

MUDr FRANT. PATOČKA a MUDr VLAD. WAGNER

# Případ lidské pasteurelosy se zjištěným zdrojem infekce

*Zvláštní otisk*  
*z ČASOPISU LÉKAŘŮ ČESKÝCH*  
*82 : 997, 1943*

\*

V PRAZE 1944

NÁKLADEM SPOLKU ČESKÝCH LÉKAŘŮ V PRAZE  
TISKEM DR. E.D. GRÉGRA A SYNA V PRAZE

## Případ lidské pasteurelosy se zjištěným zdrojem infekce.

MUDr FRANT. PATOČKA a MUDr VLAD. WAGNER.

*K padesátým narozeninám prof. dr. V. Jedličky.*

Velmi zajímavým a důležitým předmětem studia humánních bakteriologů jsou poměrně vzácně se vyskytující případy sdělných chorob, jichž etiologickým agens jsou tak zvaní »příležitostní« vyvolavatelé lidských infekcí. Tyto mohou být dvojího druhu:

Především naprosto ojediněle se vyskytující případy chorob, vyvolaných mikrobami buď de norma úplně saprofytickými nebo takovými, které se vyskytují jako pravidelné epifyty v lidském organismu a jejichž biologická funkce případně i rudimentární pathogenita nejsou doposud objasněny. Jen zcela namátkou uvádíme hnisání (na př. pan-ofthalmie), vyvolané bacilem subtilis, místní i celkové infekce, nezřídka i smrtelně končící, způsobené bac. anthracoidem, meningitidy vyvolané saprofytickými flavobakteriemi, hnisavé procesy, za jejichž agens byl s jistotou prokázán bac. prodigiosus. Pravděpodobně častější, i když teprve v poslední době blíže studované, jsou choroby vyvolané mikroby striktně anaerobními, a to hlavně z genu leptotrichia (takový případ byl námi již dříve po-

psán spolu s Obrtelem a v nedávné době byla na naší stanici kolegou Málkem vyšetřována infekce podobná, i když mnohem méně klinicky přesvědčivá, za to ověřená therapeutickým úspěchem autovakeiny) a z genus *actinomyces*. Všechny tyto, celkem ojedinělé zjevy v lidské pathologii zůstávají dosud nevysvětleny, neboť není jasno, zda chorobné příznaky vznikly abnormální disposicí lidského organismu, nebo nevysvětlitelným, po způsobu mutace vzniklým náhlým výskytem pathogenních vlastností u mikroorganismů, jichž normálním druhovým znakem jest právě jejich úplný nedostatek. Druhá možnost je daleko pravděpodobnější; od pravých mutací se liší tyto skokem vzniklé varianty úplných saprofytů tím, že se jejich záhadně nabytá virulence v dalších generacích téměř okamžitě ztrácí.

Bedlivé pozorování a rozbor těchto přírodních rarit má zcela zvláštní význam proto, že by nám velmi pravděpodobně mohly býti vodítkem k poznání, jak vůbec v přírodě vznikaly pathogenní druhy mikroorganismů, zda pochodem podobným mutaci, nebo vývojem z druhů saprofytických, jim podobných. Jelikož však experimentální napodení těchto výjimečných úkazů je prozatím nemožné a ony samy příliš řídké, než aby mohly býti statisticky zhodnoceny, je celá otázka problému evoluce pathogenních mikroorganismů, jak jsme měli již možnost jednou literárně prokázat, problémem dosud neřešitelným.

Druhou rozsáhlejší a častější skupinu »přiležitostních infekcí« tvoří mikroorganismy známé jako obligátní pathogenní agens zvířecí, které zcela výjimečně působí také choroby lidské nejrůznějšího druhu. Samozřejmě mezi ně nepočítáme vyvolatele tak zvaných zoonos, neb u nich je možnost přenosu na člověka stálým a druhovým znakem, nybrž infekční činitele stojící mimo zoonosy, i když

3

jsou jim někdy blízce příbuzné.\*.) Studium těchto přiležitostních infekcí lidských, sdělných ze zvířete, má podobně jako prvá skupina vyšší smysl. Jak některá pozorování tomu nasvědčují a jak bylo ověřeno velmi podrobným a systematickým studiem, vyskytuje se některé druhy pathog. mikroorganismů, dosud za čistě zvířecí považované, u člověka častěji, nežli se dosud za to mělo a není vyloučeno, že můžeme počítati s výskytem nových bakteriálních druhů u infekcí lidských, které dosud byly známy pouze v pathologii zvířecí.

Poučným příkladem této skutečnosti jsou infekce vyvolané Schmorlovým bacilem. Toto striktně anaerobní bakterium, sídlící zhusta jako epyfit ve střevě domácích zvířat, zejména hovězího dobytka, koní a králíků a vyvolávající u těchto zvířat dosti hojně enzootické infekce, bylo až do nedávných dob považováno za parazita čistě zvířecího. Od doby asi 15 let jest Schmorlův bacil nekrosy čím dále tím častěji prokazován u člověka, a to buď jako vyvolavatel ulcerosních colitid nebo ulcero-nekrotických procesů pleuro-pulmonálních i jiných vnitřních orgánů. Sami jsme jej mohli prokázat celkem dvakrát, a to jednou ve smíšené infekci s jinými anaerobami, po druhé v čisté kultuře v dětském jaterním abscesu. Ze sporulujících anaerobů je popisována podobná situace u dvou druhů: *bacillus gigas* a *haemolyticus*. *Bacillus gigas* byl dříve v přírodě známý pouze jako vyvolavatel onemocnění podobného malignímu oedemu u hovězího dobytka, nebo t. zv. osteomyelity buvolů a stejně tak méně

---

\*) Za zoonosy pokládáme takové zvířecí infekční choroby, u nichž přenos nákazy ze zvířete na člověka, dík adaptaci bakteria nebo viru, jest velmi snadno možný a tedy pravidelným zjevem; naproti tomu přenos téhož infektu z člověka na člověka jest — s některými výjimkami — vzácný. Zoonosy jsou na př.: lyssa, tularemie, pestis, Bangova nemoc atd.

častěji se vyskytující mikrob, t. j. *bacillus haemolyticus*. Oba dva, zejména zásluhou Zeisslerovou, mohou býti považovány dnes i za příležitostné vyvolavatele plynových flegmon až i anaerobních sepsí také u *genus humanum*.

Snad není zcela nezájímavé, když se v této souvislosti zmíníme i o opačném případě, že totiž infekce doposud známá jako lidská, přešla z člověka na některý druh zvířecí, u něhož se od té doby vyskytuje se stejnou pravidelností, a to již epidemiologicky na člověku nezávisle. Jde o chřipkový virus, který v dobách poměrně nedávných, t. j. po pandemiích v r. 1918 velmi pravděpodobně byl přenesen z člověka na vepřový dobytek a od té doby u něho vyvolává onemocnění podobné lidskému, mezi těmito zvířaty epidemicky se šířící. Je sice pravda, že virus vepřové chřipky potřebuje nutně k plnému rozvinutí své pathogenní účinnosti vždy ještě druhé složky, a to mikrobiální, která jest pro toto zvíře specifická a jak se zdá nevyvinula se adaptací podobné haemoglobinofilní tyčinky lidské, nýbrž byla odedávna, jak je tomu u jiných zvířat, epifytem, vzácně také pathogenním agens u vepřového dobytku; hlavní složkou této chřipkové infekce však zůstává virus a ten je téměř nepochybně původu lidského. Ostatně jsou náznaky, které se zdají mluvit pro to, že i nejzávažnější známá zoonosa, t. j. dymějový mor, je na ústupu a stává se tím, čím byla původně, t. j. infekcí čistě zvířecí. Zcela správně se pak poukazuje na to, že tento zvrat k původnímu stavu není pouze výsledkem moderních zásahů epidemiologických a systematicky provedených vakcinací v ohrožených krajích, nýbrž z velké části také dílem přírody, která nahradila druh *mus rattus*, na infekci nesmírně citlivý, který byl také až do staršího novověku hlavním šířitelem nákazy a tedy skutečnou příčinou pandemií, alespoň v určitých částech starého světa druhem *mus de-*

cumanus, který infekci nepoměrně lépe vzdoruje a není tedy schopen ji přenésti tak viruletní a rozširovat tak nezadržitelným způsobem.

Tím jsme, jak doufáme, dostatečně prokázali důležitost studia těchto vzácných lidských infekcí, způsobených t. zv. »příležitostními vyvolavateli« a nutnost registrace i takových případů, které jsou tím svého průběhu zdánlivě bezvýznamné.

