

SBORNÍK
ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

*Živočišná výroba
a veterinární
medicina*

8

ROČNÍK XXVIII — PRAHA, SRPEN 1955

CENA 10 Kčs

Předseda redakční rady:
Председатель редакционной коллегии:
Head of the Editing Circle:

Dopisující člen ČSAZV Prof. MVDr Vincenc Jelínek

Redakční rada:
Редакционная коллегия:
Editing Circle:

V. Hálek, *dopisující člen ČSAZV Dr Ing. J. Herzig, gen. MVDr Vl. Chládek, doc. Dr Ing. J. Kopecký, akademik K. Koubek, prof. Dr Ing. J. Podhradský, Ing. J. Kraitr, dopisující člen ČSAZV Dr Ing. J. Smerha.*

Vedoucí redaktor:
Главный редактор:
The Editor-in-Chief:
Antonín Cicvárek

Sborník ČSAZV řada Živočišná výroba a veterinární medicína vychází měsíčně. Uveřejňuje výsledky vědecko-výzkumných prací a kritické přehledy o pokroku zemědělské vědy z oboru živočišné výroby a veterinární medicíny. Celoroční předplatné 120 Kčs, jednotlivá čísla 10 Kčs. Vydavatel: Československá akademie zemědělských věd. Redakce a administrace: Praha XII, Slezská 7, telefon 575-41, 577-51-5. Expedice: Praha II, Václavské nám. 47, telefon 23-53-41—9.

Сборник ЧСАСХН серия Животноводство и ветеринарная медицина выходит ежемесячно. Публикует результаты научно-исследовательских работ и критические обзоры о прогрессе сельскохозяйственной науки в области животноводства и ветеринарной медицины. Годовая подписка 120 крон, отдельный номер 10 крон. Издатель: Чехословацкая академия сельскохозяйственных наук. Редакция и администрация: Прага XII, Слезска 7, телефон 575-41, 577-51—5. Экспедиция: Прага II, Вацлавская пл. 47, телефон 23-53-41—9.

The Annals of the CAAS the Series Animal Production and Veterinary appear monthly. They publish the results of the scientific and research works and critical reviews of animal production and veterinary. The annual subscription rate 120 Kčs, single copies 10 Kčs. Publisher: The Czechoslovak Academy of Agricultural Sciences. Editorial and executive offices: Praha XII, Slezská 7, tel. num. 575-41, 577-51-5. Publication office: Praha II, Václavské nám. 47, tel. n. 23-53-41—9. A - 19146

Biochemické studie viru slintavky a kulhavky

(Sledování hladiny fibrinogenu po infekci virem slintavky a kulhavky)

Биохимическое изучение вируса ящура I.

Наблюдение за количеством фибриногена после инфекции вирусом ящура

Biochemische Studien des Maul- und Klauenseuche Virus I

Dr. G. PETR

Bioveta n. p., Terezín

Došlo dne 15. III. 1955

Po infekci a během následující imunisace dochází k nápadným změnám v chování hladin různých složek krevní plasmy. Tak bylo zjištěno, že po infekci (3, 4) a vakcinaci (6) virem slintavky a kulhavky nastávají nápadné změny v hladinách mukoproteinů, albuminů, gamma-globulinů i celkových serových bílkovin. Tyto změny byly pozorovány ve větším či menším měřítku také při jiných infekčních onemocněních. Hlavně se tu setkáváme se sledováním změn gamma-globulinů (1, 5), které jako nositelé protilátek s přibývajícím imunitou zvyšují i svou hladinu.

Dosud jsme se však nesetkali s případem, kdy by byla také soustavně sledována hladina fibrinogenu, ačkoliv je známo, že při akutní infekci je hladina fibrinogenu vyšší. Při zpracovávání krve zvířat v různých dobách po infekci virem slintavky a kulhavky nám byla nápadná srážlivost krve, která byla v první fázi imunizačního procesu mnohem větší než v době pozdější. To nás vedlo k domněnce, že se bude pravděpodobně během imunisace měnit i hladina fibrinogenu. V této práci jsme se tedy zabývali sledováním fibrinogenu v hovězí plasmě po infekci virem slintavky a kulhavky.

Materiál a metodika

K pokusům bylo použito nevakcinovaných, zdravých 12 kusů hovězího dobytka, ve stáří více než 2 roky, váhy 400—500 kg. Infekce byla provedena natřením jazyka hadříkem, namočeným do suspense viru. Používalo bylo zásadně Vallée 0^c typu viru slintavky a kulhavky titru řádu 10⁻⁷.

Klinický průběh onemocnění byl vesměs velmi těžký s příznačnou vysokou horečkou, počínající již v nejranějším stadiu infekce.

Odběry byly prováděny téměř každodenně po dobu 32 dní po infekci. Plasma byla získávána z oxalátové krve následujícím způsobem: do 100 ml centrifugační zkumavky byly napipetovány 3 ml 30 % šťavelanu drasel-

ného a za občasného otáčení vysušeny při teplotě asi 50—60° C. Štavelan se vyloučil ve formě drobných krystalků na stěnách nádoby. Do každé takové nádoby pak bylo odebráno 100 ml krve a zamícháno, aby se krystalky rozpustily. Krev pak byla odstředěna a plasma stažena pipetou. Část plasmy byla zpracována ihned, část zatavena do ampulek a uložena při —25° C. V případě hovězí krve bylo použito mnohem většího množství oxalátu než tomu jsme zvyklí při odběrech plasmy lidské proto, že hovězí krev i zdravých zvířat obsahuje mnohem větší množství fibrinogenu, a tím více pak zvířat po infekci, kdy je obsah fibrinogenu více než třikrát vyšší než u lidské plasmy.

Stanovení fibrinogenu bylo prováděno adaptací běžné klinické metody, uváděné H o ř e j š í m (2). 0,4 ml plasmy se zředí fyziologickým roztokem na 20 ml, přidá se 0,5 ml 2,5 % chloridu vápenatého a doplní do 25 ml opět fyziologickým roztokem. Roztok se zamíchá a nechá stát přes noc v lednici. Vytvořená síťka nerozpustného fibrinu se sbalí přidáním kapky oktanolu a protřepáním, pak se odfiltruje a sesbírá na filtru otavenou skleněnou tyčinkou v kuličku, která se obvyklým způsobem spaluje s 0,5 ml koncentrované H_2SO_4 sine N za občasného přidání peroxidu vodíku k urychlení mineralisace.

Zmineralisovaný dusík se při přesnější práci destiluje v mikrokjedahlově přístroji a uvolněný čpavek se chytá do kyseliny borité (5 ml nasyceného roztoku kyseliny borité plus 5 ml destilované H_2O) a titruje n/70 HCl na Tashiro indikátor. Výsledná spotřeba n/70 HCl, zmenšená o spotřebu ve slepé zkoušce, pak dělena 32 udává přímo procento fibrinogenu ve vzorku.

Část experimentální

Podle údajů P e t r a a B o h á č e (3) počínají albuminy klesat 5. dne po infekci a k maximálnímu poklesu dochází 16.—19. dne po infekci. Gamma-globuliny se počínají zvedat 8.—11. dne a dosahují maxima asi 3 neděle po infekci. Mukoproteiny v seru se pak počínají zvedat asi 3. dne po infekci a jejich nejvyšší hladina byla zjištěna mezi 6. a 9. dnem po infekci.

Fibrinogen se proti těmto složkám krevní plasmy chová zcela odlišným způsobem. Pro lepší přehlednost byly výsledky stanovení sestaveny v tab. 1, kde je zvláště dobře patrný pohyb fibrinogenu v procentech bílkoviny v plasmě, který kolísá od 0,45 % až do 1,73 %. Je zde patrný vzestup hladiny fibrinogenu již záhy po infekci, a to v mnoha případech již 1. dne po infekci. Odtud pak strmě stoupá až do 7. dne po infekci, kdy byly u všech typických případů zjištěny hodnoty nejvyšší. Odtud hladina více či méně pomalu klesá. Na konci pokusného období, t. j. 32 dní po infekci, jsou výsledky poněkud nesourodé. U některých zvířat hladina fibrinogenu dosáhla hodnot zvířat zdravých, u jiných byla vyšší či dokonce nižší. Vcelku však nutno poznamenat, že u všech případů se jeví znatelné maximum 7. dne po infekci.

Zcela výjimečně se chovala zvířata č. 7 a 12, u nichž se hladina fibrinogenu od 1. dne po infekci postupně zvyšovala téměř až na konec pokusného období, kdy stále ještě činila více než 200 % hodnot zvířat zdravých.

Procentické vyjádření získaných hodnot, vztažených na hodnotu fibrinogenu u zvířete zdravého jako na základ, rovnající se 100 %, je nejlépe vidět na obr. 1 a 2.

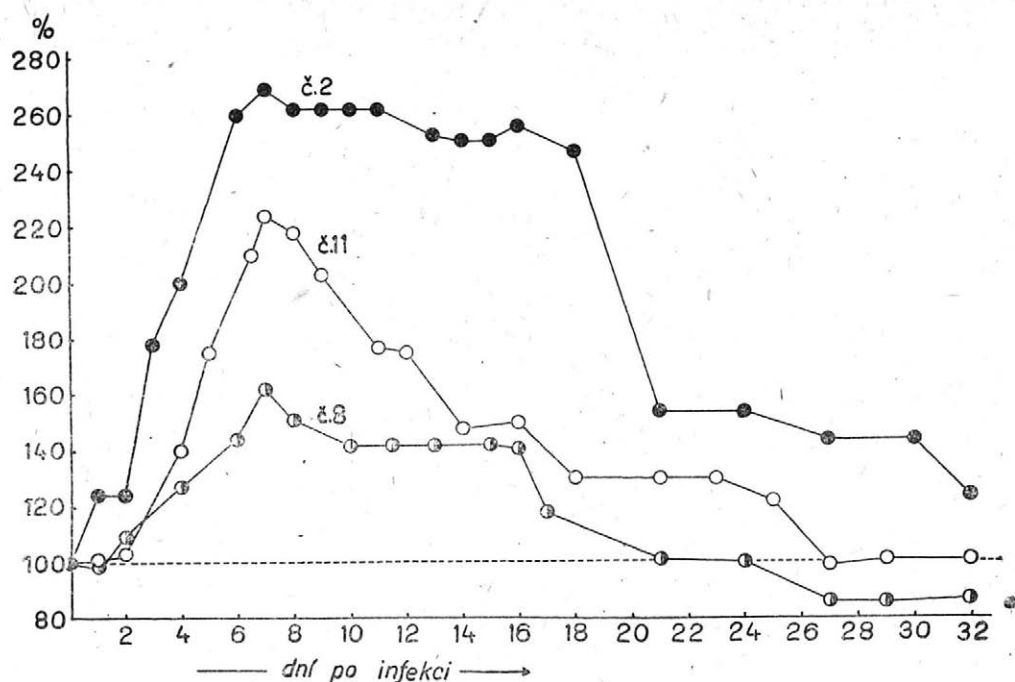
Tab. 1. Vliv infekce virem slintavky a kulhavky na hladinu fibrinogenu. (V levém sloupci u každého zvířete uvedeno procento fibrinogenu v plasmě, v pravém sloupci jsou uvedena relativní procenta, vztažená na základní hodnotu fibrinogenu u zvířete před infekcí, rovnající se 100 %).

Табл. 1. Влияние инфекции вирусом ящура на уровень фибриногена. (В левом столбце у каждого животного указывается процент фибриногена в протоплазме, в правом столбце приведен относительный процент, относящийся к исходному уровню фибриногена у животного до инфекции; это количество принято за 100 %.)

dny po injekci	zvíře č.											
	2		5		6		10		3		12	
	%	rel. %	%	rel. %	%	rel. %	%	rel. %	%	rel. %	%	rel. %
Z	0,55	100	0,70	100	0,72	100	0,63	100	0,46	100	0,54	100
1	0,68	124	0,68	97	0,72	100	0,66	105	0,49	106	0,61	113
2	0,68	124	0,72	103	0,75	104	0,69	109	0,49	106	0,66	122
3	0,98	178	0,87	124	1,09	151	—	—	—	—	—	—
4	1,11	200	—	—	1,14	159	0,93	148	0,75	163	1,12	207
5	—	—	1,17	167	—	—	1,12	178	0,86	187	1,18	219
6	1,43	260	1,30	186	1,27	177	—	—	1,01	220	—	—
7	1,47	269	1,33	190	1,35	188	1,33	211	1,10	239	1,25	232
8	1,44	262	1,22	174	1,20	167	1,29	205	1,02	222	1,31	243
9	1,44	262	—	—	1,12	156	1,12	178	1,01	220	1,34	248
10	1,44	262	1,12	160	1,10	153	—	—	1,02	222	1,58	293
11	1,44	262	1,06	152	1,05	146	1,13	180	0,98	213	1,69	313
12	—	—	0,96	137	—	—	1,11	176	0,98	213	—	—
13	1,39	253	0,89	127	—	—	—	—	—	—	1,65	306
14	1,38	251	—	—	1,00	139	1,06	168	0,95	206	—	—
15	1,38	251	0,83	119	1,00	139	—	—	—	—	1,52	282
16	1,41	256	—	—	1,02	142	0,92	146	0,90	196	1,49	276
18	1,36	247	0,89	127	1,02	142	0,90	143	0,90	196	1,66	307
21	0,85	154	0,89	127	1,10	153	0,83	132	0,85	185	1,59	294
24	0,85	154	0,77	110	1,05	146	0,83	132	0,85	185	1,73	320
27	0,79	144	0,75	107	0,85	118	0,71	113	0,60	130	—	—
30	0,79	144	0,65	93	0,82	114	0,64	102	0,60	130	1,63	302
32	0,68	124	0,66	94	0,76	105	0,64	102	—	—	1,46	270

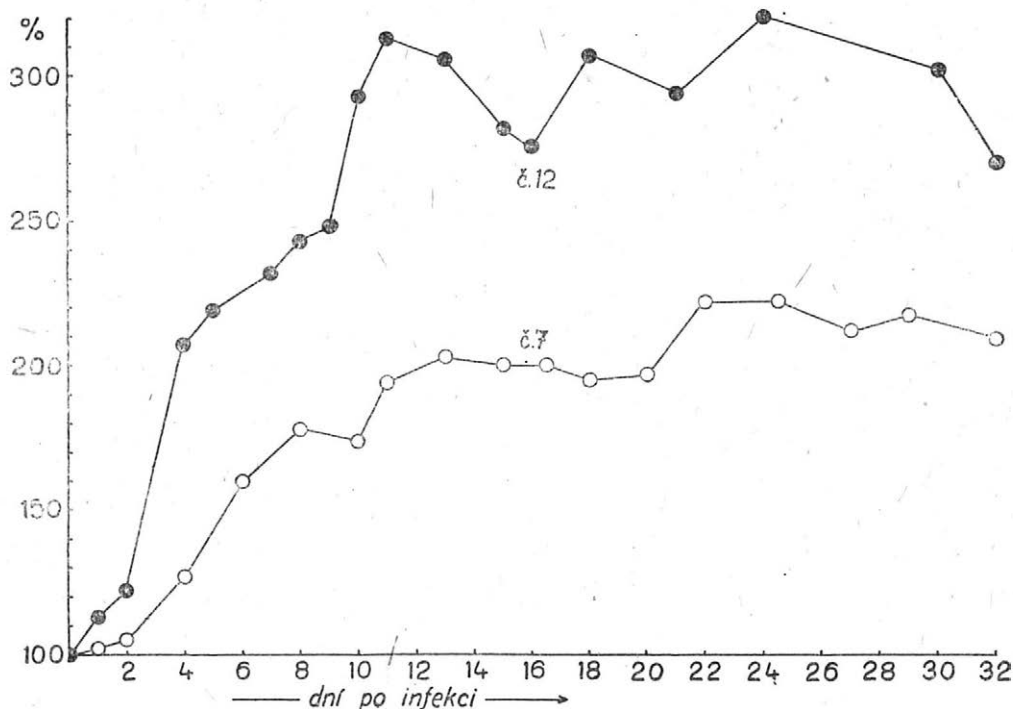
Na obr. 1 jsou uvedeny výsledky pokusu u 3 zvířat. Byly vybrány případy nejzajímavější. Tak u zvířete č. 2 nastává zvláště prudký vzestup hladiny fibrinogenu již 1. dne po infekci a maximum 7. dne po infekci bylo ze všech zkoumaných případů nejvyšší, t. j. činilo 269 % původní hodnoty. Na konci pokusného období je hladina stále ještě mnohem vyšší než u zvířete zdravého, t. j. 124 %. U zvířete č. 11 nastává znatelný prudký vzestup až 3. dne po infekci a maximum 7. dne činí 224 %; opět normálních hodnot bylo zde dosaženo již 27. dne. U zvířete č. 8 bylo maximum ze všech zkoumaných případů nejnižší, pouze 163 %. Hladina fibrinogenu zde dokonce klesá pod normální hodnotu na pouhých 85 %, a to 27. dne po infekci a zůstává tak až do konce.

Na obr. 2 jsou uvedeny 2 případy s abnormálním pohybem fibrinogenu. Hladina fibrinogenu se stále zvyšuje téměř až do konce pokusného období, aniž by v průběhu křivky byl patrný nějaký náznak výraznějšího maxima. Hladina fibrinogenu činí ještě 32 dní po infekci u zvířete č. 12 270 % a u zvířete č. 7 220 %. U zvířete č. 12 byla mimo to zjištěna nejvyšší hodnota vůbec, t. j. 1,73 % fibrinogenu v plasmě, čili 320 % proti obsahu fibrinogenu před infekcí.



Diagr. 1. Pohyb hladiny fibrinogenu po infekci virem slintavky a kulhavky. Uvedeny 3 normální případy u zvířat č. 2, 8 a 11.

Диагр. 1. Изменение уровня фибриногена после инфекции вирусом ящура. Приведены 3 нормальных случая у животных №№ 2, 8, 11.



Diagr. 2. Pohyb hladiny fibrinogenu po infekci virem slintavky a kulhavky. Uvedeny 2 odlišně se chovající případy u zvířat č. 7 a 12.

Диагр. 2. Изменения уровня фибриногена после инфекции вирусом ящура. Приведены 2 отличающихся случая у животных №№ 7 и 12.

Z výsledků zde podaných lze učinit takový závěr, že infekce virem slintavky a kulhavky tvoří hluboký zásah do chování hladiny fibrinogenu v hovězí plasmě a znamená její prudký vzestup mezi 1. a 7. dnem po infekci, odkud pak více či méně pomalu klesá. Mohutnost vzestupu pak bude pravděpodobně záviset na síle infekce, protože ještě dodatečně bylo zjištěno, že u zvířat po masivní infekci, tak jak se provádí k výrobě infekčního materiálu, dosahovala hladina fibrinogenu již za 18 hodin po infekci hodnot až o 50 % vyšších než zvířata zdravá.

Výjimkou zde byly dva případy, kde hladina fibrinogenu byla i na konci pokusného období více než dvakrát vyšší než hodnoty zvířat před infekcí. Je možné, že toto odlišné chování je způsobeno tím, že všechna zvířata byla během celého pokusného období chována v prostoru, silně zamořeném slintavkou a kulhavkou, byla zde tedy možnost trvalého přílivu antigenu do těla zvířat. Zajímavé je, že při sledování hladin fosforu v krvi se tatáž zvířata chovala rovněž odlišným způsobem.

Z á v ě r

Byla sledována hladina fibrinogenu v plasmě po infekci virem slintavky a kulhavky.

K prvnímu zvýšení dochází již prvního nebo druhého dne po infekci, odtud příkře stoupá a dosahuje maxima 7. dne po infekci, kdy činí 163 až 269 % hodnot zdravých jedinců před infekcí. Počínaje 8. dnem po infekci se hladina fibrinogenu více či méně pomalu snižuje. Na konci pokusného období, t. j. 32 dní po infekci, část zvířat dosáhla původních hodnot, jiná znamenala dosud hodnoty zvýšené nebo dokonce nižší než před infekcí.

Ve dvou případech se hladina fibrinogenu postupně zvyšovala bez jakéhokoliv náznaku maxima téměř až do konce pokusného období. 32 dní po infekci tu hladina fibrinogenu činila 270 a 220 % hodnot výchozích. Obsah fibrinogenu v plasmě se v tomto pokuse pohyboval od 0,45 % do 1,73 %.

Literatura

1. Grausgruber W., Stöckl W., 1953: Z. f. exp. Veterinärmed. 8, 404-415.
- 2. Hořejší J., Slavík K.: Základy chemického vyšetřování v lékařství, 1953, 4. vyd., str. 223, Stát. zdrav. nakl. v Praze.
- 3. Petr G., Boháč J., 1954: Vet. časopis SAVu, 3, 133-151.
- 4. Petr G., Dombek R., 1954: Vet. časopis SAVu, 3, 151-155.
- 5. Stöckl W., Zacherl M. K., 1953: Hoppe-Seyl. Z. 293, 278-283.
- 6. Wehmeyer P., 1950: Revue d'Immunol. 14, 57-61.

Биохимическое изучение вируса ящура I.

Наблюдение за количеством фибриногена после инфекции вирусом ящура

В работе ведется наблюдение за количеством фибриногена в протоплазме после инфекции вирусом ящура.

Первое повышение количества фибриногена наблюдается уже в 1 или во второй день после инфекции, с этого момента резко возрастает и достигает максимума

на 7 день после инфекции, когда оно составляет 163—269% количества здоровых экземпляров до инфекции. Начиная с 8 дня после инфекции количество фибриногена более или менее постепенно снижается. В конце опытного периода, т. е. на 32 день после инфекции, у части животных это количество достигло первоначального уровня, у других наблюдалось повышение или даже снижение по сравнению с состоянием до инфекции.

В двух исключительных случаях уровень фибриногена постепенно повышался без каких-либо признаков достижения максимума почти до конца опытного периода. На 32 день после инфекции уровень фибриногена составлял 270—220% исходного содержания.

Содержание фибриногена в протоплазме крупного рогатого скота в этом опыте колебалось от 0,45% до 1,73%.

Biochemische Studien des Maul- und Klauenseuche Virus I

Die Verfolgung des Fibrinogenniveaus nach der Infektion mit dem MKS Virus

Es wurde das Fibrinogenniveau im Plasma nach der Infektion mit dem Maul- und Klauenseuche-Virus verfolgt.

Zur ersten Erhöhung des Fibrinogenniveaus kommt es schon am 1.—2. Tag nach der Infektion, worauf ein heftiger Anstieg erfolgt und das Maximum am 7. Tag nach der Infektion erreicht wird (das Fibrinogen erreicht hier 163 bis 269 % der ursprünglichen Konzentration). Beginnend mit dem 8. Tage nach der Infektion wird das Fibrinogenniveau mehr oder weniger langsam herabgesetzt. Am Ende der Experimentalperiode, d. h. 32 Tage nach der Infektion, erreichte ein Teil der Versuchstiere die ursprüngliche Konzentration, während bei den anderen entweder höhere oder sogar niedrigere Werte als vor der Infektion festgestellt wurden.

In zwei Ausnahmefällen stieg das Fibrinogenniveau nach und nach ohne irgendwelche Andeutung eines Maximums fast bis zum Ende der Experimentalperiode, am 32 Tage nach der Infektion betrug das Fibrinogenniveau 270 und 220 % der ursprünglichen Werte.

Der Fibrinogengehalt im Plasma von Rindvieh bewegte sich bei diesem Versuch von 0,45 % bis zu 1,73 %.

Hospodárnejšie využitie tela jednokopytníkov a oviec pri výrobe antirabickej vakcíny

Более экономное использование тела однокопытников и овец при производстве антирабической вакцины

Wirtschaftlichere Ausnützung des Körpers von Einhufern und Schafen bei der Produktion von Antirabies-Vakzinen

MVDr Juraj URSINY, Bratislava

Došlo dne 19. III. 1955

Ú v o d

Praktické poznatky pri výrobe antirabickej vakcíny vo výrobnom ústave v Ivanoviciach na Hané (t. č. Bioveta, n. p.) k profylaktickému očkovaniu psov proti lyse v ČSR, behom môjho trojročného účinkovania ako vedúceho tohoto oddelenia výroby, ukázali, že nebezpečie infekcie pri ošetrovaní laboratórnym vírusom proti besnote infikovaných koní, pri ich usmrcovaní, prevážaní, pitvaní, pri vyberaní mozgu a miechy z nich, nie je tak veľiké, ako sa to dosiaľ predpokladá, snáď následkom automatického prenášania poznatkov z literatúry o nebezpečnosti uličného vírusu lysi. Za uvedené obdobie mojej činnosti na tomto oddelení a pri spracovaní viac sto jednokopytníkov, často dochádzalo k poraneniu jak u veterinárov a iných laboratórných pracovníkov, tak aj u robotníkov pri nakladaní a skladaní kadáverov koní infikovaných laboratórnym vírusom lysi a pri ich vyťahovaní na skripec; a podobné to bolo i u zamestnancov kafilérie pri odvážaní zbytkov z týchto koní. Nepamätám sa, že by do dnešného dňa bolo došlo aspoň u jedného z nich k onemocneniu trebárs bolo z nich len nepatrné promile ľudí, ktorí sa nechali očkovať Hemptovou vakcínou; a aj z týchto sotva 1 % bolo takých, ktorí si nechali aplikovať celú sériu injekčných dávok. Pri spracovávaní laboratórnym vírusom infikovaných koní, len za môjho účinkovania v spomínanom výrobnom ústave, došlo zaručene viac než aspoň 100krát k zraneniu u ľudí a vždy na obnažených rukách, väčšinou prstoch. Títo jedinci napriek môjmu upozorneniu na nebezpečie nákazy mi prísľúbili, že sa nechajú očkovať, avšak dodatočne som sa dozvedel, že na vlastnú zodpovednosť to neurobili. Sám tiež za celé trojročné obdobie len na začiatku výroby nechal som sa vakcinovať, trebárs pri tejto práci, hlavne pri dôkladnom rozpitvávaní týchto kadáverov (zo študijných dôvodov), ako aj pri braní rôznych vzoriek z nich mnohokrát som sa viacmenej zranil a často o tomto zranení som sa dozvedel až po dokončení práce, pri umývaní zakrvavených rúk. Tieto práce som prevádzal vždy holými rukami a do dnešného dňa, to jest za obdobie vyše 5 rokov ani mne, ani mojím spolupracovníkom sa nič nestalo. A podobné skúsenosti v tejto veci

má i K. Košťanský, ktorý pred mojím príchodom niekoľko rokov vyrábal vakcínu proti lyse jednak z oviec a pozdejšie tiež z koní. I naši nástupcovia v dotýčnom výrobnom ústave, hlavne Kárl, majú v tejto veci s nami zhodné poznatky.

Trebárs v literatúre je o víruse lisy veľké množstvo odborných pojednaní, nikde som nenašiel v dostupnej mi literatúre ani len zprávičku, z poslednej doby, o výskyte lisy po infikovaní od laboratórnym vírusom infikovaných produkčných zvierat, ako aj pri ich spracovávaní za účelom výroby antirabickej vakcíny.

Podobné sú poznatky odborníkov i v Maďarsku a v Poľsku, kde sa tiež vo veľkom množstve vyrába vakcína z oviec k profylaktickému očkovaniu všetkých psov vo štáte.

Spomenuté okolnosti boli mi pohnútkou k odbornému preskúmaniu týchto laboratórne dosiaľ nedostatočne overených a zo stanoviska epidemiologického, ako aj národohospodárskeho dôležitých skutočností. Najväčšou, pre moje na širokom základe založených pokusov, vzpruhou bolo to, že v Maďarsku mäso z oviec používaných k výrobe antirabickej vakcíny ide priamo (už po niekoľko rokov) do úradneho výseku k ľudskému používaniu a podľa sdelenia Kerblera - Kertaya riaditeľovi sérovej stanice pražskej Biogény, n. p. v Bohumili, A. Spoustovi za služobnej cesty v Maďarsku v roku 1954, nikomu sa dosiaľ nič nestalo, ani pracovníkom vo výrobnom ústave, ani mäsiarom sekajúcim mäso v úradnej jatke, ba ani konzumentom upravujúcim si mäso v domácnostiach. A. Kerbler - Kertay, ako vedúci výroby antirabickej vakcíny, za tento hospodársky dôležitý návrh dostal od maďarského štátu peknú finančnú odmenu.

V Poľsku mäso z oviec používaných k výrobe antirabickej vakcíny, podľa sdelenia J. Szafarského, za pobytu v ČSR v roku 1951, konzervujú pre ľudskú spotrebu ako plnohodnotné mäso. Tam tiež pri manipulácii s takýmto mäsom sa do dnešnej doby žiaden človek neinfikoval.

V Ivanoviciach na Hanej, v tamojšej Biovete, n. p. jedine mäso z koní určených k produkcii antirabickej vakcíny sa používa čiastočne k výrobe bujónu pre bakteriálne kultúry; pokiaľ mäso z oviec v celosti i s kožou sa odvážalo do kafilérie k termochemickému spracovaniu.

Novický, ktorý má bohaté skúsenosti s výrobou vakcíny proti t. zv. paralytickej lyse hovädzieho dobytku v Juž. Amerike, ako aj s tľmením tejto zoonózy v juhoamerickej republike Venezuela hovoril, že v Juž. Amerike nielen kože hovädzieho dobytku používaného k výrobe vakcíny, ale aj kože kusov uhynutých po prirodzenej infekcii boli po vysušení na slneci použité ako kože zo zdravých zvierat. A konečne priznajme si kriticky, že i u nás v posledných 10 rokoch, čo besnota sa vo väčšej miere objavila aj medzi zverinou, hodne cenných kožík z takýchto zvierat nebolo zničené, ale použité k účelom obchodným, ako keby boli pochádzali zo zdravých kusov, bez toho, žeby bolo došlo k ohrozeniu zdravotného stavu človeka.

K vôli odbornému podkladu môjho návrhu pre Ministerstvo Poľnohospodárstva, previedol som početné biologické pokusy na králikoch, niekoľko biele myšky sa vtedy nepoužívali k biologickým pokusom v Ivanovickom ústave. A aby som vopred ospravedlnil svoj postup proti tým, ktorí by namietali, že pokusy mali byť prevádzané na myškách, ako najcitlivejších pokusných zvieratkách proti besnote, musím zdôrazniť, že náš laboratórny kmeň lisy „NS“ zo 156 naočkovovaných králikov ani len raz nesklamal, t. j. nestalo sa ani raz, žeby zo subdurálne zainfikovaných králikov aspoň len jeden nebol zabral na 5—6 deň. Taktiež Košťanský,

ktorý po mnohé roky prevádzal passáže tohoto kmeňa, možno povedať na 1000 kusoch králikov, má podobné skúsenosti s laboratórnym „NS“ kmeňom vírusu lysy. Je dôležité k týmto účelom používať mladých (živej váhy 1000—1500 g) králikov. V zahraničnej literatúre sú údaje (A d u c k i e v i č), že do 4 % králikov infikovaných pozitívnymi prípadmi uličného vírusu nezaberie. V našich prípadoch bol laboratórny kmeň vírusu 100 % smrteľný nielen na králikoch, ale i na použitých jednokopytníkoch. Jedine u oviec (podľa osobného sdelenia K o š t a n s k é h o) bolo malé promile, ktoré nezabrali po infekcii.

