě podotknout, že chronická forma červenky se u mladých prasat takřka nevyskytuje, stejně jako parietální endokarditida u chronické červenky jen ve velmi vzácných případech. Selata č. 6 a 7 byla infikována ve dvou intervalech. Za šest dní po první infekci byl zjištěn klinicky typický ikterus, vyvolaný ikterogenní leptospirózou. Toto bylo potvrzeno sérologickým vyšetřením (aglutinační pozitivní titr 1 : 50.000) a průkazem žlučového barviva v moči. Biologické pokusy vyzněly negativně. V moči byly zjištěny u obou selat nepohyblivé leptospiry.

Souhrn

1. Ve výkrmně, kde se vyskytl ikterus v enzootické formě, byla sérologicky potvrzena diagnóza *leptospirosis icterogenes suis*.

2. Sérologická metoda umožňuje vyšetřit zvíře za živa a dává možnost stanovit včasnou diagnózu, profylaxi a terapii a tak uchránit stavy vepřového bravu od značnějších ztrát.

3. Vyvolání experimentální nefritidy a uremie nevytvořilo v organismu dispozici pro vyvolání typické ikterogenní leptospirózy.

4. Byla popsána experimentální *leptospirosis icterogenes* u dvou pokusných selat na základě klinického a chemického vyšetření a potvrzena sérologickým vyšetřením a pozitivním nálezem nepohyblivých leptospir v moči. U ostatních selat byla zjištěna specifická tvorba aglutininů a lysinů v krvi.

Literatura

1. Andrejev: Infekcionnye bolezni svinej, 1948. — 2. Collier: Methoden der Spirochetenforschung. — 3. Csontos, Hirt: Magyar allatorvosok lapja IV, 6, 1951. — 4. Černý: Leptospirosis pomona u vepřů v CSR. Dissert., Brno 1950. — 5. Field a Sellers: Leptospirosis icterohaemorrhagiae infection in piglets. Veterinary Record, 1951, 78. — 6. Fleckseider: Archiv für Experiment. Pathologie und Farmakologie, 56, 54 str. — 7. Gilka: Příspěvek k diagnostice Weilovy žloutenky u selat. Sborník ČSAZV - Veterinární medicína, č. 1, str. 43, 1957. — 8. Gsell - Wiesmann: Schweiz. med. Wschr., 78, 503, 1948. — 9. Jelínek: Nález leptospir u vepřů, Rovnost 1949. — 10. Jelínek: Rozšíření leptospir u lidí a zvířat v CSR. Spisy Vysoké školy vet., Brno, XVIII, 7, 1950. — 11. Jessen, Jes: Neue Untersuchungen über die Urannephritis. Hospitals. Yg. 68, 28, 1925. — 12. Jírovec: Parasitologie pro lékaře. 1948. — 13. Karl: Příspěvek k zjišťování leptospir u vepřů. Dissert. Brno, 1950. — 14. Klarenbeek a Vinser: Deutsch. tier. Wschr., 45, 434, 1937. — 15. Klarenbeek: Overdruk uit het Tijdschrift voor diergeneskunde, deel 52 aflevering 5, Jaargang 1925. — 16. Lukeš, Jelínek, Šrámek: Tierärztl. Rundschau, XXXI, 39. — 17. Mühlens: Kolle und Wassermans Hand. d. patholog. Mikroorg. 2, Aufl. 7. — 18. Musajev: Veterinarija, č. 8, 1949, č. 12, 1948. — 19. Příbyl: Biologické spisy VŠV, Brno, VI, 16, 1927. — 20. Rimpau: Die Leptospirose, 1950. — 21. Zima: Leptospirosis icterogenes suis. Spisy VŠV, Brno, XIX, 8, 184, 1951. — 22. Zuelzer: Hand. d. path. Prot. III, 1931.

Этиология инфекционной желтухи в крупнооткормочных пунктах и экспериментальный вызов *leptospirosis icterohaemorrhagica* у свиней

1. В свинооткормочном пункте, где появилась желтуха в энзоотической форме, серологическим путем был подтвержден диагноз *leptospirosis icterogenes suis*.

2. Сéroлогический метод обеспечивает прижизненное исследование животного и дает возможность своевременно определить правильный диагноз, профилактику и терапию и предохранить таким образом поголовье свиней от более существенных потерь.

3. Вызов экспериментального нефрита и уремии не образовал в организме расположения к вызову типичного иктерогенного leptospiroза.

4. В работе описан экспериментальный *leptospirosis icterogenes* у 2 подопытных поросят на базе клинического и химического исследования и в результате серологического исследования подтвержден позитивным диагнозом неподвижных leptospir в моче. У остальных поросят было установлено специфическое образование агглютининов и лизинов в крови.

Contribution to the Aetiology of infectious Icterus in fattening Establishments and the experimental Induction of Leptospirosis icterohaemorrhagiae in Pigs

1. In a fattening establishment, where enzootic icterus appeared, serologically leptospirosis icterogenes suis was confirmed.

2. The serological method enables the examination of living animals and to get an early diagnosis, prophylaxis and therapy and so to prevent great losses in pigs.

3. The induction of experimental nephritis and uraemia did not cause a disposition for the development of a typical icterogenous leptospirosis.

4. Described is an experimental leptospirosis icterogenes in 2 experimental piglets on the base of clinical and chemical examination and confirmed by the serological test and the finding of immovable leptospire in the urine. In the remaining piglets the appearance of specific agglutinins and lysins in the blood was confirmed.

Diagnostická spolehlivost Levaditiho metody impregnace leptospir v ledvinách

**Диагностическая надежность метода импрегнации лептоспир
в почках по Левадिति**

**The diagnostical Reliability of the Levaditi's Method to impregnate Leptospir
in the Kidney**

Doc. MVDr. Milan LEBEDA

Ústav pro patologickou fyziologii VF VŠZ, přednosta akademik V. Jelínek

Došlo dne 23. V. 1960

Ú v o d

Diagnostika leptospiroz se v naší veterinární medicíně rozvíjí přesto, že na rozšíření a význam leptospiroz u hospodářských zvířat se u nás nepohlíží s takovou vážností jako v cizině. Leptospirozy zůstávají dosud poněkud v pozadí diagnostického myšlení, a proto jsou často brány v úvahu až po uhynutí nebo po nutné porážce pacienta při postmortální diagnostice. Při citlivosti leptospir vůči vlivům zevního prostředí pak často zklame řada laboratorních vyšetřovacích metod někdy i u pozitivních případů. Při vyšetřování kadaverů na leptospirozu je z laboratorních metod kromě nativního vyšetřování orgánových suspenzí, pokusu na vnímavém laboratorním zvířeti a kultivace do půd, nejčastěji používána impregnace orgánových vzorků stříbrem.

Použití impregnačních metod má svou specifickou problematiku a potíže, z nich řada byla již před lety zveřejněna v pracích Lukeše a Jelínka (1926) a dalších pracovníků leptospirologické školy, založené Lukešem. V zahraničí je těmto otázkám věnována stále živá pozornost v souvislosti s bouřlivým rozvojem leptospirologie.