V dalším předkládáme obraz a etiologické zhodnocení ranné infekce vyvolané mikrobem z *genus Pasteurella*, známými více pod starším názvem »bakterií, vyvolávajících haemorrhagické sepse zvířecí«. Případů obdobných je popsáno v odborné literatuře několik desítek a nejdůležitější z nich níže uvádíme. Některé zvířecí *Pasteurellu* vyvolaly u člověka onemocnění velmi těžké, ba dokonce smrtelné, čehož v našem případě nebylo. Co však jej činí obzvláště zajímavým, je ta okolnost, že byl s určitostí prokázán přímý zdroj této infekce ve zvířeti, jež poranění způsobilo, čímž nade vši pochybnost prokázána etiologická souvislost zvířecího nosičství a infekce lidské, a to ještě také identifikací obou *Pasteurell* tak podrobnou, jak jen to je u tohoto *genus* možné. Bezprostřední průkaz takové souvislosti mezi zdrojem infekce a nemocným člověkem, jako byl námi podán, je v případech, které se nám podařilo v literatuře sehnati, naprostou výjimkou a je také příčinou, proč svoji studii s takovými podrobnostmi předkládáme.

Ježto jde právě o mikroba, jenž nepatří mezi běžná lidská pathogenní agens, předesíláme několik všeobecných údajů jednak o jeho zařazení v mikrobiální systematice, jednak o vlastnostech morfologických, kultivačních a pathogenních, jak in natura, tak v experimentu, aby mohly být vodítkem všem našim mikrobiologům, kdyby se s tímto bakteriem při zpracovávání lidského materiálu setkali. Jsme ostatně přesvědčeni, že se *Pasteurellu*

z humánních pathologických produktů, i když nikoliv jako jediné a hlavní etiologické agens vypestují častěji, nežli se běžně má za to. Ježto se však na ně nemyslí, zůstávají většinou neidentifikovány. Upozornění na možnost tohoto výskytu jest, jak doufáme, rovněž nikoliv nevýznamným posláním této práce.

V klasické příručce Bergeyově jsou zařazeny Pasteurelly následovně: Familia Parvobacteriaceae, která obsahuje tři tribus: I. Pasteurelleae, II. Brucelleae, III. Haemophileae. Tribus Pasteurelleae zahrnuje v sobě genus *Pasteurella* a genus *Malleomyces* a konečně genus *Pasteurella* má 8 hlavních a podle Bergeye samostatných druhů, z nichž 5 nese název podle makroorganismů, na nichž obvykle parazitují (avicida, cuniculicida, suilla, atd.). Šestým a pro lidskou pathologii nejdůležitějším druhem jest *Pasteurella pestis*, sedmým *Pasteurella pseudotuberculosis* a osmým *Pasteurella tularensis*. Nechceme se v této práci pouštěti do polemiky proti této části klasické systematiky, jež má mnoho slabin. Zcela určitě si však troufáme tvrditi, že různé zvířecí Pasteurelly, jako na př. avicida, cuniculicida nejsou samostatnými druhy, nýbrž pouze adaptačními variantami, neboť mají navzájem k sobě neskonale bliže po všech stránkách, nežli na př. ke druhům *Pasteurella pestis* a *pseudotuberculosis*, jež jsou opět blízce příbuzné. Je-li vůbec vhodno řaditi bact. *tularensis* mezi Pasteurelly, považujeme za velmi sporné. Jak z Bergeyova schématu vyplývá, je nejbližším příbuzným Pasteurell genus *Malleomyces* čili bac. *mallei* a bac. *Whitmorův*, které s nimi patří do stejné tribus. Od nich odlišným tribem, ale ve stejně familia jsou Brucelly (*abortus* a *melitensis*) a nejvzdálenějším jest tribus Haemophileae (nejtypičtějším zástupcem jest Pfeifferův bacil). Pokud se tohoto posledně jmenovaného mikroba týče, jest relativní systematická vzdále-

nost od Pasteurell částečně na místě. Když však projdeme celý tribus Haemophileae, genus *Haemophilus*, tu v něm najdeme druhy na příklad: *Haemophilus putorium* Kairies, který, jak jsme se sami měli příležitost přesvědčiti na kulturách laskavě nám zaslaných dr. Kairiesem, i na dvou vlastních kmenech, isolovaných z fretek, nepatří mezi pravé haemofly, nýbrž jest nejpravděpodobněji obyčejnou haemoglobinofilní Pasteurellou, podobnou oné, jakou ve své práci popisujeme. Na druhé straně opět nesouhlasíme s přílišnou blízkostí genus *Pasteurella* a *Maleomyces*. Jistě je mnohem správnější učiniti z posledních skupinu zvláštní, která, jak velmi četní autoři uznávají, svou tendencí k tvorbě vláken a pseudoramifikací jest na přechodu mezi ordo Eubacteriales a ordo Actinomycetales (familia *Mycobacterium*, genus *Pfeifferella*).

Pro úplnost uvádíme také Regameyem citované schema Hauptovo, který tribus Pasteurelleae, blízce příbuzné tribu Aerobacteraceae, rozděluje na tři druhy: 1. *Haemophilus*, 2. *Pasteurella*, 3. *Actinobacillus*. Vcelku lze shrnouti, že Pasteurelly vyvolávající tak zvané haemorrhagické septikemie domácích zvířat (drůbeže, králíků, morčat, veprů, telat, hovězího dobytka, ovcí) i některých divokých (jako jsou tchoři, kočkovité šelmy, divoký králík, divoký vepr, buvolové) jsou blízké, a to zejména svou pathogenitou hlavně bac. moru, o něco méně bac. *pseudotuberculosis rodentium*; při své isolaci z pathologického produktu mohou na první pohled připomínati *Salmonelly*, od nichž však je lze odlišiti celkem snadno při dalším podrobnějším studiu, některé druhy pak v primokultuře mohou být zaměněny s *Haemophilum influenzae*, od něhož je lze opět snadno rozpoznati tím, že jejich »haemoglobinofilie« není obligátní, zato však pathogenita pro laboratorní zvířata je velmi nápadná a charakteristická.

Předem budiž vytčeno, že Pasteurelly haemorhagických septikemií (o nejrůznějším stupni pathogenity) patří (na rozdíl od názoru staršího) mezi zárodky v přírodě velmi rozšířené. Podle Morea je mezi zvířaty klinicky zdravými velmi mnoho nosičů Pasteurell. Hostí je především v traktu zažívacím, méně často respiračním. Kočka prý nosí tyto zárodky dokonce v 90% vyšetřovaných případů, pes ve 30%. Výjimečně může být nosičem těchto mikrobů také člověk. Je přirozeno, že při tak velkém percentuálním rozšíření v zažívacím traktu nejrůznějších zvířat mohou být Pasteurelly nalezeny i jinde v přírodě, hlavně na místech znečištěných zvířecími výměty. Několikrát dokonce byly Pasteurelly prokázány ve stokách, ba i v tocích velkoměstských řek (Gaffky).

Morfologie Pasteurell, pokud jsou mikroskopicky prokazovány z produktů lidských nebo zvířecích, je celkem charakteristická, neboť připomínají značně bacila moru. Vidíme je jako gramnegativní kokobacily s prázdným centrem a charakteristickým polárním barvením. Mikroby bývají seřazeny po dvou neb i v kratší řetízky. Haemoglobinofilní Pasteurelly velmi často mají jemnější a štíhlejší tvary, nejsou tak vejčité jako ostatní a připomínají velmi často krátké formy Pfeifferova bacila. Morfologie mikrobů, vypěstovaných na umělých půdách, není zdaleka tak typická. Tyčinky se velmi bliží tvaru mikrobů ze skupiny Salmonell, v tekutých půdách se často nacházejí formy vláknité, někdy i velmi tlusté, degenerativní. V pathologických produktech je prý obdána většina Pasteurell pouzdrem. Pasteurelly nikdy nejsou pohyblivé.

Podle chování v primokultuře můžeme rozdělit všechny Pasteurelly na dvě velké skupiny. Do prvej patří ony, které vyrůstají dobře na obvyklých universálních půdách jako je obyčejný agar, bouillon a gelatina. Druhá skupina upomínající na Haemo-

phila influenzae vyrůstá v prvé generaci pouze za přítomnosti faktorů X a V, stejně jako Pfeifferův bacil (tedy na krevním agaru, Lewinthalově agaru, agaru s extraktem glob.), ale po několika pasážích, někdy již v druhé generaci se stává stále méně náročnou, takže již nevyžaduje přidání ani haematinu, ani Warburgova kofermentu ke kultivačním půdám a podobá se pak vzhledem skupině první. Vzácněji zbývá po původní náročnosti ještě částečná serofilie jako u bac. Bordet-Gengouova, ale i tato se časem ztrácí. Je přirozeno, že druhá skupina Pasteurell vzhledem ke své počáteční náročnosti na kultivační prostředí roste mnohem jemněji, méně charakteristicky a i pomaleji fermentuje (často bez faktorů X a V vůbec ne); jakmile však dosáhne úplné adaptace, vyrovnaná se téměř úplně skupině první. Pro ní, zejména tehdy, když nemáme dosti času čekati, až si mikrob zvykne na kultivační půdy bez přidání faktorů X a V jest rozhodujícím a diagnostickým kriteriem experiment na zvířeti, neboť i tyto Pasteurelly, jsou-li ovšem v M neb alespoň S fázi, vyvolávají u citlivých zvířat (myš, morče, králík) klasické haemorrhagické onemocnění.