Prehľad vlastných pokusov

Biologické pokusy s materiálom z jednokopytníkov infikovaných laboratórnym vírusom lysy prevádzal som behom troch rokov sám a tiež sám som ich kontroloval. Zisťoval som prítomnosť vírusu lysy v moku mozgomiechovom, v krvi jak arteriálnej, tak aj venóznej a v rôznom štádiu nemoci i po smrti zvierat, v mozgu plodu infikovanej matky, vo varlati, vo filtráte z mäsa čerstvého i odležaného, v periférnych nervoch, kúsoch kože rôznych partií tela a konečne za účelom kontrolným virulencie vírusu v mozgu a mieche koní, z ktorých boli braté vzorky k biologickým pokusom z rôznych orgánov. K vôli prehľadu rozdelil som jednotlivé druhy telesných tekutín a orgánov do jednotlivých prehľadných skupín.

I. Mok mozgomiechový

Všeobecne známym faktom už od dôb Pasteura (8) je, že vírus lysy, a to či sa jedná o prirodzenú alebo umelú infekciu, vždy sa nachádza v CNS nemocného zvierata.

Literárne údaje o infekčnom charaktere moku získaného zo zvierat i ľudí infikovaných jak vírusom laboratórnym, tak aj uličným, hlavne v staršej literatúre, sú veľmi rozdielne. Ruský učenec V. K. V y s o k o v i č (17) už v roku 1890 zistil, že mok mozgomiechový od troch besných psov bol negatívny na vírus lysy. Vstrieknutý do miechy králikov ukázal sa byť avirulentným, sterilným a netoxickým. S názorom V y s o k o v i č a sa stotožňoval i A. M. Č e r e n k o v (2). Podľa Pasteura (16) však mok raz obsahuje vírus, inokedy zase nie. F e r m i (3) vyšetrovaním moku králikov, psov, potkanov a myší infikovaných jak laboratórnym, tak aj uličným vírusom tiež nemohol zistiť ani v jednom prípade v ňom množstvo vírusu schopného vyvolať onemocnenie. Podobný výsledok s mokom dosiahli: L e s i e u r, M a r i e a P o o r (6). F r a n c a (4) vyšetroval mok človeka poraneného besným psom, ktorý sa pozdejšie tiež zbesnel a zistil vraj jeho mok infekčným. R e p e t t o (14) na základe nálezů F r a n c a (4) prevádzal rozsiahle pokusy na psoch, zajacoch a bielych myškách; jeho pokusy vo všetkých prípadoch dopadli negatívne na prítomnosť vírusu lysy v moku. H ö g y e s (6) udáva, že likvor často obsahuje vírus. K o c h (6) zase píše, že v spinálnej tekutine chýba vírus, ale pripúšťa tiež možnosť výnimky. B a b e s (6) zo 4 likvorov len jeden zistil virulentným. F e r m i (4) dokonca tvrdil, že mok má virucidné vlastnosti a tak, že vírus i keď by sa náhodou v moku nachádzal, musí pomaly, ale určite tam zahynúť.

V novšej dobe rozsiahle biologické pokusy s mokom mozgomiechovým prevádzal K e r b l e r - K e r t a y (6) 1932. Tento maďarský odborník veľmi správne vystihuje príčinu starších pokusov vyšetrovania moku s veľmi

rozdielnym výsledkom, keď udáva, že tieto boli ovplyvňované primitívnou metodikou odberu moku. Je veľmi dôležité, aby sa pri vyberaní mozgu nedostali do likvoru často aj len veľmi jemné čiastočky z neho, voľným okom neviditeľné. Je zistené, že smrteľná dávka na pr. u králikov je 0,025 mg mozgovej tkani, ba ešte aj množstvo 0,0002 mg môže vyvolať u 7 % infikovaných králikov smrť. A tak vidíme, že ľahko sa môže stať, že takéto nepatrné množstvo infekčnej hmoty sa veľmi ľahko môže dostať do likvoru a zmeniť jeho virulenciu. Aby bolo absolútne vylúčené, že čiastočky mozgovej tkani sa nedostanú do likvoru, odoberal Kerbler-Kertay (6) mok ešte zo živých oviec v poslednom štádiu nemoci, buď cez foramen magnum alebo t. zv. suboccipitálnou punkciou, ktorý ešte buď centrifugoval pri 5000/min. obrátkach 30 minút alebo filtroval cez Seitzov EK filter. Mok odoberal zo 4 oviec infikovaných laboratórnym kmeňom vírusu lysy. Biologickým pokusom na 28 králikoch infikovaných subdurálne nepodarilo sa mu ani len v jednom prípade v ňom dokázať množstvo vírusu besnoty schopného vyvolať ochorenie.

Pečlivým odberom moku z koní určených k výrobe antirabickej vakcíny punkciou occipitálnou a vstrekaním ho v koncentrovanom stave v množstve 0,3—0,5 ml subdurálne početným králikom, nepodarilo sa mi ani len v jednom prípade behom dlhej pozorovacej doby (až 377 dní) vyvolať ochorenie. (Presný popis metodiky odberu moku u koní som uviedol vo Veterinárskom časopise, roč. 1953, čís. 1—2, str. 33—51.) Prehľad pokusných zvierat infikovaných mokom produkčných koní je zhrnutý v tabuľke 1. Všetkých pokusných králikov po vyradení z pokusov som usmrtil a ich mozog podrobil histologickému vyšetreniu a biologickému pokusu so 4mesačnou pozorovacou dobou. Výsledok týchto pokusov dopadol negatívne na prítomnosť lysy 100 % -ne. Naproti tomu všetkých 18 králikov naočkovaných 10 % mozgomiechovou emulziou s fyziologickým roztokom a z koní, ktorých mok bol vyšetrovaný podľa prehľadu uvedeného v tabuľke 1, bolo zachvátené v normálnej dobe typickou laboratórnou lysou.

Tab. 1.

Bež. č.	Číslo koňa	Spôsob usmrtenia	Charakter moku mozgomiechového	Druh a množstvo pok. zv.	Množstvo moku subdur. aplik.	Doba pozorovacia	Poznámky:
1.	142/49	i. c.	čerstvý koncentrovaný	dva králici	0,3 ml	377 dní	Vyradení ako zdraví
2.	156/49	i. c.	čerstvý, koncentrovaný	dva králici	0,3 ml	377 dní	Vyradení ako zdraví
3.	36/50	i. c.	čerstvý, koncentrovaný	dva králici	0,3 a 0,5 ml	322 dní	Vyradení ako zdraví
4.	38/50	udusil sa	1 deň v chladničke, konc.	2 králici	0,3 a 0,5 ml	321 dní	Vyradení ako zdraví
5.	80/50	i. c.	čerstvý, koncentrovaný	2 králici	0,3 a 0,5 ml	260 dní	Vyradení ako zdraví
6.	83/50	zabil sa	8 dní v chladničke, koncent.	2 králici	0,5 a 0,5 ml	245 dní	Vyradení ako zdraví
7.	85/50	i. c.	8 dní v chladničke držaný, koncentrovaný	2 králici	0,5 a 0,5 ml	245 dní	Vyradení ako zdraví
8.	86/50	zabil sa	8 dní v chladničke držaný, koncent.	2 králici	0,5 a 0,5 ml	245 dní	Vyradení ako zdraví

Poznámky: I. c. = intra cardiálne. Všetci vyradení králici podrobení opätovnému histol. vyšetreniu a biolog. pokusu.

Vedľa moku, ktorý je v bezprostrednej blízkosti CNS, jedna z najdôležitejších tekutín telesných je krv, ňou sa všetky látky, teda i mikroorganizmy môžu roznášať po celom tele. Krvou sa ľahko môže infikovať aj človek poranenými miestami na tele a pri manipulácii s chorými zvieratmi.

Ohľadne virulencie krvi pri lyse názory odborníkov v staršej a novšej literatúre sú tiež veľmi rozdielne. Z dôvodov epidemiologických a veterinárne-zdravotných ukázalo sa nutným aj túto otázku snažiť sa na podklade vedeckom pre praktický život uspokojive vyriešiť.

Bordoni-Uffreduzzi (7) zistili často vírus lyses v krvi; naproti tomu Hertwig, Ohira, Herrmann (7) a Schweinburg (15) len zriedka. I Huttyra-Marek (5) udávajú, že vírus sa v krvi častejšie vyskytuje, než si myslíme. Bujvid a Nitch (7) dokázali vírus v krvi po smrti zvierata. Babes (7) myslí, že vírus sa môže dostať do krvi postmortálnou difúziou. Z najnovších údajov je zistenie Novického (11), ktorému zo 4 pokusov len v jednom prípade podarilo sa vykazať vírus t. zv. paralytickej lyses, rozširovanej netopierami medzi hovädzím dobytkom v Juž. Amerike, v krvi pokusných kôz.

Väčšina odborníkov však pochybuje o možnosti rozširovania vírusu lyses cestou krvnou. Tak Celli a de Blasi (7) brali krv lysou infikovaným zvieratám jak v dobe inkubačnej, tak aj v rôznych obdobiach nemoci a výsledok subdurálnej infekcie u králikov dopadol negatívne. Z najnovších literárnych údajov sú to zase údaje Kerbler-Kertaya (7), ktorému biologickými pokusmi s krvou odobranou 5 ovciam infikovaným uličným vírusom besnoty jak v dobe inkubácie, tak aj v jednotlivých štádiách nemoci, ako aj po smrti zvierata a aplikovanou subdurálne 120 králikom, ani len v jednom prípade nepodarilo sa v krvi dokázať vírus lyses.

I ja som svoje pokusy zamerail na zistenie vírusu v krvi koní infikovaných laboratórnym kmeňom „NS“ lyses. Krv som odoberal v rôznych štádiách nemoci; a to jednak krv z arterií, jednak z vén, ako aj priamo zo srdca. Takto získanou krvou po defibrinácii subdurálne som naočkoval 27 králikov. (Prehľad je uvedený v tabuľke 2.) Ani v jednom prípade nepodarilo sa mi vyvolať onemocnenie u pokusných králikov. Po rôzne dlhej dobe pozorovacej uvedenej v tab. 2, pokusné králiky vyradené ako zdravé som usmrtil a opäť ešte podrobil ich mozog histologickému vyšetreniu a biologickému pokusu, pri ktorom 9 králikov subdurálne naočkovaných (z mozgu králikov vyradených z pokusu uvedeného v tab. 2) nejavilo žiadne príznaky besnoty behom 4 mesačnej pozorovacej doby.

Kerbler-Kertay (7) rozšíril svoje pokusy i na vyšetrenie mlieka a zistil, že laboratórnym vírusom lyses infikované gravidné ovce porodili zdravé jahnenice. Tieto ostali pod matkami a cicali ich (k vóli snadnejšej infekcii skarifikoval im i d'asná) i behom nemoci, až do doby, keď následkom zúrivosti matiek-oviec bol zdravotný stav jahneníc ohrozený. Jahniatka ostali zdravé po dobu 8mesačného pozorovania. Tak isto ostali zdravými i vzorkami mliečnymi, od týchto oviec v rôznych štádiách nemoci vzatých, subdurálne a intramuskulárne naočkovaní králici. V staršej literatúre čítame aj opačné poznatky niektorých odborníkov (Roux, Bardach a Forst, 7). Ale už Pasteur, Zagari, Celli, de Blasi, Repetto a Laja (1, 8) robili pokusy so skrmovaním mlieka besných zvierat cicajúcimi mláďatmi, ale nepodarilo sa im vyvolať onemocnenie u pokusných zvierat. V dostupnej literatúre nenašiel som zmienku

Tab. 2.

Bež. č.	Číslo koňa	Charakter krvi	Druh a množstvo pokus. zvierat	množstvo subdurálne aplikovanej defibrovanej krvi	Doba pozorovania	Poznámky:
1.	12/48	Z krčnej vény, prvý deň onemocnenia lysou	dva kráľici	0,3 ml	575 dní	Vyradení ako zdraví
2.	15/48	Z pravej predsene srdca, 6 deň onemocnenia, paralýza celého tela	dva kráľici	0,3 ml	545 dní	Vyradení ako zdraví
3.	16/48	Z krčnej vény, v dobe vrcholnej horúčky, 4 deň nemoci	dva kráľici	0,3 ml	545 dní	Vyradení ako zdraví
4.	19/48	Z ľavej predsene srdca, 5 deň nemoci, paralýza zadku	dva kráľici	0,3 ml	485 dní	Vyradení ako zdraví
5.	174/49	Z pravej predsene srdca, 5 deň nemoci, paralýza zadku	dva kráľici	0,3 ml	485	Vyradení ako zdraví
6.	176/49	Z ľavej predsene srdca, 5 deň nemoci, paralýza zadnej časti tela	dva kráľici	0,3 ml	485 dní	Vyradení ako zdraví
7.	3/50	Z ľavej predsene srdca, 5 deň nemoci, paralýza zadku	dva kráľici	0,3 ml	365 dní	Vyradení ako zdraví
8.	5/50	Z krčnej vény, 5 deň nemoci, celková paralýza	dva kráľici	0,3 ml	365 dní	Vyradení ako zdraví
9.	98/50	Z krčnej vény, 3 deň nemoci	dva kráľici	0,3 ml	210 dní	Vyradení ako zdraví

o tom, že by po požití mlieka od besnej alebo z besnoty podozrivej kravy u človeka alebo zvierat bolo došlo k onemocneniu besnotou.

Rozširovanie vírusu krvou nepovažuje sa za pravdepodobné už aj z toho dôvodu, že po vstriednutí emulzie z miechy psa onemocnelého na uličnú besnotu, do obehu krvného, nepodarilo sa Kerblero vi - Kertayovi (7) vyvolať túto nemoc. V obehu krvnom zdá sa, že vírus lysy nenachádza tie podmienky, ktoré sú priaznivé pre jeho šírenie a vyvolanie onemocnenia. I Novickému (11) sa týmto postupom nepodarilo vyvolať u psov a teliec onemocnenie besnotou.

Foetus, testis

Negatívny nález vírusu lysy v krvi bol potvrdený aj ďalším biologickým pokusom. Mozgom z plodu (asi 8 mesačného) pochádzajúceho z infikovanej matky laboratórnym vírusom, boli subdurálne naočkovaní dva kráľici (pozri tabuľku 3), ktoré behom 11 a 12mesačnej pozorovacej doby ostali zdravými; a po tejto dobe histologické vyšetrenie CNS, ako aj biologický pokus z ich mozgu dopadli negatívne. Je známo, že vírus z tela matky len placentárnou krvou sa môže dostať do plodu. Podobné výsledky dosiahol i Novický (11) s 3 fétami získanými z kráv uhynutých po prirodzenej infekcii paralytickou lysou.

Pokus o náleze vírusu lysy vo vajci laboratórnym vírusom infikova-

ného zřebca po naočkovaní emulzie z nich subdurálne dvom králikom dopadol negatívne. (Pozri tab. 3.) Tiež Remlingerovi (13) sa nepodarilo vo vajci pokusom biologickým vykazať vírus lysis.

Tab. 3.

Bež. č.	Číslo koňa	Druh materiálu	Druh a množstvo pokus. zvierat	Množstvo subdur. aplikovanej látky	Doba pozorovania	Poznámky:
1.	18/50	Mozog z 8 mesačného fétu, produkčnej kobyly	dva králici	0,3 ml mozgovovej suspenzie	365 a 335 dní	Králici pre úšný svrab museli byť predčasne vyradení. Histol. vyšetrenie ich CNS ako aj biol. pokus s mozgovou tkavou behom 120 dňového pozorovania dopadol negatívne na lysis.
2.	94/50	Varlatá z produkčného zřebca	dva králici	0,3 ml suspenzie z varlat	240 dní	Vyradení ako zdraví

Mäso

Pokusy s filtrátom mäsa (pozri tab. 4) odobratého z rôznych miest na mediálnej strane, ako aj z mediálnej strany stehna, v stave ihneď po usmrtení, ako aj 24 hodín po zabíí sa. Pokusy dopadli všetky negatívne na prítomnosť vírusu ak v čerstvom mäse, tak aj odležanom.

Tab. 4.

Bež. č.	Čís. koňa	Druh materiálu	Druh a množstvo pokus. zvierat	Množstvo subdur. aplikovanej látky	Doba pozorovania	Poznámky:
1.	10/48	Čerstvé mäso z mediálnej strany stehna	dva králici	0,3 ml filtrátu	240 dní	Králici vyradení ako zdraví a ich mozok opäť podrobený jak histologickému, tak aj biologickému pokusu a 120 dňovému pozorovaniu. Výsledok vo všetkých prípadoch dopadol negatívne na prítomnosť vírusu lysis. Filtrát z mäsa bol získaný cez filtračný papier.
2.	18/48	Čerstvé mäso zo svalstva krčného	dva králici	0,3 ml filtrátu	240 dní	
3.	20/48	Mäso z krajiny prsnej, 24 hod. po udusení sa	dva králici	0,3 ml filtrátu	240 dní	
4.	25/48	Mäso z mediálnej strany lopatky, za 24 hod. po zabíí sa	dva králici	0,3 ml filtrátu	180 dní	
5.	30/49	Mäso čerstvé zo zátylia	dva králici	0,3 ml filtrátu	180 dní	

Periferné nervy

Kúsky nervov vzaté z prednej nohy (z úseku od kopyta po lopatku) a rozotrené v trecej miske s fyziologickým roztokom soli. Filtrátom cez filtračný papier som suspenziu prefiltraval a ňou subdurálne očkovoal králikov. (Pozri tab. 5.) Výsledok týchto pokusov dopadol negatívne; na rozdiel od pokusov s čiastkami mozgu, miechy alebo hypofýzy dotýčajúcich zvierat, ktorých periferné nervy boli vyšetrované.

Tab. 5.

Bež. č.	Číslo koňa	Druh materiálu	Druh a množstvo pokus. zvierat	Množstvo subdur. aplikovanej suspenzie	Doba pozorovania	Poznámky:
1.	35/50	Kúsky nervov z prednej nohy	dva kráľici	0,3 ml	*180 a 240 dní	*Uhynul na tympanitis. Hist. vyšetrenie a biologický pokus u oboch bol neg.
2.	38/50	Kúsky nervov zo zadnej nohy	dva kráľici	0,3 ml	240 dní	Vyrazení ako zdraví a podrobení opät hist. vyšetř. a biolog. pokusu s neg. výsl.

Tab. 6.

Bež. č.	Číslo koňa	Druh materiálu	Počet pokus. zvierat	Množstvo subdur. aplikovaného filtrátu po	Doba pozorovania	Poznámky:
1.	170/49	Koža stehien spláchnutá fyz. roztokom (50 ccm)	dva kráľici	0,2 ml	240 dní	Tekutina filtrovaná Berkefeldovou sviečkou.
2.	175/49	Koža krajiny krčnej spláchnutá fyz. rozt. (50 ccm)	dva kráľici	0,2 ml	240 dní	Všetci kráľici po uplynutí pozorovacej doby vyrazení ako zdraví, boli opät podrobení histologickému vyšetřeni, ako aj biologickému pokusu po dobu 120 dňového pozorovania.
3.	179/49	Koža krajiny lopatky spláchnutá fyz. roztokom (50 ccm)	dva kráľici	0,2 ml	240 dní	Pokusy vo všetkých prípadoch dopadly negatívne na prítomnosť vírusu besnoty.
4.	186/49	Koža krajiny krku spláchnutá fyz. roztokom (50 ccm)	dva kráľici	0,2 ml	240 dní	
5.	4/50	Koža hlavy spláchnutá fyz. roztokom (50 ccm)	dva kráľici	0,2 ml	240 dní	
6.	7/50	Koža stehien spláchnutá fyz. roztokom (50 ccm)	dva kráľici	0,2 ml	180 dní	
7.	15/50	Koža prsnej čiastky tela spláchnutá fyz. roztokom (50 ccm)	dva kráľici	0,2 ml	180 dní	
8.	17/50	Koža hlavy spláchnutá fyz. rozt. (50 ccm)	dva kráľici	0,2 ml	180 dní	

Na základe toho, že výsledok pokusov s mozgomiechovým mocom, ktorým by sa ľahko mohlo infikovať mäso, poprípade koža, ďalej pokusy s krvou, plodom, ako aj s filtrátmi z mäsa a z periférnych nervov dopadli vo všetkých prípadoch negatívne, previedol som pokusy aj s kožou. (Pozri tabuľka 6.) S kožou previedol som obsiahlejšie pokusy vzhľadom k tomu, že ako cenná surovina má veľký národohospodársky význam. Pokusy s kožou narážali na ťažkosti pri získaní sterilného roztoku k subdurálnej infekcii, nakoľko jednotlivé čiastky kože boli silne znečistené hnojom. Za tým účelom po získaní tekutiny z určitých partií kože, túto som najprv prefiltroval cez filtračný papier a potom silne špinavú tekutinu som prefiltroval cez Berkefeldovu sviečku a k pomerne čistej tekutine som pridával na obsah 1 ml 5000 m. j. kryštalického penicilínu G. Pokusy na králikoch i v tomto pokuse a behom 240dňového pozorovania dopadli negatívne. Po vyradení králikov ako zdravých, podrobil som aj ich mozgy ešte histologickému a biologickému pokusu, ktorý po dobu 120dňového pozorovania dopadol zase negatívne.

S ú h r n

Navrhujem, na základe odborných poznatkov podopretých konkrétnymi údajmi, aby pri výrobe antirabickej vakcíny z jednokopytníkov koža po opláchnutí 1—2% roztokom 15—20° C teplého roztoku chloramínu S, alebo po ich namočení v spomenutom roztoku na 1 hodinu, bola v celosti bez obmedzenia pripustená k priemyslovému spracovaniu. Mäso z takýchto koní bez obavy možno použiť k výrobe bujónu, alebo po uvarení skŕmiť prasatmi. Pri výrobe antirabickej vakcíny z malých alebo veľkých prežúvavcov, kožu (vlnu) po namočení na 2—3 hodiny v 2—3 % roztoku chloramínu S 15—20° C teplého upotrebiť bez obmedzenia k priemyslovým účelom. Krajinu mozgomiechovú po odstránení CNS vysterylizovať let-lampou (benzínovou) za účelom zničenia prípadne ostalých zvyškov CNS a mäso bez obavy použiť buď v úradnom výseku ako v Maďarsku, alebo naložiť ho do konzerv ako v Poľsku, poprípade pre jeho použitie voliť spôsob vyhovujúci našim pomerom.

Z á v e r

Biologickými pokusmi na početných králikoch subdurálne infikovaných mocom mozgomiechovým, krvou arteriálnou i venóznou odobratou v rôznych štádiách nemoci i po smrti, mozgom fėta, filtrátom z tkane vajca žrebca, filtrátom z mäsa čerstvého i odležaného, filtrátom z periférnych nervov prednej i zadnej končatiny, filtrátom z rôznych partií kože produkčných jednokopytníkov používaných k výrobe antirabickej vakcíny v ČSR, ani len v jednom prípade nepodarilo sa mi zistiť množstvo vírusu lysis, ktoré by bolo bývalo schopné vyvolať onemocnenie u pokusných králikov.

Na základe literárnych údajov, poznatkov z praxe u nás i v zahraničí, podopretých početnými biologickými pokusmi, navrhuje sa Ministerstvu poľnohospodárstva v Prahe, aby „SMERNICE o ochrane zvierat pred nákazami ...“ boli doplnené odstavcom pojednávajúcim o zhodnotení koží (vlny) a mäsa produkčných zvierat pri výrobe antirabickej vakcíny hospodárnejším spôsobom, než tomu bolo dosiaľ.

1. Aujeszky: Tierheilkunde u. Tiercucht, Bd. X, 1932. — 2. Fedotov: Veterinarnaja likvorologija, Seľchozgiz, Moskva, 1951. — 3. Fermi: Giorn. d. R. Soc. Ital. Igiene, 1898. — 4. Franca: Zbl. Bakter. I. Orig. 55, 1910 a 57, 1911. — 5. Hutyra-Marek: Spec. Pathol. u. Ther. d. Haustiere, 6 Aufl. Bd. I. Jena, 1922. — 6. Kertay-Kerbler: MÄL., 15, 1932. — 7. Kertay-Kerbler: MÄL., 1, 1934. — 8. Kolle-Kraus-Uhlenhut: Handbuch d. path. Mikroorganismen, Bd., VIII., 1, 547, Jena, 1930. — 9. Kraus - Gerlach - Schweinburg: Lyssa b. Mensch u. Tier, Wien, 1926. — 10. Min. zemědělství, č. j. 78,650-X/3/51: Směrnice o ochraně zvířat před nákazami a o zdolání nákaz zvířat. — 11. Novický: Čas. čs. veterinářů, II., 301-327, 1947. — 12. Ohira: Zbl. Bakter., I. Orig., 84, 528, 1920. — 13. Remlinger: Ann., Pasteur, 49, 1932. — 14. Repetto: Zbl. Bakter., I. Orig. X. 50, 442, 1909 a I., 49, 457, 1909. — 15. Schweinburg: Zbl. Bakter. I., Orig., 123, 1932. — 16. Ursiny: Veterinársky časopis, II. 33, 1953. — 17. Vysokovič: Zbl., Bakter., I., 10, 35, 1891.

Более экономное использование тела однокопытников и овец при производстве антирабической вакцины

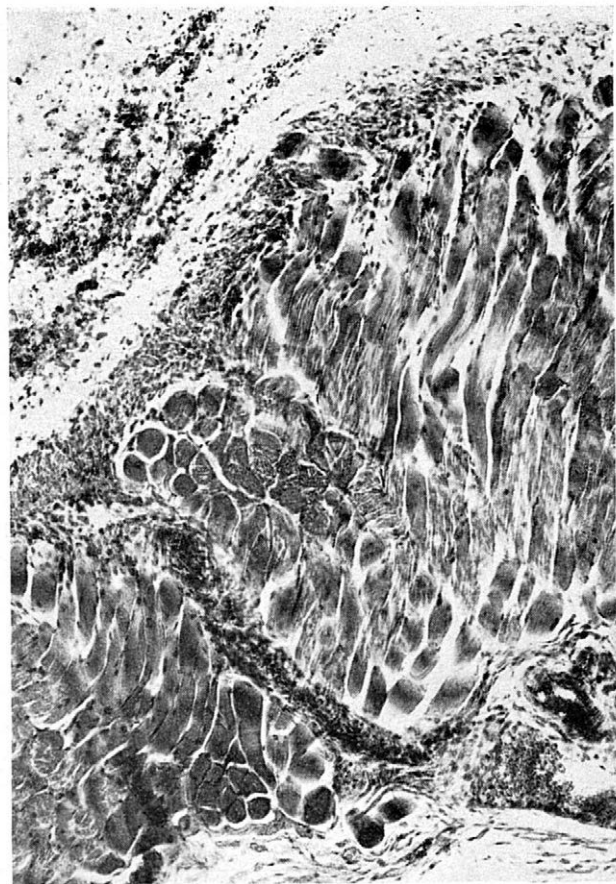
Биологическими опытами с многочисленными кроликами, субдурально инфицированными спинно-мозговой жидкостью, артериальной кровью и кровью венозной, взятой при разных стадиях заболевания и после смерти животных, мозгом фэта, фильтратом из ткани семенника жеребца, фильтратом из мяса свежего и уже лежалого, фильтратом из периферийных нервов передней и задней конечностей, фильтратом из разных слоев кожи продуктивных однокопытников, используемых для производства антирабической вакцины в ЧСР — но ни в одном случае автору не удалось получить такое количество вируса бешенства, которое было бы способно вызвать заболевание у подопытных кроликов.

На основании литературных данных, а также данных, приобретенных из практики, как у нас, так и за рубежом, подтвержденных многочисленными биологическими опытами, Министерство сельского хозяйства в Праге предлагает, чтобы —ИНСТРУКЦИИ по защите животных от инфекционных заболеваний . . .» были дополнены абзацем о использовании кожи (шерсти) и мяса продуктивных животных для производства антирабической вакцины более экономным способом, чем это делалось до сих пор.

Wirtschaftlichere Ausnützung des Körpers von Einhufern und Schafen bei der Produktion von Antirabies-Vakzinen

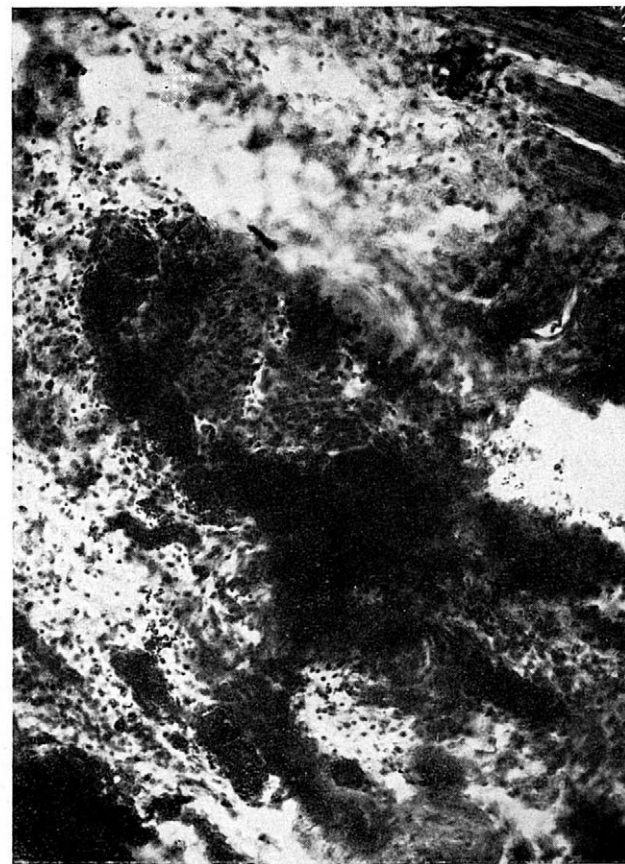
Bei biologischen Versuchen an zahlreichen Kaninchen, die subdural mit Zerebrospinalflüssigkeit, arteriellen und venösen, in verschiedenen Krankheitsstadien und auch nach dem Tode entnommenen Blut infiziert wurden, beim Gehirn des Foetus, beim Filtrat aus dem Gewebe des Hengsteies, beim Filtrat aus frischem und abgelegenen Fleisch, beim Filtrat aus den peripheren Nerven der Vorder- und Hinterextremität, beim Filtrat aus verschiedenen Partien der Haut von zur Erzeugung von Antirabies-Vakzinen in der ČSR verwendeten Einhufern, gelang es mir nicht in einem einzigen Falle eine Virusmenge festzustellen, welche geeignet gewesen wäre, bei den Versuchskaninchen eine Erkrankung hervorzurufen.

Auf Grund von Angaben aus der Literatur, von praktischen Erkenntnissen aus der Praxis bei uns und im Ausland, welche durch zahlreiche biologische Versuche unterstützt wurden, wird dem Landwirtschaftsministerium in Prag der Antrag unterbreitet, die „Richtlinien für den Tierschutz vor Ansteckungen . . .“ durch einen Absatz zu ergänzen, der die Verwertung von Haut (Wolle) und Fleisch von Produktionstieren bei der Erzeugung von Antirabies-Vakzinen in wirtschaftlicherer Weise, als dies bisher der Fall war, behandelt.