V této práci chceme upozornit na zkušenosti s diagnostickou spolehlivostí Levaditiho impregnační metody, získané na poměrně bohatém materiálu při experimentálním ověřování imunogenní účinnosti vakcin *Lept. icterohaemorrhagiae* (Lebeda, 1959, 1960). Levaditiho metoda je přes svou časovou náročnost stále nejčastěji používána a též řada dalších impregnačních metod je principiálně na ní založena. Lukeš a Jelínek (1926) uvádějí jako hlavní nedostatky této metody časté nezdary v obarvení leptospir i v materiálu prokazatelně pozitivním, dále pak upozorňují na artefakty leptospirám velmi podobné a na jiné potíže. Salíng (1907), Schulze (1907) aj. vyslovili dokonce pochybnosti o leptospirové podstatně zjišťovaných útvarů, které mohou představovat jen postříbřená

a fixačním procesem esovitě zprohýbaná vlákna tkání a nervové fibrily. Častým nedostatkem u Levaditiho metody je výskyt sraženin stříbra, které mnohdy prostupují okraje preparátů a někdy zasahují i do nitra řezů. S h a u b a V o g t (1951) uvádějí, že Levaditiho metodou je možno zjistit leptospiry v orgánech morčat nebo jiných druhů zvířat zpravidla jen tehdy, nastala-li smrt v prvním týdnu nemoci a pitva byla provedena bezprostředně po smrti. Mnozí autoři upozorňují v souvislosti s výskytem artefaktů na nutnost mimořádné opatrnosti při hodnocení nálezů (Freudiger, 1955, Gilka, 1956, Kozicka a Parnas, 1958, aj.).

U leptospiróz je nezvratně zjištěn fakt, že virulentní leptospiry mohou být po měsíce vylučovány močí i za přítomnosti značného množství specifických protilátek v krvi (Rimpau, 1950) hostitele. Stálá nesterilní imunita je zde tedy možná (Vyšelský, 1948) se všemi svými epizootologickými následky. Leptospiry se v těchto případech hromadí na periférii i uvnitř točitých kanálků ledvin. Předpokládá se, že leptospiry jsou zde chráněny proti protilátkám (Van Thiel, 1948). Například u potkanů, kde je leptospironosičství běžným zjevem, a též u rekonvalescentů jiných zvířecích druhů je možno často prokázat leptospiry v ledvinách i při vysokém aglutinačně-lytickém titru séra těchto zvířat.

V našich pokusech s vakcinací zvířat proti ikterohaemorrhagické leptospiróze jsme předpokládali, že po vakcinaci — zvláště pak malými dávkami vakciny — může být organismus očkovanice přiveden do stavu, jehož klinickým projevem je nosičství leptospir, založené na určité rovnováze mezi mikroby a obrannými mechanismy makroorganismu. K ověření faktické existence těchto předpokladů jsme podrobili vakcinovaná a později infikovaná zvířata, která přežila infekci, po usmrcení pitvě, nativnímu vyšetřování orgánů — hlavně ledvin — v zástinovém mikroskopu a impregnovali jsme orgánové vzorky stříbrem podle Levaditiho. Vyšetření čerstvých orgánových suspenzí v zástinu dává podle některých autorů nejlepší výsledky při chronických leptospirózách, spojených s nosičstvím a vylučovatelstvím, kdy dochází k hojnému hnízdovitému růstu leptospir v ledvinách. Impregnace solemi stříbra je klasickou metodou zjišťování leptospir přímo v orgánu. Touto metodou je někdy možno zachytit pozitivní případy, které unikly zjištění při vyšetřování nativních preparátů v zástinu. Negativní nález leptospir v impregnovaných preparátech nemůže však vyvrátit pozitivní nález získaný zkušeným pracovníkem v zástinu a obráceně.

Jelínek (1950) a též Krásný (1925) označují v rámci impregnačních metod Levaditiho metodu za jednu z nejspolehlivějších.

Výsledky vlastního pokusu

Všechna zvířata vyšetřovaná v našich pokusech nebyla vakcinovaná toutéž vakcinou a stejnými dávkami vakcin, proto uvádím výsledky skupinově.

Bylo vyšetřeno 122 morčat, očkovaných různými typy vakcin *Lept. icterohaemorrhagiae* za účelem komparativního studia imunogenní potence vakcin. Výsledky jsou shrnuty v tabulce I.

Morčata byla usmrcena 15 až 19 dní po experimentální infekci. Téměř všechna byla v dobrém až výborném výživném stavu a žádná z morčat nejevilo patologicko-anatomické změny charakteristické pro leptospirózu.

Při vyšetřování impregnovaných preparátů jsme zjistili v ledvinách, zejména pak v luminu kanálků, vláknité útvary, které nebylo vždy možno spolehlivě diferencovat od leptospir. V zájmu roztřídění nálezů jsme používali tato kritéria při hodnocení útvarů zjišťovaných v impregnovaných preparátech:

	Nález leptospir v ledvinách impregnovaných podle Levaditiho	Dávka vakcin v ml/kg váhy morčete				Celkem	Počet usmrce- ných morčat	% ná- lezů
		0,5	0,25	0,1	0,05			
Vakcína karbolová	pozitivní	0	0	0	0	0	25	0
	dubiózní	0	0	2	0	2		8
	negativní	8	8	6	1	23		92
Vakcína formolová	pozitivní	0	0	0	1	1	22	4,6
	dubiózní	1	3	1	0	5		22,7
	negativní	7	5	4	0	16		72,7
Vakcína trypaflavinová	pozitivní	0	0	0	0	0	29	0
	dubiózní	0	1	1	1	3		10,3
	negativní	8	7	9	2	26		89,7
Vakcína chinosolová	pozitivní	0	0	0	0	0	24	0
	dubiózní	0	1	1	1	3		12,5
	negativní	8	6	7	0	21		87,5
Vakcína lyofilizovaná	pozitivní	0	0	0	0	0	20	0
	dubiózní	2	2	1	0	5		25,0
	negativní	6	5	4	0	15		75,0
Kontroly	pozitivní	1	0	0	0	1	2	50,0
	dubiózní	0	0	0	0	0		0
	negativní	1	0	0	0	1		50,0

a) nález pozitivní — leptospiry typického tvaru a rozměrů ve tkáni nebo v luminu kanálků ledvin (jako kontrolní materiál nám sloužily ledviny morčat, v nichž byly leptospiry prokázány v hojném počtu již v nativních preparátech);

b) nález dubiόzní — vláknité útvary netypického tvaru nebo rozměrů, které jsou na hranici variační šířky rozměrů leptospir z notoricky pozitivních preparátů; tyto útvary se vyskytovaly převážně v luminu ledvinových kanálků nebo přiléhaly různým způsobem k jejich epiteliální výstelce (v našich preparátech to byla většinou vlákna relativně silná); dále jsme do této skupiny zařazovali i útvary, které morfolοgicky byly shodné s leptospirami, ale vyskytovaly se výlučně jen v místech masivního vypadávání sraženin stříbra nebo jen v přebarvených okrajích preparátů;

c) nález negativní — nenalezeny žádné útvary uvedené v předchozích dvou skupinách.

Výskyt argyrofilních granul jsme při tomto hodnocení nebrali v úvahu jako průkaz intravitálního rozpadu leptospir.

Mimo relativně velký počet nálezů dubiόzních svědčí o nespolehlivosti výsledků, získaných impregnací, i to, že jediný případ očkovance (vakcína lyofilizovaná), u něhož byly leptospiry prokázány nativně, dal impregnačně výsledek negativní.

II.

Vakcina	Počet vyšetřených morčat	Nález		
		pozitivní	dubiózní (%)	negativní (%)
Karbolová	11	0	0 (0)	11 (100)
Formolová	10	0	1 (10)	9 (90)
Trypaflavinová	12	0	0 (0)	12 (100)
Chinozolová	11	0	0 (0)	11 (100)
Lyofilizovaná	3	0	1 (67)	2 (33)

Pozoruhodné je to, že procentuální výskyt pozitivních a dubiálních nálezů téměř odpovídá stupni imunogenní potence jednotlivých typů vakcín (Lebeda, 1959).