Kolonie na agaru nejsou zvláště charakteristické, bývají ve středu kalnější a vcelku klenutější, nežli jim podobné kolonie Salmonell, mají však zvláštní vůni a vyrůstají již po 24 hodinách do průměru nejméně 1—2 mm. V dalších dnech se pak stávají značně většími a kalnými i na dosud průhledné periferii, okraje často bývají nepravidelné; zhusta jsou kolonie značně mukosní a lehce špinavě nazloutlé. Tato vlastnost je ještě více vyznačena na koagulovaném seru, na agaru s ascitem, někdy i na krevním agaru. Většina Pasteurell nehaemoglobinofilních vyrůstá na Endu, ale kolonie zůstávají mnohem menší, než kolonie jinak jim podobných Salmonell. Bouillon je rychle zkalen, na dně se vy-

tváří sediment, na povrchu kultury někdy bývá naznačena prstencová jemná blanka. Ve sterilním mléce se vyvíjejí Pasteurelly buď velmi špatně neb vůbec ne, syrovátku zůstává pravidelně beze změny, gelatina není zkopalňována a vzrůst na ní je velmi pomalý a necharakteristický. Velmi důležitým znakem Pasteurell jest naprostá neschopnost vzrůstu na bramboře a prý též v půdě z kvasnic, kteréžto oba kultivační znaky mohou přispěti k rychlému rozlišení Pasteurell od některých Salmonell, neb jemněji rostoucích druhů bac. paracoli. Merchant a Rosenbusch tvrdí, že od tří stálejších typů Pasteurell, lišících se od sebe zkvašováním různých uhlohydrátů (arabinosa, dulcitol, xylosa), které na agaru s krví nikdy nehaemolysují, je nutno odlišovati vždy skupinu čtvrtou nejednotného chování vůči shora uvedeným uhlohydrátům, která však vždycky haemolysuje a je pro zvířata v experimentu naprosto nepathogenní. Tato Pasteurella haemolytica představuje pravděpodobně i v přírodě druh naprosto saprofytický, neschopný vyvolati jakékoli onemocnění.

Optimum temperatury u Pasteurell je kolem  $37^{\circ}$ , ale možné hranice vzrůstu velmi široké: mezi  $13-44^{\circ}$ . Zárodky jsou aerobní, jen lehce fakultativně anaerobní. Optimum pH u kultivačních půd je dosti alkalické, kolem  $7.8$ . Žluč na většinu Pasteurell působí nepříznivě, někdy je prý i rozpouští.

Starší autoři považovali Pasteurelly za neschopné produkovati indol. Zkoušky, kterými se toto zjišťování dělo, byly ovšem nepřesné. Novějšími metodami byly tyto údaje několikráté přezkoumány (Manninger a Regamey) a bylo shledáno, že v půdách, bohatých na tryptofan a nebsahujících žádného cukru, ale jinak dostatečně vhodných pro vzrůst Pasteurell, je indol vždycky produkován. Jsme tedy nuceni pozitivní průkaz indolu považovati za velmi důležitou diferenciálně diagnostickou

známkou Pasteurell proti Salmonellám. S jistou rezervou je nutno bráti údaje o produkci indolu u Pasteurell haemoglobinofilních, které, jak jsme se již zmínili, rostou na půdách bez dostatečného kvanta faktoru X i V buď jen velmi nepatrně, nebo vůbec nikoliv, takže zde jest positivní indolová zkouška alespoň v prvních generacích velmi problematické diagnostické ceny. Pasteurelly poměrně mohutně fermentují cukry i vyšší alkoholy, netvoří z nich však zřetelná kvanta plynu. Konstantně má prý býti zkvašována glukosa, sacharosa, maltosa a prý i manitol a sorbitol. Velmi důležitým diagnostickým vodítkem jest nezkvašování laktosy. O rozdělení Pasteurell na tři skupiny poměrně určité a jednu necharakteristickou podle zkvašování některých uhlohydrátů, byla učiněna již zmínka při haemolyse Pasteurell.

Resistance Pasteurell proti antiseptikům a proti škodlivým činitelům fysikálním je relativně malá, mnohem menší, nežli u podobně vypadajících Salmonell.

Všeobecně vzato jsou Pasteurelly špatným antigenem. Někdy bývá těžko vytvořiti vysoce účinné serum i proti homolognímu kmeni. Jestliže se již výroba takového antisera podaří, tu zhusta jím lze účinkovati na kmen, proti němuž bylo vyrobeno, ale toto serum jen málokdy účinkuje do specifických titrů proti Pasteurellám nejblíže příbuzným, třeba i isolovaným ze stejného druhu zvířecího a biologicky shodným s kmenem původním. Lze tedy serologickou identifikaci Pasteurell, až doposud známými prostředky provésti jen velmi těžko a pouze pozitivní výsledek může býti hodnocen. Negativní serologická reakce pak není nikdy průkazem, že nejde o dva kmeny stejného druhu, velmi blízce příbuzné. Uvidíme ostatně v závěru naší práce, že by bylo hlubší prostudování antigenních vlastností Pasteurell, a to systematicky prováděné,

velmi žádoucí. Mnoho svědčí pro to, že obyčejné zvířecí Pasteurelly patří do jedné velké serologické skupiny, naproti tomu Pasteurelly haemoglobinofilní do skupiny jiné, která má některé rysy příbuzné s genus *Haemophilus*.

Pasteurelly, vypěstované ze zvířete nebo z člověka, jsou obdařeny nejrůznějšími stupni přirozené pathogenicity. Použity k experimentu, usmreují zvíře buď foudroyantní sepsí někdy i během necelých 24 hodin (t. j. kmeny isolované hlavně ze septických chorob zvířecích), nebo vyvolávají onemocnění chronická, nebo konečně působí u experimentálních zvířat pouze postupnou kachexií, která může skončit uzdravením (kmeny vypěstované s povrchu sliznic zvířecích, event. saprofytický druh *Pasteurella haemolytica*). Zdá se vůbec, že dlouhodobý pobyt na slizničním povrchu u zvířecích nosičů působí jako u jiných pathogenních mikroorganismů změnu fází a tím i úbytek, až úplnou ztrátu virulence. Analogický případ známe u Pfeifferova bacila, kde jedině virulentním mikrobem je bacil v M fázi, kdežto S fáze mikrobiální již téměř úplně postrádá prokazatelné pathogenicity pro zvíře, a snad i pro člověka. Ze k takové disociaci u epifytické Pasteurelly skutečně dochází, toho doklad přináší i naše práce.

Exotoxin u Pasteurell prokázán nebyl; endotoxin (lépe řečeno autolysovaná těla mikrobiální) účinkuje na citlivá zvířata pouze nepatrně a jen v největších dávkách. Údajů o průkazu endotoxenu extrahovaného z mikrobiálních těl po způsobu endotoxenu tyfového bacila jsme nikde v literatuře nenalézli. Za zmínku stojí, že Bail se spolupracovníky dokázal v peritoneálních exsudátech u zvířat infikovaných *Pasteurella avicida* látky, které považuje za shodné s tak zvanými agresinami.

Haemorrhagická septikemie u zvířat, vyvolaná nejrůznějšími Pasteurellami, byla pokládána za

onemocnění extremně nakažlivé. Novější epidemiologické pokusy, jak je cituje Regamey, svědčí pro to, že hromadná onemocnění Pasteurellami, která se zhuba pozorují ve stájích pokusných zvířat, nebo v drůbežárnách, nejsou sdělnými infekcemi v pravém slova smyslu, nýbrž exacerbací až dosud latentních pasteurelos u zvířat, již dávno před tím infikovaných, a to pod vlivem takových zevnějších nepříznivých momentů, které mají za následek značné zeslabení zvířecích organismů. O průběhu přirozené infekce u různých zvířecích druhů se nebudeme šířit, neboť nepatří do rámce naší práce. Zmíníme se jen stručně o formách infekce experimentální, jejíž podrobnosti ostatně budou patrný z našich vlastních pokusů.

Klasicky citlivými zvířaty na experimentální pasteurelosu jsou tři nejběžnější druhy laboratorních zvířat: králík, morče a myš. Ptáci, pokud se používají k pokusům, zejména holub, jsou citliví hlavně na typ *Pasteurella avicida*. Podstatně méně citlivé jsou krysy, fretky, kočka a pes. U tří nejcitlivějších zvířat vede k infekci jakýkoliv modus parenterální inokulace zárodků, při jejich obzvláště virulenci a zvláštním zatížení zvířete lze dosáhnout úspěchu i cestou inhalační a naprosto výjimečně také cestou traktu zažívacího. Podle svých zkušeností můžeme doporučiti jako nejúčinnější intraperitoneální injekci u morčete, intraperitoneální neb intravenosní u myšky a intravenosní u králíka. Pokud jsme se o tom přesvědčili, lze za velmi účinnou cestu pokládati také vstříknutí intracerebrální. Virulence některých čerstvě isolovaných kmenů je taková, že několik mikrobiálních jedinců, vstříknuto králíkovi podkožně, stačí vyvolati perakutní sepsi, smrtici do 24 hodin; u kmenů epifytických i 2 ccm husté suspense vstříknuty intraperitoneálně vyvolávají pouze progresivní kachexii, vedoucí k smrti po několika týdnech, nebo končící uzdravením zvířete.