Obr. 1. Část lokální reakce po očkování vodným roztokem tripaflavinu do podkoží. Zvětšení 120× Lumipan. (Foto J. Holmann.)

Рис. 1. Часть локальной реакции после подкожной прививки водным раствором трипафлавина. Увеличена в 120 раз Люмипан.



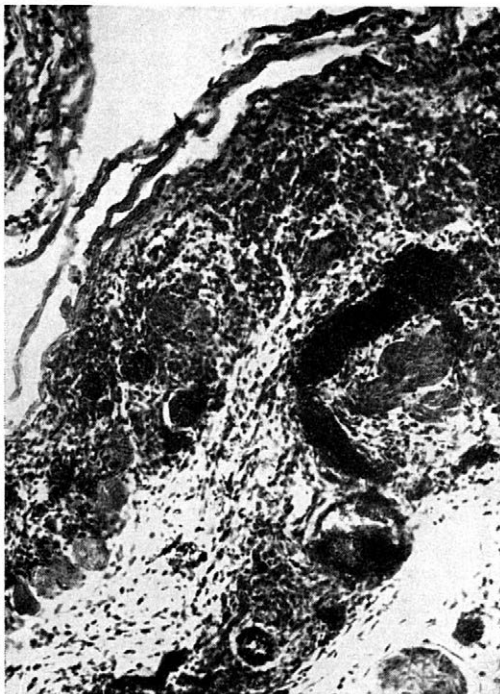
Obr. 2. Část lokální reakce po očkování roztokem tripaflavinu v 10% serové vodě do podkoží. Zvětšení 120×, Lumipan. (Foto J. Holmann.)

Рис. 2. Часть локальной реакции после подкожной прививки раствором трипафлавина в 10% серозной жидкости. Увеличено в 120 раз, Люмипан.



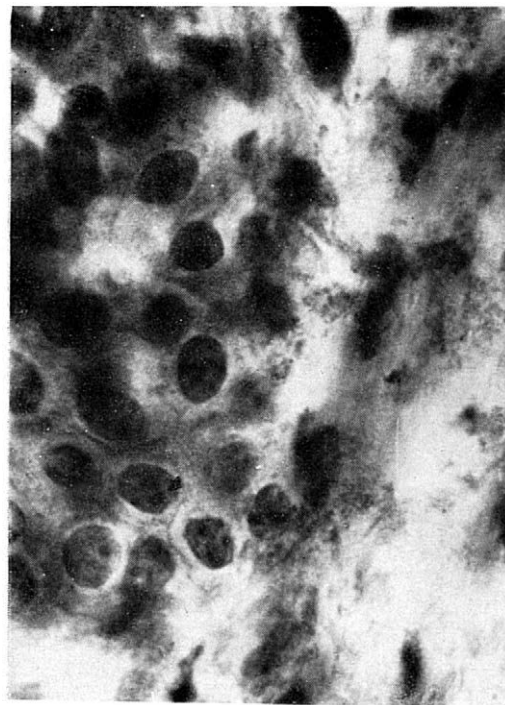
Obr. 3. Část lokální reakce po očkování trypaflavinovou leptospirosní vakcinou do podkoží. Zvětšení 120×, Lumipan.
(Foto J. Holmann.)

Рис. 3. Часть локальной реакции после подкожной прививки трипафлавинной лептоспирозной вакциной. Увеличено в 120 раз, Люмипан.



Obr. 4. Část lokální reakce po revakcinaci trypaflavinovou leptospirosní vakcinou. (Zvětšení 120×, Lumipan.)
(Foto J. Holmann.)

Рис. 4. Часть локальной реакции после ревакцинации трипафлавинной лептоспирозной вакциной. Увеличено в 120 раз, Люмипан.



Obr. 5. Detail z fotografie č. 4. Převaha tkáňových elementů v infiltrátu. Zvětšení 900×, Lumipan.
(Foto J. Holmann.)

Рис. 5. Детали к фотографии № 4. Преобладание тканевых элементов в инфильтрате. Увеличено в 900 раз, Люмипан.

Lokální reakce po očkování trypaflavinovou leptospirozní vakcinou

Локальная реакция после прививки трипофлавинной лептоспирозной вакциной

Lokalreaktionen nach Impfung mit Trypaflavin-Leptospirosen Vakzinen.

MVDr. M. LEBEDA

Katedra pro pathologickou fyziologii a morfologii Veterinární fakulty VŠZ v Brně

Došlo dne 4. I. 1955

Místní reakci po vakcinaci nelze všeobecně považovat za zjev nežádoucí. Slabě vyznačené lokální reakce bývají pouhým projevem zvýšené imunobiologické reaktivity organismu, následované vývojem intenzivní a dlouhotrvající imunity. Lze tedy považovat mírnou lokální reakci za zcela zákonitou a pro organismus neškodnou. Jako obecné pravidlo se naopak uznává, že vakciny nemají vyvolávat příliš silné lokální a celkové reakce (1). Terentěv (5) vysvětluje kladný význam lokální reakce zánětlivého stupně tím, že tato reakce je projevem podráždění nervového systému při antigenním podnětu. Podráždění nervového systému pak je nutné pro vyvolání imunobiologické reakce. Negativní vliv silných lokálních reakcí, spojených s nekrosou tkáně, vysvětluje Terentěv tím, že současně s tkání odumírají i nervové receptory a nervy a tím je pak znemožněna silná imunobiologická reakce, neboť tato je vyvolávána především antigenním podnětem působícím na chemoreceptory tkáně. Stupeň imunobiologické reakce, intenzita a trvanlivost imunity, je pak určována stavem nervového systému jak v místě antigenního podnětu, tak i CNS.

Stupeň podráždění neuroreceptorů v místě antigenního podnětu není určován pouze cizorodou bílkovinou nebo jiným antigenem vpravovaným do organismu, ale často zde mají rozhodující význam i balastní látky a chemikálie obsažené ve vakcině. Jak ukázaly Terentěvovy pokusy, mohou tyto látky do značné míry určovat stupeň imunity, neboť výsledek imunobiologické reakce závisí především na tom, s jakým receptčním aparátem, s jakým stupněm jeho dráždivosti, se antigen setká v organismu očkovance.

Při používání trypaflavinové antileptospirozní vakciny nám šlo o to, aby lokální reakce po vakcinaci byla přiměřeně silná a nedosahovala stupně nekrosy. Podle literárních údajů jsme jako nejvhodnější koncentraci zvolili 0,05% roztok kyselé soli trypaflavinu. Nutno poznamenat, že literární údaje o koncentraci trypaflavinu, která již nemá v podkoží lokálně dráždivý vliv, se značně rozcházejí. Na př. Lenz (3) uvádí všeobecně, že 0,1% koncentrace trypaflavinu již lokálně nedráždí, naproti tomu Keysser (2) zjistil při použití roztoku 1 : 1000 těžké poškození tkáně v ranách. Podle

Ritterových (4) údajů působí 0,1% roztok trypaflavinu po subkutánní injekci stimulaci elementů pojivové tkáně, hyperlymfii a hypere-mii. Vliv na zmnožení kulatobuněčných elementů ve tkáni je nepatrný. Nekrosy jsou relativně vzácné. 0,5% roztoky již vyvolávají subkutánně a intramuskulárně silné nekrosy a tvrdé infiltráty.

Považovali jsme proto za nutné prověřit charakter lokálních reakcí po podkožní injekci vakciny a zároveň zjistit, do jaké míry je jejich povaha určována trypaflavinem obsaženým ve vakcině nebo ostatními složkami vakciny — hlavně králičím serem.

Metoda

Sledovali jsme jednak velikost lokální reakce po subkutánní injekci vakciny kutimetrem a dále jsme po určité době prováděli extirpaci lokální reakce s jejím nejbližším okolím a podrobili ji pak histologickému vyšetřování. K zjištění závislosti intensity a povahy lokální reakce na obsahu trypaflavinu a králičího sera ve vakcině jsme očkovali morčata jednak 0,05% vodným roztokem trypaflavinu, dále 0,05% roztokem trypaflavinu v 10% serové vodě z králičího sera a konečně trypaflavinovou vakcinou.

Výsledky

Srovnáním histologických obrazů v lokálních reakcích, vzniklých po vodném roztoku trypaflavinu, po roztoku trypaflavinu v 10% serové vodě a po vakcině, jsme zjistili, že mezi reakcemi není zásadního rozdílu. Ve všech preparátech byly zjištěny buněčné infiltráty převážně histiocytární povahy, lokalizované hlavně v blízkosti podkožního svalu i mezi jeho snopci a podél cév, dále oedem řídkého pojiva, hyperaemie a krevní výlevy.

Z toho usuzujeme, že reakce ve tkáni vyvolávané vakcinou jsou kvalitativně určovány trypaflavinem.

V intensitě buněčné reakce lze pozorovat difference. Nejsilnější jsou reakce po vakcině. Intensita reakce je zřejmě zvyšována obsahem krevních bílkovin, antigenů a metabolických zplodin kultury ve vakcině. Lokální reakce po vakcinaci mají ráz zánětu s výrazně vystupující proliferací tkáňových elementů, které silně převažují nad elementy emigračními, představovanými hlavně granulocyty a v nepatrné míře kulatobuněčnými elementy. Alterační projevy zánětu jsou mírného stupně, mají ráz degenerativní a zasahují především podkožní svalovinu. Podle četných drobných krvácenin lze soudit, že dochází i k podstatnému poškození stěn drobných cév. Nekrosa tkáně nebyla zjištěna ani v jednom případě. Exsudace je sice výjádřena ve všech preparátech, je však většinou mírného stupně (exsudát serosní, ojediněle fibrinosní vláčenka) a není vedoucí složkou zánětlivé reakce. V průběhu reakce (posuzované po čtyřech a sedmi dnech) dochází ke vzniku drobných krevních výlevů. Lze zjistit extravasátní rozpad erythrocytů a značnou vaskularisaci proliferátu prostoupeného emigrátem, který tak získává ráz čerstvé granulační tkáně.

Větší intensita lokálních reakcí po vakcině a po roztoku trypaflavinu

*) Za technické spolupráce I. Chabrové.

v 10% serové vodě než po vodném roztoku trypaflavinu je patrna i z maximálního zduření kůže a z časového průběhu reakce. Při očkování vodným roztokem trypaflavinu dosahovalo zduření kožní řasy v místě injekce maxima za 3 dny, kdežto po očkování roztokem trypaflavinu v serové vodě a vakcinou již za dva dny. Tento vývoj zduření kůže odpovídá tvorbě oedemu po vstříknutí trypaflavinu. Podle Ritterových (4) údajů, dosahuje oedem maxima asi za 48 hodin a pak pomalu mizí.

Po očkování vodným roztokem trypaflavinu zduřela kožní řasa průměrně o 2,3 mm, po roztoku trypaflavinu v serové vodě o 4,05 mm a po vakcině o 6,35 mm. Při tom dávky všech tří očkovacích látek byly stejné.

Histologické vyšetření lokálních reakcí po revakcinaci bylo zaměřeno na zjištění případných změn v intenzitě a kvalitě lokální reakce, které bylo možno theoreticky předpokládat po eventuální sensibilisaci vyvolané první vakcinací.

Histologický obraz lokální reakce po revakcinaci nám představuje kvantitativně silnější zánět než po vakcinaci. To lze vysvětlit dvojnásobnou dávkou vakciny, používanou při revakcinaci. V emigrátu je mnohem větší množství eosinofilů než po první vakcinaci. To nasvědčuje určité sensibilisaci organismu první vakcinací. Celkově lze sice zjistit emigrátu v lokální reakci mnohem více než po první vakcinaci, nicméně nepřevažuje ani zde emigrát nad proliferátem. Jednotlivé buňky emigrátu zřetelně podléhají rozpadu. Více je vyznačena i alterace drobných cév, z nichž některé jsou i thrombotisovány.

Reakce námi zjištěné ve tkáni se v mnohém podobají reakcím popsaným Ritterem (4) po použití 0,1% roztoku trypaflavinu v ráně, kde byla rovněž zjištěna význačná stimulace pojivové tkáně, tvorba granulační tkáně a poměrně malá malobuněčná infiltrace. Hyperaemie trvá v našem případě déle a nedochází k intenzivnímu vypadávání fibrinu a vzniku nekros ve svalovině. Infiltrace leukocytární byla v našem případě zvláště po revakcinaci silnější než po aplikaci trypaflavinu do rány. Nutno ovšem vzít v úvahu to, že Ritter používal roztoku trypaflavinu o dvojnásobné koncentraci a za jiných okolností než my.

Pokusy nám potvrdily theoretický předpoklad, že použitá koncentrace trypaflavinu nebude mít silný alterační vliv na tkáň v místě inokulace a že kvalita a síla lokální reakce bude vhodná pro dosažení silné imunobiologické reakce organismu. Zdá se, že dalším zvýšením koncentrace antigenu, by reakce dále získala na své intenzitě.

Klinicky zjistitelné tuhé infiltráty v kůži a podkoží, vznikající v místě inokulace vakciny u morčat i u psů, mizí podle našeho pozorování úplně za 3—6 týdnů po injekci.

Z á v ě r

Bylo zjištěno, že kvalita i rozsah lokálních reakcí po podkožním očkování trypaflavinovou leptospirosní vakcinou vyhovuje podle Terentěvovy teorie předpokladům pro dosažení silné imunobiologické reakce. Kvalita lokální reakce je určována převážně trypaflavinem. Antigen, balastní látky ve vakcině a její dávka působí význačně na kvantitu reakce.

Klinicky zjistitelná reakce po subkutánní vakcinaci mizí úplně za 3—6 týdnů.

1. Koljakov: Veterinarnaja mikrobiologija. Selchozgiz 1952. — 2. Keysser: cit. dle Lenze. — 3. Lenz E.: Zeitschrift für die gesamte experim. Medizin, 12., 195, 1921. — 4. Ritter A.: Deutsche Zeitschrift für Chirurgie, 159., 13, 1920. — 5. Terent'ev F. A., Stepanova E. P.: Trudy Vsjesojuznogo instituta eksperimentalnoj veterinarii, XIX, vyd. 1., 7-18, 1952.

Локальная реакция после прививки трипфлавиновой лептоспирозной вакциной

Было установлено, что качество и объем локальных реакций после подкожной прививки трипфлавиновой лептоспирозной вакциной отвечают — по теории Терентьева — предпосылкам для достижения сильной иммунологической реакции. Качество локальной реакции определяется преимущественно трипфлавином.

Антиген, балластные вещества в вакцине и её доза действуют в значительной степени на реакцию в количественном отношении.

Клинически устанавливаемая реакция после подкожной вакцинации полностью исчезает через 3—6 недель.

Lokalreaktionen nach Impfung mit Trypaflavin-Leptospiren Vakzinen.

Es wurde festgestellt, dass Qualität und Umfang der Lokalreaktionen nach subkutaner Impfung mit Trypaflavin-Leptospiren Vakzinen nach der Theorie Terent'ev's den Voraussetzungen zur Erzielung einer starken immunobiologischen Reaktion entspricht. Die Qualität der Lokalreaktion wird vorwiegend durch Trypaflavin bestimmt. Antigen, Ballaststoffe in der Vakzine und ihre Dosierung wirken massgeblich auf die Quantität der Reaktion ein.

Die klinisch feststellbare Reaktion nach subkutaner Vakzination verschwindet vollkommen nach 3 bis 6 Wochen.

Infekční epididymatída baranov na strednom Slovensku

(Predbežná zpráva k jej symptomatologii, histologii a etiologii)

Инфекционный эпидидимитид баранов в средней Словакии

Infektiöse Epididymitis von Widdern in der Mittelslowakei

Doc. Dr T. GDOVIN, doc. Dr Fr. HRUDKA, Dr Fr. CHLÁDECKÝ a Dr Z. KOPPEL
Veterinárna fakulta VŠP v Košiciach

Došlo dne 17. V. 1955.

Jeden z autorov pozoroval od septembra 1952 hromadné ochorenie prísemenníkov (epididymis) u baranov sústredných v okresnom barančinci v okrese Martin. Také ochorenie predtým v okrese pozorované nebolo. Postupne sa vyskytovalo u stále väčšieho počtu baranov. Toto ochorenie bolo neskôr zistené na aukčnom trhu i u baranov pochádzajúcich za susedného okresu. Ochorenie sa prejavovalo asymetriou semenníka, ktorá bola zjavná už adspekciou skrota. Bližším klinickým vyšetrením bola zistená tvrdšia konzistencia zpravidla jedného, obyčajne ľavého prísemenníka a zvlášť kaudy postihnutých prísemenníkov boli silne zväčšené, hrboľaté a tvrdšie. Pri pitve sa zisťovalo zhrubnutie *tunica vaginalis communis* a zrasty tejto s patologicko-anatomicke silne zmenenou kaudou prísemenníka; prísemenníky boli zväčšené, väzivovite zhrubnuté s ložiskami kašovitého žltkavo-belavého hnisu; okrem týchto patologicko-anatomických zmien boli u jedného uhynutého barana tiež hnisavé ložiská v pravých pľúcach a vo zväčšených bronchiálnych miazgových uzlinách. Doposiaľ bolo toto ochorenie zistené klinicky u vyššie 50 plemenných baranov.

O podobnom ochorení baranov v ČSR a Európe sme nenašli žiadnych literárnych dokladov. Zato však S c h e b e n už v roku 1913 píše v BTW o nákazlivo prebiehajúcim zápale prísemenníkov baranov v Juhozápadnej Afrike. Patologicko-anatomické zmeny prísemenníkov boli zhodné s našim pozorovaním. Najrozšírenejšie a bližšie študované je také ochorenie v Austrálii a v Novom Zéelande. Ako prvý sa zaoberá prieskumom sterility u baranov W e b s t e r W. M. (1938), G u n n a s p o l. (1942) uvádza že epididymitída je v Austrálii jedna z nejbežnejších ochorení baranov. U 9000 vyšetrených baranov Nového južného Walesu a Queenslandu našiel tieto genitelné abnormity:

epididymitída a spermatocéle	5,4 %
hypoplazia alebo atrofia semenníkov	3,4 %
varicocéle	1,4 %

Zhruba 10 % baranov bolo postihnutých rôznymi pohlavnými afekciami, z čoho viac ako polovica pripadala na epididymitídu. Novšie popisali ochorenie na južnej pologuli Simmons G. C. W., T. T. Hall, 1953, a Buddle M. B. - Betty W. Boys, 1953, ktorí izolovali etiologický faktor. V prvom prípade bol označený ako bruceloidný mikroorganizmus, v druhom prípade ako *brucella mutans*.

Epididymitídy u iných hospodárskych zvierat ako sa zdá sú častejšie. U býkov ich popisali Fontana G. (1938), Blom E., Christensen N. O. (1951) a iní, u capov u nás Roček (na klinika akademika Klobouka), Schmidt K. E. (1940) a u ľudí Foschy L. (1939), Sharp W. B. (1934), Rothenberg R. C. (1939).

I. Klinické pozorovanie spontanneho ochorenia

Behom posledných troch rokov sme mali možnosť pozorovať priebeh ochorenia prísemenníkov v okresnom barančinci u vyššie 50 kusov plemenných baranov z dvoch okresov a z viacerých chovov. Ochorenie malo vyslovene epizootický charakter. Pravidelné serologické vyšetřovanie na brucellozu v ŠVVÚ bolo negatívne. Tri barany s výraznými, chorobne zmenenými prísemenníkmi boli pozorované na II. Int. klinika VF-VŠP v Košiciach.

Z klinických prejavov prirodzeného ochorenia bol pravidelne zisťovaný horší výživný stav, asymetria skróta zásluhou jedného, obyčajne ľavého prísemenníka. *Cauda* postihnutého prísemenníka býva až dvojnásobne, ba i viac zväčšená, hrboľatá, tuhšej konsistencie a na potlačenie mierne bolastivá. V priebehu prísemenníka sa dali aj v iných častiach v zhrubnutom tkanive vyhmatať hrboľčeky, v niektorých prípadoch i fluktuujúce útvary veľkosti až holubieho vajíčka — epididymitída so spermatocéle. Punkciou fluktuujúcich útvarov sa získavala špinavo-smotanovitá, slabo nažltla, kašovite hustá tekutina s červenými vločkami a netypickým pachom. Niekedy boli zistené drobné, pieskovité ložiská, diseminované po celom semenníku.

V určitých časových intervaloch sme odoberali a cytologicky vyšetřovali punktáty z fluktuujúcich útvarov prísemenníkov. Tieto punktáty obyčajne obsahovali semeno viac alebo menej zmenené. Tak na príklad cytologickým rozborom jedného punktátu bolo semeno hustoty *densum*, vitality 2 (40 %), prežívania spermii 27 hod. (v stave nezriedenom pri teplote laboratoria) a anomálie spermii dosahovali 60—65 %. Ako nespermatické cytologické elementy boli prítomné granulocyty, lymfocyty a mikróby.

Z punktátu a semenníka bakteriologickým vyšetřením sme jeden raz izolovali bakteriálny kmeň, ktorého morfológické a biochemické vlastnosti uvádzame nižšie.

Opätovné serologické vyšetřenia (aglutinácia a väzba komplementu) bola na brucelózu negatívna, s výnimkou dvoch pokusných králikov, u ktorých serologické nálezy boli dubioznejšie. I opätovne provedená intrakutánna

tuberkulinácia bola negatívna. Patologicko-anatomické zmeny boli zhruba už uvedené na začiatku. Neuvádžame zmeny, ktoré nemajú priamy vzťah k ochoreniu prísemenníkov. U jedného, po kastrácii náhle uhynutého barana, okrem zmien na prísemenníku (obr. č. 2) sme zistili hepatizáciu diafragmatických lalokov pľúc a vytekajúcim hnisom na reze, silné zväčšenie pravých bronchiálnych a kaudálnych mediastinálnych miazgových uzlín s hnisavými ložiskami, veľkosti až lieskového orecha so syrovitým zelenožltým hnisom, ohraničenými tenkou fibróznou blanou (obr. č. 4), fibróznou perikaditídou, väzivové zrasty perikardu s bránicou a pľúcnymi lalokmi, seróznou atrofiu koronárneho tuku a paranchymatóznou degeneráciu myokardu.

Plemenní barani s klinicky zistiteľnými zmenami na prísemenníkoch bývajú z chovu a plemenitby odstraňovaní a určení na porážku. Zoslabujúci vliv pripúšťania, prípadne iných faktorov na priebeh chorobného procesu nebol pozorovaný. Napriek sústavnej eliminácii klinicky chorých plemenných baranov sa v chove objavujú stále ďalšie prípady ochorenia, čo nezvratne nasvedčuje na epizootický charakter ochorenia. Ochorenie oviec, krytých baranmi zo zamoreného chovu, ako jalovosť, hynutie jahniat, prípadne ochorenia genitálie v pozoruhodnejšom rozsahu neboli doteraz pozorované. V dvoch stádoch sa vyskytlo 32 potratov salmonelového pôvodu čo bolo ŠVVÚ v Bratislave ustálené.

Pokusy o umelý prenos infekcie

Okrem laboratorného štúdia izolovaného bakteriálneho kmeňa a biologických pokusov na laboratorných zvieratách, výsledky ktorých sa uvádzajú nižšie, bol skúšaný prenos infekcie bakteriálnym kmeňom na 2 baranov, 3 capov a 2 kancov. Podobne bol skúšaný i prenos infekcie punktátom na laboratorné pokusné zvieratá a na 2 baranov. V jednom i druhom prípade sa podarilo u baranov vyvolať klinicky i patologicko-anatomicky identické zmeny ako u spontanne ochorelých prípadov. U capov boli klinické symptomy ako aj patologicko-anatomické zmeny menej výrazné, zatiaľ čo u kancov sa ochorenie nepodarilo vyvolať. Podobne sa nepodarilo vyvolať ochorenie u pohlavne nezralých baránkov a capkov.

II. Cytologické a histologické vyšetrenie

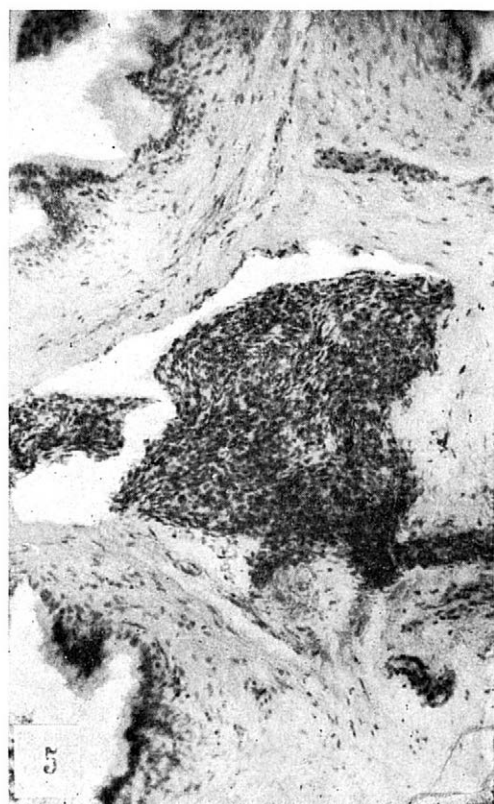
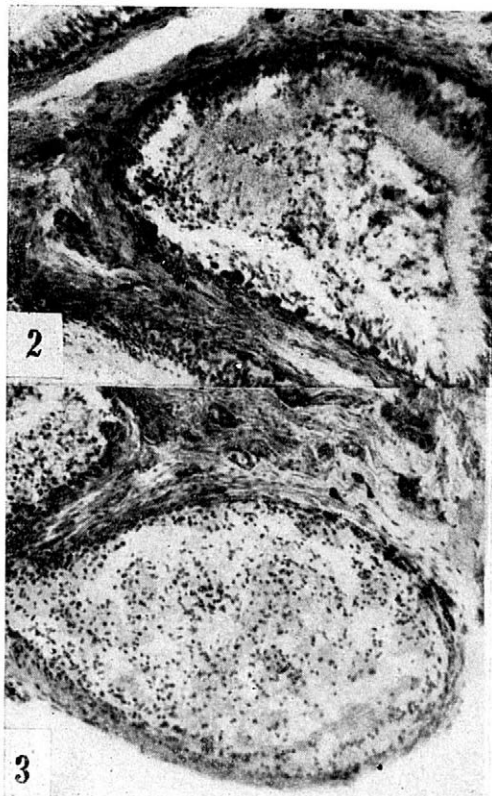
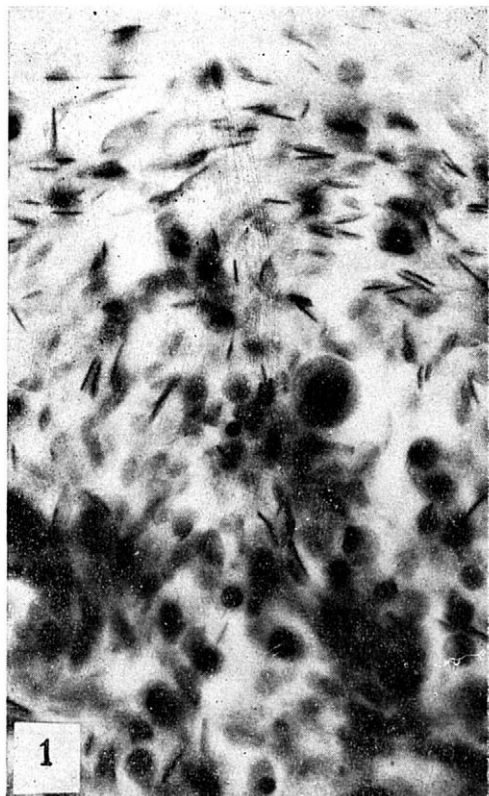
Spermioqram a jeho vývoj sme nezachytili, pretože barany dochádzali v pokročilom chorobnom stave a nepodarilo sa nám od nich získať ejakulát.

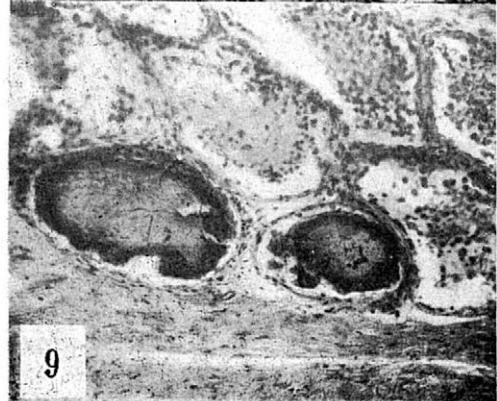
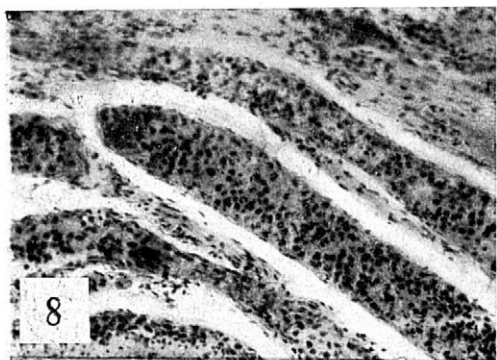
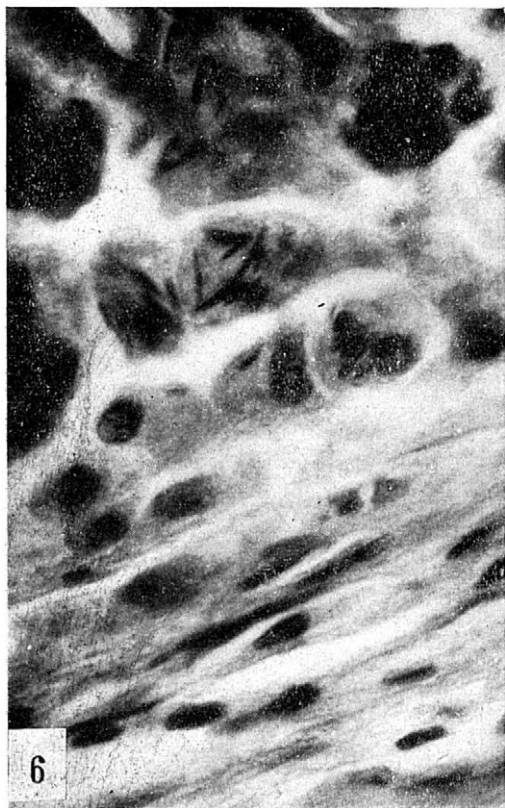
Pravidelne sme prevádzali punkciu zmenených častí prísemenníka. Podľa miesta nabodnutia alebo incízie mal obsah rôznu konzistenciu i farbu. Pri narezávaní fluktuujúceho útvaru dochádzalo k vystreknutiu obsahu. Najprv vytiekla redšia, krémovitá, nažltlá tekutina, potom — na potlačenie — vychádzala stále hustejšia, až pastózna masa, špinavej, hnedožltej farby, so zreteľnými vločkami krve. Obsah hlavnej dutiny býval redší, obsah menších dutín a kanálikov zasa hustejší.