Ze dvou kontrolních morčat, která jediná přežila experimentální infekci, se jedno stalo leptospironosičem impregnačně prokázaným.

Dále bylo vyšetřeno 47 morčat, která přežila infekci leptospirami v pokusech se zjišťováním expirační doby vakcín (Lebeda, 1959). Výsledky jsou shrnuty v tabulce II.

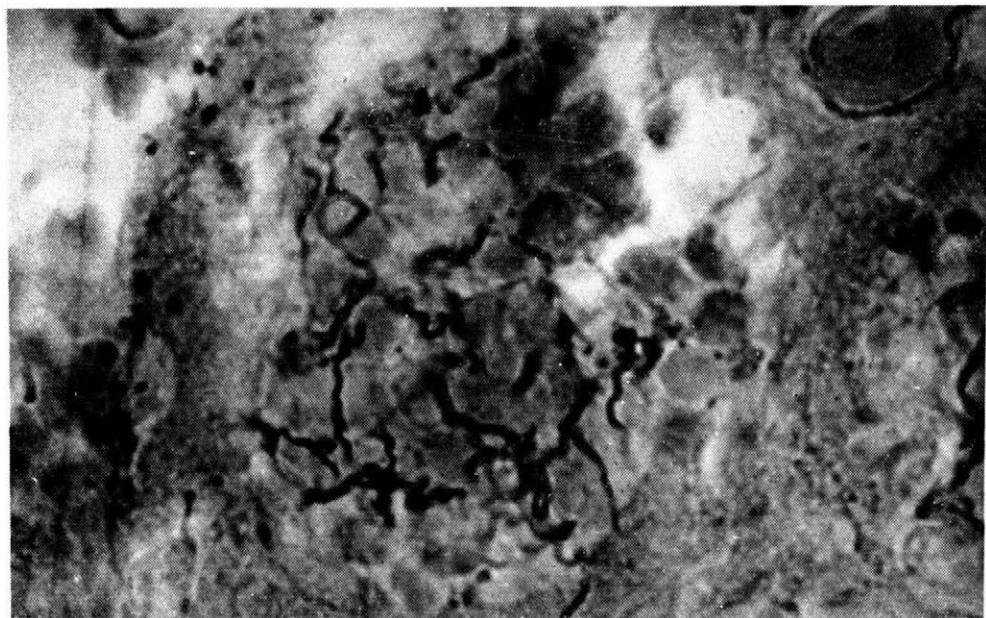
V nativních preparátech nebyly v zástinu nalezeny leptospiry ani v jednom případě.

Do poslední skupiny je zařazeno sedm morčat, usmrcených 18 dní po infekci. Morčata pocházejí z pokusu, v němž byla sledována otázka vlivu koncentrace tělového antigenu leptospir na imunogenní potenci vakcín (Lebeda, 1960). U všech těchto sedmi morčat byl nález leptospir v nativních preparátech v zástinu negativní, v impregnovaných preparátech byl v jednom případě dubiální, v druhém pozitivní.

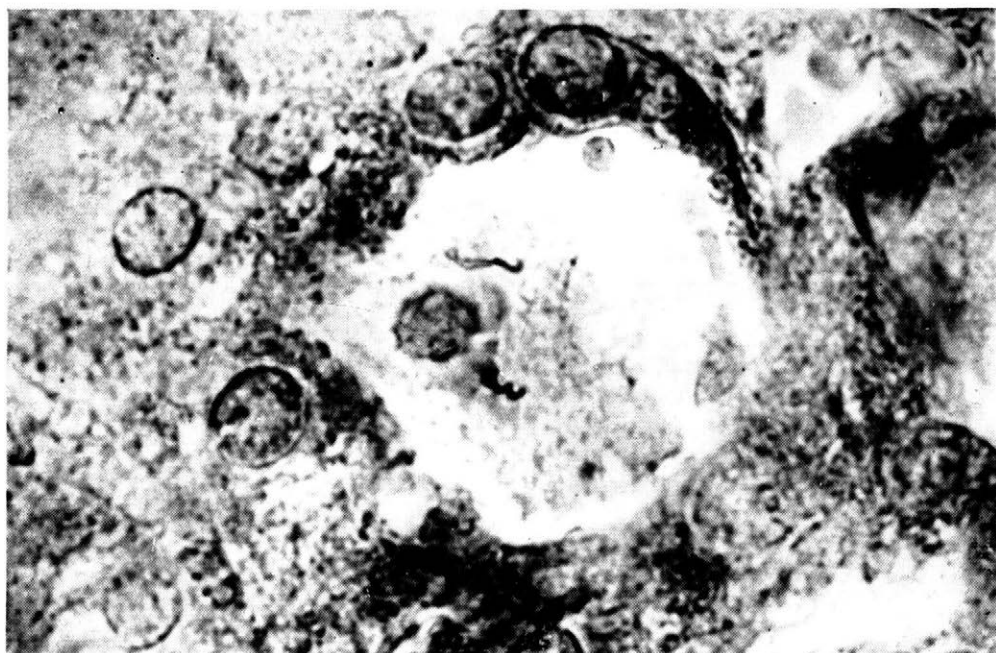
Diskuse a souhrn

Úvodem diskuse můžeme konstatovat, že výsledky vyšetřování ledvin impregnovaných stříbrem podle Levaditiho nás plně neuspokojily. Levaditiho metoda má a jistě bude mít i v budoucnosti značný význam v leptospirologii, neboť může přispět k odhalení leptospirózní etiologie nemocí. Přesvědčivým dokladem toho jsou u nás např. práce Lukešovy (1922, 1923), Jelínkův objev leptospir u vepřů (1949) i práce Gilkové (1956). Současně je však nutno zdůraznit, že častý výskyt artefaktů, které v některých případech věrně napodobují leptospiry morfologicky, vyžaduje velkou zkušenost a opatrnost vyšetřujícího, nemá-li dojít k chybným závěrům.

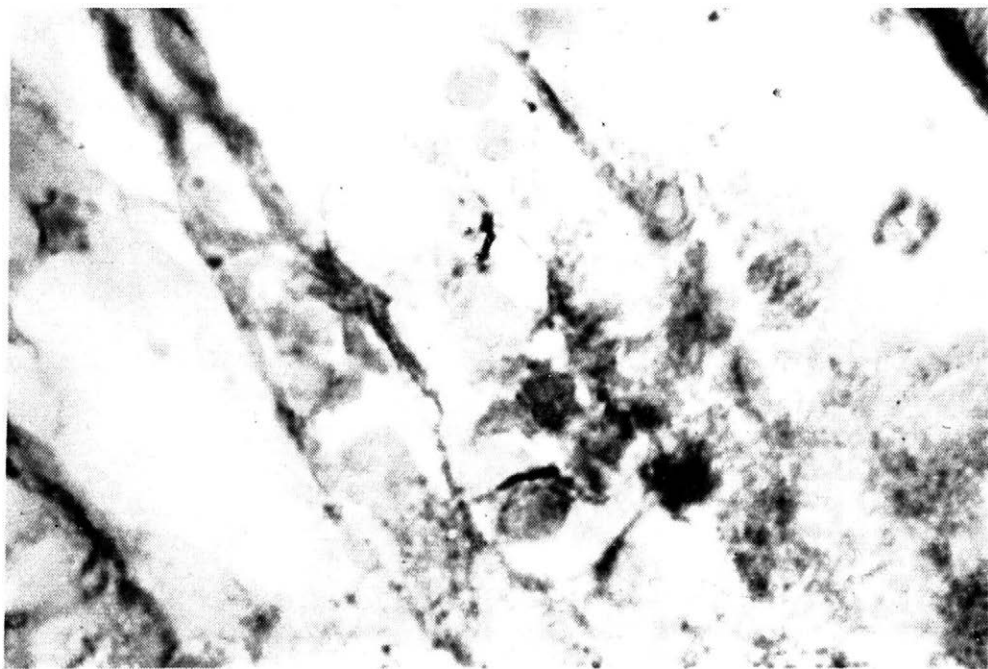
Tyto skutečnosti jsou pravděpodobně příčinou pozoruhodné nejednotnosti v názorech na hodnotu a diagnostickou použitelnost různých laboratorních vyšetřovacích metod v leptospirologii. Např. Pokorný a spol. (1957) kladou při hodnocení spolehlivosti jednotlivých metod na první místo reakci mikroaglutinace-lyze a stříbření ledvin, stejně jako Lubášenková a Novíková (1947), a zdůrazňují, že nejméně pozitivních případů se zachytí kultivací do půd a přímým vy-