Podle údajů v odborné literatuře i vlastních zkušeností rozdělujeme experimentální pasteurelosy (poněkud odlišně od Regameye) na čtyři skupiny: Forma foudroyantně septická, při níž zvíře umírá někdy již do 24 hodin od okamžiku infekce, někdy o něco později s příznaky sepsis acutissima. Sekční nález je v těchto případech velmi málo charakteristický, lze nalézti pouze silnou hyperemii všech orgánů, které zůstávají jinak makroskopicky beze změny; v nich, jakož i krvi, se nachází Pasteurella v ohromném množství. Druhá, nejtypičtější forma je ta, která dala původní jméno celé skupině mikrobů, to jest akutní haemorrhagická sepse. U králíků ji pozorujeme nejlépe po intravenosní injekci, u morčat po intraperitoneální. Již podkožní vazivo bývá proseto haemorrhagiemi, lymfatické uzliny jsou zvětšeny a rovněž prostoupeny krvavými tečkami, sídlem četných ekchymos je dále serosa střevní, viscerální pleura a perikard. Někdy nastává krvácení z genitálu. V peritoneální a pleurální dutině zhusta pozorujeme sanguinolentní tekutinu. Třetí forma, subakutně hnisavá, bývá vyvolána zárodky o menší virulenci a probíhá u zvířat obvykle déle než 4 dny, někdy i kolem několika týdnů. Při ní je již zřetelně zvětšena slezina, tato a ještě více játra bývají potaženy fibrinosními nálety, při delším trvání dochází k hnisavé peritonitis. Nikdy nechybi fibrinosně hnisavá mediastinitis se silným zachvácením perikardu a viscerální pleury; v plících, méně často i v jiných orgánech nacházíme abscesy. Fibrinosně hnisavá mediastinitis a pleuritis je pro toto onemocnění symptomem tak nápadným, že při otevření zvířete na první pohled vede (podobně jako haemorrhagie u předcházející formy) k velmi pravděpodobné diagnostice. Čtvrtý, nejméně typický průběh choroby není vlastně septikemii a její pathogenese je naprosto záhadnou. Ačkoliv, jak již napsáno, neznáme exotoxinů

Pasteurell, nezbývá nám, než nazvat tuto formu toxicou. Bývá vyvolána zárodky o nejmenší virulenci, vstřiknutými obvykle ve větším kvantu. Infikované zvíře při tom postupně chladne a hubne, až po průběhu několikatýdenním, ba i několika-měsíčním zachází ve stavu těžké kachexie. Při pitvě nenajdeme vůbec žádných charakteristických změn na orgánech, zejména nikdy ne granulii, jako u pseudotuberkulosy rodentium. Nejzáhadnějším na celé věci však je, že kultury založené z krve i orgánů zůstávají zcela sterilními, ba dokonce, jak jsme viděli při svých pokusech u infikované fretky i z abscesů, které lze ovšem nalézti jen naprosto ojediněle, nelze vypěstovati žádných mikrobů.

Dříve, nežli přistoupíme k popisu a rozboru našeho případu, zmíníme se stručně o nejdůležitějších z těch, jež byly dosud popsány v odborné literatuře. Nelze je citovati všechny, neboť by se jich napočetlo více než třicet a mnoho z nich, zejména ze starší bakteriologické éry, je popsáno po mikrobiologické stránce skutečně tak neúplně, že lze tyto případy jen velmi těžko hodnotiti. Z druhé strany nelze opět zcela schvalovati příliš úzkostlivé rozdělení Regameyovo v jeho jinak velmi dobré monografii, neboť tento autor řadí na př. mezi pasteurelosy pochybné i takové případy, kde byl jako etiologický činitel zjištěn mikrob, jenž nemůže být ničím jiným než Pasteurellou, i když mu chybí některé kultivační vlastnosti, které Regamey považuje za naprosto nezbytné k přesnému důkazu Pasteurelly.

Nejčastěji přicházející formy lidského onemocnění jsou tyto: flegmonosní forma, vzniklá obvykle po pokousání zvířetem (Kremsreiter, Soupault, Paltauf, Weber); jde většinou o flegmony torpidní, dlouho trvající, s poměrně malou tendencí k abscedaci, ale i k hojení, které však často zachvacují kosti a v blízkosti ležící klouby. Začátek choroby bývá prudký, téměř jako u erysipelu, brzy však

teplota klesá, i když dojde k vytvoření lymfademity a lymfangoitidy v okolí infikovaného místa. Běžná intervence chirurgická bývá málo účinnou, takže choroba může trvati několik týdnů i měsíců.

Druhou nejčastěji lidskou pasteurelosou je forma pleuropulmonální. Etiologicky zůstává dlouho nejzáhadnější (pro příměs druhotních bakterií) a rovněž pramen infekce nelze vypátrati. Případy této choroby byly popsány od Faarupa a Rassmussena, Debréa a Hundeshagena, Teissiera, Foerstera, Plette, Muldera, v novější době od Ohnesorga a Schroera. Posledně citovaná probíhala jako horečnatá bronchitida, jindy dochází k akutní bronchopneumonii, která může skončiti smrtelně. Nejčastěji jsou popisovány hnisavé pleuritidy, až i plicní abscesy. Rovněž z bronchiektatických kaveren byla vypětována *Pasteurella*, ovšem spolu s jinými mikrobami, takže o její etiologické roli se lze zde jen těžko vysloviti. Pleuropulmonální infekce *Pasteurellou* jsou zajímavé také tím, že při nich obvykle dochází ke zvýšení aglutinačního titru proti homolognímu kmeni mikroba.

Nejsnáze bývá diagnostikována třetí, rovněž poměrně častá forma lidských pasteurelos, probíhající pod obrazem hnisavé meningitidy. Proti jiným hnisavým meningitidám jest zde prognosa relativně benigní, i když úmrtí nejsou žádnou vzácností. Meningitidy jsou buď primární, což je velmi vzácné a navazují velmi pravděpodobně na předcházející Pasteurellovou septikemii. Jindy vznikají per kontinuitatem z hnisavé otitidy, která byla — třeba i druhotně — Pasteurellami infikována. Nejčastěji vypukávají po úraze lebečním (pád s výše, kopnutí koněm), pak je jejich pathogenesa celkem nepochybná. Případy Pasteurellových meningitid byly popsány Claudiusem, Ssokolovou a Kolegaewou, Lorryem, Bideauem, Grekowitzem, Hadornem a Regameyem, Constanochem a Franckem. Zvláště za-

jímavý, bohužel smrtelně končící je případ Vincentův, v němž došlo k nechťéné infekci, zaviněné chirurgickým zákrokem, t. j. transplantací svalu z králíka za účelem zastavení krvácení při lebeční operaci. Speciálně u lidských Pasteurellových meningitid se zhusta pěstuje mikrob z počátku haemoglobinofilní, takže mnohá tato onemocnění byla diagnostikována jako meningitidy vyvolané Pfeifferovým bacilem.

Velmi vzácné a zčásti nedostatečně prokázané bývají gastroenteritidy, vyvolané Pasteurellami. Mají analogon v pasteurelosách ptačích, jejichž průvodním zjevem bývá velmi těžká enteritida, a v gastroenteritidách telat, způsobených jiným typem téhož druhu mikrobiálního. Pokud byly určitě diagnostikovány, podobaly se nejčastěji akutní enteritidě, vyvolané Salmonellou typhi murium (von Boer).

Asi stejně vzácné jsou pasteurelové septikemie, diagnostikované positivní haemokulturou, jak o tom svědčí případ Meyerův, Rivoalenův a Peltierův.

Náš případ lidské pasteurelosy patří mezi nejčastější formu, a to flegmonosní.

Šlo o lékaře MUDr B. V., asi 40letého, jehož soukromou zálibou byl chov ušlechtilých psů, zejména černých dog. Při náhodném utkání s cizím psem kouslo vlastní zvíře svého pána bez útočného úmyslu do ruky. Rána byla celkem nepatrná, ale přesto se nehojila, naopak v jejím okolí za zvýšené celkové teploty a za citelné bolestivosti se počal v několika dnech vytvářet zánětlivý infiltrát. Po dalších několika dnech se zánětlivý infiltrát proměnil ve skutečnou flegmonu, s lehkou lymfangoitidou a lymfadenitidou v nejbližších regionárních uzlinách. Celkový stav pacientův se brzy upravil, zejména když flegmona byla incidována na prvním chirurgickém oddělení prof. Jiráska. Hnisavá sekrece i po incisi byla poměrně malá, ale rána, ačkoliv byla ošetrována velmi pečlivě, nejevila valnou tendenci k hojení. V této době byl hnis poslán po prvé k bakteriologickém vyšetření. Aby bylo podpořeno hojení rány, byla ozářena

roentgenovými paprsky. Přesto však toto pokračovalo jen velmi pomalu, aniž by byla tendence k šíření do okolí nebo do hloubky. Po době několika neděl nastalo zhojení bez jakýchkoliv dalších komplikací celkových nebo funkčních. (Ústní sdělení dr. B. V.)