Mikroskopicky sme v obsahu identifikovali sperma. Spermatické elementy predstavovali širokú stupnicu morfológických i funkčných zmien. 2 % až 40 % spermii — podľa prípadu a miesta punkcie — si zachovávali progresívny pohyb. U ostatných spermii sme zistili poruchy motility podľa morfológických zmien, od manéžovitého a retrogradného pohybu až po ojedinelé záškľby bičíkom a akinézu. Väčšina spermii mala separované bičíky. Najrezistnejšie spermie prežívali pri laboratornej teplote až 27 hod. Inicialná motilita spermii rýchle klesala za sústavnej dezintegrácie spojovacej časti (zmeny špiralového vlákna, vyjadrené jeho varikozitou), lámania a uvoľňovania bičíka, uvoľňovania hlavičkového obalu, atď. Paralelne so zvyšujúcou sa hustotou masy pristupovali k spermatickým elementom i nespermatické bunky. Ich množstvo a pomer sa menil podľa miesta punkcie. Medzi nimi sme nachádzali makrofágy, heterofilné granulocyty a lymfocyty, ako aj degenerované spermiogenné bunky. Okrem toho našli sa aj masy erytrocytov a cytoplazmatického detritu.

Obr. 1. Semeno prísemenníkového kanáliku: Značné množstvo spermiogenných elementov (spermatidy a 1 teratocyt). Prep. farb. HE, mikrofotopaparát ROW, foto-okulár 6×, apochrom. obj. 10×, 1". — Obr. 2. Prísemenníkový kanálik: Dalaminácia a rozpad epitelu. HE, ROW, ok. 6× apochrom. obj. 10×, 1". — Obr. 3. Prísemenníkový kanálik: Bez epitelu a vyplnený masou rozpadnutých epiteliálnych buniek. HE, ROW, ok. 6× apochrom. obj. 10×, 1". — Obr. 4. Prísemenníkový kanálik: Poškodenou stenou vystupuje semeno do intersticia. HE, ROW, ok. 8×, apochrom. obj. 10×, 1". — Obr. 5. Interglicium prísemenníka: masa čerstvo invadovaného semena. HE, ROW, ok. 6× apochrom. obj. 10×, 1". — Obr. 6. Spermatocéle prísemenníka: Vývoj spermiofágov z väzivových elementov púzdra. HE, ROW, okul. 6× apochrom. obj. 90× o. i., 4". — Obr. 7. Chromatofóry okolo prísemenníkového kanáliku (Kanálik sa nachádza pod rovinou rezu). HE, ROW okul. 6× apochrom. obj. 10×, 1". — Obr. 8. Semenník: Masa rozpadnutých a zliatých buniek vyplňuje deepitelizované tubuly. HE, ROW, ok. 6×, apochrom. obj. 10×, 1". — Obr. 9. Semenník: Ilyalinizovaná masa z tubulov v procese vápenatia. HE, ROW, ok. 6×, apochrom. obj. 10×, 1". — Obr. 10. Prísemenník: Perivaskulárne prevážne sferocelulárne infiltrácie intersticia.

Рис. 1. Семя в канальце придатка семенника: значительное количество спермиогенных элементов (сперматозоиды и 1 тератоцит). Преп. окр. HE, микрофотоаппарат ROW, фотообъектив 6×, апохром, объект. 10×, 1. — Рис. 2. Каналец придатка семенника: даламинация и распад эпителия. HE, ROW, ок. 6×, апохром. объект. 10×, 1. — Рис. 3. Каналец придатка семенника: без эпителия и заполненный массой распавшихся эпителиальных клеток. HE, ROW, ок. 6×, апохром. объект. 10×, 1. — Рис. 4. Каналец придатка семенника: поврежденной стенкой семя проходит в intersticia, HE, ROW, ок. 8×, апохром. объект. 10×, 1. — Рис. 5. Intersticiu придатка семенника: масса свежее-проникшего семени. HE, ROW, ок. 6×, апохром. объект. 10×, 1. — Рис. 6. Сперматофорные сушки придатка семенника: Развитие спермиофагов. HE, ROW, увеличено в 6 раз, хром. об. в 90 раз, 4. — Рис. 7. Хроматифоры около канальца придатка семенника (каналец находится под уровнем профиля) HE, ROW, ув. в 6 раз, хром. об. в 10 раз, 1. — Рис. 8. Семенник: Масса распавшихся и слившихся клеток заполняет деэпителизованные тубулы. HE, ROW, ув. в 6 раз, хром. в 10 раз, 1. — Рис. 9. Семенник: Гийанизированная масса 2 тубуло в в процессе кальцинации HE, ROW, ув. в 6 раз, хром. об. в 10 р. 1. — Рис. 10. Придаток семенника: Периваскулярная, главным образом сфероцелулярная инфильтрация интервестриция.





Chemická reakcia punktátu — pokiaľ sme takú zisťovali — pohybovala sa v hodnotách okolo neutrálu (= pH 6,9—7,05), hodnoty namerané elektronkovým pH metrom.

Bežnou histologickou metódou vyšetrili sme celkom 10 prípadov spontanného i experimentálneho nakazenia.

Spontanné onemocnelé prípady

Histologické zmeny nachádzame v semenníku i v prísemenníku. Vývoj zmien a jeho etapy sme nemohli uzavrieť. Ako však z rozdelenia a intenzity histologických zmien vyplýva, proces začína v epididymo — deferentnej klúčke, ktorá predstavuje locus minoris resistentiae výhodného systému semenného. Vývoj zmien smeruje pravdepodobne od cauda cez corpus a caput epididymidis do testis.

Najmarkantnejšie a prvé zmeny nachádzame v cauda epididymidis; zmeny v prísemenníku sa postupne odrážajú tiež v semenníku v podobe spermiogenetických porúch, regresívnych zmien na tubulárnom a potom i interstiálnom tkanive.

Prísemenník

Zmeny začínajú v epitele kanálik. Prvým prejavom regresívnych zmien je zastavenie sekrečnej činnosti s následnou hydropickou degeneráciou buniek a celkovým edémom epitelu. Epitel dezintegruje a dochádza k jeho delaminácii a denudácii proprie (obr. č. 2). Útržky epitelu spolu so spermatickými i spermiogennými bunkami vyplňujú lumen kanálik. Tento obsah sa rozpadáva a postupne rozpušťa v homogennú kompaktnú masu, ktorá obliteruje lúmen (obr. č. 3). V niektorých úsekoch sme pozorovali vznik väzivových hernií do lumenu. Toto všetko napomáha zastaveniu semena, pohybujúceho sa z proximálneho oddielu kanálik. Postupne sa zvyšuje tlak na stenu kanálik a sperma prerazí na miestach denudovanej proprie, oslabenej edémom, stenu kanálik a vniká do štrbín interstiálneho väziva (obr. č. 4). Pohyblivé spermie pritom vnikajú i do štrbín po stranách hlavného prúdu invázie. V čerstvo invadovaných teritóriách je okolité tkanivo nezmenené a do interstícia vniknuté masy pomerne malé (obr. č. 5). S týmto sa stretávame v prvom rade v proximálnych úsekoch príse-

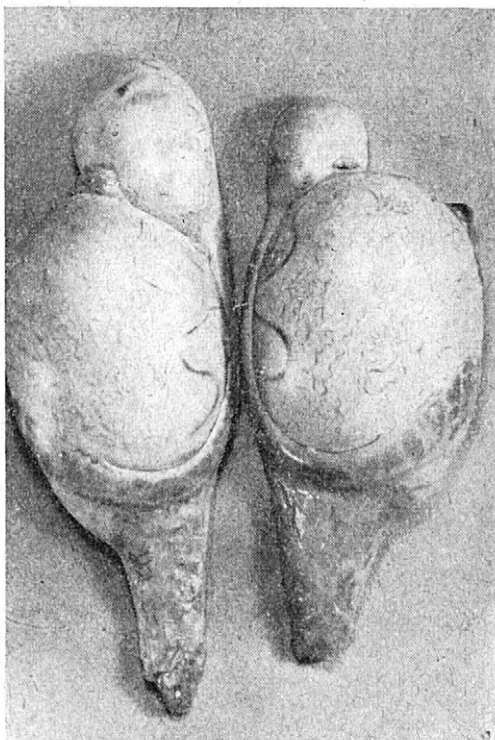


Obr. 11. Spontanne onemocnelý baran: Asymetria skróta.

Рис. 11. Спонтанно заболевший баран: асимметрия мошонки.

menníkového kanálika. V chvoste prísemenníka tieto dutiny tlakom semena rastú a opúzdrujú sa reagujúcim intersticiálnym väzivom. Vzniká opuzdrená dutina, naplnená semenom, ktorá komunikuje s prísemenníkovým kanálikom (spermatocéle).

Spermatocéle býva najväčšia v cauda epididymidis, čo pravdepodobne súvisí s pomermi púzdra, ktoré dovoľuje jej zväčšovanie. Spermatocéle udáva hlavné klinické zmeny na caude. Malé invázie, vyskytujúce sa v priebehu kanálika, hlavne však v corpus a caput epididymidis, sa klinicky ani patologicko-anatomicky nezisťujú. Ich zväčšovaniu bráni pravdepodobne púzdro, ktoré je zvlášť pevné v strednej časti prísemenníka. Pro obliterácii kanálika a invázii semena do interstícia v hlave prísemenníka tlak v kanáliku sa prenáša do semenníka a blokuje ďalšiu spermiogézu.



Obr. 12. Semenníky spontanne onemocnelého barana: Cauda epididymidis ľavého prísemenníka zreteľne zväčšená, s vyvinutým spermatocéle.

Рис. 12. Семенники спонтанно заболевшего барана: Cauda epididymidis левого придатка семенника, ясно увеличена с развитой сперматофорной сушкой.

vystupujú ako veľké gule, naplnené spermiami (obr. č. 6).

Spermiofágy tvoria v lúmeni okolo púzdra zónu, na ktorej rozoznávame vonkajšiu vrstvu malých, eventuálne deliacich sa spermiofagov, bez spermii, s jedným alebo dvomi pohltenými spermiami, strednú vrstvu s bunkami, ktoré pohltili viac spermii a konečne vnútornú vrstvu s obrovskými spermiofagmi, ktoré pohltili 20 i viac spermii (obr. č. 6).

Spermiofágy pochádzajú zrejme z väzivových elementov púzdra spermatocysty, ktoré sa vytvorilo v procese reakcie interstícia na invadovaný masu spermii. Súdime, že spermiofágy sa regrutujú v prvom rade z väzivových makrofágov (histiocytov), no máme dôvod tvrdiť, že sa tieto transformujú tiež z fibroblastov.

Dutinu spermatocéle vyplňuje masa spermii. Spermie susediace so zónou spermiofágov sú najviac poškodené, pravdepodobne vplyvom fer-

Spermatické masy distálne od obliterácie, „vysychajú“ a stenou kanálika do nich vnikajú granulocyty. Propria kanálika i okolivé väzivo reaguje leukocytárnou infiltráciou, perivaskulárnou infiltráciou lymfocytov (viď obr. č. 10) a nakoniec proliferáciou ciev a väziva.

Spermatocéle má silné väzivové púzdro. Jeho bunky smerom do lúmenu sa skracujú, zaguľacujú a nakoniec uvoľňujú (viď obr. č. 6). V lúmene sa vyznačujú bunky intenzívnou fagocytóznou aktivitou a označujeme ich preto ako spermiofágy. U niektorých pozorujeme mitotické delenie, pričom vznikajú viacjaderné bunky. Pohltením ďalších spermii bunky sa zväčšujú a

mentov; čím sú však ďalej od tejto zóny, tým je lepšie zachovaná ich morfológická intaktnosť i motilita, vyjadrená vírami spermii. V tíšinách vírov vidíme spermatický detritus, uvoľnené hlavičky a bičíky. Ojedinele sa stretávame so spermiogennými elementami, najmä teratocytmi. Okrem spermatických a spermiogenných elementov nachádzame aj masy erytrocytov a masy detritu. Inde je zas degenerované semeno prestúpené granulocytmi a lymfocytmi.

V proprii nachádzame bunku typu chromatofór. Jde o pretiahle hviezdicovité bunky, ktoré sa svojimi bežkami spájajú a obopínajú prísemenníkový kanálik (obr. č. 7). Uložené bývajú predovšetkým v proprii prísemenníkového kanálika; ojedinele sa vyskytujú aj v intersticiu. Na niektorých úsekoch kanálika sme pozorovali ako prenikajú epitelom do lúmenu, kde sa rozpadajú. Elementov ubúda od hlavy ku chvostu prísemenníka. S týmto typom buniek nestretli sme sa vo všetkých vyšetrovaných prípadoch. V semenníkov sme ich nikdy nepozorovali. Výskyt chromatofór pozdĺž prísemenníkového kanálika — ako z dostupnej literatúry vysvitá — nemusí mať u baranov osobitný význam.

Tvorba hernií je najčastejšia v hlave a v tele, zriedkava v chvoste prísemenníka.

Spermiogenné elementy, ktoré sa objavujú v niektorých úsekoch kanálika sú odrazom porúch v semnotvorných tubuloch (obr. č. 1). Sú reprezentované spermatidami, vystupujúcimi tiež v podobe obrovských mnojaderných buniek, t. zv. teratocytov a spermatocytmi druhého radu. Iba pri najťažších zmenách v parenchýme semenníka vidíme všetky typy spermiogenných elementov. Semeno kanálika sa obyčajne mení od úseku k úseku, hlavne čo do výskytu a zloženia spermiogenných elementov.

Semenník (testis)

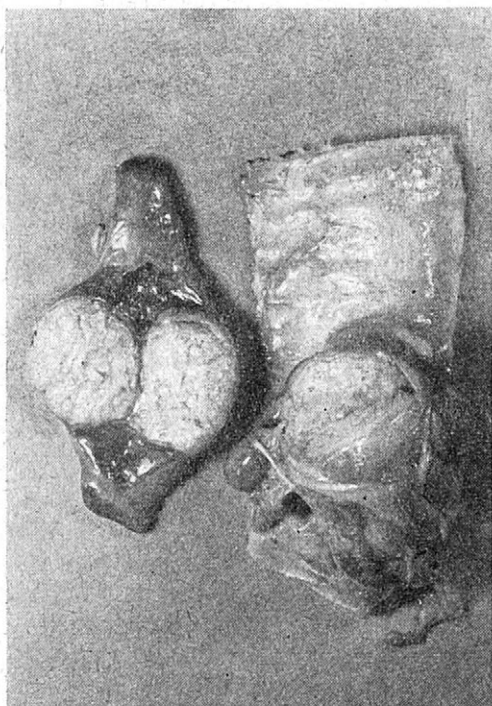
Zmeny na semenníku nie sú ani pravidelné ani typické. Ich rozsah a intenzita kolíše, podľa prípadu a podľa pokročilosti procesu v prísemenníku medzi poruchou v spermiogeneze, atrofiou a sklerózou.



Obr. 13. Semenníky spontanne onemocnelého barana: Cauda epididymidis skoro tak veľká ako semenník; spermatocele otvorené. Atrofia semenníka. Zmeny na ľavom semenníku nezreteľné (histologicky ovšem dokázané).

Рис. 13. Семенники спонтанно заболевшего барана: Cauda epididymidis почти также велика как семенник; сперматофорная сумка открыта. Атрофия семенника. Изменения на левом семеннике не ясны (гистологически конечно доказаны).

U spontanne nakazených kusov pozorovali sme tieto zmeny: Najprv a najčastejšie dostávajú sa mierne poruchy v spermiogenéze, vyjadrené zastavením metamorfózy spermatíd a tvorbou teratocytov a uvoľňovaním nevyzretých elementov z vrstvy spermatíd. V ťažších štádiach odchádzajú i hlbšie položené spermiogenné elementy z vrstvy spermatocytov a perzistujú iba spermatogónie a Sertolihho bunky. Semenotvorný epitel je takto redukovaný na jeden alebo dva rady buniek. Uvoľnené nevyzreté bunky degenerujú, vyplňujú a často obturujú lúmen nekompletného tubula v jeho distálnejších úsekoch. Neskôr dochádza k homogenizácii a hyalinizácii tejto masy. V niektorých semenníkoch pozorovali sme najmä pod tunica albuginea povrazce zo stenčených kompaktných, krehkých tubulov, masa, ktorá sa silne farbila (vápenatenie). Iné tubuly boli kolabované, bez spermiogenných elementov.



Obr. 14. Bronchiálne miazgové uzliny: Zväčšené a kazeozne zmenené

Рис. 14. Бронхиально-лимфатические узлы: увеличены и кazeозно изменены.

Treba zdôrazniť, že skoro vo všetkých vyšetrovaných semenníkoch sme nachádzali vedľa tubulov s ťažkou poruchou spermiogenézy, eventuálne s úplnou dekomplexáciou tubulov, tiež tubulv málo poškodené alebo s úplne intaktnou spermiogenezou.

Na stupeň poškodenia semenotvorného epitelu poukazoval tiež obsah rovných trubičiek a dutinky rete testis. Niekedy sme pozorovali malé invázie semena do mediastitnum testis alebo do vlastného intersticiálneho tkaniva.

Zmeny v intersticiálnom tkanive boli rôzne a nepravidelné, niekedy sme pozorovali zápalové infiltratívne pochody. Obyčajne šlo o zosílenie, zriedkavejšie hyalinizáciu väzivovej steny tubula. V jednom sme pozorovali masivnú sklerózu, v inom prípade zase buničné uzlíky.

Experimentálne nakazené prípady

Pri experimentálnom nakazení intraorchidálnou cestou sme zistili u baranov a capov zmeny v podstate zhodné so zmenami spontanne onemocnelých prípadov. V jednom prípade po periorchálnom nakazení vystúpili za všeobecne potlačenej spermiogenézy a silných regresívnych zmien tubulov význačné infiltrácie v intersticiálnom tkanive.

U kancov sme nijaké histologické zmeny nezaznamenali.

III. Kultivácia, serologické vyšetrenie a pokusy na laboratórnych zvieratách

Obdržané zmenené semenníky a prísenníky, punktáty s prísenníkov chorých baranov (L-4065/53 a L-4797/53) sme naočkovali na bežné živné pôdy aerobné (krvný agar s prísadou ovčej krvi, obyčajný agar, sérový agar a Endo agar). Súčasne sme založili kultiváciu anaerobnú a kultiváciu v atmosfére s 10% CO₂ (krvné agary s prísadou ovčej krvi, pečňový agar a sérový agar). Kultivácia — bola prevedená aj z rozteru zmenených semeníkov tak, že v sterilnom piesku sme rozotreli zmenené časti a suspedovali do sterilného bujonu. Po centrifugovaní sme previedli kultiváciu aerobnú ako aj v atmosfére 10% CO₂.

Výsledky kultivácie: za aerobnej a anaerobnej kultivácie sme nezistili rásť žiadnych kultúr. Na pôdach kultivovaných v atmosfére s 10% CO₂ na konci tretieho týždňa sme objavili na krvnom agare, šedé, ploché, mukózne, drobné kolónie. Pri preočkovaní bakteriálnej kultúry, zachovávala táto v ďalších subkultúrach potrebu CO₂ ku svojmu rastu. Doba vyrastania kolónií už v prvých subkultúrach sa skracovala a po 10. pasáži sa skrátila na dobu 5 dní. 12. pasáž sa uchytila na pôdach držaných v normálnej atmosfére. Adaptovať kmeň na pôdy bez prísady krvi alebo séra sa nám podarilo až v 14. pasáži.

Izolované zárodky boli Gram-negatívne, drobné, kokovité alebo tyčinkovité útvary. Metódou Köstera a Bölscházeho sa zárodky farbila na červeno. Aktivita ureázy, zisťovaná metódou Fergusonovej sa dostavila po 8 minútach. Kmeň netvoril indol VP-MRT negatívne. Biochemicky má kmeň tieto ďalšie vlastnosti: nerozkladá (30 dní pozorovania) glukózu, rhamnózu, arabinózu, galaktózu, laktózu, maltózu, glycerol, manitol, dulcitol. Ostatné cukry a alkoholy neboli skúšané.

Suspénzia baktérii nedala sa aglutinovať ani rýchlou ani akúmavkovou metódou. Rovnako sa nám nepodarilo pripraviť vhodný antigen, ktorý by dával pozitívnu VK a aglutináciu s notoricky pozitívnymi sérami.

U barana so zosyrovatenými miazgovými uzlinami a ďalšími zmenami bol izolovaný *Staphylococcus pyogenes albus haemolyticus*.

Biologická skúška: Z materiálu sme naočkovali myšky, celkovo v počte 8 kusov: 4 kusy subkutánne, 2 ks intramuskulárne a 2 intraperitoneálne, ďalej 4 myšky intramuskulárne aj intraperitoneálne suspenziou izolovaného kmeňa. Myšky po dobu pozorovania 3 mesiacov zostali bez porušenia zdravotného stavu. Po ich zabíjaní sme nezistili patologicko-anatomické zmeny, kultivácia a serologické vyšetrenia dali negatívne výsledky.

Naočkovali sme ďalej morčatá z doneseného materiálu: 2 intramuskulárne a 2 subkutánne a ďalšie 2 morčatá z izolovaného kmeňa intraorchidálne. Morčatá naočkované orchidálne na 12. deň reagovali zvýšenou teplotou 40,8° C po dobu 24 hodín, pričom za celú ostatnú dobu pozorovania až na citlivosť naočkovaného semenníka nevykazovali žiadne odchýlky od normálu. Ostatné morčatá zostali práve tak bez reakcie. Počínajúc 6. dňom každý 6. deň odoberané vzorky krvi k serologickému vyšetreniu s bruce-

lozným antigenom nevykazovali zvýšenie protilátok. Séra neaglutinovali a nedávali pozitívnu reakciu s izolovaným kmeňom.

Ďalej bolo naočkováných celkom 6 králikov, a to 2 z doneseného materiálu intraorchidálne a 4 z izolovaného kmeňa tak isto intraorchidálne. 1 králik naočkovaný doneseným materiálom javil na 12 deň príznaky zápalu semenníka, čo sa prejavilo opuchnutím semenníka a jeho citlivosťou; tento postupne tvrdol, králik chudol a na 57. deň po naočkovaní za príznakov kachexie uhynul. U králikov naočkováných izolovaným kmeňom na druhý až štvrtý deň zvýšila sa teplota o 1° C a na 6. deň semenníky opuchli a boli citlivejšie. Krvné vzorky odoberané periodicky od 6. dňa po naočkovaní vykazovali u králikov očkovaných izolovaným kmeňom a u jedného králika očkovaného doneseným materiálom na 16. deň aglutiníny, zistené ivanovických testom 1:25++++, 1:50+++ a VK na ²++++. Táto hladina protilátok zostala po dobu 3 týždňov, potom vymizla.

V ďalšej typizácii a identifikácii kmeňa sa pokračuje.

Toto podávame ako predbežnú zprávu zo štúdia tejto choroby v teréne, na klinike i laboratoriu. V štúdiu sa pokračuje.

Z á v e r

Autori podávajú predbežné výsledky zo štúdia na Slovensku dosiaľ nezaznamenanej choroby, ktorá postihuje prísemenník a semenník plemenných baranov. Doteraz bola choroba zistená v dvoch okresoch a postihla najmenej 50 plemenných baranov. Popisuje sa symptomatologia a patologická anatomia spontanne a experimentálne onemocnených prípadov, histológia s dynamikou zmien hlavne v prísemenníku. Autori izolovali mikroorganizmus, ktorého morfológické, biochemické a biologické vlastností sa popisujú. V štúdiu sa pokračuje.

Literatura

1. Anderson J.: The semen of animals and its use for artificial insemination Edinburgh, 1945. — 2. Andersen J. a spol.: Pathological and seminal changes in bulls affected with a specific venereal infection p. J. comp. Path., 1951, 61, 219-30. — 3. Bayle H - Gouygou C.: Sterilité masculine, spermatogenèse et espermatophagie. Presse med. Paris, 1951, 59; 5, p. 87-91. — 4. Blom E. - Christensen N. O.: Congenital absence of the epididymis, ductus deferens or glandula vesicularis II. K. Vet Hojsk. Arsskr, 1951, 6, p. 1-64. — 5. Blom E. - Christensen N. O.: Studies of the pathological conditions in the testis, epididymis and accessory glands in the bull. Upsala, 1950. — 6. Bogner H.: Über Vorkommen und den Nachweis von Brucella abortus bovis in den verschiedenen Abschnitten des männlichen Genitaltraktes und im Samen von Zuchtbullen. Diss. München, 1953. — 7. Buddle M. B. - Betty W. Boyes: Brucella mutants causing genital disease of

sheeps in New Zealand. Aust. Vet. J. 1953, 29, p. 144. — 8. Cronquist S.: Spermatic invasion of the epididymis. Act. path. scand. 1948, 56, p. 122. — 9. Delabälze F. A. - Mancini R. M. - Bur G. E.: Sterilité humaine masculine par orchiepididymite par brucellose. An. endocrin., Paris, 1953, 14; 4, p. 510-1. — 10. Fontana G.: Alterazioni patologiche epidimo-testicolari ed infecondita in un toro. La clinica vet., 1938. — 11. Harrison R. G.: The effect of ligation of the vasa efferentia on the rat testis, J. anatomy, 1953, 87, 4, p. 453-4. — 12. Harris J.: Brucellosis (Undulant fever). — New York, Hoeber P. B., 1950. — 13. Harms J. W.: Körper und Keimzellen, Berlin, 1925. — 14. Lehner J.: Über Spermiophagie; nebst Bemerkungen zur Histologie des Nebenhodens. Ztschft. mikr. anat. Forschg. 1924, 1, 316-351. — 15. MacMillan E. W.: The effect of higher epididymal obstructions upon the Leydig cells of the rat testis. J. ant., London, 1953, 87, 4, p. 454. — 16. MacMillan E. W.: The effects of interruption of the vasa and inferior epididymal arteries on the cauda epididymidis and testis. Proc. soc. stud. fert., 1954, 5, p. 12-19. — 17. Maximov A. A. - W. Bloom: A textbook of histology Philadelphia, London, Saunders W. B., 1952. — 18. Nižňanský F. - Stricker F. - Mareková: Skúsenosti s typizáciou brucelových kmeňov, Čsl. MEM č. 5, 53. — 19. Pallaske G.: Zur Pathologie der Samenstaung der Ziegenböcke. DTW 1942, 50. — 20. Roček: Príspevok k poznání chorobných změn na varletech a nadvarletech kozlu. Diss. Práca, Brno. — 21. Simmont G. C. - Hall W. T. K.: Epididymitis of rams. Aust. Vet. J., 1953, 29, p. 33. — 22. Schaffer J.: Lehrbuch der Histologie und Histogenese. III. Aufl. Berlin-Wien, Urban-Schwarzenberg, 1933, p. 442. — 23. Scheben L.: Eine seuchenhaft auftretende Nebenhodenentzündung des Schafes in Südwestafrika. DTW, 1913, 15, p. 172. — 24. Stieve H.: Samenzellverklumpfung (Spermagglutination nicht Spermiophagie). Ztschft. mikr. anat. Forschg., 1925, Bd 2, p. 598. — 25. Schmidt K. E.: Hoden und Nebenhoden von Ziegenböcken mit Samenstaung. Diss. práca, Lipsko, 1940. — 26. Terentev-Markova: Infekcionnija i invaznija bolezni ovec a koz. Moskva, Selchozgiz, 1951.

Инфекционный эпидидимитид баранов в средней Словакии

Авторы сообщают предварительные результаты исследования в Словакии до сих пор незарегистрированной болезни, которая поражает придаток семенника и семенник племенных баранов. До сих пор эта болезнь была замечена в двух районах и поразила не меньше 50 племенных баранов. Описывается симптоматология и патологическая анатомия спонтанных и экспериментальных случаев заболевания, гистология с динамикой изменений главным образом в придатке семенника. Авторы изолировали микроорганизм, морфологические, биохимические и биологические свойства которого описываются в этой работе. Исследование продолжается.

Infektiöse Epididymitis von Widdern in der Mittelslowakei

Die Autoren teilen die vorläufigen Ergebnisse der Studien einer hisher in der Slowakei nicht verzeichneten Erkrankung, welche Nebenhoden und Hoden von

Zuchtwiddern befällt mit. Bisher wurde diese Krankheit in zwei Bezirken festgestellt und befiel wenigstens 50 Zuchtwidder. Beschrieben wird die Symptomatologie und pathologische Anatomie von spontan und experimental erkrankten Fällen, die Histologie zusammen mit der Dynamik der Veränderungen, hauptsächlich im Nebenhoden. Die Autoren isolierten den Mikroorganismus, dessen morphologische, biochemische und biologische Eigenschaften beschrieben werden. Dieses Studium wird fortgesetzt.

Vzácný případ agranulocytosy u koně

Редкий случай агранулоцитоза у лошади

A Rare Case of Agrenulocytosis in a Horse

MVDr ZDENĚK SOVA,

Veterinární nemocnice v Pardubicích

Úvod

Pod pojem agranulocytosa (*neutropaenia maligna, agranulocytosis aregenerativa, granulocytopaenia maligna, granulocytoftisis*) rozumíme těžké onemocnění kostní dřeně, probíhající často smrtelně.

Nejvýraznějším příznakem této choroby je zmenšené množství bílých krvinek v obvodové krvi. Počet leukocytů kolísá zpravidla mezi 1000—3000 v 1 cm. Tento stav vzniká škodlivým vlivem na hemopoetický systém v kostní dřeni, která tyto granulované bílé krvinky produkuje.

Význam segmentovaných leukocytů pro organismus je všeobecně znám. Díky dostatečné obranné schopnosti těla, která závisí do značné míry na přítomnosti neutrofilních segmentovaných leukocytů, neonemocní organismus ani při stálém styku s pathogenními mikroby.

Při agranulocytose dochází hlavně k útlumu tvorby granulovaných leukocytů, takže nastává velké nebezpečí, že i lehké infekce, které by za normálního stavu probíhaly zcela skrytě, se projeví v neodolném organismu těžkými příznaky. Takové případy končí pak sepsí, pneumonií, může dojít k rozsáhlým nekrosám v tlamě, v gastrointestinálním traktu, někdy i na kůži a ve vagině.

Etiologie. Zásadně můžeme rozdělit agranulocytosu na idiopatickou a symptomatickou. K idiopatické neutropenii je nutno řadit infekční virovou agranulocytosu u kočky. Chorobu objevil Lawrence a po něm isoloval specifický virus, vyvolávající agranulocytosu, též Pavlanis. Neutropenie u kočky je endemické onemocnění. V roce 1950 isolovali Urbain a Nouvel ve Francii virus agranulocytosy z panthera, čerstvě importovaného z Afriky, který uhynul za příznaků zvracení, inapetence a malátnosti. Filtrátem z orgánů infikovali fretku i kočku. Virus bylo možno pasážovat zpět jak z kočky, tak i z fretky na další kočky. U jedné z pasážovaných koček klesl počet leukocytů až na 950 v cmm, při čemž šlo vesměs o agranulocyty.

Uznává-li se dosud v humánní medicíně syndrom agranulocytosy-choroby Werner-Schulzovy za genuinní onemocnění, činí se tak proto, že současné znalosti etiologických činitelů jsou dosud velmi kusé. Lze však s největší pravděpodobností počítat s tím, že se časem zjistí

i další chybějící etiologická agens a tím se vysvětlí i další příčiny tak zvaných genuinních syndromů.