1. Hnízdovitý růst leptospir v ledvině. Hrudkovité sraženiny stříbra v místě a okolí výskytu leptospir



2. Ojedinělé, typické leptospiry v ledvině



3. Suspektní argyrofilní vlákna v ledvině

šetřením ledvinové suspenze v zástinu. F r e u d i g e r (1955) naopak vyzdvihuje vyšetřování v zástinu a není spokojen s metodami stříbření, protože dávají méně kladných výsledků a jsou nejisté v hodnocení nálezů. K e l e n (1952) považuje L e - v a d i t i h o metodu za citlivější než mikroskopický průkaz leptospir v krvi nebo v orgánových suspenzích. Upozorňuje však na morfologickou odlišnost impregnovaných leptospir od živých leptospir. V y š e l e s k ý (1948) doporučuje metodu stříbření jako nejvýhodnější histologický průkaz leptospir. P a l a s k e (1931) považuje Levaditiho metodu za diagnosticky nejdůležitější. S c h u e f f n e r (1941) označuje za nejlepší metodu při vyšetřování chronických případů, kde dochází k hnízdotivému růstu leptospir v ledvinách, nativní vyšetření orgánové suspenze v zástinu, které staví před kultivaci do půd a biologický pokus. K m e t y a spol. (1956) považuje vyšetřování ledvinové suspenze v zástinu za metodu nedostatečně citlivou, podobně jako A m o s e n k o v á a P o p o v o v á (1954), které řadí přímý průkaz leptospir v zástinu až za metodu sérologickou a kultivaci do půd. Jako doklad rozdílného nazírání na hodnotu jednotlivých diagnostických metod v leptospirologii by bylo možno uvést ještě řadu dalších citací z domácí a zahraniční literatury. Názory se rozcházejí i v otázce doby fixace orgánových vzorků ve formalinu, kde např. H u g u e n i n a B o u r g e o s (1936) požadují pro dobrý výsledek impregnace několikaměsíční uložení tkáňových vzorků v 10% formalinu, L u k e š a J e l í n e k (1926) naopak zjistili, že preparáty ležící roky ve formalinu daly při stříbření špatné nebo úplně negativní výsledky.

Značné komplikace a obtíže při hodnocení impregnovaných preparátů způsobuje výskyt sraženin stříbra, argyrofilních granul a argyrofilního prachu, uložného často i extracelulárně. Buňky, obsahující argyrofilní granula, jsou označovány jako argyrocety. Jejich přítomnost považují někteří (např. L u k e š, S t e i - n e r aj.) za příznak vitálního intracelulárního rozpadu leptospir. V našich preparátech jsme výskytu argyrocetů nepřikládali důležitost, kterou jim připisují někteří autoři, a nepovažovali jsme je za obligátní specifický znak rozpadu leptospir. Bereme totiž v úvahu skutečnost, že afinita k solím stříbra není výhradní zvláštností leptospir. Adsorpci stříbra na povrch mikrobiálního těla je možno nalézt u celé řady banálních mikrobů, jejichž rozpadové produkty mohou být rovněž fagocytovány a dávají tak vznik argyrocetům. Z praxe impregnace orgánových vzorků je známo, že i nepatrná a namnoze i nekontrolovatelná změna chemismu v průběhu impregnace materiálu způsobuje někdy vypadávání drobných zrněk solí stříbra v buňkách, které pak imitují argyrocety. Dále je nutno uvážit, že vztah rozpadových produktů leptospir k solím stříbra se může měnit. Např. B e s s e - m a n s o v i a D e r o m o v i (1955) se nepodařilo postříbřit metodou Séquinovou granula z kultury *Lept. icterohaemorrhagiae*. Argyrofilie je obecně závislá na přítomnosti sulfhydrylových a disulfidických skupin a v menší míře na polysacharidech, obsažených v bílkovině (C h v a p i l, 1958). Proto považujeme souvislost výskytu argyrocetů — i argyrofilních granul vůbec — a leptospir za významnou jen tehdy, jsou-li současně nalezeny typické intaktní leptospiry v tomtéž nebo i jiném orgánu zvířete. Ze stejných důvodů posuzujeme velmi opatrně i útvary, které jsou velmi podobné leptospirám, ale nesplňují dokonale všechny znaky leptospir, zjištěné v kontrolních, notoricky pozitivních preparátech současně impregnovaných. Obezřetně posuzujeme i útvary, které se vyskytují jen v částech preparátu, kde i tkáň jeví nápadně vysokou afinitu k solím stříbra, zejména na okrajích řezů. Argyrofilii může totiž jevit celá řada vláknitých útvarů v ledvinách i v jiných orgánech (zbytky buněčných membrán a retikulární vlákna — F r e u d i g e r, 1955, fibrin a některé štěpné produkty kolagenu — C h v a p i l, 1958).

За nejjistější, i když časově a technicky značně náročný, způsob zjišťování leptospir v ledvinách nebo v jiných orgánech kadaverů můžeme označit kombinaci nativního vyšetření orgánové suspenze v zástinu s biologickým pokusem, kultivací do půd a impregnací vzorků orgánů Levaditiho metodou.

Literatura u autora

Диагностическая надежность метода импрегнации лептоспир в почках по Левадити

В настоящей работе автор решает проблему надежной диагностики лептоспир по методу импрегнации Левадити. Автор производит исследование надежности диагностических показателей по методу импрегнации лептоспир в связи с экспериментальной проверкой иммуногенного действия вакцин *Lept. icterohaemorrhagiae*.

Одновременно со взглядом, принятым рядом авторов, что присутствие лептоспир можно подтвердить в органах только в том случае, если смерть наступила в течение первой недели заболевания, а вскрытие животного было проведено непосредственно после его гибели, автор работы подчеркивает значение данных, установленных Римпау, который подтверждает выделение лептоспир в моче даже при наличии большого количества специфических антител в крови, а именно в течение нескольких месяцев, и устанавливает возможность существования нестерильного иммунитета (по Вышелевскому, 1960).

Автор попытался решить проблему лептоспиноносительства у вакцинированных животных, наряду с прочими методами также при помощи установления наличия лептоспир у вакцинированных животных по методу импрегнации. Автор пришел к заключению, что в процентном отношении установление положительных и сомнительных случаев наличия лептоспир в почках отвечает почти степени иммуногенной потенции отдельных типов вакцин.

В качестве наиболее надежного — хотя в техническом отношении и по времени значительно требовательного — способа определения наличия лептоспир в почках и в других органах трупов автор рекомендует комбинацию нативного исследования экранированной взвеси тканей органов с биологическим опытом, культивации и в питательных средах и импрегнацией проб органов по методу Левадити.

The diagnostical Reliability of the Levaditi's Method to impregnate Leptospirae in the Kidney

The paper deals with the problem of the reliability of the impregnation method for leptospirae after Levaditi for the diagnosis in connection with the experimental examination of the immunogene effect of leptospira icterohaemorrhagiae vaccines.