Bakteriologický nález byl pro nás překvapením. Mikroskopicky hnis obsahoval leukocyty z největší části rozpadlé a hojně drti, ale žádné mikroby. Kultivace po 24 hodinách, mimo několik mikrobů z kožního povrchu byla negativní; po 48 hodinách počaly vyrůstat na krevní plotně kolonie asi  $\frac{1}{2}$  mm v průměru, lehce konvexní, průhledné, lesklé. Okraje kolonií byly přesně ohraničené, hladké. Třetí den se kolonie zvětšily do průměru asi 2 mm, jejich centrum se zřetelně zkaliло, kolem kolonie nebylo lze pozorovat ani haemolysy, ani viridace. Na Endu žádný vzrůst, v bouillonu bylo sotva patrné difusní zkalení. Po přeočkování vyrůstaly kolonie na krevní plotně i na plotně s globulárním extraktem (obsahujícím faktor X a V) již za 24 hodin, a to ve velikosti asi 2 mm v průměru. Během dalších 2 dnů kolonie dorůstaly do velikosti 4—5 mm, měly na okrajích bělavě šedý tón, dobře patrný zejména na průhledném agaru s extraktem, centrum bylo kalnější a hutnější. Byly velmi mírně konvexní, přesných, nevroubkovaných okrajů a dosti mukosní, takže na první pohled upomínaly na mohutné kolonie pneumokoka, ovšem mnohem kalnější, bělavější a beze změny krevního pigmentu. 4—5denní kolonie, prohlíženy malým zvětšením, sestávaly z jemně zrnitého centra a z homogennější a hladší periferie. Při čtvrté pasáži na umělých kultivačních půdách bylo lze pozorovat lehkou změnu tvaru i konsistence kolonií, neboť tyto se staly poněkud ploššími a jejich okraj začal být sotva patrně, ale přece jen znatelně vroubkován. Na Endu i po několika pasážích byl vzrůst negativní, na obyčejném agaru čtvrtá pasáž rovněž nevy-

rostla, za to na serum-agaru (který ovšem může obsahovat infinitesimální kvanta X faktoru) vyrostly naprosto nepatrné, téměř úplně průhledné kolonie, které se nejspíše podobaly mladým koloniím bacila červenky vepřů. Rovněž na glykosovém agaru čtvrtá pasáž vůbec nevzešla, stejně tak nikoliv v peptonové vodě a v trypsinovém bouillonu. Je zajímavé, že čtvrtá a další pasáž na krvi a na agaru s globulárním extraktem vyrostla po 4 dnech do kolonií, jež velikosti odpovídaly rozměrům obyčejných Pasteurell, i když byly vzhledem i konzistenci mnohem jemnější a více odpovídaly mukosní fázi mikrobiální, kdežto sotva viditelné kolonie vyrůstající na serum-agaru zůstávaly stále stejně veliké. Těžko vysvětlitelné je, že i v obyčejném bouillonu nastával sotva patrný vzrůst; patrně proto, že tato půda přece jen obsahovala stopy vzrůstových faktorů.

Dlužno zdůraznit, že hnis z flegmony kolegy B. V. neobsahoval žádných jiných mikrobů, nežli ty, jichž kolonie právě popsány, zejména ne jakékoliv zárodky pyogenní. Vzhledem k této skutečnosti a dále vzhledem k torpidnímu charakteru flegmony je nutno usuzovati, že popsaná ranná afekce byla vyvolána tímto neobvyklým agens v čisté kultuře.

Mikroskopickým vyšetřením kolonií bylo shledáno, že tyto sestávaly z celkem jemných, kratších i delších tyčinek, s mírně zaoblenými konci a nehomogenním plasmatem, nebo se zřetelnou tendencí k polárnímu barvení.

Jelikož tvar kolonií a haemoglobinofilie vypěstované tyčinky svědčila buď pro Pfeifferova bacila nebo pro haemoglobinofilní Pasteurellu, byl k urychlení diagnosy ihned založen pokus na zvířeti, a to tak, že poměrně dosti velká dávka kultury vstříknuta morčeti a myšce intraperitoneálně. Myška zašla za 24 hodin; při pitvě nalezena veliká

slezina temně nahnědlé barvy a haemorrhagický nastříknuté peritoneum. V náteru z peritonea i ve vnitřních orgánech prokázáno veliké množství gramnegativních, polárně se barvících ovoidních tyčinek, upomínajících tinkcí i tvarem na *Pasteurella pestis*. Morče onemocnělo za příznaků peritonitidy, z břišní dutiny po 3 dnech získán punkej exsudát, ve kterém nalezen mikrob stejněho vzhledu, jak popsáno u myšky.

Se zřetelem na popsaný kultivační nález a průkaz pathogenity experimentem na zvířeti, učiněna prozatímní diagnosa: flegmonosní forma pasteurelosy, vyvolaná haemoglobinofilní *Pasteurellou*, přenesenou psím kousnutím.

V další části práce jsme porovnávali vypěstovaného mikroba s dvěma sbírkovými kmeny *Pasteurell*, z nichž jedna byla vypěstována z králíka zaslého na haemorrhagickou sepsi, druhá ze slepice. Oba kmeny byly přeočkovávány v době našeho pokusu již řadu let na umělých kultivačních půdách, takže jistě ztratily něco z charakteristických vlastností, které nacházíme u *Pasteurell* čerstvě vypěstovaných. I náš kmen *Pasteurella avicida* i *Pasteurella cuniculicida* patřily ovšem mezi kmeny obyčejné, nehaemoglobinofilní. Jejich vzhled ve srovnávacích pokusech byl i na obyčejném agaru mnohem mohutnější a expansivnější, kolonie dosahovaly větších rozměrů, byly zřetelně méně mukosní, nežli u námi čerstvě isolované *Pasteurelly* z pacienta dr. B. V., kterou budeme nadále označovati jako *Pasteurella B*. Tvar kolonií byl poněkud podobný, jako u *Pasteurella B*., ale okraje byly zřetelně vroubkované, povrch zrnitý, centrum méně konvexní, kompaktnější a šedonažloutlé barvy. Jedna z nich, t. j. *Pasteurella cuniculi* zřetelně rostla na Endově půdě, druhá nikoliv. Žádná z nich nezkvalšovala laktosu, obě zkvalšovaly glykosu i levulosu bez produkce plynu, táž, která rostla na Endu, pro-

dukovala zřetelně indol. Na rozdíl od klasických kultivačních znaků, uváděných pro všechny Pasteurelly, vyrůstaly obě na kvasnicové půdě, což však lze vysvětliti tím, že šlo o kmeny dlouhodobým pobytom na umělých kultivačních půdách maximálně adaptované, nebo snad naše kvasnicová půda neodpovídala klasickému předpisu. Vzrůstem na krevní plotně se obě Pasteurelly podobaly Pasteurelle B., až na to, že vyrůstaly mnohem rychleji, dosahovały větších rozměrů, byly plošší a hutnější a daleko méně přesných okrajů, takže vykazovaly zřejmá charakteristika přechodné fáze mezi typem S a R. Podrobnější studium fermentačních vlastností Pasteurelly B. jsme v té době neprováděli, neboť její adaptace na kultivačních půdách byla ještě poměrně malá. Reservovali jsme si tyto zkoušky na dobu, kdy bude vykonáno více pasáží tohoto mikroba za umělých podmínek.