Symptomaticky může být agranulocytosa vyvolána:

1. Chemickým vlivem - účinkem prvků nebo farmaceutických přípravků.

Sem patří vismuth, soli zlata a rtuti, koloidní stříbro, trypanová modř, chinin, neosalvarsan, atofan, arsenobenzen, fenacetin, thiouracil, pyrimidon, aspirin, antipyrin, deriváty kyseliny barbiturové a sulfonamidy, z nichž nejvíce sulfapyridin, sulfadiazin a sulfaquanidin (J a g n i ě, K l i m a, L a w k o v i t z). O s e b o l d popisuje případy agranulocytosy u skotu po otravě kapradím a trichlorethylenem, W i r t h též u krávy po otravě sloučeninami rtuti. L i b á n s k ý upozorňuje na účinek benzolu nebo jiných látek, používaných v průmyslu jako rozpustidel (trichlorethylen, dinitrofenol, trinitrotoluen). Obdobný účinek mají i prostředky používané v moderní chemoterapii nádorů, jako chlorované alkylaminy (náš preparát TS 160) a urethan. Tyto léky jsou často dvojsečnou zbraní a při jejich používání je třeba stálých krevních kontrol a velké opatrnosti. Zde je třeba pamatovat, že tlumivý účinek látky na tvorbu krve pokračuje ještě po řadu dní po jejich vysazení, podobně jako je tomu při ozáření roentgenem, takže se útlum nemusí projevit těsně po skončení léčby, ale až o několik dní později.

Známy je účinek sulfonamidů na útlum tvorby krve při dlouhodobém podávání ve velkých dávkách. Konečně z nejmodernějších antibiotik má obdobný účinek i chloramfenykol, jak potvrdil u psů Š o v a při pokusech o léčení nervové psinky.

Podobný účinek mohou mít i různé alkaloidy nebo glykosidy (Wirth). H o f f e r b e r diagnostikoval hematologicky agranulocytosu ve dvou případech u krav. U prvé došlo k poklesu neutrofilních segmentů na 10 % při 85 % lymfocytů, pravděpodobně po otravě solaninem, který jako protoplasmatický jed mohl by mít škodlivý vliv na kostní dřeň. U druhé krávy, která měla klinicky akutní nephritidu, došlo v krvi z počátečních 8 % neutrofilních segmentů během týdne až k jejich úplnému vymizení, při čemž počet lymfocytů kolísal od 90—98 %. Zvíře bylo nutně odporazeno. Autor vidí etiologickou příčinu v alimentární intoxikaci po dlouhodobém krmení vadným mlátem. V obou případech byl klinicky zjištěn ikerus.

2. Opakovaný styk s paprsky Roentgenovými nebo jiným radioaktivním zářením

Sem patří těžké-leukopaenie, vyvolané u zvířat i lidí po zásahu atomovou bombou.

Při styku s vyjmenovanými látkami, ať již chemické nebo fyzikální povahy, rozhoduje značně individuální vnímavost. Ne každý exponovaný organismus a ne stejně brzo onemocní agranulocytosou. Je ovšem samozřejmé, že záleží na dávce škodliviny a na době, po kterou působí. Někdy po opakovaném použití této škodliviny se může dostavit agranulocytosa po poměrně malé dávce.

Sensibilisace na některé léky je činitel, který usnadňuje vznik granulocytopenie. Mechanismus, kterým účinkují sulfonamidy, podávané perorálně, a thiouracil (používaný při léčbě Basedowovy choroby), za-

kládá se pravděpodobně na útlumu růstu střevních mikrobů, které syntetizují kyselinu listovou nebo její sloučeniny. Jak známo, je kyselina listová jedním z činitelů, kteří podmiňují zrání granulocytů v kostní dřeni.

3. Též infekční choroby mohou být příčinou granulocytopaenie.

Podle Wirtha byla dosud ve velmi málo případech zjištěna agranulocytosa při infekčních chorobách zvířat. Byla popsána u psa při angině, u kočky při virové infekční enteritidě, u prasat při moru vepřů a při septikaemiích, u koní při ikteru a u krav při streptokokové mastitidě.

V humánní medicíně byla zjištěna při střevním tyfu, difterii, milární, tuberkulose, lues, septikaemii, malarii, kala-azar a vleklém kloubním hostci (Lawkowicz).

U infekčních chorob popisuje se etiologicky vliv virů, bakterií nebo jejich toxinů.

Diagnosa: Nejvýraznějším příznakem nemoci je snížení počtu leukocytů v obvodové krvi. Tento počet kolísá zpravidla mezi 3000—1000 v 1 cmm, avšak jsou popsány i daleko nižší hodnoty od 50—150 BK v 1 cmm. Množství neutrofilních segmentovaných leukocytů kolísá od 0,0—20 %, počet eosinofilních i basofilních leukocytů většinou bývá snížen nebo tyto buňky chybějí. V důsledku útlumu granulocytové složky dochází k relativní převaze lymfocytů. Někdy nacházíme též ojedinělé plasmacyty. Byly popsány monocytové reakce. Na granulocytech je možno nalézt degenerační změny na jádru i plasmě (pyknosa, vakuoly, setření jaderné skladby, slabě se barvící zrnnění). V typických případech nejvíce ani erythrocyty ani trombocyty zřetelné změny a množství destiček je normální. Avšak škodliviny, vyvolávající agranulocytosu, mohou vyvolat též anemii a trombopaenii. Pak mluvíme o pancytopenii neboli panmyelofitise. Postižení jednotlivých morfologických složek krve není vždy stejnoměrné. Jednou může převažovat útlum tvorby bílých krvinek, jindy destiček a jindy opět erythrocytů.

Nález v kostní dřeni závisí na povaze škodlivého činitele, na síle jeho účinku, na vyrovnávacích schopnostech organismu nebo na údobí onemocnění.

Seriovým vyšetřením kostní dřene lze hodnotit dynamiku procesu a vyloučit granulocytopaenii, vyvolanou na příklad růstem nádorové tkáně, aleukaemickou myelosou a změnami granulačními.

Rohr (podle Lawkowicze) rozlišuje tyto typy obrazců dřene při agranulocytose: 1. Dřeň normální nebo téměř normální. Obraz agranulocytosy je vyvolán následkem poruch ve vývoji bílých krvinek.

2. Dřeň se zvýšeným množstvím promyelocytů nebo myelocytů (t. zv. zrací útlum).

3. Zánik granulocytové soustavy a bujení dřevňového retikula.

4. Zánik granulocytové soustavy i retikula (tak zvaná „prázdňá dřevň“).

5. Obvodová agranulocytosa, zaviněná ničením leukocytů v obvodové krvi (leukocytolysa).

Jak vyplývá z uvedeného, mohou změny v kostní dřeni v krajních případech spočívat buď v aplasii granulocytové dřevňové řady, nebo naopak v přílišné tvorbě granulocytů se současným útlumem nebo chybným zráním.

Shrneme-li vše, co bylo řečeno, vidíme, že pro diagnosu agranulocytosy jsou rozhodující tyto okolnosti:

1. Výsledek krevního rozboru: granulocytopaenie a nedostatek zřetelných změn na červených krvinkách a destičkách.

2. Podrobná anamnesa se zřetelem k nedávno prodělaným infekcím a použitým lékům.

3. Apatie a vyčerpánost.

4. V akutních případech septické příznaky.

5. Slezina a mízní uzliny jsou nezvětšené.

6. Nedostatek příznaků krvácivosti.

7. Zrychlená sedimentace erythrocytů.

Léčení: Při léčení agranulocytosy je nejdůležitějším momentem zjištění škodlivého vlivu a okamžité vysazení ohroženého či nemocného zvířete z okruhu škodliviny. Dále je třeba pacienta pečlivě chránit před infekcí. Pro snadnou možnost vzniku nekros snažíme se zabránit tlakovým změnám. Při sebemenším podezření infekce aplikujeme penicilin, a je-li třeba, provedeme transfusi krve zdravého zvířete, u něhož je možno zvýšit počet bílých krvinek předchozí popudovou terapií. Upravíme dietu, bohatou vitamínem B, a podáváme ji v polotekuté formě.

Jde-li o infekční etiologii agranulocytosy, léčíme infekční chorobu a snažíme se u pacienta překonat kritické období, než jeho kostní dřeň začne opět vyplavovat leukocyty do krve.

U tažných a služebních zvířat nařídíme absolutní pracovní klid a zvíře nejlépe hospitalisujeme ve veterinární nemocnici, kde je možno sledovat průběh choroby hematologicky.

Prognosa: Prognosa agranulocytosy záleží na stupni útlumu. Je-li lehký, může dojít k uzdravení, je-li těžký, končí choroba většinou ztrátou zvířete.

Vlastní pozorování

Děk laboratornímu hematologickému vyšetření podařilo se mi zachytit ojedinělý případ téměř absolutní agranulocytosy u jezdeckého koně Abela, valacha, narozeného v r. 1941, který přišel dne 6. 11. 1954 do ústavního léčení do naší veterinární nemocnice.

Anamnesa: Kůň v posledních 14 dnech občas mírně tahal, jinak většinou stál. Dne 4. 11. mu začaly mírně otékat přední končetiny, nastala inapetence a zvýšení teploty na 40,1° C. Druhého dne byl stav nezměněn, a proto bylo zvíře předáno dne 6. 11. do ústavního léčení.

Status praesens dne 6. 11. 1954. T 40,2, P 68, D 16, kůň skleslý, malátný, odmítá oves i seno, žere jen mrkev a řepu. Otoky všech čtyř končetin. Bylo vysloveno podezření na počínající *morbus maculosus* a ordinováno: Streptogen 10 ml sc, Cejodyl 5 ml sc, Cardiazol 10 ml sc, dieta: otrubový nápoj, mrkev. Vyšetření trusu: ojedinělá vajíčka *Strongylus equi*. Vyšetření moči: sp. v. 1,032, pH 7,2, bílkoviny ++, urobilin +, ostatní složky negativní.

7. 11. 54. T 39,5, P 70, D 15. Stav klinicky nezměněn. Po hematologickém vyšetření opravena diagnosa na agranulocytosu, při čemž nebylo možno zatím vyloučit aleukaemickou formu lymfocytární leukaemie. Ordinováno 2,000.000 j. depot. penicilinu k ochraně organismu při těžce porušené granulocytové tvorbě krve. Anamnesa vylučovala chemický či fyzikální vliv, a proto byla hledána infekční příčina. Byla provedena maleinace, tuberkulinace s boviním i humaním tuberkulinem a krev byla zaslána do ústavů k serologickému vyšetření na brucellosu, Q horečku a leptospiroso. Současně bylo provedeno bakteriologické vyšetření trusu se zaměřením na *Salmonelly*.

8. 11. 54. T 40,6, P 68, D 17. Tuberkulinace i maleinace negativní, klinický stav nezměněn. Ordinováno 2,000.000 j dep. penicilinu im a 10 ml Cardiazolu sc.

9. 11. 54. T 40,4, P 66, D 15. Klinicky nezměněno. První vyočkování z Kauffmanovy pomnožovací půdy na Endo a Wilson Blaire na *Salmonelly* negativní. Vyšetření moči: sp. v. 1,038, pH 7,1, bílk. ++, urobilin ++, ostatní negativní. Vyšetření krve viz krev. Therapie: opět 2,000.000 j penicilinu a 10 ml Cardiazolu. Proveden pokus

o přenesení choroby na pokusná zvířata. Čerstvě odebraná krev do citrátu injikována psovi (15 ml sc), kočce (7 ml sc), králíkovi (5 ml sc) a morčeti (2 ml sc).

10. 11. 54. T 39,8, P 66, D 14. Klinicky nový příznak: ikterus na spojivkách, objevuje se otok na hrudi, otoky končetin rozsáhlejší. Kůň žere pouze strouhanou řepu, je krměn sondou otrubovým nápojem, je velmi malátný a potácí se. Peristaltika téměř sístvána. Druhé vyočkování z Kaufmanna: negativní. Vyšetření krve viz krev. Therapie: Penicilin 2,000,000 j, Cardiazol 10 ml sc.

11. 11. 54 T 40,5, P 70, D 18. Celkový stav se zhoršuje, případ je hodnocen jako beznadějný, avšak pro vzácný a neobvyklý charakter choroby je kůň udržován kardiaky dále a krměn nosohltanovou sondou otrubovým nápojem se strouhanou mrkví a cukrem. Poněvadž penicilin neovlivnil septický průběh choroby, bylo upuštěno od jeho další aplikace.

12. 11. 54. T 40,3, P 90, D 17. Vyšetření krve viz krev. Kultivace z krve na krevní agar aerobně i anaerobně negativní.

13. 11. 54. T 40,4, P 90, D 16. Vyšetření krve viz krev. Odpoledne se kůň zhroutil a chvíli sebou mlátil, než byla přivolána odborná pomoc. Uklidnil se a vzpružil po aplikaci 10 ml Panalept iv. Pro nebezpečí bezprostředního uhynutí byl dán v 16 hodin na jatky.

Pathologicko-anatomický nález: Ikterické zabarvení spojivek, mírná *hypertrophia cordis*, parenchymatosní zánět jater, mírný tumor sleziny. Na prsou i končetinách rozsáhlé otoky. Ostatní orgány bez viditelných změn.

Bakteriologické vyšetření: Kultivováno bylo ze srdce, plic, jater, sleziny, ledvin a dřeně kostní z femuru na obvyčejný agar, krevní agar, Endovu půdu, půdu Wilson-Blaireovu a desoxycholátovou. Všechny plotny zůstaly sterilní.

Histologické vyšetření: játra: proliferace v drobných jaterních žlučovodech, místy velmi mírně naznačené difusní degenerativní změny; ledvina i slezina bez pathologicko-histologických změn; plic: hemoragický infarkt; dřeň kostní, odebraná z dlouhé kosti, byla již fyziologicky tuková, takže z ní nebylo možno usuzovat na útlum tvorby krve. Speciální vyšetření ledvin a jater Levanditím na leptospiry bylo negativní.

Serologické vyšetření: Teprve za 4 dny po odporažení pacienta přišly výsledky z ústavů. Brucelosa i Q horečka negativní, *Leptospira* pozitivní v titru 1:1000 s *L. grippotyphosa* A.

Pokus o přenesení choroby na psa, kočku, králíka a morče se nezdařil. U všech sledovaných zvířat zjištěna 3. den po injekci leukocytosa a zvýšená teplota jako reakce na cizorodou bílkovinu, 15. den a 40. den byla již krev v mezích normy.

Hematologické vyšetřování se konalo vždy mezi 8.—9. hod. ranní. Vždy bylo odebráno 10 ml krve z v. jugularis do zkumavky, obsahující 1 ml 3,8 % natrium citricum. K odběru bylo používáno humánních jehel s olivou o průměru 1,2 mm, aby bylo možno dobře zhotovit roztěry, které byly prováděny tak, že přímo z odkapávající krve byla zachycena kapička a rozetřena běžným způsobem na podložním sklíčku. Z téže odtékající krve byla zachycena krev do melangeru na počítání BK. Citrátované krve bylo použito k zastavení sedimentace do Westergreenových pipet, k zjištění haemoglobinu haemometrem Sicca a k stanovení počtu červených krvinek, při čemž zředění citrátem nebylo bráno v úvahu. Rychlost sedimentace erythrocytů byla pozorována po 5 min., 10 min., 15 min., 30 min. a 24 hod. Jako zrychlená byla hodnocena tehdy, když za 15 minut klesl sloupec červených krvinek pod 45 dílků pipety. Erythrocyty i leukocyty byly počítány v Bürkerově komůrce. Roztěry byly barveny podle May Grünwalda a Giemsy a v roztěru bylo počítáno vždy 200 leukocytů mimo vyšetření ze dne 7. listopadu, kdy bylo počítáno pouze 100 leukocytů.

Byly zjištěny tyto hodnoty krevních obrazů:

Dne	Sedimentace					BK	ČK	Hgb	Mo	Ly	Lbl	N	T	Ml	Eo	B	PIL
	5 min	10 min	15 min	30 min	24 hod												
7. 11.	14	76	135	143	149	1400	4 600 000	60	6	76	5	—	1	—	—	—	12
9. 11.	16	61	111	130	142	950	4 640 000	65	10	68	6	—	1	—	—	—	15
10. 11.	19	58	106	127	140	1150	5 480 000	72	7	84	3	—	1	—	—	—	5
12. 11.	23	65	115	131	142	2850	5 300 000	68	10	69	7	2	2	—	—	—	10
13. 11.	12	72	121	130	138	3750	4 800 000	75	6	74	8	—	1	—	—	—	11



Obr. 1. Otoky předních končetin.

Рис. 1. Отеки передних конечностей.



Obr. 2. Otoky zadních končetin.

Рис. 2. Отеки задних конечностей.

Pro srovnání krve zdravého koně podle Něvodova a podle Kudračeva:

Něvodov:

ČK: 7,000.000 (6—9 mil.) v 1 cmm
 BK: 9000 (7000—12.000) v 1 cmm
 Hgb: 65 % (50—80 %)
 Trombc.: 350.000 (200.000—500.000) v 1 cmm
 Ba: 0,5 %
 Eo: 4,5 %
 Ml: 0,5 %
 T: 4 %
 N: 54 %
 Mo: 2,5 %
 Ly: 34 %

Kudračev:

ČK, BK, Hgb jako Něvodov
 Ba: 0,5 % (0—1 %)
 Eo: 4 % (2—6 %)
 Mlc: 0 % (0—0 %)
 Ml: 0 % (0—0,5 %)
 T: 4 % (3—5 %)
 N: 55 % (45—65 %)
 Ly: 27,5 % (20—38 %)
 Mo: 3 % (2—4 %)
 H: 6 % (5—7 %)

Vysvětlivky:

BK: leukocyty
 ČK: erythrocyty
 Hgb: haemoglobin
 Mo: monocyt
 Ly: lymfocyt
 Lbl: lymfoblast
 N: neutrofilní granulocyt
 T: tyčinkovitý neutrofilní leukocyt

Ml: mladý neutrofilní leukocyt
 Mlc: myelocyt
 Eo: eosinofilní leukocyt
 Ba: basofilní leukocyt
 PIL: plasmacyt lymfoidní
 H: histiocyt
 Trombc.: trombocyt



Obr. 3. Otoky na břichu (viz šipku).

Рис. 3. Отеки на брюхе.



Obr. 4. Úplná skleslost den před odporazením.

Рис. 4. Полный упадок сил за день перед забоем.

Zhodnocení krevního vyšetření

Hematologické vyšetření bylo jediným diagnostickým vodítkem. Jeho včasné provedení již druhý den po příchodu pacienta umožnilo vyslovit podezření na agranulocytosu, která pak byla opakovanými vyšetřeními potvrzena. Všechny 5 krevních vyšetření je charakterisováno podstatně zrychlenou sedimentací. Zatím co u zdravého koně klesne sloupec ČK za 15 min. maximálně o 45 dílků, byla sedimentace při všech 5 vyšetřeních za 15 min. pod 100 dílků. Počet leukocytů se pohyboval při prvních vyšetřeních kolem 1000 BK v 1 cmm. Nejnižší hodnota byla napočtena dne 9. 11.: 950 leukocytů v 1 cmm. Z pozvolna přibývajících hodnot v počtu bílých krvinek by se mohlo zdát, že dochází k částečnému zlepšení, avšak značně zrychlená sedimentace a stálá, téměř absolutní agranulocytosa s kompenzační relativní lymfocytosou varovala před optimistickými vyhlídkami. Počet erythrocytů při všech vyšetřeních byl mírně snížen. Snížení na 4,600.000 až 5,500.000 nelze však hodnotit jako vyslovenou anemii. Procento Hb, měřené haemometrem Sicca, se pohybovalo na spodní hranici normálu. Všechny leukogramy byly s malými výchyly charakterisovány stejně: relativní monocytosou a maximální relativním množstvím lymfocytů na úkor neutrofilních segmentovaných leukocytů. Ve všech roztěrech byly nalezeny lymfoidní blastické elementy s dosti širokou modrou až

modrošedou plasmou, u kterých dochází k perinukleárnímu vyjasňování a ke tvorbě uzlovitých zahuštění chromatinu v plasmě, takže se vytvářejí plynulé přechody k lymfatickým plasmacytům. Zcela neobvyklý je též nález poměrně velkého počtu (kolem 10 %) lymfatických plasmacytů-buněk s lymfoidním jádrem a s nápadně basofilní, vakualisovanou a azuru prostou plasmou. Tento druh plasmatických buněk se vyskytuje spolu s normálními lymfocyty a lymfoblasty v chorobných stavech, doprovázených podrážděním žláзовého ústrojí a množením lymfocytů v obvodové krvi. Počet monocytů byl relativně zvýšen při téměř normálním absolutním celkovém počtu. Těžce poškozená tvorba granulocytů se projevila úplným útlumem těchto buněk v krvi. Místo průměrného absolutního počtu 5400 neutrofilů a tyčků v 1 cmm (průměrně 55 % neutrofilních granulocytů a 4 % tyčinkovitých neutrofilů) zdravého koně bylo napočteno dne 9. 11. jen 9,5 tyčinkovitých neutrofilů při úplném útlumu zralých neutrofilních granulocytů, což jest hodnota asi 570krát menší než u zdravého koně. Úplně ojedinelé segmentované leukocyty, které byly nalezeny v některých leukogramech mimo rozpočet, měly pyknotická jádra a atypie v granulech i cytoplasmě. Vůbec nebyly zjištěny eosinofilní i basofilní leukocyty.

Diskuse

Onemocnění mělo klinický průběh, připomínající otoky končetin a hrudi (ovšem bez příznaků hemoragické diathesy) *morbus maculosus*.

Přes včasnou penicilinoterapii udržovaly se teploty po celý týden až do nutného odporažení kolem 40° C. Krevním vyšetřením byla stanovena diagnosa: agranulocytosa. Ve snaze najít etiologickou příčinu útlumu granulocytové řady bylo usuzováno po anamnestickém vyloučení chemických nebo fyzikálních vlivů na infekční charakter choroby. Laboratorním vyšetřením byla vyloučena tuberkulosa, brucellosa, Q horečka, malleus, streptokoková a stafylokoková sepe a salmonellosa i ostatní eventuální bakteriální infekce kultivací z orgánů. Pokus o přenos choroby na psa, kočku, králíka a morče se nezdařil. Zajímavé svědlo vrhá na celý případ serologický nález při vyšetření na leptospirosu, kdy titr byl pozitivní 1:1000 s *L. grippotyphosa* A. U zvířete byl vyloučen zdroj leptospirosy z hovězího dobytka. Nález agranulocytosy při lues (*spirochaeta palida*), ikterus v klinice vyšetřovaného zvířete a konečně též ikterus u obou případů agranulocytosy krav, popsaných Hoffenbergerem, u nichž nebylo provedeno serologické vyšetření na leptospirosu, nabádající brát v úvahu možnost leptospirosy jako etiologické příčiny agranulocytosy u vyšetřovaného zvířete. Též poznatek H u t t y, který nacházel při akutní leptospirose psů silnou leukopaenii, zdá se potvrzovat tuto domněnku. Serologické vyšetření nemohlo být (ke škodě celého případu) provedeno opětovně, poněvadž výsledek přišel z ústavu až 4 dny po odporažení zvířete.

Proti leptospirosnímu původu onemocnění mluví: 1. skutečnost, že titr 1:1000 s různými leptospirami nacházíme při našich vyšetřováních asi u 15 % nejružnějších klinických pacientů většinou s „chirurgickou“ diagnosou. 2. Hematologická vyšetřování leptospirosních koní, která prováděli L j u b a š e n k o a N o v i k o v o v á, ukazovala v akutních případech spíše leukocytosu se zmlazením než leukopaenii a neutropaenii.

3. Fakt, že nebyly nalezeny leptospiry při speciálním vyšetření orgánů, i když tento moment nemusí být směrodatný, poněvadž při pitvě ještě ne-

bylo podezření na leptospirosu; proto nebylo ponecháno k pozdějšímu histologickému vyšetření dostatečné množství materiálu.

Nevezmeme-li v úvahu možnost leptospirozní etiologie, musíme se po zhodnocení klinického průběhu a všech laboratorních vyšetření přiklonit k domněnce, že šlo o případ idiopatické maligní neutropenie u koně neznámé etiologie. Pro tuto diagnosu svědčí:

1. Téměř absolutní granulocytopenie v průběhu pěti hematologických vyšetření.

2. Podrobná anamnesa s vyloučením vlivů chemických a fyzikálních.

3. Celková apatie a vyčerpanost zvířete s maligním septickým průběhem choroby.

4. Negativní nález na slezině a mízních uzlinách.

5. Nedostatek příznaků krvácivosti a značně zrychlená sedimentace.

Z á v ě r

V práci je popsán klinický průběh i podrobné všestranné laboratorní vyšetření u vzácného případu agranulocytosy u koně. Případ byl sledován pěti hematologickými vyšetřeními, kdy krevní obraz byl charakterisován značně zrychlenou sedimentací, absolutní leukopenií s nejnižším počtem 950 leukocytů v 1 mm, absolutní granulocytopenií, relativní monocytosou a maximální relativní lymfocytosou při současném výskytu lymfoblastů a lymfatických plasmacytů. Po anamnestickém vyloučení fyzikálních a chemických vlivů byl pacient vyšetřen za živa s negativním výsledkem na brucellosu, Q horečku, tuberkulosu, malleus, salmonellosu a streptostafylokokovou sepsi. Serologické vyšetření na leptospiry ukazovalo titr 1:1000 s *L. grippotyphosa* A, při čemž histologickým vyšetřením nebyly leptospiry nalezeny. Pokus o přenášení choroby krví na psa, kočku, králíka a morče se nezdařil. Etiologická příčina nebyla zjištěna a autor se domnívá, že šlo o idiopatickou agranulocytosu u koně.

L i t e r a t u r a

1. Hofferberger O.: Mhft. f. Vet.-med. 1953, 10, 197—199. — 2. Hutta E. J.: Diss. München, ref. Mhft. f. Vet.-med. 1951, 346. — 3. Jagič N., Klima R.: Klinik u. Therapie der Blutkrankheiten, 1934. — 4. Jelínek V.: Pathologie oběhu krevního a krve. Státní pedagog. nakladatelství, Praha 1953. — 5. Jonov J. S. a spol.: Laboratorní studie ovlivňování v veterinární klinické diagnostice Selchozgis, Moskva 1953. — 6. Kudravčev A. A.: Studie ovlivňování krevi v veterinární diagnostice I. Selchozgis, Moskva 1952. — 7. Lawkowiec W.: Hematologický atlas. Zdrav. nakladatelství, Praha 1953. — 8. Libánský J.: Krevní choroby a pracovní výkonnost, Zdrav. nakladatelství, Praha 1950. — 9. Ljubašenko S., Novikova L. S.: Veterinarija, 1947, XXIV, č. 8., str. 7—11. — 10. Netoušek M.: Nauka o krvi. Zdravotnické nakladatelství, Praha 1951. — 11. Netoušek M.: Vnitřní lékařství. Zdravotnické nakladatelství, Praha 1954. — 12. Osebold J. W.: JAVMA 1951, 440—441. — 13. Pavilanis: Annales d'Institut Pasteur 73, 1046, 1947. — 14. Sova Zd.: Léčení nervové psinky chloramfenikolem s kontrolou krevního obrazu. Voj. zdrav. listy XXIII, č. 12, 1954, str. 558—561. — 15. Urbain Ach., Nouvel J.: Bull. l'acad. vét. France 1950, 271—273. — 16. Wirth D.: Grundlagen der klinischen Hämatologie der Haustiere. Wien 1950.

В работе была описана клиническая картина и подробное всестороннее лабораторное исследование редкого случая агранулоцитоза у лошади. Исследование было проведено пятью гематологическими опытами, при которых состав крови отличался значительно быстрой седиментацией, абсолютной лейкопенией с минимальным числом лейкоцитов в одном мм³ — 950, абсолютной гранулоцитопенией, относительным моноцитозом и максимальным относительным лимфоцитозом при одновременном появлении лимфобластов и лимфатических плазмочитов. После анамностической изоляции физических и химических влияний пациент исследовался при жизни с отрицательным результатом на бруцеллез, Q горячку, туберкулез, сальмонеллез и на стрепто-стафилококковую инфекцию. Серологическое исследование на лептоспиры дало титр 1:1000 с *L. grippotyphosa* A., причем гистологическим исследованием лептоспир не были обнаружены. Опыт с переносом заболевания крови на собаку, кошку, кролика и морскую свинку не удался. Этиологическая причина не была установлена, и автор полагает, что дело шло об идиопатическом агранулоцитозе у лошади.

A Rare Case of Agrenulocytosis in a Horse

We describe the clinical progress and a thorough and exhaustive investigation of a rare case of agrenulocytosis in a horse. The case was investigated with 5 hematological tests and the blood picture was characterized by accelerated sedimentation, an absolute leukopenia with a minimum of 950 leukocytes in 1 cubic milimetre, an absolute granulocytopenia, a relative monocytosis and a maximal relative lymphocytosis with presence of lymphoblasts and lymphatic plasmacyts. Physical and chemical influences having been eliminated by anamnesis, the patient was investigated and tested while alive, with a negative result, for brucellosis, Q fever, tuberculosis, malleus, salmonellosis and sepsis by streptostaphylococci. Serological tests for leptospirae have shown the titre 1:1000 with *L. grippotyphos* A, and no leptospirae were found through histological investigation. The attempt to transfer the disease by blood to dog, cat, rabbit and guinea-pig was not successful. Aetiological reason was not ascertained and the author is of the opinion that it was a case of idiopathical agrenulocytosis in the horse.

Výzkum předpokladů ke studiu thermoregulace u ssajících selat

Исследование проблем терморегуляции у поросят-сосунков

Erforschung der Voraussetzungen für das Studium der Thermoregulation
bei Saugferkeln

Antonín CICVÁREK

Výzkumný ústav živočišné výroby ČSAZV v Uhřetěvsi

Došlo dne 20. I. 1955

Značné úspěchy, kterých bylo dosaženo při odchovu telat metodou tak zv. chladného odchovu, přivedly některé odborníky a chovatele ke snaze aplikovat metodu tohoto odchovu i na odchov selat. Vůdčí myšlenkou zde byla zřejmě skutečnost, že uvedeným způsobem bylo omezeno hynutí telat a dosaženo jejich lepšího zdravotního stavu a lepší odolnosti vůči chorobám. Pronikavých výsledků bylo zde dosaženo zejména v zimních měsících odchovu.

Avšak většina pokusů s podobným způsobem odchovu u selat zklamala, neboť velké procento selat uhynulo. Co bylo příčinou hynutí selat? Lze říci, že příčiny uhynutí selat mohly být jistě různé, ale hrál zde rozhodující úlohu vliv teploty, již byla selata brzy po narození vystavena. Tam, kde byla předčasně vystavena nízké teplotě, bylo uhynutí stoprocentní. Zde se právě projevil důsledek nedostatečných znalostí biologie hospodářských zvířat, která bývá mnohdy — snad pro svou složitost — neprávem opomíjena.

Považuji proto za účelné — vzhledem k aktuálnosti tohoto problému — celou otázku důkladně rozebrat a vytvořit tak jisté předpoklady, které by mohly být vodítkem pro další šetření v tomto směru.