Contemporary of the opinions of several authors, that the leptospirae may be found by the impregnation method in the organs only, when death occurs during the first week of the disease and the autopsy is performed immediately after exitus of the animal, the paper supports the finding of Rimpau, who proved the elimination of leptospirae by the urine even in the presence of a great amount of antibodies in the blood, and that during several months, and demonstrates the possibility of a non sterile immunity (according to Vyšelevskij 1950).

The author tried to solve the problem of the leptospire carrier in vaccinated animals, among other methods also by the examination on leptospirae in vaccinated animals by impregnation methods. He arrived at the conclusion, that the percentual occurrence of positive and dubious leptospire findings in the kidneys corresponds nearly with the degree of the immunogenous potency of the different vaccine types.

The author recommends as the most secure — although rather time-consuming and exacting — way of establishing the leptospirae in kidneys and other organs of cadavers a combination of the native examination of the organ suspension in shading with a biological experiment, with cultivation of media and impregnation of the organ samples by Levaditi's method.

Citlivost *Vibria fetus* a *Vibria bubulus* na některá antibiotika in vitro

**Чувствительность *Vibria fetus* и *Vibria bubulus*
к некоторым антибиотикам in vitro**

**Die Empfindlichkeit von *Vibrio fetus* und *Vibrio bubulus* gegenüber einigen
Antibiotics in vitro**

MVDr. Jaroslav VRCHLABSKÝ, OVZ Havlíčkův Brod

Došlo dne 17. VIII. 1960

Úvod

Literatura o vibrióze, zvláště literatura zahraniční, je velmi rozsáhlá. Také otázkou citlivosti kmenů *Vibria fetus* (dále jen *V. f.*) na různá antibiotika se zabývala řada autorů.

Tak P r i e r (1) zjišťoval citlivost 4 kmenů *V. f.* na 7 různých antibiotik jednak v tekutých, jednak na tuhých médiích. Kmeny byly citlivé na terramycin a chloromycetin. Koncentrace 0,2 až 1,1 m. j., resp. gama antibiotika na 1 ml media tlumila růst zkoušených kmenů. U penicilinu, streptomycinu, aureomycinu a neomycinu byly výsledky pokusů nejednotné, podstatně se různily. Jeden z kmenů byl na příklad citlivý na 0,3 gama streptomycinu, naproti tomu druhý snášel koncentraci až 78 gama. Podobně reagovaly kmeny na penicilin, aureomycin a neomycin. Všechny kmeny byly relativně necitlivé na bacitracin a snášely koncentraci 16,6 až 100 m. j./ml media.

M o r g a n (2) testoval 45 kmenů *V. f.* na streptomycin a zjistil, že u většiny z nich byl inhibován růst koncentrací 0,5 až 20 gama/1 ml media, 6 kmenů však bylo prokazatelně zcela rezistentních.

V pokusech P a r e z o v ý c h a G u i l l o v ý c h (3) měl největší baktericidní účinnost na *V. f.* erythromycin a kombinace penicilinu s dihydrostreptomycinem.

P l a s t r i d g e a E a s t e r b r o o k s (cit. 4) izolovali *V. f.* ze vzorků ředěného semene, ke kterému bylo přidáno 10 000 m. j. penicilinu a 500 gama streptomycinu/1 ml. Totéž se podařilo A l b e r t s e n o v i při 1000 gama streptomycinu, M a c p h e r s o n o v i a F i s h o v i při 1000 m. j. penicilinu a 500 gama streptomycinu/1 ml. a L e n z o v i a S c h ö s s o v i (vše cit. 4) s kombinací 250 m. j. penicilinu, 250 gama streptomycinu a 50 m. j. polymyxin-B-sulfátu/1 ml.

Podle P a u f l e r a (4) koncentrace 2000 gama streptomycinu/1 ml potlačila úplně po jednohodinovém působení růst 4 kmenů *V. f.*, zatímco při 1000 gama jeden z kmenů vykazoval částečnou rezistenci.

Někteří autoři používali pak některá antibiotika, to je ta, která netlumila růst *V. f.* ke zhotovení elektivních půd pro záchyt *V. f.* z kontaminovaného materiálu, speciálně prepuciálních výplachů. K u z d a s a M o r s e (cit. 5) používali polotuhá media s polymyxin-B-sulfátem, bacitracinem a actidionem, P o w e r (5) tuhé půdy s polymyxin-B-sulfátem a brilantovou zelení, R o l l e (cit. 5) přidával do tuhých medií oxydovaný streptomycin, což se neosvědčilo H u b r i g o v i, později pak polymyxin-B-sulfát a azid sodný (6).

Materiál a metody

V naší práci jsme zkoušeli citlivost 10 kmenů *Vibrio bubulus* (dále jen *V. b.*) a 6 kmenů *V. f.* na 13, resp. 12 antibiotik — testován totiž streptomycin i didromycin — a to penicilin (čs.), streptomycin (čs.), a didromycin (franc.), chloramphenicol (ital.), ze skupiny oxytetracyklinové na terramycin (angl.), z tetracyklinové na tetracyklin (západoněm.), matromycin (U. S. A.) a hostacyclin (západoněm.), dále pak na ilotycin (U. S. A.) = erythromycin, bacitracin (franc.), neomycin (franc.), polymyxin-B-sulfát (angl.) a tyrothricin (franc.).

U jednotlivých antibiotik jsme používali tyto koncentrace na 1 ml kultivačního media: 5, 10, 25, 50, 100, 250 a 500 m. j. nebo gama, jen u bacitracinu pro vyšší cenu jsme použili v první a u některých kmenů i v druhé části pokusů maximální koncentrace 100 m. j./1 ml.

Jako kultivační medium jsme používali játrový bujon s 0,1 % agaru o pH 7,2, který jsme měli rozplněný ve zkumavkách po 10 ml. Při pokusech jsme postupovali tak, že jsme do každé zkumavky s půdou sterilně přenesli 0,4 ml třídenní vibriové kultury dobře narostlé v polotuhém mediu při 37° C. Po protřepání jsme přidávali do jednotlivých půd určité odpočítané množství předem naředěného antibiotika tak, abychom dostali jeho potřebnou koncentraci na 1 ml media. Po opětovném protřepání jsme půdy inkubovali při 37° C a růst vibríí jsme posuzovali mikroskopicky pomocí fázového kontrastu 4., 8. a 12. den a získané údaje jsme zanášeli do tabulek. Jedním křížkem (+) jsme označovali nálezy ojedinělých vitálních forem vibríí v některých zorných polích, dvěma křížky (++) nálezy ojedinělých vibríí v každém zorném poli, třemi (+++) nálezy několika vibríí v každém zorném poli a konečně čtyřmi (++++) nálezy víc jako 10 vitálních forem v každém zorném poli.

Souběžně s každým pokusem jsme zaváděli kontrolu, tj. medium inokulované tím kterým vibriovým kmenem bez přísady antibiotik.

Výsledky a diskuse

Pokusy jsme si rozdělili na dvě části. V první jsme zkoušeli účinnost všech 12, resp. 13 antibiotik — testován streptomycin a didromycin — a některých jejich kombinací na 2 kmeny *V. b.* a 2 kmeny *V. f.*, v druhé pak účinnost 4 antibiotik a některých jejich kombinací na 10 kmenů *V. b.* a 6 kmenů *V. f.*, z nichž většinu nám laskavě přenechal dr. K r á l.