Jelikož jsme již učinili první pravděpodobnou diagnosu, která se nám srovnáním s našimi starými laboratorními kmeny Pasteurell potvrdila, považovali jsme za svůj další úkol zjistiti, zda se mikrob podobných vlastností jako Pasteurella B., nachází také v dutině ústní zvířete, jehouž kousnutí vyvolalo popsanou infekci. Kol. dr. B. V. přivedl k nám do laboratoře černou dogu, kterou byl kousnut a po násilném otevření tlamy se nám podařilo odebrati výtěr ze sliznice jazyka a patra na sterilním tamponu. Kultivace na krevním agaru a agaru s globulárním extraktem potvrdila naše očekávání. Po 48 hod. mezi celkem nečetnými jinými bakteriami vyrostlo množství kolonií téměř úplně stejného charakteru, jako byly ony, které jsme vypěstovali z hnisu kolegy B. V. Dalším sledováním vzrůstových znaků, a to jak na všech půdách pevných, tak na půdách tekutých bylo s naprostou určitostí zjištěno, že jde o mikroba stejného druhu, pravděpodobně i typu, t. j. haemoglobinofilní Pasteurellu

rostoucí dobře na krvi a agaru s globulárním extraktem, sotva viditelně rostoucí na serum-agaru, a to až po několika pasážích, vůbec nerostoucí na glykosovém agaru a Endově půdě a se stěží prokazatelným vzrůstem v bouillonu. Po několika pasážích na krevních půdách a hlavně agaru s globulárním extraktem jsme si všimli, že při velmi přesném prohlížení stejně starých kultur obou kmenů lze mezi koloniemi obou mikrobů postřehnouti sotva patrný rozdíl, spočívající v tom, že *Pasteurella »Pes«* vytvářela kolonie méně mukosní, o něco širšího průměru, plošší, snad i trochu průhlednější a méně homogenního povrchu, nežli *Pasteurella B*. Příčinu tohoto malého kultivačního rozdílu jsme si nevysvětlili tím, že by u *Pasteurelly »Pes«* šlo o jiný kmen téhož druhu mikrobiálního, nýbrž, jak ostatně později ukázaly i zkoušky virulence pokusem na zvířeti, že běželo o jinou fázi téhož mikroba. Kdežto u čerstvě vypěstované *Pasteurelly B*, šlo o přechodnou fázi mezi M a S typem, šlo u *Pasteurella »Pes«* pravděpodobně o fázi, svědčící pro pokročilejší disociaci bakteria, t. j. přechodnou mezi S a R typem. Tato rozdílnost fází u dvou mikrobů téhož kmene, z rozdílných pramenů isolovaných, je dobře pochopitelnou. V lidské flegmoně mohly persistovati pouze bakterie nejpathogennější, které podle našich odhadů odpovídají asi M fázi. Naproti tomu většina mikrobů, které se udržely jako epifyté na zvířecí sliznici, patří k S nebo dokonce k R fázi a tato také byla kultivačně zachycena.

Jako pádný důkaz, že mikrob isolovaný z flegmony dr. B. V. i onen nalezený v psí tlamě, je skutečně *Pasteurellou*, uvádíme trochu podrobněji několik experimentů na zvířeti. Předem podotýkáme, že žádná ze skutečných obligátně haemoglobinofilních bakterií, zejména také *Haemophilus influenzae* Pfeiffer není schopna u běžných laboratorních zvířat za obyčejných podmínek vyvolati celkové one-

mocnění haemorrhagického charakteru neb progresivně hnisavého rázu jako Pasteurelly. Pfeifferův bacil přechází na umělých kultivačních půdách tak rychle z M fáze do S fáze, že často již jedna pasáž na agaru s krví neb globulárním extraktem stačí k tomu, aby vstřiknut i ve velkých dávkách zvířeti, nevyvolával vůbec žádných pathologických změn. Poměrně vzácně se podaří naprosto čerstvým kmenem vyvolat u malých morčat hnisavou peritonitidu nebo po intracerebrálním vstřiknutí hnisa-  
vou meningitidu. Jediný *Haemophilus pertussis*, vpraven bílému králíkovi intrakutánně, vyvolává někdy v místě injekce zřetelnou haemorrhagii až haemorrhagickou nekrosu.

Pasteurella B. vstříknuta králíkovi intravenosně v kvantu 1 ccm 24hodinové bouillonové kultury. Kmen byl v té době již asi měsíc přeočkován na kultivačních půdách a tedy částečně adaptován. Zvíře zašlo již za 24 hod. s naprosto charakteristickým nálezem haemorrhagické sepse. Již v podkožním vazivu, ale i v kůži nalezeny velmi četné haemorrhagie, splývající ve skvrny velikosti korunové mince. Inguinální i axilární uzliny byly zvětšeny a rovněž prostoupeny haemorrhagiemi. Dále byly nalezeny: zřetelná enteritis, proximální partie tenkého střeva protkány tečkovitými krevními výronky, ojedinělé haemorrhagie v srdečním svalu, bronchopneumonická ložiska haemorrhagického charakteru zejména v pravé plíci, zvětšená slezina s napjatým pouzdrem. Z krve i ze všech orgánů vypěstována Pasteurella B. v čisté kultuře.

Stejná dávka téhož mikroba vstříknuta morčeti 300 g těžkému intraperitoneálně. Zvíře zašlo rovněž za 24 hod. za příznaků haemorrhagické peritonitidy se sanguinolentním exsudátem v břišní dutině, mírně zvětšenou slezinou a s játry, jež byly potaženy fibrinosně hnisavými nálety. Plíce byly silně překrveny, inguinální a axilární uzliny zvětšeny a

haemorrhagické jako u předchozího zvířete. Subkutánně očkované morče zůstalo na živu, v místě vpichu se vytvořil infiltrát, který změkl a kožní nekrosou vytekla sanguinolentní tekutina. Několik myšek očkovaných 1—3 desetinami ccm téže tekutiny intravenosně, intraperitoneálně, neb subkutánně, onemocnělo během 24 hod. až tři dnů a zašlo. U všech nalezeny haemorrhagie v uzlinách i ve vnitřních orgánech, na pleuře, perikardu, případně zjištěna peritonitida se sanguinolentním exsudátem.

Myška naočkovaná intranasálně 2 kapkami po narkose zašla po 24 hod. za příznaků haemorrhagické pneumonie.

Morče očkované intracerebrálně 0,1 bouillonové kultury zašlo za 24 hod. V podkožním vazivu a v okolí trepanační rány nalezen sulcovitý oedeem haemorrhagického rázu, mozek sám v okoli vpichu byl rozbředlý, posety tečkovitými krevními skvrnami.

Ze všech těchto zvířat vypěstována Pasteurella B. téměř ze všech orgánů, a to v čisté kultuře.

Mnohem menší úspěch jsme měli u pokusů s fretkami. Fretka infikovaná intranasálně po narkose  $\frac{1}{2}$  ccm bouillonové kultury zůstala zdráva. Druhá fretka infikovaná intraperitoneálně 1 ccm bouillonové kultury zašla po době 3 měsíců za příznaků progresivní kachexie, zcela tak, jak to odpovídá chronické a pathogeneticky záhadné oné formě pasteurelos, kterouž jsme nazvali forma toxicá. Jediným pozitivním sekčním nálezem byl absces při kořeni mesenteria, několik sporých, drobných žlutavých uzlíček v mesenteriu a hnědavé ložisko v játrech. Mikroskopicky byly všechny tyto abscesy negativní a kultivace za všech možných podmínek aerobních i anaerobních zůstala sterilní.

Krysa po subakutním očkování velké dávky zůstala zdráva, po intraperitoneálním zašla za

24 hod., s nálezem viskosního exsudátu v peritoneu a haemorrhagií v lymfatických uzlinách.

Jinak dopadaly experimenty u Pasteurelly »Pes«, která, jak jsme již ukázali, byla od předcházející tvarem kolonií i haemoglobinofilií téměř k nerozeznání až na to, že se zdála patřiti do méně hodnotné mikrobiální fáze.

Králík očkováný intravenosně toutéž dávkou stejně staré kultury, jak použito u Pasteurelly B., zůstal na živu. Morče očkováné intraperitoneálně zašlo za 24 hod. za příznaků podobných, jak popsány u Pasteurella B. Při pečlivém posuzování možno říci, že haemorrhagická složka byla méně vyznačena, za to fibrinosně hnissavá více, než u Pasteurelly B.

Myšky očkovány subkutánně, intraperitoneálně a intranasálně stejnou dávkou jak u Pasteurelly B. Po intranasálním a intraperitoneálním očkování zvířata zašla za 24 hod. s nálezem podobným, jak v předcházejících pokusech. Po subkutánním očkování zašly myšky na rozdíl od pokusů s Pasteurellou B. za 6—8 dní, s nálezem svědčícím pro haemorrhagickou sepsi, ale mnohem méně haemorrhagického charakteru než u zvířat infikovaných Pasteurellou B.

Velmi dobře je patrný úbytek pathogenních vlastností při použití krys jako experimentálních zvířat, neboť tyto nezašly ani po očkování intraperitoneálním.

Vcelku možno říci, že experimenty na zvířatech potvrdily pro oba mikroby velmi přesně diagnosu Pasteurell, nadto však ještě podepřely naši domněnku, vzniklou při pozorování vzrůstu na pevných půdách, že u Pasteurely B. a »Pes« šlo o téhož mikroba, který se však nacházel jednou ve fázi virulentnější, patrně na přechodu mezi M a S, druhý ve fázi degradovanější na přechodu mezi S a R.

Doplňkem k experimentálnímu studiu obou Pas-

teurell musíme se zmíniti ještě o tom, že pathogenita obou mikrobů zůstala do značné míry uchována ještě po půl roce, neboť morčata naočkovaná v říjnu téhož roku větší dávkou kultury intraperitoneálně zašla přibližně za 48 hodin, a to jak po aplikaci kmene B., tak i kmene »Pes«. Nález byl opět charakteristický pro Pasteurelly snad s tím rozdílem, že haemorrhagií ubylo, zato však tendence k hnědání se zřetelně zvětšila.