V této otázce bylo v chovu prasat dosud málo vykonáno. Jednotlivé zprávy, jež nám došly ze zahraničí, byly spíše výsledky praktických pokusů v pozdějším stáří selat (A. F. J a g o v k i n). Pokud byla sledována selata mladší, nekončily pokusy úspěšně. Tyto pokusy pak byly prováděny postupně na selatech alespoň měsíc starých, od pokusů se selaty v mladším věku se upustilo (A. Je. K o n o v a l e n k o). Také způsob odchovu selat se změnil, a to více ve směru vzdušného odchovu, kde základními činiteli jsou čerstvý vzduch a pohyb, nikoli však teplota.

Celý tento problém vlivu teploty na organismus selete během jeho odchovu po narození není objasněn, ačkoliv je to otázka pro praxi nemalé důležitosti.

Během nitroděložního vývoje si plod zachovává přibližně stálou teplotu, odpovídající teplotě jeho vnějšího prostředí, resp. tělesné teplotě matky. S touto teplotou souvisí i optimální vlhkost, daná plodovou tekutinou, jakožto nezbytným (pro dané stadium) vývojovým prostředím, odpovídajícím fylogenetickému vývoji. (Vývojové pochody za fylogenese, t. j. vývoje druhu, které vykazují relativní stálost, nazýváme „palingenese“. Tak na př. právě plodová voda ve vývoji vyšších ssavců připomíná podmínky, za nichž k vývoji druhu docházelo, resp. prostředí, ve kterém se vyvíjeli první živočichové, t. j. ve vodě.)

V okamžiku porodu mláděte dochází ke změně teploty vnějšího prostředí, jímž až dosud bylo matčino tělo. Novorozené mládě na tuto změnu teploty reaguje jednak vyšší intenzitou látkové přeměny, způsobenou především přechodem orgánů a tkání z relativního klidu do funkční aktivity, jednak zřejmě zesílenou tvorbou tělesného tepla, tedy se snahou vykompenzovat poruchy, vzniklé změnou teploty vnějšího prostředí.

Organismus zvířete se proti vlivu vnějších teplotních změn v určitých údobích svého života brání různým způsobem, což především závisí na stupni vývoje mláďat i formy t. zv. thermoregulace v okamžiku porodu. Právě po narození má většina mláďat malou schopnost bránit se změnám teploty vnějšího prostředí. Taková zvířata označujeme jako „poikilothermní“ a jejich tělesná teplota se obvykle již v klidu odlišuje o několik stupňů od teploty vnějšího prostředí, na níž je závislá. Tuto závislost si ovšem nesmíme představovat tak, že by zvířata musela mít teplotu shodnou s teplotou vnějšího prostředí; teplota bývá vždy vyšší a rozdíly dosahují $+10^{\circ}\text{C}$ podle druhu zvířat. Zvláštní úlohu zde hraje stupeň relativní vlhkosti vzduchu. Při malé vlhkosti se zesiluje vypařování vody s tělesného povrchu, což vyvolává značné snížení tělesné teploty, protože se tělo ochlazuje ztrátou tepla, potřebného k odpaření vody.

Jak bylo uvedeno, většina zvířat po narození jsou zvířata „poikilothermní“, t. j. jejich tělesná teplota závisí na teplotě vnějšího prostředí. Během svého vývoje nabývá zvíře schopnosti regulovat svou tělesnou teplotu, resp. její tvorbu, jakož i její stálou úroveň a pravidelný denní cyklus. Dochází k tomu v určitém stadiu vývoje a zvíře pak označujeme jako „homiothermní“.

Základní podmínkou vzniku této „homiothermie“ vyšších obratlovců je rozvoj nervového systému, zejména rozvoj cévohybných nervů a speciálního thermoregulačního centra, což bylo dokázáno pokusy o vlivu různého porušení celistvosti nervového systému na thermoregulaci (podle Košťojance). Tento vliv nervstva jednak souvisí s regulací procesu tvorby tepla prostřednictvím stimulace okysličovacích procesů (t. zv. chemická thermoregulace), jednak s regulací periferního krevního oběhu (t. zv. fyzikální thermoregulace). Pro proces výdeje tepla má velký význam světlost periferních cév v kůži. Jsou-li totiž cévy kůže rozšířeny, dochází k značnému výdeji tepla a v důsledku toho ke snížení tělesné teploty; naproti tomu, jsou-li cévy kůže zúženy, dojde k výraznému snížení výdeje tepla organismem. Tato regulace světlosti periferních cév se děje vlivem vegetativního nervstva — nervů zužujících a rozšiřujících cévy. Podle Košťojance je nervová regulace zásobením kůže krví základním faktorem t. zv. fyzikální thermoregulace. Výsledky pokusů různých autorů potvrdily tyto poznatky.

„Homoiothermie“, jak jsme již uvedli, je charakterisována stálou úrovní a pravidelným denním cyklem tělesné teploty a projevuje se během vývoje po narození u různých zvířat v různě dlouhé době. To závisí na stupni rozvoje obou forem thermoregulace (chemické i fyzikální) v okamžiku porodu. Různí autoři zjistili tyto formy thermoregulace u různých živočichů v okamžiku porodu:

kuře	chemická i fyzikální
morče	chemická i fyzikální
králík	chemická —
myš	—

U člověka na příklad chemická thermoregulace začíná působit již při narození a dále se vyvíjí v průběhu prvního roku života. Proces při tom probíhá ve směru postupně větší stálosti denního cyklu teploty, při čemž lze mluvit o ustálenosti dokonalé thermoregulace teprve koncem druhého roku života.

Regulace tělesné teploty v organismu různých zvířat

Velký význam pro vytváření „homoiothermie“ zvířat měl vývoj jejich povrchových útvarů, na příklad při srsti u ssavců (jak patrně z předcházející kapitoly), poněvadž tyto útvary jsou špatnými vodiči tepla. Již dříve bylo prokázáno, že králík s ostříhanou srstí nemůže — na rozdíl od neostříhaného králíka — udržet tělesnou teplotu na normální úrovni při snížení teploty vnějšího prostředí.

Je však známo, že králík se narodí lysý; tím si vysvětlíme celou řadu biologických zvláštností u tohoto živočicha (na příklad chlupy vystlaná hnízda v norách a pod.), jimiž se v údobí po narození kompenzuje nedostačující rozvoj stabilních fyziologických způsobů thermoregulace.

Zajímavá jsou zjištění Richeta u králíků: k vytvoření pevného thermoregulačního mechanismu dochází morfologickým a fyziologickým rozvojem nervstva, kožních orgánů a kožní vaskularisace do 11. dne po narození. Zabýváje se těmito pracemi, provedl jsem analýzu materiálu tohoto i jiných autorů a mohu konstatovat, že Richetem uvedené údobí vzniku thermoregulačního mechanismu u králíků připadá právě na dobu, kdy dochází ke zdvojnásobení jeho živé váhy při narození. Při tom je zajímavé, že koncem tohoto údobí začíná králík — do této doby slepý — vidět, a končí se vývoj funkcí locomotorického aparátu.

Podobné výsledky jsem získal i při studiu thermoregulace u krys na materiálu různých autorů. Také zde platí vztah vzniku thermoregulačního mechanismu k údobí dvojnásobku živé váhy při narození.

Rada autorů (Kudrjavcev, Lebeděv, Tomme a Slonim) dokázala, že u telat, odchovaných v normálních podmínkách, se fyzikální thermoregulace buduje do třetího týdne po narození. U telat červenostřakatého skotu pak potvrdil Matoušek, že v normálních podmínkách odchovu je v plné činnosti fyzikální thermoregulace, počínajíc čtvrtým týdnem po narození. Výsledky všech těchto pokusů (podobně bylo zjištěno i u jehňat) ukazují, že vývoj této důležité funkce probíhá v určité závislosti na údobí, kdy zvíře dosáhne dvojnásobku živé váhy při narození.

Domnívám se, že u tohoto jevu můžeme zjišťovat jistou zákonitost:

v určitém úseku vývoje po narození hospodářských zvířat dochází k rozvoji fyziologických způsobů thermoregulace kvalitativními změnami nervového aparátu (vegetativního nervstva a kory mozkové) v závislosti na údobí zdvojnásobení živé váhy při narození.

Regulace tělesné teploty u selat.

V předcházejících statích jsme objasnili vývoj thermoregulačního mechanismu u různých druhů zvířat, jakožto předpokladu, z něhož autor vycházel při řešení této otázky. Veden zmíněnou hypotesou o závislosti vývoje thermoregulačního mechanismu zvířat na průběhu jejich vývinu v údobí, v němž zdvojnásobují svou živou váhu při narození, obrátil jsem svou pozornost především na toto údobí. Většinou totiž bývá za údobí zdvojnásobení živé váhy pokládáno stáří 10 dnů po narození. To je ovšem průměr, který předpokládá, že selata při narození mají stejnou živou váhu a dále stejný vývoj; úplně se tu opomíjejí individuální vývojové odchylky, a proto je tento průměrný údaj pro praxi nedostačující. Naším úkolem je vytvořit jisté theoretické předpoklady pro další výzkum o vlivu nízké teploty vnějšího prostředí na růst a vývin ssajících selat. Za tím účelem uvádím výsledky šetření, jež jsme provedli v roce 1953 na objektu státních statků u 4 vrhů bílého ušlechtilého prasete kontrolovaného chovu.

Ke sledování byly vybrány 4 prasnice — prvničky. Pocházely obě z matky „Heleny P 2222“ a byly připuštěny během listopadu a prosince 1952 kancem „P 66“. Byly přibližně stejně živé váhy a stejného výživného stavu. Operasily se v únoru a březnu 1953.

Vzhledem k nedostatku ustájovacích prostorů na zmíněném hospodářství byly prasnice č. 1 a 3 umístěny v koticích provisorní porodnice, prasnice č. 2 a 4 v letních dřevěných boudách typu A. Výsledky šetření uvádím v tab. 1.

Tab. 1. Růst a vývin selat v údobí zdvojnásobení živé váhy při narození.

Pořadí vrhu	Počet selat	Váha 1 selate při narození			Počet dní potřebných k dosažení násobku živé váhy			Dvojnásobek živé váhy jako přírůstek v kg			Absolutní rozdíl přírůstku ve vrhu v kg
		průměr	od kg	do kg	průměr	od	do	průměr	od	do	
1.	8	1,39	1,10	1,60	9	7	13	1,39	1,10	1,60	0,50
2.	9	1,33	1,00	1,60	11	8	14	1,33	1,00	1,60	0,60
3.	8	1,28	1,10	1,50	9	7	11	1,28	1,10	1,50	0,40
4.	10	1,00	0,80	1,30	10	9	15	1,00	0,80	1,30	0,50
Průměr	8,7	1,25	1,00	1,50	9,7	7,7	14,2	1,25	1,00	1,50	0,50

Z tabulky vyplývá značné kolísání v počtu dní, potřebných k dosažení dvojnásobku živé váhy selat při narození, a to jak selat téhož vrhu, tak i mezi průměrnými hodnotami jednotlivých vrhů. Nepřekvapí nás to, sledujeme-li značnou variabilitu ihned po narození, což konečně je jev známý každému kontrolnímu asistentovi. Je to způsobeno především tím, že plod

prasete, resp. jeho embryonální vývoj podléhá tolika vlivům, s jakými se běžně nesetkáváme u jiných hospodářských zvířat; proto již E. F. B o g d a n o v dokazoval, že vývoj prasete nelze spojovat s poznatky o vývoji jiných druhů hospodářských zvířat, ale že se vyznačuje zvláštní specifičností, kterou je nutno studovat zcela samostatně.

Podle O p í c h a l a selata, rodící se menší, resp. o nižší živé váze, mají sice relativně rychlejší růst, avšak ve stáří 56 dnů nedosahují téměř absolutních váhových hodnot jako selata, jež se narodila těžší. Totéž potvrdil i R e d k i n. Zajímalo nás, zda tento rozdíl ve vývoji mají již po narození, nebo až v pozdější době, neboť slabší selata přikládají ošetřovatelé k předním strukům, tedy k vemínkům produkujícím více mléka, takže slabší selata přijímají pravidelně po narození více živin než selata silnější.

Jak vyplývá z našeho materiálu, v souhlase s uvedenými údaji dosahují selata s nižší živou vahou při narození dvojnásobku této váhy též později, než selata s vyšší živou vahou při narození. Při podrobném rozboru jsme pak zjistili, že ani selata se stejnou živou vahou při narození nedosahují jejího dvojnásobku ve stejnou dobu; z uvedených 4 vrhů, resp. 35 selat, našel jsem ani 2 selata s přibližně stejným průběhem vývoje.

Z toho můžeme odvodit, že žádné opatření, jež v chovu selat zavádíme, nesmíme vztahovat pouze k průměru vrhu, aniž bychom nebrali zřetel na individuální vývojové požadavky každého selete.

Pokud jde o vnější teplotu, byla tato v únoru — tedy v době, kdy se oprasily prasnice č. 1 a 2 průměrně — 1,5° C, minimum — 14° C; v březnu byla průměrná teplota 6° C, minimální — 12° C.

Teplota v provisorní porodnici klesla v únoru asi na 5° C, v březnu na 10° C. V boudách byla teplota značně nižší: v únoru klesla až na 0° C a v březnu na 2° C. Relativní vlhkost vzduchu se pohybovala v provisorní porodnici od 78,5 % do 97 %, v boudách od 64,3 % do 86,7 %.

Pokud jde o selata, ustájená v letních boudách, zavrtávala se tato do slámy, kde se teplota pohybovala od 8° do 14° C.

Důležitým momentem v životě selete je narození, kdy změnou prostředí klesá i jeho tělesná teplota. V tuto dobu je sele zvláště citlivé na sníženou teplotu zevního prostředí; tak bylo zjištěno, že při teplotě 0° C klesá tělesná teplota selete až o 5—6° C, a to ve vztahu k relativní vlhkosti vzduchu. Takovéto snížení tělesné teploty má ovšem velmi nepříznivý vliv na vývin selat i jejich zdravotní stav, zejména je-li spojeno se značnou vlhkostí vzduchu. Vlhký vzduch při nízkých teplotách snadno pohlcuje teplo vyzařované z kůže (t. zv. záporná radiace), podobně jako vnější plochy, a to tím více, čím je vlhčí a jeho teplota nižší. Značná vlhkost vzduchu způsobuje velké ztráty tělesného tepla též konvexí (viz diagr. 1).

Naše výsledky dále ukázaly, že optimální prostředí bylo v boudách, kde sice byla poněkud nižší teplota než v provisorní porodnici, zato však sucho, takže selatům nevadilo (spíše prospělo), střídala-li každé 2 hodiny teplé lože doupěte s chladným prostředím kotce v době ssání.

Sníženou tělesnou teplotu, jak byla zjištěna po narození, můžeme u selat pozorovat 6—7 dnů po narození; od této doby se postupně vyrovnává až do doby, kdy sele dosáhlo dvojnásobku své živé váhy při narození.

Jaký vliv měla nízká teplota na vývin selat, jest patrné z následujícího srovnání:

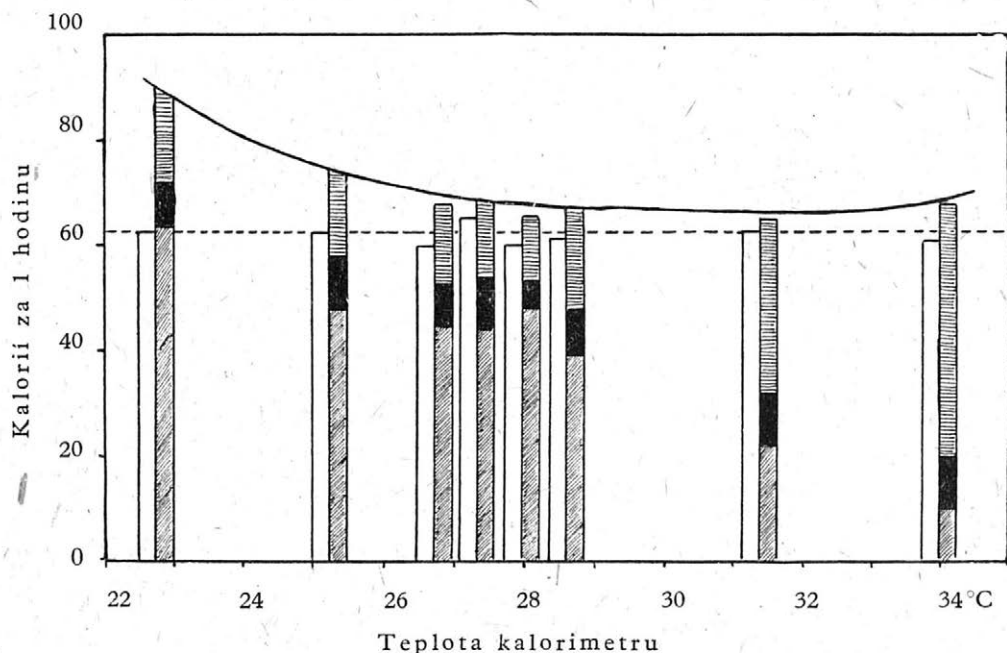
Průměrné denní přírůstky selat (do 10 dnů stáří) narozených:

v únoru — vrh č. 1 — 0,154 kg
 č. 2 — 0,120 kg

v březnu — vrh č. 3 — 0,142 kg
 č. 4 — 0,100 kg

Z uvedeného jest patrné, že nízká teplota poněkud snížila průměrné denní přírůstky v době od narození až do dosažení dvojnásobku živé váhy při narození.

To odpovídá práci Z. M u n k a, který sledoval vliv nízké teploty v zimě 1953/54 na užitkovost prasat na podkladě úřední kontroly užitkových vlastností prasnic a kontroly výkrmnosti prasat na Moravě. Ve své práci



Diagr. 1. Tepelná regulace u nahého člověka za basálních podmínek při různých teplotách. Změny v produkci (bílý sloupce) a výdeji tepla (čárkované sloupce). Plochy vodorovně čárkované značí ztráty vypařováním, černé plochy ztráty tepla vedením a konvexí a plochy šikmo čárkované ztráty vyzařováním. (Podle J. D. Hardyho a E. F. Du Boise.)

došel k závěru, že nízká teplota v zimních měsících sice neměla vliv na váhu vrhu při narození, způsobila však zvýšení mortality selat mladších 4 týdnů a snížení váhy jednotlivých selat ve 28 dnech.

V předcházejících kapitolách jsme objasnili vývoj thermoregulačních mechanismů u různých zvířat, nyní pak časové rozdíly v dosažení dvojnásobku živé váhy po narození selat. Přihlédneme-li tedy k růstové rychlosti prasete (— na rozdíl od přežvýkavců —) můžeme údobí, kdy sele zdvojnásobí svou živou váhu při narození pokládat za „obrat“, od kterého sele je schopné vzdorovat nepříznivým teplotním podmínkám řízením tělesné teploty. Podle našeho předpokladu je pak možné pokládat za krajní mez této doby „obratu“ stáří 12 až 14 dnů, t. j. asi dvou týdnů po narození, kdy lze předpokládat že všechna selata ve vrhu již dosáhla dvojnásobku živé váhy při narození. Potvrzení našeho předpokladu možno spatřovat i ve zkušenostech praxe, kde je známo, že údobí od narození v průměru do 10 až 14 dnů stáří je dobou, v níž selata nejvíce reagují na teplotní podmínky vnějšího prostředí, a to vyhledáváním podmínek, které jsou optimální s hlediska biologických vlastností jejich organismu v daném stadiu vývoje.

Z poměrně nižšího stupně vývoje, v němž se sele narodí, lze předpokládat, že po narození nemá schopnost vzdorovat teplotním vlivům vnějšího prostředí ani chemickou thermoregulaci. Praktické ověřování nám dává za pravdu a také A. F. J a g o v k i n potvrdil, že teplota nižší než -5°C jest pro selata smrtelná. Proto se selata shlukují, jak výše uvádíme, a zavrtávají do slámy nebo v listím vystlaném doupěti (v přírodě). Podobnou „kolektivní“ regulaci teploty popsal též S l o n i m u opic a bílých krys, kde prokázal, že existuje závislost mezi jejich shlukováním a teplotou vnějšího prostředí.

Řada autorů (H a n s e n, S c h m i d t, M o r i t z, K l i m m e r) udává teplotní rozmezí pro prasata $12-20^{\circ}\text{C}$. Tomu, že během údobí zdvojnásobení živé váhy při narození dochází u selete k vývoji chemické thermoregulace, nasvědčují též výsledky pokusů různých autorů (T o m m e, S l o n i m a a j.) při studiu oxydačních procesů u zvířat, podrobíme-li je analýse.

Podle T o m m e h o je ovšem intenzita výdeje tepla určována nikoliv velikostí tělesného povrchu (Rubnerův „Povrchový zákon“), nýbrž jeho biologickými zvláštnostmi. Povrchový zákon totiž nebere zřetel na specifické zvláštnosti tělesného povrchu v jejich konkrétní biologické podobě a úplně ignoruje vedoucí význam nervové regulace procesu přeměny látek. Tedy celková biologie zvířete — včetně všech základních podmínek jeho existence, zejména způsob jeho výživy, pohyb atd. a konečně celá složitá nervově reflexní činnost zvířete musí mít vedoucí úlohu v procesech okysličování a výdaje tepla. L a p i c q u e, který určil, že každé zvíře má charakteristickou tepelnou zonu (indiferentní zonu), v jejíž hranicích je minimální tvorba tepla, dospěl k závěru, že tato indiferentní zona je tím bližší teplotě živočišného těla, čím menší je sám živoch. Z toho pak vyplývá, že k velikosti povrchu musíme vzít v úvahu i ty teplotní a thermoregulační zvláštnosti zvířat, které jsou spojeny s existencí pro ně charakteristické indiferentní zony. [Výpočet plochy tělesného povrchu u ssajících selat viz poslední práce autora v č. 7 (24)].

Tab. 2. Indiferentní tepelné zony některých zvířat (podle Lapicque)

Objekt	Tepelné zony v $^{\circ}\text{C}$	Objekt	Tepelné zony v $^{\circ}\text{C}$
Ovce	0—19	Pes	27
Koza	12—21	Krysa	29—31
Vepř	20—23	Morče	30

Z těchto poznatků jsme vycházeli při našem šetření a nepřihlíželi jsme pouze k váze, nýbrž biologickým zvláštnostem prasete i se zřetelem na jeho indiferentní zonu.

K předpokladu, že u narozeného selete dochází ke vzniku t. zv. chemické formy thermoregulace v údobí zdvojnásobení jeho živé váhy při narození, přivedly nás tyto důvody:

1. v tuto dobu zdvojnásobuje se celková váha selete;
2. vnitřní orgány vykazují v tuto dobu nejintenzivnější vývin během celého růstu a lze rovněž předpokládat, že je s tímto údobím úzce spjat i intenzivní rozvoj nervového aparátu;
3. v tomto údobí mění se místo krvetvorby a klesá obsah haemoglobinu v krvi; od dosažení dvojnásobku živé váhy zvyšuje se v krvi opět

množství erythrocytů a obsah haemoglobinu, což má ovšem vliv i na intensitu látkové přeměny;

4. v tomto údobí vyrovnává se postupně pokles tělesné teploty, zjištěný při narození.

Potvrzení možno hledati ve výsledcích posledních zahraničních výzkumů, které ukazují, že narozené selo je velmi citlivé na chladno. Tak na př. bylo prokázáno, že narozené selátko má při teplotě 32° F nižší tělesnou teplotu o 9—12 stupňů. Selata chovaná v těchto podmínkách se nachladí, při ssání se třesou, nechťejí ssát a mají velmi sníženou životnost. Autoři se pak domnívají, že tento stav trvá přibližně celý 1 týden.

Na Kalifornské universitě bylo dokázáno, že prasata lehčí jak 100 liber vyžadují teploty 75° F pro optimální růst a využití krmiv, což platí v nejvyšší míře pro selata od narození po celé období ssání.

Problém fyzikální thermoregulace u prasat

Tato otázka je zatím jen málo osvětlena, již z toho důvodu, že jí nebyla věnována patřičná pozornost. A tak opět, chceme-li se přiblížit tomuto problému (pro praxi tak významnému), musíme si nejprve povšimnout výsledků pokusů různých autorů u jiných druhů hospodářských zvířat. Vzpomenuli jsme již práce Tommeho a Lebeděva. K nim přistupuje práce Matoušková u červenostrakatého skotu, který dokázal, že chladné prostředí urychluje u telat rozvoj fyzikální thermoregulace o celý týden. Je však otázkou, jakého výsledku možno dosáhnout v tomto směru u prasete, přihlédneme-li k jeho biologickým zvláštnostem, resp. k rozdílům biologie obou těchto druhů zvířat v daném úseku ontogenese, příp. k zákonitým vztahům, vznikajícím rozdílností počtu rodičích se mláďat a stupněm jejich vývoje v době narození. Nelze proto očekávat, že organismus selate, vystavený ihned po narození nepříznivým teplotním podmínkám, je schopen na ně reagovat urychlením vývoje thermoregulace.

Již dřívější šetření o výdeji tělesného tepla u různých druhů hospodářských zvířat ukázalo dosti značné rozdíly. Cord-Parchin stanovil tyto průměrné hodnoty pro výdej tepla zvířaty, a to ve stáji při teplotě vzduchu + 10° C a relativní vlhkosti vzduchu 80 % :

Kráva	760 kcal/h GVE*	Prase chovné	1460 kcal/h GVE
Vůl	775 kcal/h GVE	**Prase žírné 40 kg	1300 kcal/h GVE
Kůň	760 kcal/h GVE	**Prase žírné 150 kg	800 kcal/h GVE
Ovce	1150 kcal/h GVE		

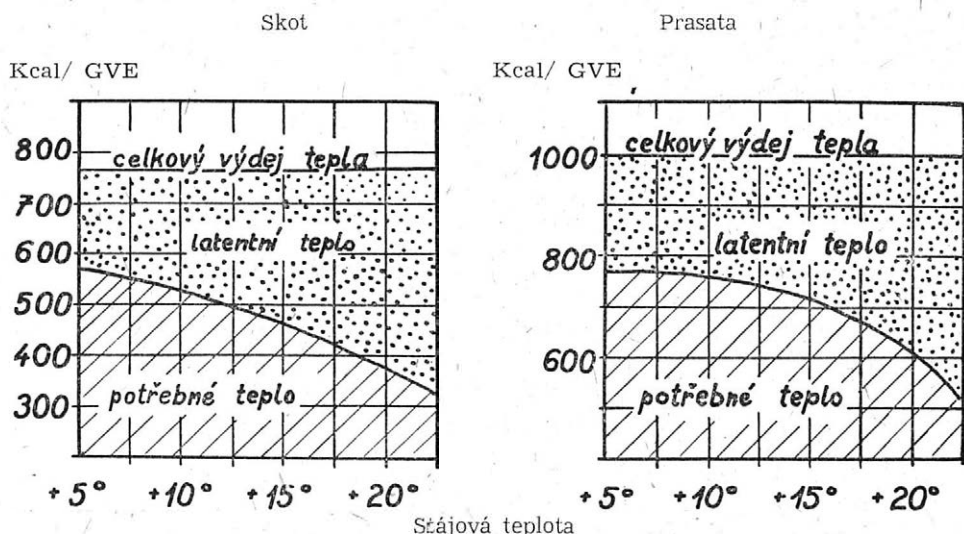
* kcal/h GVE — vydané množství tepla (ve velkých kaloriích za 1 hodinu) na 1 dobytčí jednotku (500 kg ž. v.)

** podle údajů Bond, Kelly a Heitmanna

Závislost tělesné teploty a výdeje tělesného tepla u prasat i skotu na teplotě stájového vzduchu je zřetelně vyjádřena v diagramu č. 2. Zde jest patrné, že se stoupající stájovou teplotou, t. j. teplotou stájového vzduchu klesá množství potřebného tělesného tepla, resp. tvorba tělesného tepla. Toto je důležitý poznatek, i když všechny tyto pokusy se týkaly zvířat dospělých, nikoli přímo mláďat, ačkoli nás tato otázka — a to především u ssajících selat — nejvíce zajímá.

Pokud jde o selata, je fyzikální forma thermoregulace vázána především na tvorbu tuku, jakožto thermoizolační vrstvy. Pojednám proto o tvorbě a ukládání tuku v těle prasete během jeho vývoje po narození.

Sele po narození přijímá tuk v mateřském mléce; podle Kudrjavceva stoupá procento tuku v mléce prasnice od prvního kojení až do doby delší 10 dnů po porodu, což znamená, že tento tuk — druhově spe-



Diagr. 2. Závislost tělesné teploty a výdeje tělesného tepla u prasat i skotu na teplotě stájového vzduchu.

cifický — má rovněž vliv na intensitu růstu selat v údobí zdvojnásobení jejich živé váhy při narození.

Při trávení tuků má velký význam žluč, která je zmýdelňuje a umožňuje tak jejich další enzymatické štěpení na glycerin a kyseliny mastné. Mastné kyseliny, proniknuvší do epitheliálních buněk se spojují zde s glycerinem v neutrální tuky. Při tom dochází k fosforylaci tuků, t. j. ke vzniku fosfatidů. Zdrojem kyselin mastných, z nichž vznikají tyto fosfatidy, je přijímaná potrava.

Přijatý tuk se tedy po chemických přeměnách v organismu selete ukládá jednak v podkožním vazivu a pobřišnici, při čemž složení a vlastnosti uloženého tuku vždy závisí na složení a vlastnostech tuků obsažených v potravě. Naproti tomu t. zv. orgánový tuk, t. j. tuk buněk organismu nezávisí na chemickém charakteru tuků v potravě: jeho složení a vlastnosti jsou druhově specifické.

Těmito zvláštnostem odpovídají i výsledky studia o ukládání tuku u selat během jejich vývoje (McMeekan): v údobí od 1. do 7. měsíce stáří je intensita tvorby mezisvalového tuku vyšší než intensita tvorby tuku podkožního, a to téměř ve všech tělesných partiích. Je tedy patrné, že intensita tvorby tuku je jiná ve svalstvu a jiná pod kůží.

S našeho hlediska pak je důležité zjištění, že od narození selete až asi do 2. měsíce stáří je u obou končetin (přední i zadní), hrudníku a beder intensita tvorby podkožního tuku vyšší než intensita tvorby mezisvalového tuku. Z toho můžeme usuzovat, že teprve v této době, t. j. ve stáří 2 mě-

sící, je dostatečně vyvinuta isolační vrstva tuku, umožňující organismu selete vzdorovat vnějším teplotním vlivům, resp. zabránit velkému výdeji tělesného tepla.

Avšak ani u končetin není intensita ukládání tuku jednoznačná: bylo sice zjištěno, že tuk, podobně jako kosti a svalstvo, se ukládá na končetinách zákonitě směrem shora dolů, t. j. od lopatky ke spěnce; zvláštností však je, že v údobí do 2. měsíce stárí se tuk nejintensivněji ukládá v dolních částech končetin, tedy v partiích nejvíce vystavených nižším teplotám.

Intensita tvorby tuku je nejlépe patrna, je-li vyjádřena relativně, t. j. v procentech své hodnoty při narození. Meekan anatomickými rozborů selat různého stárí zjistil, že v době od narození do 4 týdnů stárí činí přírůstek u kostry 131 g, u svalstva 381 g a u tuku 233 g týdně. Vyjádříme-li však hodnoty jednotlivých složek v každém měsíci stárí v % jejich hodnot při narození, tu vidíme, že největší intensitu růstu vykazuje tuk, potom svalstvo a naposledy kostra. V údobí prvního měsíce stárí činí tyto hodnoty: u tuku 1929 %, u svalstva 490 % a u kostry 316 %.