Výsledky první části pokusů jsou zachyceny v tabulkách I a II. Pro přehlednost jsme všechny tabulky, tedy i č. III a IV, podstatně zjednodušili. Uvádíme jen zjištěný průměr citlivosti zkoušených kmenů při hodnocení růstu v polotekuté půdě až za 12 dní. Vypouštíme tedy hodnocení růstu 4. a 8. den a neuvádíme, hlavně v tab. III. a IV, jmenovitě všechny kmeny.

Z tabulky I je zřejmé, že nejcitlivěji reagovaly jak kmeny *V. b.*, tak i *V. f.* na chloramphenicol, matromycin i ilocytin, kdy již počáteční koncentrace 5 gama an-

KONCENTRACE ANTIBIOTIK	5g/jl/ml		10		25		50		100		250		500	
KMENY	VB	VF	VB	VF	VB	VF	VB	VF	VB	VF	VB	VF	VB	VF
PENICILIN	###	###	###	###	###	#	###	+	+	-	-	-	-	-
DIDROMYCIN	###	#	#	-	-	-	#	-	#	-	-	-	-	-
STREPTOMYCIN	###	###	###	#	###	-	#	-	-	#	-	#	-	-
CHLORAMPHENICOL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TERRAMYCIN	###	###	###	###	###	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TETRACYCLIN	###	-	###	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MATROMYCIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HOSTACYCLIN	###	+	###	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ILOTYCIN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BACITRACIN	###	###	###	###	###	###	###	###	#	###				
NEOMYCIN	###	###	###	-	###	-	#	-	-	-	-	-	-	-
POLYMYXIN	###	###	#	###	-	###	-	###	-	#	-	-	-	-
TYROTHRIN	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	#	#	#	-

- NEGATIVNÍ

+ V NĚKTERÝCH ZORNÝCH POLÍCH OJEDINĚLÁ VIBRIA

V KAŽDEM ZORNÉM POLI OJEDINĚLÁ VIBRIA

V KAŽDEM ZORNÉM POLI VÍCE VIBRIÍ

V KAŽDEM ZORNÉM POLI VÍCE NEŽ 10 VIBRIÍ

VB VIBRIO BUBULUS

VF VIBRIO FETUS

ZALOŽENÉ KONTROLY

tibiotika na 1 ml media zcela inhibovala růst kmenů. Velmi dobře tlumil též růst *V. f.* tetracyclin a hostacyclin, zatímco kmeny *V. b.* rostly po 8 a 12 dnech inkubace ještě při koncentraci 10 gama/1 ml.

K antibiotikům střední tlumivé schopnosti třeba řadit terramycin s bakterio-statickým účinkem 25, resp. 50 gama/1 ml a penicilin, který inhiboval růst kmenů v koncentraci 100 m. j./1 ml.

Velmi nejednotné výsledky jsme získali u streptomycinu a didromycinu, kdy např. koncentrace 25 gama/1 ml zcela tlumila růst, ale při vyšší koncentraci — 100 a 250 gama — se nám objevila u některých kmenů v půdě živě pohyblivá vibria obou typů.

Velmi zajímavé výsledky jsme zjišťovali u neomycinu a polymyxin-B-sulfátu.

Zatímco neomycin tlumil růst *V. f.* již v koncentraci 10 gama a *V. b.* až v koncentraci 50 až 100 gama na 1 ml, polymyxin-B-sulfát naproti tomu opačně téměř ve stejných koncentracích tlumil růst *V. b.* a dovoloval růst *V. f.*

Na bacitracin a zvláště na tyrothricin byla vibria obou typů značně rezistentní o dobře snášela koncentrace u bacitracinu 100 m. j. a u tyrothricinu dokonce i 500 gama/1 ml.

Z tabulky II vyplývá, že kombinace tyrothricinu a bacitracinu — 10 a 10, resp. 25 a 25 gama/m. j./1 ml — růst vibrií neovlivňovala, kombinace tyrothricinu nebo bacitracinu s neomycinem a tyrothricinu s bacitracinem a neomycinem poněkud inhibovala růst *V. f.* a neutlumila růst *V. b.* zatímco naopak tyto kombinace s polymyxin-B-sulfátem tlumily růst *V. b.* a neovlivňovaly růst *V. f.* Trojkombinace tyrothricinu, streptomycinu, neomycinu, polymyxinu a terramycinu téměř zcela růst obou typů vibrií inhibovaly.

II.

KOMBINACE	VB	VF
T 10 B 10	###	###
T 25 B 25	###	###
T 10 N 5	###	+
T 25 N 5	###	-
T 25 N 10	###	-
T 10 PBS	###	###
T 25 PBS 5	###	###
T 25 PBS 10	+	###
B 10 N 5	###	###
B 10 PBS 5	###	###
T 10 B 10 N S	###	+
T 10 B 10 PBS 5	+	###
T 10 STM 2 N 5	-	-
T 10 STM 2 PBS 5	-	-
T 10 N 5 TE 2	###	-
T 10 PBS 5 TE 2	+	###
T 25 STM 2 N 2	-	-
T 25 STM 2 PBS 2	-	-

T TYROTHRICIN

B BACITRACIN

N NEOMYCIN

PBS POLYMYXIN-B-SULFAT

STM STREPTOMYCIN

TE TERRAMYCIN

ZALOŽENÉ KONTROLY

III.

BACITRACIN	5j(g)/ml	10	25	50	100	250	500
VB	≡	≡	≡	≡	+	-	-
VF	≡	≡	≡	≡	≡	-	-
NEOMYCIN							
VB	≡	≡	≡	+	-	-	-
VF	≡	+	-	-	-	-	-
POLYMYXIN							
VB	≡	≡	-	-	-	-	-
VF	≡	≡	≡	≡	-	-	-
TYROTHRINICIN							
VB	≡	≡	≡	≡	≡	≡	↓
VF	≡	≡	≡	≡	≡	≡	↓

≡ ZALOŽENÉ KONTROLY
LEGENDA VIZ TABULKA 1, 2

Výsledky dosažené v první části pokusů se plně kryjí s výsledky uváděnými v citované literatuře. V souhlase s údaji P a r e z o v ý m i a G u i l l o v ý m i (3) jsme zjistili, že ilotycin = erythromycin již v malé koncentraci tlumí růst vibriových kmenů. Kromě toho jsme prokázali vynikající baktericidní schopnost ještě u matromycinu a chloramphenicolu, dobrou u tetracyclinu a hostacyclinu. Podobně jako M o r g a n (2) a P r i e r (1) a ještě celá řada jiných autorů (cit. 4) jsme obdrželi nejednotné výsledky u streptomycinu. P r i e r (1) udává, že jím testované 4 kmeny *V. f.* byly citlivé na terramycin. Podle našich výsledků však kmeny rostly dobře v koncentraci 10 gama/1 ml, *V. b.* ještě v koncentraci 25 gama. V souhlase s literárními údaji jsme zjistili značnou rezistenci vibriových kmenů na bacitracin, *V. f.* na polymyxin-B-sulfát a *V. b.* na neomycin. Kromě toho byly v našich pokusech oba typy vibrí výrazně rezistentní na tyrothricin a rostly dobře i v koncentraci 250 gama/ml.

Kombinace tyrothricinu a bacitracinu v nižších koncentracích růst vibrí obou typů neinhibovaly, půdy s přísadou těchto antibiotik v kombinaci s neomycinem nebo polymyxin-B-sulfátem dokonce vykazovaly diferenciatní vlastnosti.

Údaje K u z d a s e, M o r s e, P o w e r a (5) a R o l l e h o (6) o možnosti využití bacitracinu a polymyxin-B-sulfátu ke zhotovení elektivních půd na kultivaci *V. f.* jsou proto zcela opodstatněné a lze od nich očekávat velmi dobré výsledky.