Je přirozeno, že jsme studium obou vypěstovaných mikrobů, a to ještě v době, kdy oba kmeny nebyly příliš adaptovány na kultivační půdy, doplnili zjištěním nejrůznějších růstových i kvasných vlastností, jak jsou pro diagnostiku Pasteurell požadovány. Pro srovnání jsme vzali i zde 2 staré kmeny ze sbírky, a to jeden *Pasteurella cuniculicida* a druhý *Pasteurella aviseptica*, jež dříve již vzaty pro srovnání vzrůstu, jak shora uvedeno. Jestliže těmto dvěma mikrobům některé vlastnosti, považované za charakteristické chyběly, je to asi tím, že šlo o velmi staré sbírkové kmeny, ochuzené ve všech jejich přirozených vlastnostech. *Pasteurella B.* a *Pasteurella »Pes«* studovány v půdách s cukry za přidání velmi nepatrného množství globulárního extraktu, aby jejich vzrůst byl zřetelnější. Výsledek zkoušek je patrný z přehledné tabulky I. Vcelku je možno říci, že v hlavních vlastnostech odpovídají schematům, běžným pro Pasteurelly: nezkvašují laktosy, zkvašují dextrosu, sacharosu (dokonce i na rozdíl od starých kmenů Pasteurell), *Pasteurella B.* neroste zřetelně v mléce a nevyrůstají na bramboře. Rovněž je patrna téměř úplná shoda kvasných vlastností mezi Pasteurellou B. a Pasteurellou »Pes«. Že nebyl produkován indol haemoglobinofilní Pasteurellou, neschopnou dobrého vzrůstu v trypsinbouillonu bez jakýchkoliv stop cukru, není divu. Bohužel, jsme později tuto vlastnost již nezkoušeli a není vyloučeno, že by po delší

době nežli  $\frac{1}{2}$  roku byla bývala pozitivní. Trochu nepochopitelný je nám vzrůst v kvasnicové vodě. Jak jsme však již uvedli, je velmi pravděpodobno, že naše půda byla jiného složení a hlavně, že asi obsahovala vzrůstové faktory, což je ostatně u čerstvých kvasnic prokázáno.

Samozřejmě jsme sledovali alespoň v nejběžnějších kultivačních symptomech osud Pasteurelly B. a Pasteurelly »Pes« ještě dále. V polovici října téhož roku, t. j. po době delší nežli 6 měsíců, jevily oba kmeny ještě při vzrůstu na pevných půdách stopy haemoglobinofilie. Jakýsi rozdíl byl v tom, že velmi nepatrné kolonie, zcela průhledné, které vyrůstaly dříve pouze na serovém agaru, rostly nyní i na obyčejném agaru. Začátkem prosince ztratily oba kmeny úplně svůj haemoglobinofilní charakter, takže rostly na obyčejném i na serum-agaru téměř stejně rychle a kolonie dosahovaly týchž rozměrů, jako dříve na půdách s globulárním extraktem.

V důsledku podrobného studia kultivačních vlastností obou uvedených bakterií, z jejich porovnání se starými sbírkovými kmeny zvířecích Pasteurell i z experimentálního průkazu na citlivých zvířatech můžeme uzavřít, že Pasteurella B. i Pasteurella »Pes« jsou nepochybně bakteriemi z genus Pasteurella, a to typem méně obvyklým, který z počátku potřebuje ke svému vzrůstu faktorů X a V jako genus Haemophilus, později však tuto vlastnost ztrácí a stává se zcela podobným normální zvířecí Pasteurelle. S velikou pravděpodobností můžeme tvrditi, že šlo dokonce o týž kmen mikrobiální, který byl zastižen u člověka v jiné fázi, nežli u zvířete, jež bylo zdrojem infekce. Studium těchto mikrobů nás vedlo k prohloubenému studiu Pasteurell vůbec a došli jsme k přesvědčení, že všechny běžné zvířecí Pasteurelly, vyvolávající tak zvanou haemorrhagickou sepsi, s výjimkou Pasteu-

Tab. 1. Kvasné a některé růstové vlastnosti.

Pasteurella „B“ . . . . .	—	—	Dulcit
Pasteurella „Pes“ . . . . .	—	—	Manit
Pasteurella cuniculi . . . . .	+	—	Sacharosa
Pasteurella aviseptica . . . . .	+	—	Laktosa
	—	—	Ramnosa
	—	—	Xylosa
	—	—	Glycerin
	—	—	Maltosa
	—	—	Galaktosa
	—	—	Dextrosa
	—	—	Salicin
	—	—	Arabinosa
	—	—	Laevulosa
	—	—	Esculin
	—	—	Inulin
	—	—	Lakmus. mléko
	—	—	Agar s 4% NaCl
	—	—	Agar s 2% NaCl
	—	—	Indol
	—	—	Kvasnicová voda
	—	—	Endova půda
	—	—	Brambor

Od čítáno za 3 dny při 37° C, laktusové mléko za týden.

Tab. 2. Uspořádání deviačního pokusu.

Serum řed. 1 : 10 . . .	0,1	0,2	0,3	0,4	0,1	0,2	0,3	0,4
Antigen (suspense) . . .	0,5	0,5	0,5	0,5	—	—	—	—
Fyziot. roztok . . . . .	0,3	0,2	0,1	—	0,8	0,7	0,6	0,5

Komplementu přidáno dvojnásobné množství, které právě rozpoštělo krvinky v předpokusu s různými antigeny.

Tab. 3. Výsledek deviačního pokusu.

Sera	Antigeny					Pasteurella avicida	Pasteurella cuniculicida
	, „Pes“	, „B.“	H. i. I.*)	H. i. II.	H. i. III.		
, „pes“	7—10' $\frac{1}{2}$ h.	+++ +++	+++ +++	+++ ++	+++ ++	+++ ++	+++ —
, „B.“	7—10' $\frac{1}{2}$ h.	+++ +++	+++ +++	+++ +	+++ +	+++ ++	+++ —

\* ) H. i. = *Haemophilus influenzae*

+++ = zábrana haemolysy v 0,1 cc sera

++ = zábrana haemolysy v 0,2 cc sera

+= zábrana haemolysy v 0,3 cc sera

+ = zábrana haemolysy v 0,4 cc sera

— = negativní reakce

**rella pestis a Pasterella pseudotuberculosis** roden-tium jsou mikroby neustáleného biologického charakteru, v celé řadě svých vlastností ať kultivačních nebo kvasných velmi měnlivé a schopné adaptace, tak, jak to bývá typické pro mikroby, které jsou na přechodu mezi stadiem saprofytickým a stadiem obligátně parazitickým. Pro tuto neustálenost znaků Pasteurell, a to jak kultivačních, tak pathogenních, tak i vlastností antigenních, nemá smyslu tvořiti pro ně schemata ve striktně vytyčených biologických mezích, jak to zčásti vyžaduje Regamey. Proto také jejich diagnosu lze činiti jen ze souhrnu všech jejich biologických projevů, při čemž nutno počítati s velikou šíří jejich možné variability a neodmítati diagnosu Pasteurelly tam, kde některé znaky, považované za klasické, náhodou chybí.

Nemohli bychom považovati svou práci za skončenu bez pokusu o prohloubenou serologickou studii obou popsaných mikrobů, ačkoliv na základě toho, co je o Pasteurellách známo, jsme si od ní slibovali poměrně málo. Především provedena aglutinace Pasteurelly B. se serum pacienta dr. B. V. v době, kdy byla flegmonosní afekce u téhož ve stadiu hojení. Aglutinace byla pozitivní do titru 1:100. Serum téhož pacienta aglutinovalo kmen Pasteurella »Pes« 1:50. Ačkoliv titry nebyly příliš vysoké (což ostatně u Pasteurell nelze ani čekati), je z nich, jak věříme, patrno, že protilátky proti oběma fázím mikroba byly vytvořeny.

V další serii pokusů imunisování 2 králíci. Zvíře s bílou srstí Pasteurellou B., zvíře s černou srstí Pasteurellou »Pes«. Jelikož nám bylo známo, že antigenní vlastnosti Pasteurell jsou velmi slabé, protáhli jsme imunisaci na dobu téměř 5 měsíců. Vstřikována byla hustá suspense mikrobů usmrcených teplem ( $56^{\circ}\text{C}$  po 1 hod.) nejprve subkutánně v množství asi 2 ccm, poté intraperitoneálně

v množství 1 ccm, na konec intravenosně v množství 1, později 2 ccm. Průměrně vstřikovány 2 injekce měsíčně, po 3 měsících učiněna delší pauza, na to v imunisaci pokračováno a imunisační schema ukončeno 3 injekcemi živého mikroba. Asi 14 dní po poslední injekci zvířata vykrvácena. Orgány byly sterilní, bez jakýchkoliv pathologických změn. Jelikož nás aglutinační titry, dosažené imunními sery, celkem neuspokojovaly, použili jsme citlivější reakce, a to deviace komplementu, také proto, aby chom mohli srovnávat se spontánně aglutinujícími kmeny sbírkových Pasteurell. Schema deviačního pokusu je patrno z připojené tabulky č. 2, která současně podává přehled nejzajímavějších docílených výsledků. Serum imunisovaných zvířat bylo samozřejmě inaktivováno, jako antigenu použito suspense bakterií ve fysiologickém roztoku, použité sensibilisované krvinky byly 1,25%. Reakce odečítána celkem dvakrát, a to po 7—10minutovém pobytu ve vodní lázni při 37° a  $\frac{1}{2}$ hodinovém pobytu při pokojové temperatuře. Pokusy opakovány několikrát, a to s imunním serem koncentrovaným, dále zředěným 1 : 10 a zředěným 1 : 20. Tabulka zachycuje výsledek jedné řady pokusů, kde použito serum zředěné 1 : 10. Prvá řada pokusů nám ukázala především velikou antigenní příbuznost mezi Pasteurellou »Pes« a Pasteurellou B. Deviační reakce byla kompletně pozitivní až do zředění imunních ser 1 : 10, zcela zřetelně pozitivní byla i do zředění ser 1 : 20. Tato dalekosáhlá antigenní příbuznost mezi Pasteurellou B. a Pasteurellou »Pes«, prokázaná deviací komplementu, byla nám dalším pádným důkazem, že šlo velmi pravděpodobně o týž mikrobiální kmen.