Z toho je tedy patrné, že tvorba a ukládání tuku v těle selete probíhá v raném údobí po narození ve sledu, odpovídajícímu jeho funkci, t. j. teplotního izolátoru organismu selete.

Z á v ě r

V předloženém pojednání se autor pokusil objasnit vliv teplotních podmínek na růst a vývoj selete v raném údobí po narození, resp. zjistit schopnost selete vzdorovat nepříznivým teplotním podmínkám vnějšího prostředí. Vycházejí ze souhrnu četného materiálu — jež shromáždil — ukázal, jak složitá je celá tato otázka, podobně jako otázka správného odchovu selat vůbec. Předložená práce má proto podnítit všechny pracovníky zainteresované na odchovu selat k sledování tohoto problému a má aspoň zčásti přispět k řešení problému odchovu selat u nás.

Z uvedeného souhrnu dat autor vyvozuje, že sele po narození není schopné vzdorovat nepříznivé teplotě vnějšího prostředí; předpokládá, že vznik první formy thermoregulace (chemické) spadá do údobí, v němž sele dosáhne dvojnásobku své živé váhy při narození.

Dokazuje to výsledky výzkumů, které ukázaly, že v tomto údobí

1. také vnitřní orgány vykazují nejintensivnější vývin během celého růstu, s čímž je bezpochyby spjat i intensivní rozvoj nervového aparátu;
2. mění se místo krvetvorby i poměr jednotlivých krevních komponentů;
3. po narození sníží se tělesná teplota selete o několik stupňů a po celé toto údobí se postupně vyrovnává na teplotu normální.

Na základě vlastního šetření pak autor dokazuje značné kolísání doby, potřebné k dosažení dvojnásobku živé váhy selete při narození, a to u jednotlivých selat ve vrhu. Délka doby, potřebná k dosažení tohoto dvojnásobku, pak závisí na živé váze selete při narození. Opíraje se při tom též o poznatky praxe, autor ukazuje na to, že údobí od narození až do zdvojnásobení živé váhy je minimálně nezbytné k tomu, aby se organismu selete dostalo specificky biologických a vývojově nezbytných podmínek, t. j. přiměřeného tepla, sucha a čerstvého vzduchu.

1. Bílek Fr.: Obecná zootechnika, Praha 1930. — 2. Bílek J.: Vztah teploty kůže v krajině žeburní u skotu. Sborník ČSAZV, XXVII, 2, 1954. — 3. Bykov K. M.: Mozková kůra a vnitřní orgány, SZN 1952. — 4. Elijah H. D., Turner C. W.: The weight and thyrotropic hormone content of the anterior pituitary of swine, University of Missouri 1942, R. B. 357. — 5. Filsak J., Seliger V.: Působení chladu na lidský organismus. SZN 1952. — 6. Jakušev B. I.: Gazoenergetičeskij obmen u teljat vyraščených v neotaplivajemych poměščenijach. Veterinarija 1951, No. 1. — 7. Koštojanc CH. S.: Osnovy sravnitelnoj fiziologii. AN SSSR 1951. — 8. Kudrjavcev A. A.: Metody issledovanija gazovogo i energetičeskogo obmena u selskochozjajstvennych životnych, 1951. — 9. Kudrjavcev P. N.: Plemenoje delo ve svinovodstve. Moskva. — 10. Jagovkin A. F.: Vyraščivanije porosjat v neotaplivajemych poměščenijach. Životnovodstvo 1953, 7, 79-82. — 11. Koržujev F. A.: Proischoždenije homiothermii. Usp. sovr. biol. 1940, sv. 12, výt. 3. — 12. Lebeděv J. A.: Pitatelnoť celnoho moloka v kormleniji telat. Problemy životnovodstva 1937, č. 1. — 13. Matoušek J.: Normální metabolismus a thermoregulace u chladně a stájově odchovávaných telat. Sborník ČSAZV, v tisku. — 14. McMeekan C. P.: Growth and development in the pig, with special reference to carcass quality characters I.—V. The Journal of Agricultural Science 1940, 1941. Separát. výtisky University of Cambridge. — 15. Olňanskaja R. P.: Složnorefleksornyj mehanism specifičeskogo dinamičeskogo dějstvija pišči. AN SSSR 1949. — 16. Opíchal M.: Studie o růstu selat od narození do 56 dnů a o sekreci mléka u prasnic. Sborník výzk. ústavů zeměd. Brno 1948, sv. 175. — 17. Pavlov I. P.: Lekcii po fiziologii. AN SSSR, 1952. — 18. Popova T. V.: O centralnom mehanisme fiziologičeskoi thermoregulacii. Fiziol. žurnál SSSR 1946, No 5. — 19. Popova T. V.: O centralnom mehanisme fizičeskoi thermoregulacii. Fiziol. žurnál SSSR 1946, No 5. — 20. Slonim A. D.: Životnaja teplota i ee regulacija v organisme mlekopitajuščich. AN SSSR 1952. — 21. Redkin: Svinovodstvo. Moskva. — 22. Tomme M. F.: Obmen veščevst i energii u selskochozjajstvennych životnych. Gos. izd. s.-ch. literatury Moskva 1949. — 23. Cíevárek A.: Příspěvek ke studiu vývinu ssajících selat. Sborník ČSAZV, Živoč. výroba a vet. medicina 1955, XXVIII, 7. — 24. Cíevárek A.: Vliv intensity výživy na zvýšení užítkovosti prasat. Za socialistické zemědělství 1955, 9. — 25. Munk Zd.: K otázce vlivu nízké teploty na některé užítkové vlastnosti prasat. Sborník ČSAZV, Živoč. výroba a vet. medicina, XXVIII, 6, 1955. — 25. Smith D. M.: The Ruakura Round Farrowing House. New Zealand Journal of Agricultural, 9, 1954, 267-272.

Исследование проблем терморегуляции у поросят-сосунов

Из приведенных данных автор заключает, что поросенок после рождения не способен сопротивляться неблагоприятной температуре внешней среды; автор предполагает, что возникновение формы терморегуляции (химической) относится к периоду, когда поросенок достигает двойного живого веса по сравнению с его весом при рождении.

На основании собственного исследования автор затем доказывает значительное колебание срока, нужного для достижения двойного живого веса поросенка по сравнению с его весом при рождении, для отдельных поросят в помете. Продолжительность срока, нужного для достижения этого двойного веса, зависит от живого веса поросенка при рождении. Опираясь при этом также на данные практики, автор указывает на то обстоятельство, что срок от рождения до приобретения двойного веса является минимально необходимым для того, чтобы организм поросенка получил специфические и для развития необходимые условия, т. е. соответствующее тепло, сухую среду и свежий воздух.

Erforschung der Voraussetzungen für das Studium der Thermoregulation bei Saugferkeln

Der Autor erweist aus dem angeführten Datenmaterial, dass ein Ferkel nach der Geburt unfähig ist, der ungünstigen Temperatur des Aussenmilieus Widerstand zu leisten; er setzt voraus, dass die Entstehung der Form der Thermoregulation (d. h. der chemischen) in einen Zeitraum fällt, in welchem das Ferkel das Doppelte seines Lebendgewichtes bei der Geburt erreicht.

Auf Grund eigener Ermittlung beweist sodann der Autor die beträchtliche Schwankung des Zeitraumes, der zur Erreichung des doppelten Lebendgewichtes eines Ferkels gegenüber dem Gewichte bei seiner Geburt erforderlich ist, und zwar bei einzelnen Ferkeln im Wurf. Die zur Erreichung dieser Verdopplung erforderliche Zeitspanne hängt sodann vom Lebendgewichte des Ferkels bei der Geburt ab. Gestützt auch auf praktische Erkenntnisse, weist der Autor darauf hin, dass der von der Geburt bis zur Verdopplung des Lebendgewichtes ablaufende Zeitraum minimal notwendig ist, um dem Organismus des Ferkels die spezifischen und für die Entwicklung unumgänglichen Bedingungen, d. h. angemessene Wärme, Trockenheit und frische Luft, zuzuführen.

Mikrovarianta *Salmonelly cholerae suis*

Микровариант *Salmonelly cholerae suis*

Die Mikrovariante der *Salmonella cholerae suis*

Jaroslav KRÁL

Státní vědecký veterinární ústav Praha

Došlo dne 28. IV. 1955

U enterobacteriaceí lze získat z běžných vegetativních forem při speciálních kultivačních podmínkách varianty, lišící se od mateřské kultury v růstových a biologických vlastnostech. Spontánní výskyt takových variant při běžné diagnostické izolaci je dosti vzácný. Kristensen a K a u f f m a n popsali u *Salm. eastbourne* a později K a u f f m a n (4) též u *Salm. typhi* kmeny, rostoucí ve formě trpasličích kolonií. Tato růstová varianta dává na speciálních živných půdách již v primokultuře porost kolonií běžné velikosti a má plně zachovalou virulenci. Soustavné studium proměnlivosti mikroorganismů odhalilo u jednotlivých bakteriálních druhů zvláštní formy, přesahující hranice variability. Patří k nim mikroformy, které jsou nepochybně. Hadley, Delves, Klimek (2) popsali u *Shigell* a *Salmonell* G-formy, charakterisované mikroskopickými koloniemi, vytvářené drobnými kokkovitými elementy. Tyto formy jsou podle popisu blízké L-formám, které prokázali Dienes, Howard, Weinberger, Madoff (3, 12) u *Shigell* i *Salmonell*. Výzkumné práce Krestovnikové (7), Kaliny (5) a jiných sovětských mikrobiologů podaly mnoho shodných pozorování o variabilitě mikrobů, o mikroformách a filtrabilních formách, které — jak uvádí M u r o m c e v (9, 10) — byly prokázány téměř u všech druhů mikrobů. Další výzkumy o proměnlivosti mikrobů přinesou v budoucnosti nepochybně objasnění, zda mikroformy představují jedno ze stádií normálního vývojového cyklu mikrobů nebo spíše následek náhlého rozpadu a opětovné regenerace bakteriální buňky. Dnes je již dostatečně prokázáno, že charakter bakteriálních kultur může být dočasně nebo i trvale ovlivněn měnícími se podmínkami zevního prostředí. Při běžných kultivačních podmínkách na půdách bohatých živinami nedochází ke vzniku descendenčních variant a mikroforem, lze je izolovat teprve při použití speciálních metod, které přinášejí v některém směru nevhodné podmínky pro růst a pomnožování mikrobů. Experimentální získání kmenů odchylných vlastností daří se poměrně dobře na živných půdách; izolace variant, vzniklých vlivem specifických protilátek v živém organismu, je daleko obtížnější, zejména když se zmenší virulence mikrobů

a tyto podlehnou lyse nebo fagocytose. To se týká nepochybně i mikroforem a filtrabilních forem.

Tato studie byla zaměřena na experimentální získání nepochybných variant na živných půdách a v živém organismu a ke zhodnocení imunologických vlastností izolovaných kultur.

Metodika

Prověření rozličných metod, jimiž byly dosud izolovány různé varianty a nepochybné mikroformy, je ztíženo tím, že literární údaje o použité metodice jsou velmi strohé, jednotlivé metody je nutno v různém směru detailně prověřovat. Ve vlastních pokusech bylo použito 30 kmenů *Salmonell*, patřících k šesti typům (*Salm. typhi murium*, *Salm. cholerae suis*, *Salm. bareilly*, *Salm. enteritidis*, *Salm. gallinarum*, *Salm. anatum*). Současné použití více pracovních metod bylo zaměřeno k objasnění pravidelnosti výskytu variant.

a) Bakteriofág

Použití bakteriofága k získání nepochybných mikroforem je uváděno M u r o m c e v e m (10) a shodně H a d l e y e m (2) za jednu z vhodných metod. Vlastní pokusy byly prováděny se dvěma kmeny bakteriofága *Salm. cholerae suis* a dvěma kmeny bakteriofága *Salm. gallinarum*. Obojí druh bakteriofágových kmenů byl izolován z trusu zvířat (vepřů, slepic), pocházejících ze dvorců, zamořených příslušným typem *Salmonelly*. Použité kmeny bakteriofága byly monovalentní, dávaly titr 10^{-8} až 10^{-10} . Mladé šestihodinové bouillonové kultury salmonellových kmenů byly smíšeny s bakteriofágovou kulturou v takovém poměru, aby pravděpodobný, předpokládaný počet bakteriofágových elementů v použité bakteriofágové kultuře byl větší nežli počet zárodků použitého typu *Salmonelly* v 1 ccm. Směs byla inkubována při 37° C po dobu 1, 2, 4 a 8 hodin, načež byla provedena inaktivace bakteriofága natriumcitrátem, který v koncentraci 5% se prokázal být velmi účinným. Inaktivace je nezbytná, neboť přítomnost bakteriofága v kultuře ztěžuje hodnocení kolonií, vyrostlých na povrchu pevných půd. Inaktivovaná kultura byla vyočkována v dávce 0,1 ccm na povrch serie agarových ploten. Plotny byly vždy dlouhodobě aerobně i partiálně anaerobně inkubovány ve vlhké komoře při 37° C, pozorování a hodnocení kolonií bylo prováděno binokulární lupou.

b) Lithiumchlorid

Bakteriofág a podobně soli těžkých kovů poškozují životnost mikrobů a právem je jejich účinek na kulturu považován za nefysiologický. Kultivaci v bouillonu s lithiumchloridem doporučuje H a d l e y (2) jako metodu, vedoucí k získání mikroforem. Salmonellové kmeny byly pasážovány ve 24hodinových intervalech bouillonem s 0,25—0,5 % lithiumchloridu (pH 7,5 až 7,8). Od 3. pasáže byla každá zkumavka vyočkována na povrch agaro-

vých ploten v přiměřeném zředění tak, aby byly získány jednotlivé kolonie. Byl sledován měnící se poměr *S*, *SR* a *R* kolonií a výskyt mikroskopických kolonií.

c) Stárnutí kultur

Stárnutí kultur je jednou z prvních metod, které bylo použito při studiu proměny vlastností mikrobiálních kultur. Značný vliv na stárnoucí kulturu má kromě produktů látkové výměny aktuální reakce prostředí. Odštěpení *R* forem a pravděpodobně i mikroforem usnadňuje alkalické reakce. Bouillonové kultury *pH* 7,8, skladované jednak při pokojové teplotě, jednak při 37° C, byly vyočkovávány v přiměřeném zředění v intervalu 14 dnů na povrch agarových ploten, kontrola reakce byla prováděna kolorimetricky, stav kultur byl sledován po dobu 18 měsíců.

d) Zmrazování kultur

Střídavé zmrazování a rozmrazování má na mikrobiální buňky nepříznivý účinek v kritickém momentu přeměny skupenství vody. Bouillonem smyté agarové porosty, zahuštěné centrifugací byly zmrazovány při -20° C a rozmrazovány do teploty +20° C 3—5krát denně po dobu 4 měsíců. Každý 7. den bylo prováděno vyočkování na povrch agarových ploten tak, aby bylo dosaženo růstu jednotlivých kolonií.

e) Specifická sera

V pokusech bylo použito aktivních hyperimunních sér, která byla přidávána v dávce 10 % do tekutých živných půd, jimiž byly kultury pasážovány ve 24hodinových intervalech. Každá bouillonová pasáž byla vyočkována ve zředění na povrch agarových ploten.

f) Pokusy na zvířatech

Pokusy o získání variant v živém organismu byly provedeny na normálních a hyperimunisovaných králících, používaných k přípravě aglutinačních sér. Hadley uvádí, že získal mikroformy *Salmonell* z intraperitoneálního exudátu králíků, jímž aplikoval (intraperitoneálně) 20 ccm čerstvé bouillonové kultury. V předběžných pokusech bylo zjištěno, že i dobře živění králíci těžce snášeli tuto dávku a zacházeli již po 4—6—12 hodinách na toxemii nebo prudkou septikemii, při čemž z peritoneálního exudátu byly získány pouze *S* formy. V pokusech bylo proto použito králíků hyperimunisovaných. Po dosažení žádoucích titerů bylo králíkům vstříknuto 25 ccm živé, 18 hod. staré bouillonové kultury homologního typu intraperitoneálně, po 48 a 72 hodinách byli králíci étherisováni, vykrváceni, emulze vnitřních orgánů a exudát dutiny břišní byl vyočkován na plotny v přiměřeném zředění. Touto modifikací původní Hadleyovy metody bylo dosaženo delšího účinku obranných protilátek hyperimunisovaného organismu na použité kultury.

1. Isolace mikrovariant *Salm. cholerae suis*

a) V serii pokusů, provedených bakteriofágovou metodou se 6 kmeny *Salm. cholerae suis* var. *Kunzendorf* s homologním bakteriofágovým kmenem (*H*) byla v jednom případě (kmen č. 832/53) dvě hodiny po smíšení bakteriální kultury s bakteriofágem izolována varianta, vyznačující se růstem mikroskopických (trpasličích) kolonií (mikrovarianta). Bouillonová kultura v tomto pokusu byla po inaktivaci natriumcitrátem čirá a po dalších 18 hodinách inkubace při 37° C slabě zakalená. Na plotnách, naočkovaných na povrch ve zředění 1 : 1000 až 1 : 10.000 vyrostly vedle fágresistentních kolonií velmi četné, drobné kolonie o průměru 40—60 μ , viditelné lupou. Tyto kolonie měly charakter miniaturních *S* kolonií, při přenesení skleněným vláknem dávaly v bouillonu po 6—8 dnech inkubace slabý zákal. Z bouillonů, naočkovaných jednotlivými koloniemi vyrostla na plotnách subkultura trpasličích kolonií. Kultura byla aglutinována specifickým serem *S* formy *Salm. cholerae suis* a byla citlivá vůči bakteriofágu, jehož vlivem vznikla.

V dalších (59) pokusech, provedených s druhým kmenem bakteriofága *Salm. cholerae suis* (kmen *S*) a 6 kmeny *Salm. cholerae suis* var. *Kunzendorf*, jakož i ve 40 pokusech s 5 kmeny *Salm. gallinarum* a dvěma homologními bakteriofágy nezdařilo se získati kulturu podobných vlastností.

b) Účinek lithiumchloridu byl sledován ve 42 pokusech, z nichž každý měl 24—36 pasáží. U jednoho kmene *Salm. cholerae suis* (3391/53) objevily se ve třetí pasáži v převaze *R* kolonie, v 6. pasáži vyrostly náhle mezi *R* a *S* koloniemi velmi četné trpasličí kolonie průměru 30—50 μ , které svými morfologickými vlastnostmi odpovídaly kultuře trpasličích kolonií, získaných účinkem bakteriofága u kmene č. 832/53. Kultura si zachovala své růstové vlastnosti při dalším přeočkování v tekutých půdách, přímé přeočkování na pevné půdy nedávalo žádného porostu.

Při stejné metodice byl v opakovaných pokusech, jakož i v pokusech, provedených s ostatními kmeny *Salmonell* výsledek vesměs negativní.

c) Při stárnutí kultur jevily kmeny *Salmonell* pouze přechodně sníženou patogenitu, varianty odchylných růstových vlastností se nezdařilo získat.

d) Pokusy se střídavým zmrazováním a rozmrazováním, provedené se 30 kmeny 6 *Salmonellových* typů vedly ke vzniku *SR* a *R* forem a k postupné lyse mikrobů. Varianty odchylných biologických vlastností se nezdařilo získat.

e) Hyperimunní sera měla in vitro u všech 6 typů *Salmonell* bakteriostatický účinek, z kultur byly postupně odštěpovány *SR* a *R* kolonie, trpasličí kolonie nebyly získány.

e) Hyperimunní specifická sera měla in vitro u všech 6 použitých typů *Salmonell* bakteriostatický účinek, z kultur byly postupně odštěpovány *SR* a *R* kolonie, trpasličí kolonie nebyly získány.

f) U 39 králíků, hyperimunisovaných za účelem výroby aglutinačních sér nastalo po intraperitoneální dávce 20 ccm osmnáctihodinové virulentní bouillonové kultury *Salmonell* přechodné porušení zdravotního stavu, projevující se zvýšenou teplotou a nechutenstvím, trvajícím 1—3 dny; později se zvířata zotavila a neprojevovaly se u nich žádné poruchy zdravotního stavu. Dávky 20—25 ccm virulentní bouillonové kultury intraperitoneálně aplikované neprolomily imunitu, exudát dutiny břišní vykazoval po 24—48—72 hodinách silný zákal, obsahoval velké množství buněčných elementů (leukocytů, lymfocytů); množství mikrobů ubývalo, čím delší byl interval mezi aplikací kultury a odběrem exudátu. Po 6—8 dnech nebylo možno vykultivovati z exudátu a výplašku dutiny peritoneální přímou ani pomnožovací metodou kulturu aplikovaného typu *Salmonelly*.

2. Charakteristika mikrovarianty *Salm. cholerae suis*

Morfologie

V nativních i barevných preparátech, zhotovených z bakteriofágové a lithiumchloridové kultury, z nichž vyrostly trpasličí kolonie, byla vedle Gramnegativních tyčinek patrna granula a kokkovité útvary velikosti 0,3 μ . V nativních preparátech se tyto útvary jeví jako světlolomná tělíska, která nevykazovala aktivní pohyb, anilinovými barvivy se barvila stejnoměrně, byla Gramnegativní. Mikroskopicky nebylo lze blíže objasnit jejich podstatu. V bouillonových subkulturách, založených z původního bakteriofágového a lithiumchloridového bouillonu nebyly podobné útvary prokazatelné, takže tyto elementy, jednalo-li se vůbec o živé organismy, nebyly kultivovatelné běžnou metodikou. Trpasličí kolonie z ploten a zákalový porost z bouillonů v subkulturách byly tvořeny Gramnegativními tyčinkami délky 1—2 μ , které vykazovaly velmi malou aktivní pohyblivost.

Biochemické vlastnosti

Oba kmeny trpasličích kolonií *Salm. cholerae suis*, získané nezávisle různými metodami ze dvou kmenů odlišné provenience se navzájem shodovaly svými biochemickými vlastnostmi, od mateřské kultury se lišily v tom, že nakvašovaly jen slabě manit, zkvašovaly slabě a opožděně dulcitol a arabinosu.

Antigenní struktura

Antigen byl připraven z mikrovarianty odstředěním bouillonové kultury a resuspendováním sedimentu ve fyziologickém roztoku. Použitá OH a H sera byla získána imunizací králíků virulentní S formou *Salm. cholerae suis* a dosahovala titrů O 1 : 640, H 1 : 20.000. Oba kmeny trpasličích kolonií, které dávaly s tímto serem pozitivní aglutinaci, se lišily ve struktuře flagelárních antigenů:

Tab. 1. Antigenní struktura mikrovariant podle Wrightovy reakce.

Ředění	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640	Použité serum
Mikrovari- anta č. 823/53	+++ --- +++	+++ --- +++	++ --- ++	++ --- ++	+ --- +	--- --- ---	O-VI,VII H-c H-1,5
Mikrovari- anta č. 3391/53	+++ +++ +++	+++ ++ +++	++ ++ ++	++ + ++	+ --- +	--- --- ---	O-VI,VII H-c H-1,5

Z dosažených titrů lze usuzovat, že *O* ani *H* antigeny nebyly u obou variant ve srovnání s *S*-formou *Salm. cholerae suis* plně vyvinuty. Mikrovarianta z kmene č. 832/53 byla monofázová.

Specifitu antigenní struktury mikrovariant prokázaly vysycovací pokusy, při nichž aglutininy sera, připraveného na králících imunisační mikrovariantou, byly vysyceny antigeny virulentní *S*-formy *Salm. cholerae suis*.

Pathogenita a imunogenní schopnosti mikrovariant

Pro myšky, morčata, králíky byly kultury mikrovariant i ve velmi vysokých dávkách nepochybně. U myšek se neprojevovaly žádné poruchy zdravotního stavu po intraperitoneální dávce centrifugátu z 5 a 10 ccm čerstvé kultury, králíci snášeli bez poruch zdravotního stavu dávky 5, 10 ccm bouillonové kultury intravenózně a dávky centrifugátu ze 70, 100 a 500 ccm kultury intraperitoneálně. Po jediné dávce 5 ccm byly u králíků v krevním seru prokazatelné po 5—6 dnech aglutininy proti mikrovariantě i *S*-formě *Salm. cholerae suis*. Titry dosáhly u kultury č. 832/53 vrcholné hodnoty po 8—14 dnech:

Tab. 2. Titr agglutininů 14. den po jednorázové intravenózní aplikaci 5 ccm bouillonové kultury mikrovarianty

Ředění	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	Použitý antigen
Počet očkovaných králíků 2	+++ --- +++	+++ --- +++	++ --- ++	+ --- ---	--- --- ---	VI, VII c 1,5

Dalšími 6 dávkami 5 ccm intravenózně se sice titry zvýšily, ale nedosahovaly hodnot, které lze získat při imunisační králíků virulentní *S*-formami. *O*-antigen *S*-formy byl aglutinován serem králíků, imunizovaných mikrovariantou do titru 1 : 160, *H*-antigen do titru 1 : 1280.

Po jediné intraperitoneální dávce centrifugátu ze 70 ccm bouillonové kultury mikrovarianty byly dosaženy maximální titry po 11 dnech:

Tab. 3. Titr agglutininů po jednorázové intraperitoneální aplikaci mikrovarianty.

Ředění	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	Použitý antigen
Počet očkovaných králíků 2	+++ --- +++	+++ --- +++	+++ --- ++	++ --- ++	+ --- +	VI, VII c 1,5

Dalšími intraperitoneálními dávkami se hladina aglutinínů podstatně nezvýšila. Intraperitoneální dávkou centrifugátu ze 100 a 500 ccm živé bouillonové kultury mikrovarianty nebylo dosaženo vyšších titrů.

K vyloučení toxicity mikrovarianty byl králíkům vstřikován intraperitoneálně centrifugát, získaný z 500 ccm čerstvé, živé bouillonové kultury mikrovarianty. Tyto dávky nevyvolaly u králíků naprosto žádné poruchy zdravotního stavu, po 14 dnech byly v krevním seru prokázány aglutininy jen v nepatrné míře; nevytvořily se žádné O-aglutininy, H-aglutininy pouze v titru 1 : 40. Pravděpodobně nedošlo ke tvorbě protilátek z toho důvodu, že nadměrným množstvím cizorodých, parenterálně aplikovaných polysacharidů byl RES totálně blokován.

V imunizačních pokusech bylo u 8 králíků dosaženo opakovanými intravenosními dávkami bouillonové kultury mikrovarianty maximálního titru aglutininů O-320, H-2560. Takto imunizovaným králíkům byla vstříknuta intraperitoneálně virulentní bouillonová kultura *Salm. cholerae suis* v dávce 0,5—1,0 ccm. Králíci uhynuli během 2—5 dnů na septickou *Salmonellosu*. Králíci, jimž bylo vstříknuto 20 ccm virulentní bouillonové kultury intraperitoneálně, hynuli za příznaků toxemie (křeče, paresy) a septicemie během 12—18 hodin.

Filtrační pokusy

K filtračním pokusům bylo použito Seitzových filtrů. Filtrace třídenních bouillonových kultur byla provedena pod tlakem 400 mm, filtráty byly přeneseny pipetou v dávce 0,5—5,0 ccm do serie baněk s bouillonem, současně byla očkována serie agarových ploten. Po inkubaci 10 dnů byl povrch ploten spláchnut sterilním bouillonem a jím byla naočkována další serie ploten, splachování nově naočkových ploten bylo opakováno celkem 4—6krát. Bouillonové kultury byly vyočkovány po 14 a 21 dnech inkubace. Výsledek byl ve všech pokusech negativní, u žádné z kultur trpasličích kolonií se nezdařilo prokázatí filtrabilní formu.

Diskuse

Kultury trpasličích kolonií *Salm. cholerae suis* (mikrovarianty) byly získány dvěma na sobě nezávislými metodami ze dvou kmenů různé provenience. I když některými svými vlastnostmi (růst na agarových plotnách, ztráta pathogenity a toxicity) se kultury podobaly mikroformám,

nelze je s pravými mikroformami ztotožňovati zejména proto, že se nezdařilo prokázatí filtrabilní formu a že kultury byly lysovány specifickým bakteriofágem. Poměrná obtížnost izolace tohoto typu kultur nezdá se nasvědčovat tomu, že by se v daném případě jednalo o pravidelnou přechodnou formu mezi vegetativními a v literatuře uváděnými filtrabilními formami *Salmonell*. Získané kultury trpasličích kolonií lze považovati za stabilisované minusvarianty, které mají od mateřské kultury odchylný biochemismus, projevující se nejvýznamněji v úplné ztrátě pathogenity a toxicity.

Izolované varianty měly v podstatě ve srovnání s mateřskou kulturou zachovalou antigenní strukturu, byly však zcela netoxické. Tuto jejich vlastnost nemůžeme zvlášť hodnotit, běre-me-li v úvahu, že pouze některé kmeny téhož typu *Salmonell* — jak uvádí Š u r (11) — jsou toxické. Výsledky imunisačních pokusů na králících svědčí pro správnost názorů, že uvolnění endotoxinů nezávisí pouze na počtu a způsobu rozpadu bakteriálních buněk, nýbrž též, a to v největší míře, na detailní, toxicitu podmiňující struktuře somatické hmoty.

Z á v ě r

Pokusy o experimentální získání nopathogenních variant *Salmonell* byly prováděny 6 různými metodami se 6 typy *Salmonell*. Účinkem specifického bakteriofága a lithieumchloridu byly pouze ze dvou kultur *Salm. cholerae suis* získány kultury trpasličích kolonií (mikrovarianty), pokusy provedené ostatními metodami (stárnutí kultur, zmrazování, účinek specifických sér, parenterální aplikace bouillonových kultur normální a hyperimunizovaným králíkům) daly v tomto směru negativní výsledek. Isolované mikrovarianty *Salm. cholerae suis* měly v podstatě zachovalou antigenní strukturu (VI, VII, c, 1,5), v biochemických vlastnostech se lišily od mateřské kultury tím, že jen slabě nakvašovaly manit, zkvašovaly slabě a opožděně dulcít a arabinosu, mikroby byly slabě pohyblivé a pro pokusná zvířata i ve velkých dávkách zcela nopathogenní a netoxické. Sera, získaná imunisační králíků měla specifické aglutininy vůči somatickým i flagelárním antigenům virulentní mateřské S-formy, avšak aktivní imunisace králíků mikrovariantami nevyvolávala dostatečnou imunitu vůči virulentní S-formě. Pokusy o průkaz filtrability mikrovarianty daly při použití EK Seitz filtrů negativní výsledek. Kultury si zachovaly při stálém přeočkovávání během 2 let stabilitu, za tuto dobu se nezdařilo převedení v původní virulentní formu.