Trojkombování antibiotik s obsahem streptomycinu nebo terramycinu měly daleko větší tlumivý účinek než sumované jednotlivé komponenty. Zde se účinek, zvláště u streptomycinu, násobil.

Do druhé části pokusů jsme si vybrali 4 antibiotika, která měla nejmenší tlu-

mivý účinek na vibriové kmeny, a to bacitracin, neomycin, polymyxin-B-sulfát a tyrothricin. V tabulce III jsou schematicky zachyceny výsledky testace těchto antibiotik. Testovali jsme celkem 10 kmenů *V. b.* a 6 kmenů *V. f.*, z toho pak 4 kmeny *V. f.* jsme testovali dvakrát, abychom také dosáhli celkového počtu 10 kmenů *V. f.* v pokuse. Kombinace tyrothricinu s bacitracinem, neomycinem a polymyxin-B-sulfátem jsme testovali na 10 kmenech *V. b.* a 5 *V. f.*, výsledky udává opět schématicky tabulka IV.

Z výsledků na větším počtu kmenů lze vyčíst, že zvlášť výrazně je u obou typů kmenů vyznačena rezistence na tyrothricin, kde velmi dobrého růstu bylo dosaženo ještě v koncentraci 250 gama/1 ml. U bacitracinu možno označit za hraniční koncentraci 50 m. j./1 ml.

IV.

KOMBINACE	VB	VF
T 25 B 10	+++	+++
T 25 N 5	+++	—
T 25 PBS 10	+	+++

+++ ZALOŽENÉ KONTROLY

LEGENDA VIZ TABULKA 1,2

media. Neomycin inhiboval růst *V. f.* v koncentraci 10 až 25 gama, polymyxin-B-sulfát *V. b.* v koncentraci 10 m. j. na 1 ml.

Typického růstu dosahovaly vibriové kmeny v půdách s přídatkem bacitracinu v koncentraci 25 m. j., tyrothricinu v 50 až 100 gama, neomycinu *V. b.* v 10 až 25 gama a polymyxin-B-sulfátu *V. f.* v 10 až 25 m. j./1 ml.

Z kombinací (tab. IV) pro růst vibriových kmenů bylo nejvhodnější složení 25 gama tyrothricinu a 10 m. j. bacitracinu, diferenciačně pro *V. g.* 25 gama tyrothricinu s 5 gama neomycinu a pro *V. f.* 25 gama tyrothricinu s 10 m. j. polymyxin-B-sulfátu na 1 ml půdy.

Na základě výsledků dosažených v druhé části pokusů (tab. III. a IV) lze tedy říci, že pro eventuální zhotovení elektivních polotuhých medií na záchyt *V. f.* z kontaminovaného materiálu jako nejvhodnější se teoreticky jeví tato sada půd:

1. játrový bujón s 0,1 % agaru + 50 gama tyrothricinu
2. játrový bujón s 0,1 % agaru + 25 m. j. bacitracinu
3. játrový bujón s 0,1 % agaru + 25 g. tyrothr. + 10 m. j. bacitr.
4. játrový bujón s 0,1 % agaru + 25 g. tyrothr. + 10 m. j. polymyxinu
5. játrový bujón s 0,1 % agaru jako kontrola.

Půd s neomycinem a polymyxin-B-sulfátem by bylo možno použít i jako diferenciačních.

Souhrn

V práci byla zjišťována citlivost kmenů *Vibrio fetus* a *Vibrio bubulus* na některá antibiotika *in vitro* v polotuhých médiích. Na základě dosažených výsledků lze říci, že nejcitlivěji reagovaly vibriové kmeny obou typů na chloramphenicol, matromycin i ilotycin, kdy již koncentrace 5 gama, resp. m. j. na 1 ml media zcela inhibovala jejich růst.

Velmi citlivě reagovaly kmeny též na kombinace antibiotik se streptomycinem.

В пудах с тетрациклином и хлорациклином росло *V. b.* еще в концентрации 10 г/мл, *V. f.* было в росте zcela ингибировано уже концентрацией 5 г/мл.

Средне чувствительны были вибрионы на пеницилин и тетрациклин, где се угнетение достигало в концентрациях 25 до 100 г/мл, соответственно, на 1 мл среды.

V. f. было кроме того чувствительно на неомыцин, относительно нечувствительно на полимиксин-В-сульфат, *V. b.* напротив тому было чувствительно на полимиксин-В-сульфат и относительно нечувствительно на неомыцин.

Значительную резистентность показывали штаммы обоих типов на бацитрацин и особенно на тироцилин. В тироцилине был достигнут очень хороший рост в концентрации 250 г/мл, у бацитрацина же отметить за граничную концентрацию 50 м.г./мл.

Из комбинаций для роста вибрионных культур было наиболее подходящим сочетание 25 г/мл тироцилина с 10 м.г. бацитрацина, дифференциально для *V. b.* 25 г/мл тироцилина с 5 г/мл неомыцина и для *V. f.* 25 г/мл тироцилина с 10 м.г. полимиксин-В-сульфата на 1 мл среды.

Для возможной заготовки селективных полужидких сред на захват *V. f.* из контаминированного материала можно рекомендовать такую смесь сред:

1. яичный бульон с 0,1 % агара + 50 г/мл тироцилина
2. яичный бульон с 0,1 % агара + 25 м.г. бацитрацина
3. яичный бульон с 0,1 % агара + 25 г/мл тироцилина + 10 м.г. бацитрацина
4. яичный бульон с 0,1 % агара + 25 г/мл тироцилина + 10 м.г. полимиксина
5. яичный бульон с 0,1 % агара как контроль.

Среды с неомыцином или полимиксин-В-сульфатом бы можно было использовать также как дифференциальные.

Литература

1. J. E. Prier: The in vitro effect of several antibiotics against *Vibrio fetus*. Vet. Med., 46 (1951): 358. — 2. W. J. B. Morgan: The sensitivity of *Vibrio fetus* to streptomycin and the emergence of resistant mutants. The Journ. Gen. Mikrob. 19 (1958): 517. — 3. Perez, B. Guillo: Die Wirkung von antibiotischen Mitteln auf *Bullensperma*, *V. fetus* und *Trichomonas fetus*. Recueil méd. vét. Paris, 134 (1958): 157. Ref. DTW, 66 (1959): 420. — 4. S. Paufler: Untersuchungen „über die Wirksamkeit antibiotischer Zusätze auf die Bakterien der Samenflora im verdünnten *Bullensperma*. DTW, 67 (1960): 63. — 5. Power: A note on the isolation of *Vibrio fetus* from bull semen. The Vet. Rec., 70 (1958): No. 11. — 6. M. Rolle: Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre. F. Enke, Stuttgart, 1958. — 7. M. Herold: Antibiotika. ČSAV, Praha 1957.

Чувствительность *Vibrio fetus* и *Vibrio bubulus* к некоторым антибиотикам in vitro

Работа посвящена исследованию чувствительности штамма *Vibrio fetus* и *Vibrio bubulus* к некоторым антибиотикам in vitro в полужидких средах. На основании полученных результатов можно считать, что наибольшую чувствительность проявили штаммы обоих вышеуказанных типов к хлорамфениколу, метронидазолу, и эритромицину, когда уже концентрация 5 г/мл или ME на 1 мл среды полностью тормозила их рост.

Очень чувствительно реагировали штаммы также на комбинацию антибиотиков со стрептомицином.

В средах с тетрациклином и хлорациклином *V. b.* рос еще при концентрации 10 г/мл, рост *V. f.* был уже полностью заторможен при концентрации 5 г/мл.