Tato antigenní shoda obou kmenů studovaných bakterií byla tím nápadnější, že, jak se ukázalo v jiných pokusech, byla zejména u zředěných ser deviace naprosto negativní, bylo-li použito jako

antigenu suspensí shora uvedené Pasteurella cuniculicida a avicida.

Námi isolované Pasteurelly měly však, jak již uvedeno, z počátku některé kultivační i mikroskopické znaky, kterými se blížily ke genus *Haemophilus*. Byly tedy použity v jiné pokusné serii jako antigeny čtyři různé kmeny *Haemophila influenzae* k deviaci s imunními sery. Výsledek těchto reakcí byl pro nás překvapením, neboť byla prokázána i zde jejich zřetelná antigenní příbuznost s Pasteurellou B. a Pasteurellou »Pes«, i když samozřejmě její stupeň nebyl tak vysoký, jako obou Pasteurell k sobě navzájem. Tato serologická příbuznost našich Pasteurell s *Haemophily* mohla být dokonce v jednom případě prokázána i aglutinačně, neboť antiserum B. aglutinovalo kmen *Haemophila W* do titru 1 : 160 a serum anti »Pes« téhož mikroba dokonce do titru 1 : 300.

Poslední pokusy, kde jsme se pokoušeli o průkaz serologické identity reakcí precipitační a o opakování všech popsaných serologických reakcí vysycenými imunními sery, neměly celkem úspěchu.

Závěrem našich experimentů o studiu vlastností, námi isolovaných Pasteurell, dále dvou banálních Pasteurell ze starých sbírkových kmenů a 4 kmenů *Haemophila influenzae*, můžeme potvrditi tato fakta:

1. Pasteurella B. a Pasteurella »Pes« představují velmi pravděpodobně antigenně jednotného mikroba; jde nejspíše o dvě fáze téhož mikrobiálního kmene, jak jsme tušili hned z počátku.

2. Nenašli jsme společných antigenických charakterů mezi našimi haemoglobinofilními Pasteurellami a obyčejnými kmeny zvířecích Pasteureli, pokud jsme je měli ve své sbírce k disposici.

3. Našli jsme velmi značnou antigenní shodu mezi našimi haemoglobinofilními Pasteurellami a ně-

kterými kmeny dobře prokázaného lidského kmene *Haemophila influenzae*.

Aniž bychom z tohoto všeho chtěli činiti všeobecně platné dedukce, myslíme, že lze uvažovati o tom (a samozřejmě hledati k tomu další pokusné důkazy), že mezi běžnými zvířecími Pasteurellami (s výjimkou pestis a rodentium), t. j. mikroby o poměrně nestálých biologických i antigenních vlastnostech a mezi pravými *Haemophily* není, jak se namnoze dosud myslí, tak ostrá hranice, že by musely býti řazeny do dvou různých tribus; naopak se spíše zdá, že je mezi genus *Pasteurella* a genus *Haemophilus* plynulý přechod, jenž jest vytvořen velkou a patrně dosti autonomní skupinou *Pasteurell*, žijících parasiticky nebo epifyticky v nejrůznějších zvířatech, které potřebují v primokulturách ke svému vzniku na umělých půdách stejně faktory, jako *Haemophilus influenzae*: haematin a Warburgův koferment.

### Resumé.

Z případu špatně se hojící flegmony ruky, vzniklé po psím kousnutí, vypěstován na krevní plotně a agaru s extraktem z červených krvinek mikrob, který po dlouhé řadě pasáží na kultivačních půdách si zvykl růsti i bez speciálního přidání faktorů X a V. Mikroskopicky šlo o poměrně jemnou gramnegativní tyčinku, která, jak celou řadou kultivačních vlastností, tak tím, že u myši, morčete a králika vyvolávala charakteristický obraz haemorrhagické sepse, byla identifikována jako tak zvaná »haemoglobinofilní *Pasteurella*«. Identifikace zárodku byla doplněna porovnáním vypěstovaného mikroba se dvěma starými, sbírkovými kmeny obyčejných *Pasteurell*.

Dodatečně bylo ze sliznice jazyku a patra psa, jež kousnutí vyvolalo flegmonosní onemocnění, vypěstováno bacterium, téměř stejných kultivačních vlastností, ale zřetelně menší virulence než mikrob z lidského poranění. Tím byl s určitostí dokázán jednak pramen nákazy, jednak zjištěno, že jde u člověka i psa s největší pravděpodobností o stejný kmen »haemoglobinofilní Pasteurelly«, která se zachytila v lidské afekci v M až S fázi, kdežto u zvířete byla již disociována do přechodné fáze mezi S a R. Sledováním vzrůstu obou Pasteurell bylo shledáno, že jejich nároky na přítomnost faktorů X a V v kultivačních půdách se stále zmenšovaly, až po době přibližně 8 měsíců se ztratily úplně, takže se obě bakterie podobaly téměř zcela obyčejným zvířecím Pasteurellám.

Serum pacientovo aglutinovalo obě Pasteurelly do nízkého, ale přece jen pro tento druh mikrobiální dosti průkazného titru.

Oběma kmeny Pasteurell byli imunisováni králíci a z nich získaného sera použito ke studiu antigenní příbuznosti obou kmenů »haemoglobinofilních Pasteurell« jednak mezi sebou, jednak mezi nimi a starými sbírkovými kmeny obyčejných zvířecích Pasteurell a konečně několika kmeny lidského Pfeifferova bacila.

Deviační reakcí prokázána antigenní shoda Pasteurelly lidské i psí, dále jejich naprostá odlišnost od banálních zvířecích Pasteurell, ale zato jejich relativně značná příbuznost s lidským Haemophilum influenzae.

Na základě toho se zdá být pravděpodobné, že alespoň některé, tak zvané »haemoglobinofilní Pasteurelly«, tvoří přechodnou mikrobiální skupinu mezi genus Pasteurella a genus Haemophilus.

## Literatura.

**Adant:** C. r. Soc. Biol. 106 : 59, 1931. — **Bergey:** Manual of determinative bacteriology, London 1939. — **Besredka:** Klin. Wschr. 599, 1938. — **Grekowitz:** Zbl. Bakt. Orig. I. 93 : 519, 1924. — **Cohen:** Ann. Past. 23 : 273, 1909. — **Constananche, Francke:** Bull. Inst. Past. 27, 794, 1929. — **Foerster:** Klin. Wschr. 509, 1938. — **Grekowitz:** Zbl. Bakt. Orig. I. 113 : 509, 1929 a ibid. 112 : 143, 1929. — **Le Chuiton, Bideau, Pénnanéach:** C. r. Soc. Biol. 130 : 1096, 1939. — **Lignières:** Ann. Inst. Pst. 15 : 734, 1901. — **Lorey:** Zbl. Bakt. Orig. I. 79 : 357, 1917. — **Martins:** C. r. Soc. Biol. 99, 955, 1928. — **Mulder:** Acta med. scand. 97, 165, 1938. — **Nattan, Larrier:** Traité de microbiologie sv. II., 602. — **Ohnesorge, Schroer:** Dtsch. med. Wschr. 1025, 1940. — **Pelnář:** Pathologie a terapie nemocí vnitřních, I. část. Praha 1940. — **Peltier, Jouchere, Blouch:** Zbl. Bakt. ref. I. 132, 75, 1939. — **Plette:** Zbl. Bakt. ref. I. 135 : 42, 1939. — **Regamey:** Zbl. Bakt. Orig. I. 142 : 431, 1938. — **Regamey:** Les infections humaines à *B. bipolaris septicus* (Pasteurelloses). Bern 1939. — **Rosenbusch, Merchant:** Jour. Bact. 37 : 69, 1939. — **Ssokolowa, Kolegaeva:** Zbl. Bakt. Orig. I. 106 : 334, 1928. — **Weber:** Zbl. Chir. 68 : 653, 1941.

---