Literatura

1. D i e n e s : The developement of proteus cultures in presence of Penicillin. J. Bact. 57, 529. — 2. Hadley, Delves, Klimek : The filtrable forms of bacteria. J. Inf. Dis. 48, 1. — 3. Howard, Dienes, Weinberger, Madoff : The transformation of tyfoïd bacilli into L forms under various conditions. J. Bact. 59, 755. — 4. K a u f f m a n : Enterobacteriaceae, Kopenhagen 1954. — 5. Kalina : Vegetativnaja gibridisacija

i napravljena izmenčivost i selekcija mikroorganizmov. Moskva 1953. — 6. Koljakov: Veterinarna mikrobiologija. Moskva 1952. — 7. Krestovnikova: Voprosy etiologii v zavisimosti od stadijnogo razvitija vzbuditelja. Trudy konf. po izmenč. 1948. — 8. Málek: Proměnlivost mikroorganizmů v sovětské vědě. Thom. sbírka 1951. — 9. Muromcev: Problema vidoobrazovanija u mikroorganizmov. Trudy konf. po napravl. izmenč. i selek. mikroorganizmov 1952. — 10. Muromcev: Filtrujuščie sa formy mikroorganizmov. Žur. obšč. Biol. XII. 3, 161. — 11. Šur: Piščevyje toksikoinfekcii paratyfoznogo charaktera. Moskva 1953. — 12. Weinberger: Properties of L forms isolated from Salmonella and isolation of L forms of Shigella. J. Bact. 59, 765.

Микровариант *Salmonella cholerae suis*

Опыты с экспериментальным получением непатогенных вариантов *Salmonella* проводились 6 различными методами с 6 типами *Salmonella*. Путем воздействия специфического бактериофага и хлористого лития только из двух культур *Salmonella cholerae suis* были получены культуры карликовых колоний (микроварианты). Опыты, проводимые другими методами (постарение культур, замораживание, действие специфических сывороток, парентеральная прививка бульенных культур нормальным и гипериммунизированным кроликам) в этом отношении дали отрицательные результаты. Изолированные микроварианты *Salmonella cholerae suis* по существу сохранили антигенную структуру (VI, VII, с. 1,5), своими биохимическими свойствами отличались от материнской культуры тем, что только слабо сбраживали манит, слабо и с опозданием сбраживали дульцит и арабиноз, микробы были мало подвижны и для опытных животных даже и в больших дозах были совершенно непатогенными и нетоксическими. Сыворотки, полученные путем иммунизации кроликов, заключали в себе специфические агглютинины в отношении соматических и флагеллярных антигенов вирулентной материнской S формы, однако, активная иммунизация кроликов микровариантами не вызвала достаточный иммунитет против вирулентной S формы. Опыты для доказательства фильтровальности микровариантов при применении ЕК фильтров Зейца дали отрицательный результат.

Культуры при постоянном пересеве в течение 2 лет сохранили свою устойчивость и в течение этого времени не удалось перевести их в первоначальную вирулентную форму.

Die Mikrovariante der *Salmonella cholerae suis*

Versuche mit der experimentalen Gewinnung von unpathogenischen Varianten der *Salmonella* wurden in 6 verschiedenen Methoden und mit 6 *Salmonella*-typen durchgeführt. Durch die Einwirkung des spezifischen Bakteriofagums und von Lithiumchlorid wurden lediglich aus zwei Kulturen der *Salmonella cholerae suis* Zwergkolonien (Mikrovarianten) gewonnen, die mit anderen Methoden vorgenommenen Versuche (Altern der Kulturen, Unterkühlung, Einwirkung spezifischer Seren, parenterale Applikation von Bouillonkulturen an normale und hyperimmunisierte

Kaninchen) ergaben in dieser Richtung negative Ergebnisse. Die isolierten Mikrovarianten der *Salmonella cholerae suis* hatten im wesentlichen eine guterhaltene antigene Struktur (VI, VII, c, 1, 5), hinsichtlich der biochemischen eine guterhaltene unterschieden sie sich von der Mutterkultur darin, dass sie Mannit nur schwach gärten, schwach und verspätet Dulzit und Arabinose vergärten, die Mikroben schwach beweglich waren und für die Versuchstiere auch in grossen Dosen vollkommen unpathogen und ungiftig sich erwiesen. Die durch Immunisierung von Kaninchen gewonnenen Seren hatte spezifische Agglutine gegenüber somatischen und flagelaren Antigenen der virulenten S-Mutterform, doch rief eine aktive Immunisierung der Kaninchen mit Mikrovarianten nicht die hinreichende Immunität gegenüber der virulenten S-Form hervor. Versuche mit dem Beweis der Filtrabilität der Mikrovariante ergaben bei Verwendung von EK Seitz-Filtern negatives Resultat.

Die Kulturen erhielten auch bei ständiger Nachimpfung während zweier Jahre ihre Stabilität und während dieser Zeit gelang es nicht, sie in die ursprüngliche virulente Form zurückzuführen.

Studium činnosti mléčné žlázy metodou skiaskopie

(I. sdělení)

Изучение деятельности молочной железы методом скиаскопии

Sciascopic Method of Studying the Milk Gland Activity

L'étude de l'activité de glande génératrice du lait avec méthode sciascopique

Das Studium der Tätigkeit der Milchdrüse durch die Methode der Skiaskopie

Dr Jan BÍLEK a Dr Miloš JANOVSKÝ

Výzkumný ústav živočišné výroby ČSAZV, laboratoř fyziologie — Ústav pro péči
o matku a dítě

Došlo dne 25. IV. 1955

Při studiu činnosti mléčné žlázy a možnosti jejího ovlivnění ve smyslu zvýšení produkce mléka se v poslední době věnuje velká pozornost způsobu vylučování mléka. V souvislosti s touto otázkou se zvláště studuje vylučovací reflex (ejekční, vypuzovací, spouštěcí, reflex molokootdači, reflex expulse, let down reflex, draught reflex, pumping reflex). Ely, Petersen a j. ukázali na významnou úlohu oxytocinu při vylučování mléka. Gračev, Baryšnikov a j. zdůraznili význam CNS na vylučování.

Ve většině dostupných prací se používá při studiu vylučovacího reflexu metody katetrisace vemene. Někteří autoři studovali tímto způsobem změny tlaku ve vemeni v jednotlivých fázích dojení.

Domnívali jsme se, že rozpor v dosažených výsledcích může být způsoben odlišností metody, na př. průměrem použitého katetru, hloubkou zasunutí a uvažovali jsme i o možných reakcích na podráždění sliznice zaváděním katetru.

Pro objasnění některých otázek, týkajících se především studia vylučovacího reflexu, snažili jsme se vypracovat metodu, která by umožňovala objektivně registrovat motorickou činnost mléčné žlázy.

Předpokládali jsme, že změny, které probíhají ve sběrném systému mléčné žlázy při vylučování mléka by bylo možno zachytit skiagrafiicky při kontrastní náplni sběrného systému.

První pokusy jsme prováděli na vypreparovaných vemenech krav. Studovali jsme na nich především vhodnost některých kontrastních látek, způsob plnění a potřebnou velikost náplně. Z kontrastních látek se nám osvědčil Ultraren, který v množství 20 ml postačoval k znázornění mlékojemu jedné mléčné žlázy středně velkého vemene. Na preparátech (viz rtg. snímek č. 1) jsme si ověřili použitelnost roentgenové metody pro studium činnosti mléčné žlázy a přistoupili jsme k pokusům na zvířeti.

Použili jsme krávy č. 80 červenostrakatého plemene o nižší dojnosti (3 l mléka denně) po proběhlé mostitidě levého zadního traktu. Vlastním pokusům předcházela příprava dojnice. Kráva byla zvykána na prostředí pokusu (na místnost rtg, postupné zatemňování místnosti, na zvuk přístroje atd.). V těchto podmínkách byla kráva po deset dnů touž dobu stejným způsobem vydojována. Zprvu reagovala dojnice na pobyt v rtg místnosti neklidem, močením a kálením, avšak po 3 dnech se chovala v tomto prostředí již zcela klidně.

Na zvířeti jsme použili této metody skiaskopického studia mléčné žlázy: Za stálých podmínek zevního prostředí jsme po lehkém otření distální části struku zavedli jemný sterilovaný pryžový katetr. Nejlépe se nám osvědčil katetr typu Nelaton, zn. Antiseptic č. 2, který po smočení v Pateolu (prostředek pro usnadnění cévkování v urologii) nevyvolával u dojnice při zavádění obrannou reakci.

Zavedeným katetrem jsme nechali odkapat 20 ml mléka a injikovali pozvolna stejné množství kontrastní látky a potom katetr vyjmuli. Vypuštěním mléka a pomalým plněním jsme se snažili zabránit náhlým změnám tlaku v mlékojemu. K plnění jsme užívali 35% roztok Ultrarenu, zahřátý na 37° C, který se nezdá působit dráždivě na motorický systém mléčné žlázy. Po naplnění mlékojemu Ultrarenem zůstává jeho skiaskopický obraz nezměněn.

Předběžně uvádíme některá zjištění získaná touto metodou:

1. Při mechanickém podráždění struku mléčné žlázy, naplněné kontrastní látkou několikerým stiskem ruky, jsme pozorovali již během několika vteřin kontrakci strukové části mlékojemu, nejvýraznější ve střední části. Náplň, která měla zprvu prstovitý tvar (viz obr. 2), se měnila ve tvar přesýpacích hodin (viz obr. 3).

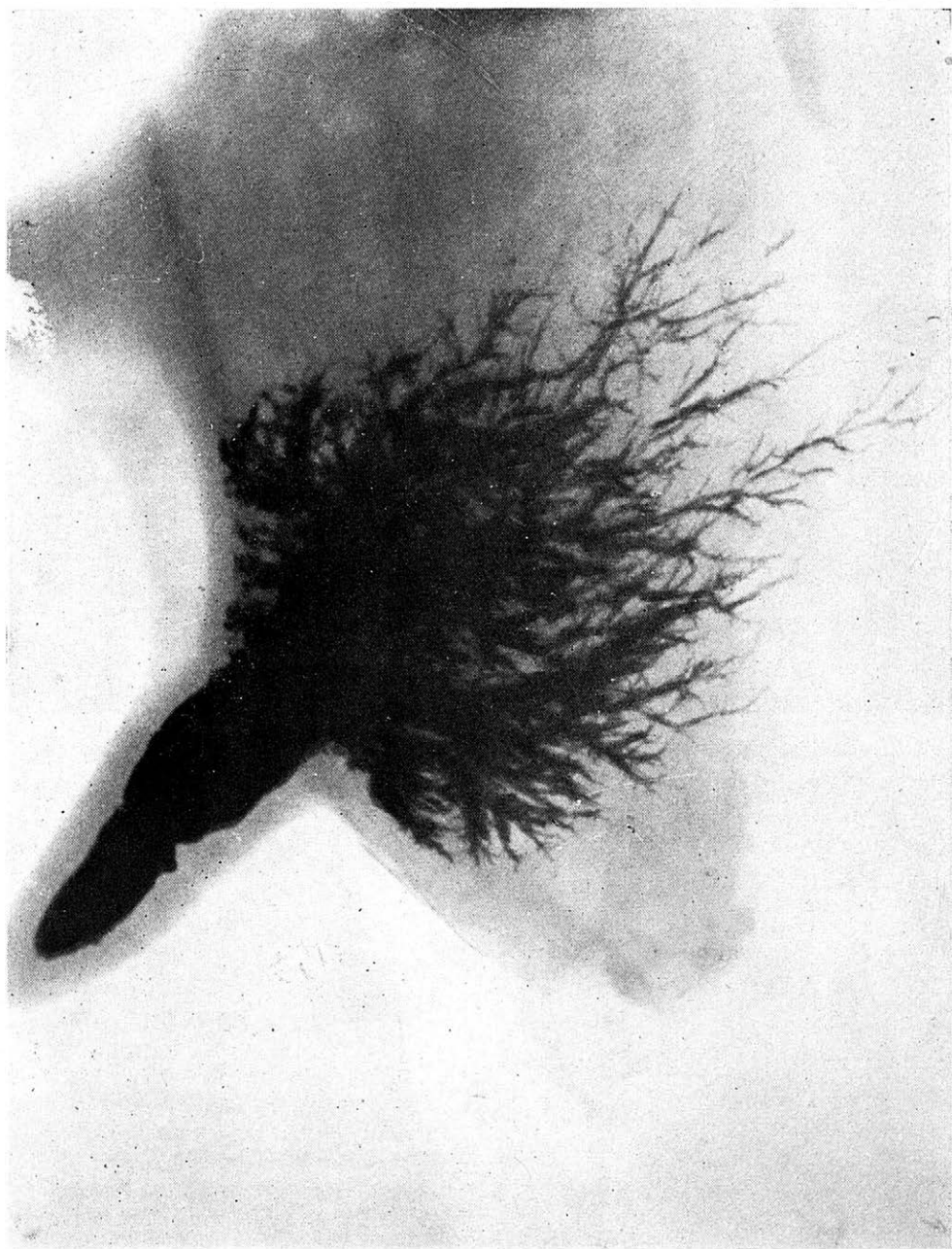
2. Při mechanickém podráždění dojením protilehlého struku druhé poloviny vemene se projevila tato kontrakce naplněného mlékojemu později (průměrně za jednu minutu). Kontrakce se periodicky opakovaly a byly pozorovány asi 20 minut. Stah nastupoval rychle, trval zprvu 7 vteřin a později se prodlužoval na 10–15 vteřin, hlavně zpomalením dekontrakce. Interval mezi jednotlivými stahy byl zprvu 50–60 vteřin, po několika minutách stoupla frekvence na 2 stahy za minutu. Pokles frekvence byl patrný mezi 10–15 minutami. Kontrakcemi postupovala kontrastní látka ke stropu mlékojemu a po několika stazích pronikla až do hrubých mlékovodů. Pokusy na preparátech i zvířeti jsme si ověřili, že nejde o prostou difusi kontrastní látky.

3. Chtěli jsme si ověřit, zda je vztah mezi porovnanými kontrakcemi hladkého svalstva cisterny a ejekcí mléka, vyvolanou podáváním oxytocinu. Zjistili jsme, že podání oxytocinu, i. v. v koncentraci, která vyvolá ejekci mléka, nevyvolá popsané kontrakce. Toto pozorování svědčí o rozdílném účinku oxytocinu na myoepitel a na hladké svalstvo.

4. Všimli jsme si také, jaký je účinek stisku struku při dojení. Při stisku základu struku rukou na začátku dojení jsme pozorovali vzestup kontrastní látky dorsálním směrem ke stropu mlékojemu a její vstřikování do mlékovodů, podobně jako na preparátech vemene (obr. č. 4a 5).

Uvedená pozorování se zdají nasvědčovat pro rytmickou činnost motorického aparátu mléčné žlázy. Problematika vylučovacího reflexu jest předmětem našeho dalšího studia.

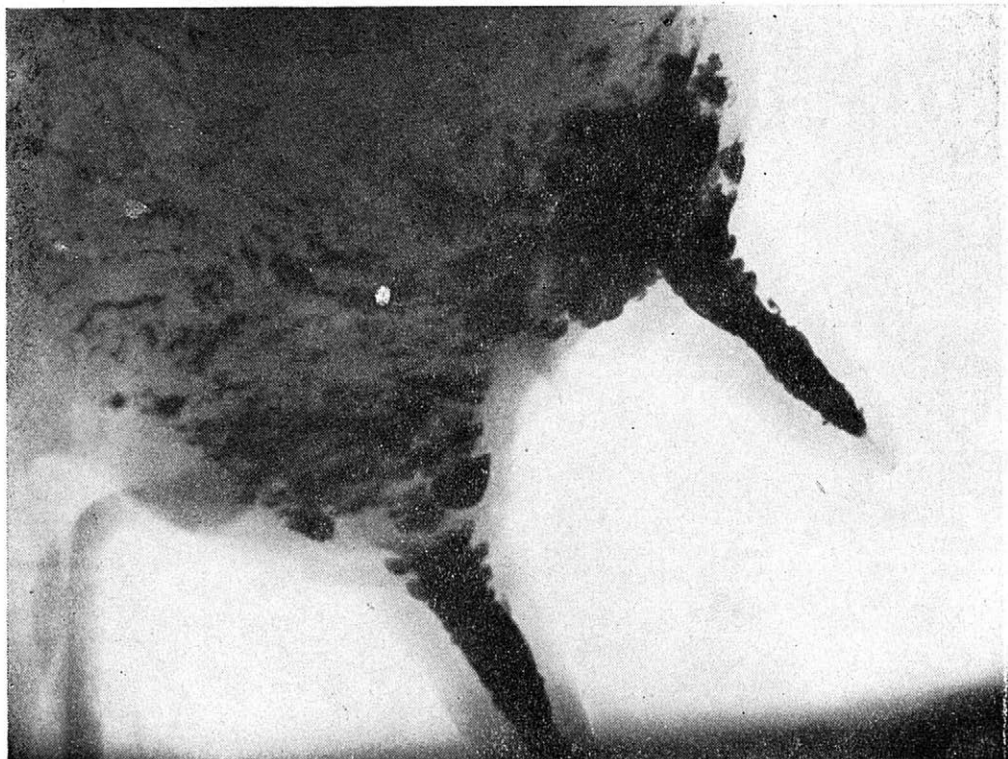
Uvedená pozorování svědčí pro rytmickou činnost motorického aparátu mléčné žlázy. Domníváme se, že popsaná metoda přispěje nejen k prohlou-



Obr. 1. Skiagram mlékosběrné soustavy preparátu mléčné žlázy.

Рис. 1. Скиаграмма емкостной системы препарата молочной железы.

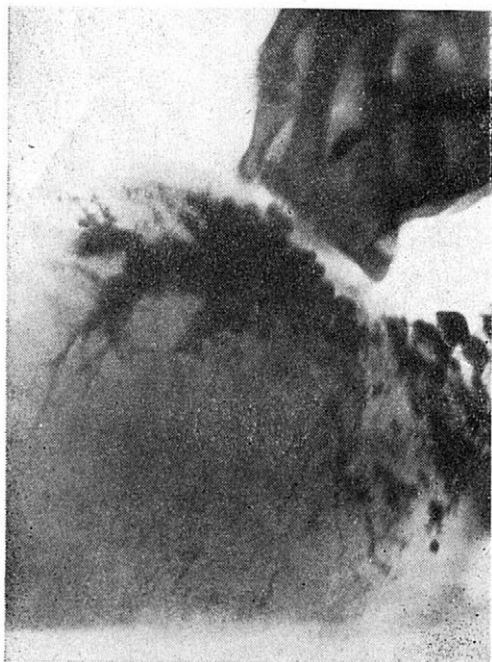
Abbildung 1. Skiagramm des Milchentnahme-Systems des Präparates der Milchdrüse.



Obr. 4. Skiagram dvou mléčných žláz částečně naplněných kontrastní látkou.

Рис. 4. Скиаграмма двух молочных желез, частично наполненных контрастным веществом.

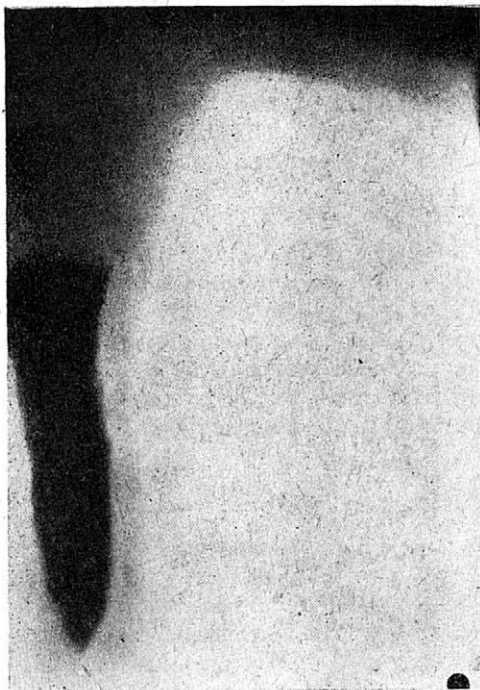
Abbildung 4. Skiagramm zweier teilweise mit Kontraststoff gefüllten Milchdrüsen.



Obr. 5. Skiagram mléčné žlázy částečně naplněné kontrastní látkou — po stisknutí struku vystoupila kontrastní látka z mlékojemu do mlékovodů.

Рис. 5. Скиаграмма молочной железы, частично наполненной контрастным веществом — после сжатия соска выступило контрастное вещество из молочной цистерны в сосковый канал.

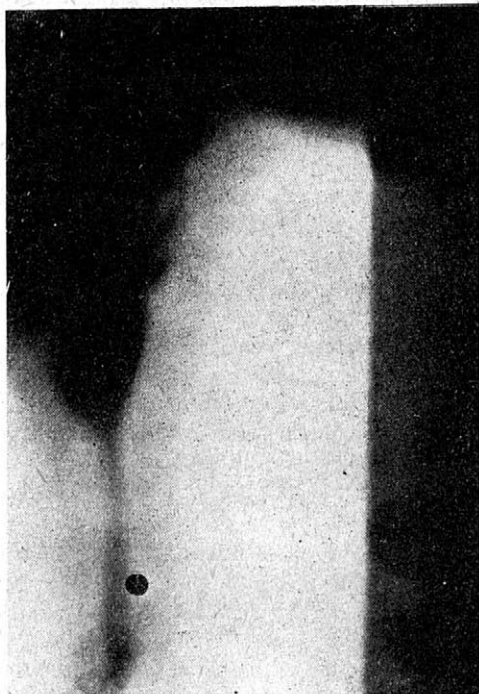
Abbildung 5. Skiagramm der teilweise mit Kontraststoff gefüllten Milchdrüse — nach Drücken der Zitze stieg der Kontraststoff aus dem Milchbehälter in die Milchgänge.



Obr. 2. Skiagram strukové části mlékojemu.

Рис. 2. Скиаграмма сосковой части молочной цистерны.

Abbildung 2. Skiagram des Zitzenteiles des Milchbehälters.



Obr. 3. Skiagram strukové části mlékojemu v kontrastu.

Рис. 3. Скиаграмма сосковой части молочной цистерны в контракции.

Abbildung 3. Skiagram des Zitzenteiles des Milchbehälters bei der Kontraktion.

bení znalostí fyziologie mléčné žlázy a možnosti jejího ovlivnění, ale že jí bude možno použít i při studiu činnosti nervového ústrojí.

Z á v ě r

Autoři vypracovali skiaskopickou metodu pro studium činnost mléčné žlázy. Zjistili, že po mechanickém podráždění struku nastávají kontrakce strukové části mlékojemu. Skiaskopická metoda má přispět k prohloubení znalostí fyziologie mléčné žlázy a možnosti jejího ovlivnění.

Изучение деятельности молочной железы методом скиаскопии

Авторы разработали скиаскопический метод для изучения деятельности молочной железы. Они установили, что после механического раздражения соска наступают сокращения сосковой части молочной цистерны. Скиаскопический метод должен способствовать углублению изучения физиологии молочной железы и возможности влияния на нее.

The authors have worked out a skiascopic method for studying the activity of milk glands. They have ascertained that after mechanical irritation of the teats there is a contraction of that part of the milk storage glands. The skiascopic method will help in improving the knowledge of the physiology of milk glands and will afford the possibility of affecting their activity.

L'étude de l'activité de glande génératrice du lait avec méthode sciascopique

Les auteurs ont élaboré une méthode pour l'étude des glandes génératrices du lait. On a constaté que l'excitation mécanique du trayon provoque des contractions de la région des trayons de la cisterne du lait. La méthode sciascopique doit approfondir les connaissances relatives à la physiologie de la glande génératrice du lait et à la possibilité de l'influencer.

Das Studium der Tätigkeit der Milchdrüse durch die Methode der Skiaskopie

Die Autoren arbeiteten eine skiaskopische Methode für das Studium der Funktion der Milchdrüse aus. Sie stellten fest, dass nach mechanischer Reizung der Zitze Kontraktionen des Zitzenteiles des Milchbehälters eintreten. Die skiaskopische Methode soll zur Vertiefung der Kenntnisse der Physiologie der Milchdrüse und der Möglichkeit ihrer Beeinflussung beitragen.

Petr G.: Biochemické studie viru slintavky a kulhavky I Биохимическое изучение вируса ящура I Biochemische Studien des Maul- und Klauenseuche Virus I	597
Ursiny J.: Hospodárnejšie využitie tela jednokopytníkov a oviec pri výrobe antirabickej vakcíny Более экономное использование тела однокопытников и овец при произ- водстве антирабической вакцины Wirtschaftlichere Ausnützung des Körpers von Einhufern und Schafen bei der Produktion von Antirabies-Vakzinen	603
Lebeda M.: Lokální reakce po očkování trypaflavinovou leptospirosní vakcinou Локальная реакция после прививки трипофлавинной лептоспирозной вакциной Lokalreaktionen nach Impfung mit Trypaflavin-Leptospirosen Vakzinen	613
Gdovin, Hrudka, Chládecký, Koppel: Infekční epididymatída ba- ranov na strednom Slovensku Инфекционный эпидидимитид баранов в средней Словакии Infektiöse Epididymitis von Widdern in der Mittelslowakei	617
Sova Z.: Vzácný prípad agranulocytosy u koně Редкий случай агранулоцитоза у лошади A Rare Case of Agranulocytosis in a Horse	629
Cicvárek Ant.: Výzkum predpokladů ke studiu thermoregulace u ssa- jících telat Исследование проблем терморегуляции у поросят-сосунков Erforschung der Voraussetzungen für das Studium der Thermoregula- tion bei Saugferkeln	639
Král J.: Mikrovarianta Salmonelly cholerae suis Микроварианты Salmonelly cholerae suis Die Mikrovariante der Salmonella cholerae suis	651
Bílek, Janovský: Studium činnosti mléčné žlázy metódou skiaskopie Изучение деятельности молочной железы методом скиаскопии Das Studium der Tätigkeit der Milchdrüse durch die Methode der Skiaskopie	661

Z VYDANÝCH KNIH

ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Stanislav Rádek, RÍZENÍ TRAKTOROVÝCH BRIGÁD (kart. Kčs 1,15). Při školení pracovníků byla až dosud věnována malá pozornost zveřejňování dobrých poznatků o řízení a systému práce jednotlivých pracovníků i kolektivů STS. Autor vysvětlil hlavní zásady systému práce na příkladech z činnosti traktorových brigád Meclav a Benice (rozebráno).

Jan Bartušek, KRMNÁ TECHNIKA V PRAXI (kart. Kčs 1,80). O tom, jak co nejlépe a nejsporněji využít krmivové základny, podává svědectví úspěšné práce našich družstevníků. Jan Bartušek, pracovník ČSAZV - VÚK, Brno, odborně doplnil zkušenosti JZD Slapanice. Setkáváme se s dalším dokladem toho, jak významné je spojení výsledků vědecké práce se zkušenostmi zemědělské praxe (rozebráno).

T. D. Lysenko, STADIJNÍ VÝVOJ ROSTLIN (váz. Kčs 51,10). Vydáním práce o theorii stadijního vývoje a jarovisací zemědělských rostlin dostává se do rukou našich zemědělců druhý soubor prací vynikajícího sovětského vědce, dílo, které je nepostradatelným doplňkem již dříve přeložené „Agrobiologie“. Každý vědecký pracovník i praktik zde nalezne mnoho odpovědí na biologickou podstatu různých odrůd plodin.

Dr. Z. Munk - Ing. L. Horák, PRŮZKUM ZEMĚDĚLSKÝCH ZÁVODŮ S HLEDISKEM KRMIVOVÉ ZÁKLADNY (kart. Kčs 4,37). Obsáhle účelová studie o nejdůležitějších otázkách našeho krmivářství. Dlouho očekávaná práce, která se v současné době dostává do rukou našich pracovníků v zemědělství, aby jim pomohla při zvýšení výrobní produkce (rozebráno).

Ing. J. Demela, ZE ZKUŠENOSTI PĚSTITELE TRAVNÍCH SEMEN (kart. Kčs 3,65). Seznamuje s vývojem našeho travního semenářství a obsahuje agrotechnické pokyny pro pěstování semen jetelovin a travin, jejichž dostatek souvisí se zvyšováním krmivové základny (rozebráno).

Ing. Dr. V. Peterka, SKLÍZIME 28 q OZIMÉ ŘEPKY Z HEKTARU (kart. Kčs 2,90). O zkušenostech pěstitelů, zvláště J. Peřiny, vedoucího hospodářství státního statku v Unhošti (rozebráno).

Ing. O. Lauda - Ing. B. Votoupal, NOVÉ PRACOVNÍ METODY V PĚSTOVÁNÍ BRAMBOR (kart. Kčs 2,90). Autoři, pracovníci Výzkumného ústavu bramborářského, ukazují ve svém podnětném spisku, že odrůda a agrotechnika jsou dvě základní a od sebe neoddelitelné podmínky, zajišťující vysoké hektarové výnosy (rozebráno).

ZA DALŠÍ ROZVOJ ZEMĚDĚLSKÉ VĚDY (váz. Kčs 26,—). Dokumentární publikace, obsahující vědecké materiály, oznámení o organizační struktuře, zprávy a diskusní příspěvky z prvního výročního valného shromáždění Československé akademie zemědělských věd (rozebráno).

VĚDECKÉ PRÁCE VÝZKUMNÉHO ÚSTAVU ROSTLINNÉ VÝROBY (kart. Kčs 46,—). První vydání původních prací o výsledcích výzkumu, prováděného pracovníky VÚRV, obsahuje zprávy o jednotlivých themelech, zpracovaných ústavem. Nové poznatky vědy pomohou naší široké zemědělské veřejnosti k rychlé aplikaci a účinnému převzetí a zavedení výsledků výzkumu do výroby.

VĚDECKÉ PRÁCE VÝZKUMNÉHO ÚSTAVU ZEMĚDĚLSKÉ EKONOMIKY (kart. Kčs 51,40). Sborník studií a zpráv pracovníků VÚZE, vhodná pomůcka pro pracovníky nejen na úseku zemědělské ekonomiky, ale i na národních výborech a v praxi, dokazuje, že ústav uměl soustředit své pracovní úsilí a možnosti na řešení důležitých ekonomických problémů našeho zemědělství.

Vilmos Westsik, VÝSLEDKY POKUSŮ S OSEVNÍMI POSTUPY NA PÍSCITÝCH PŮDÁCH (kart. Kčs 28,—). Příklad významné práce předního maďarského autora, shrnující výsledky dvacetiletých pokusů s osevními postupy a jejich zhodnocení. Kniha podává směrnice, jak lze co nejúčelněji použít v zemědělské praxi pokusů a jejich výsledků, a je určena výzkumným pracovníkům, agronomům a vedoucím polních skupin státních statků, STS, národních výborů a JZD.

Doporučujeme uvedené knihy Československé akademie zemědělských věd všem vážným zájemcům o řešení otázek zemědělského výzkumu a jeho účinné přenášení do zemědělské praxe. Protože knihy vycházejí v omezeném nákladu, žádáme, abyste objednávky těch publikací, o které máte zájem,

urychleně

zaslali přímo na naši adresu, abychom mohli výtisky v objednaném množství skutečně zajistit.

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

TISK A NÁBOR, PRAHA XII, SLEZSKÁ 7

Vytiskla Mladá fronta, n. p., Praha II, Legerova 22.

Novinová sazba povolena ředitelstvím pošt a telegrafů v Praze čís. 130.110-IIIa-1937

a ředitelstvím v Brně čís. 107.947-IIIa-1940.

Dohlédací poštovní úřad Brno 2 a Praha 022.