Вибрионные штаммы были средне чувствительны к пенициллину и тетрациклину, тормозящее действие которых проявлялось при концентрациях от 25 до 100 г/мл или ME на 1 мл среды.

Vibrio fetus был кроме того чувствителен к неомицину, относительно нечувствителен к полимиксин-В-сульфату, *Vibrio bubulus*, в противоположность этому, был чувствителен к полимиксин-В-сульфату и относительно нечувствителен к неомицину.

Значительной стойкостью обладали штаммы обоих типов к бацитрацину и в особенности к тиротрицину. В тиротрицине был достигнут весьма хороший рост при концентрации 250 гамма/1 мл, у бацитрацина предельной концентрацией можно считать 50 МЕ/1 мл.

Из комбинаций, наиболее благоприятных для роста вибрионовых штаммов, наиболее пригодным было соединение 25 гамма тиротрицина с 10 МЕ бацитрацина, дифференцировано для *V. b.* 25 гамма тиротрицина с 5 гамма неомицина, а для *V. f.* 25 гамма тиротрицина с 10 МЕ полимиксин-В-сульфата на 1 мл среды.

Для возможного приготовления элективных полуплотных сред с целью выявления *V. f.* из контаминированного материала можно рекомендовать следующие питательные среды:

1. печеночный бульон с 0,1 % агара + 50 гамма тиротрицина
2. печеночный бульон с 0,1 % агара + 25 МЕ бацитрацина,
3. печеночный бульон с 0,1 % агара + 25 гамма тиротрицина + 10 МЕ бацитрацина,
4. печеночный бульон с 0,1 % агара + 25 гамма тиротрицина + 10 МЕ полимиксина,
5. печеночный бульон с 0,1 % агара, как контрольную среду.

Питательные среды с неомицином или полимиксин-В-сульфатом можно было бы применять также в качестве дифференцирующих питательных сред.

Die Empfindlichkeit von *Vibrio fetus* und *Vibrio bubulus* gegenüber einigen Antibiotics in vitro

Die Arbeit befaßt sich mit der Ermittlung der Empfindlichkeit von Stämmen des *Vibrio fetus* und *Vibrio bubulus* gegenüber einigen Antibiotika in vitro in halb festen Nährböden. Auf Grund der erzielten Ergebnisse kann man sagen, daß die Stämme beider Typen am empfindlichsten auf Chloramphenicol, Matromyzin und Ilotyzin reagierten, von denen schon Konzentrationen von 5 gamma, resp. IE auf 1 ml ihr Wachstum vollständig unterbanden.

Sehr empfindlich reagierten die Stämme auch auf Kombinationen der Antibiotika mit Streptomycin.

Auf Nährböden mit Tetrazyklin und Hostazyklin wuchs *V. b.* noch bei einer Konzentration von 10 gamma/1 ml, *V. f.* stellte den Wuchs aber schon bei einer Konzentration von 5 gamma/1 ml ein.

Eine mittlere Empfindlichkeit wiesen die Vibriostämme gegenüber Penizillin und Terramycin auf, bei denen sich die hemmende Wirkung auf das Wachstum in Konzentrationen von 25 bis 100 gamma, resp. IE pro 1 ml des Mediums einstellte.

V. f. war außerdem empfindlich gegenüber Neomycin, relativ unempfindlich gegenüber Polymixin-B-sulfat, *V. b.* war dagegen empfindlich gegenüber Polymixin-B-sulfat und relativ unempfindlich gegenüber Neomycin.

Eine erhebliche Resistenz wiesen die Stämme beider Typen gegenüber Bacitrazin und besonders gegenüber Tyrothrizin auf. Bei Tyrothrizin war gutes Wachstum in einer Konzentration von 250 gamma/1 ml, bei Bacitrazin können als Grenzkonzentration 50 IE/1 ml gelten.

Für das Wachstum der Vibriostämme war die günstigste Zusammensetzung 25 gamma Tyrothrizin mit 10 IE Bacitrazin, zur Differenzierung von *V. b.* 25 gamma Tyrothrizin mit 5 gamma Neomycin und von *V. f.* 25 gamma Tyrothrizin mit 10 IE Polymixin-B-sulfat pro 1 ml Medium die geeignetste Zusammensetzung.

Für die Herstellung elekativer halbfester Nährböden zur Erfassung von *V. f.* aus kontaminiertem Material ist diese Serie zu empfehlen:

1. Leberbouillon + 0,1 % Agar + 50 gamma Tyrothrizin,
2. Leberbouillon + 0,1 % Agar + 25 IE Bacitrazin,
3. Leberbouillon + 0,1 % Agar + 25 gamma Tyrothrizin + 10 IE Bacitrazin,
4. Leberbouillon + 0,1 % Agar + 25 gamma Tyrothrizin + 10 IE Polymixin,
5. Leberbouillon + 0,1 % Agar als Kontrolle.

Nährböden mit Neomycin oder Polymixin-B-sulfat können als Differentialnährböden verwendet werden.

- Mrva V.: Příspěvek k etiologii infekční žloutenky ve velkovýkrmnách a experimentální vyvolání leptospirosis icterogenes u vepřů
 Этиология инфекционной желтухи в крупнооткормочных пунктах и экспериментальный вызов *leptospirosis icterohaemorrhagica* у свиней
 Contribution to the Aetiology of infectious Icterus in fattening Establishments and the experimental Induction of Leptospirosis icterohaemorrhagiae in Pigs 469
- Lebeda M.: Diagnostická spolehlivost Levaditiho metody impregnace leptospir v ledvinách
 Диагностическая надежность метода импрегнации лептоспир в почках по Левадिति
 The diagnostical Reliability of the Levaditi's Method to impregnate Leptospire in the Kidney 479
- Vrchlabský J.: Citlivost *Vibria fetus* a *Vibria bubulus* na některá antibiotika in vitro
 Чувствительность *Vibria fetus* и *Vibria bubulus* к некоторым антибиотикам in vitro
 Die Empfindlichkeit von *Vibrio fetus* und *Vibrio bubulus* gegenüber einigen Antibiotics in vitro 485

U p o z o r ň u j e m e

na číslo 7 SBORNÍKU ČSAZV — VETERINÁRNÍ MEDICÍNA,

které bude obsahovat tyto práce:

MVDr. L. Rossi: Současná sdružená imunizace proti července a moru vepřů.

MVDr. M. Pavlas: Účinnost některých dezinfekčních prostředků na myc. tuberculosis var. bovis.

MVDr. J. Hojovec: Skryté formy sípavky prasat v rentgenovém obraze.

MVDr. J. Holec: O biologickém průkazu tetracyklínových antibiotik v potravinách živočišného původu.

Doc. J. Dražan, B. Šrubař, J. Holec: Účinnost aerosolu chlor-tetracyklínu u prasat a skotu.

MVDr. J. Holec: O stabilitě a rozdělení chlortetracyklínu ve tká-ních hospodářských zvířat.

MVDr. M. Brož: Hladina vitamínu A a karotenu v játrech kuřat po podávání některých zdrojů vitamínu A.

B. Klimeš, P. Šrajbr: Tlumení ektoparazitů drůbeže plynová-ním Lindafumem.

MVDr. A. Piskač: Elektroferetické vyšetření krevního séra koní hypermunizovaných proti tetanu.

MVDr. J. Černohous: Experimentální použití superdepotního penicilinového preparátu Pendeponu při bakteriálním zánětu pán-vičky ledvinné.

Sborník ČSAZV — VETERINÁRNÍ MEDICÍNA č. 7 stojí Kčs 10,— a můžete si jej objednat u:

Československé akademie zemědělských věd,

Praha 2, Slezská 7,

Poštovního novinového úřadu,

Brno, tř. Obránců míru 2.