

ÚZPI

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

# VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

**1**

VOLUME 40 (LXVIII)  
PRAHA  
JANUARY 1995  
CS ISSN 0375-8427

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření České akademie zemědělských věd a s podporou Ministerstva zemědělství České republiky

An international journal published by the Czech Academy of Agricultural Sciences and with the promotion of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic

## Editorial Board – Redakční rada

### Chairman – Předseda

Prof. MVDr. Karel Hruška, CSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

### Members – Členové

Prof. MVDr. Jan Bouda, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Ivan Herzog, CSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumír Hoříšek, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc., BIOPHARM – Research Institute of Biopharmacy and Veterinary Drugs, a. s., Jílové u Prahy, Czech Republic

Prof. MVDr. Zdeněk Věžík, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

### Editor-in-Chief – Vedoucí redaktorka

Ing. Zdeňka Radošová

**Cíl a odborná náplň:** Časopis uveřejňuje původní vědecké práce a studie typu review ze všech oblastí veterinární medicíny.

Časopis Veterinární medicína uveřejňuje práce v češtině, slovenštině a angličtině.

Časopis je citován v bibliografickém časopise Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences a abstrakty z časopisu jsou zahrnuty v těchto databázích: Agriis, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

**Periodicita:** Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 40 vychází v roce 1995.

**Přijímání rukopisů:** Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Zdeňka Radošová, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 75 41–9, fax: 02/25 70 90. Den doručení rukopisu do redakce je uváděn jako datum přijetí k publikaci.

**Informace o předplatném:** Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze za celý rok (leden–prosinec) a měly by být zaslány na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1995 je 396 Kč.

**Aims and scope:** The journal publishes experimental papers and reviews from all fields of veterinary medicine.

The journal Veterinární medicína publishes original scientific papers written in Czech, Slovak or English.

The journal is cited in the bibliographical journal Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, abstracts from the journal are comprised in the databases: Agriis, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

**Periodicity:** The journal is published monthly (12 issues per year), Volume 40 appearing in 1995.

**Acceptance of manuscripts:** Two copies of manuscript should be addressed to: Ing. Zdeňka Radošová, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 75 41–9, fax: 02/25 70 90. The day the manuscript reaches the editor for the first time is given upon publication as the date of reception.

**Subscription information:** Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 1995 is 92 USD (Europe), 96 USD (overseas).

# COMPARATIVE BETWEEN-LABORATORY TRIALS OF THE LIQUID-PHASE BLOCKING SANDWICH ELISA FOR THE DETECTION OF ANTIBODIES TO FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS

## POSOUZENÍ MEZILABORATORNÍCH VÝSLEDKŮ LIQUID-PHASE BLOCKING SANDWICH ELISA PŘI STANOVENÍ PROTILÁTEK PROTI VIRU SLAK U SKOTU

I. Pšikal<sup>1</sup>, D. Zendulková<sup>1</sup>, J. Franz<sup>1</sup>, L. Lenčuchová<sup>2</sup>, N. P. Ferris<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic*

<sup>2</sup>*National Veterinary Institute, Nitra, Slovak Republic*

<sup>3</sup>*FMD World Reference Laboratory, Pirbright, Great Britain*

**ABSTRACT:** Fifty bovine serum samples were tested for the presence or amounts of antibodies to foot-and-mouth disease (FMD) virus serotypes A, O and C by the liquid-phase blocking sandwich ELISA (lpb-ELISA) using reagents prepared by the World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease (WRL) in Pirbright, U.K. Twenty of the sera had been collected before extensive vaccination with a commercial inactivated trivalent FMD vaccine was ceased and the remaining thirty originated from animals which had not been vaccinated for more than one year. After the test had been completed, the samples were sent to another two laboratories to be examined by the same assay. Results obtained in the laboratories were compared to assess the degree of agreement in serological tests for FMD in cattle. Antibodies to at least one of the three FMD virus (FMDV) serotypes were demonstrated in 70% of the serum samples. Antibodies to the antigens A<sub>5</sub>, O<sub>1</sub> and C<sub>1</sub> were present in 58%, 66% and 58% of the sera, respectively. The overall between-laboratory agreement of the results of the lpb-ELISA for the detection of antibodies against all three serotypes was 96%. Discrepancies in terms of type specificity did not exceed 10%. Most discrepancies were recorded in sera with low antibody titres or optical densities (OD) around the cut-off point. An increase of concentration of C<sub>1</sub> antigen in reaction mixture reduced the sensitivity of ELISA and results of screening tests became negative in sera with antibody titres of 1 : 90 and lower. A set of defined reference sera for the optimal setting of the enzymatic reaction might enhance the reproducibility of the lpb-ELISA especially for between-laboratory trials.

cattle; foot-and-mouth disease; ELISA; antibodies

**ABSTRAKT:** Pomocí metody lpb-ELISA, sestavené z komponent vyrobených ve Světové referenční laboratoři pro SLAK v Pirbrightu, jsme orientačně nebo titračně určovali hladiny protilátek proti sérotypům A, O a C viru SLAK v 50 vzorcích bovinních sér. Z uvedeného souboru bylo 20 sér odebráno od zvířat ještě před ukončením plošné vakcinace komerční, inaktivovanou trivalentní vakcinou. Zbývajících 30 sér bylo získáno od zvířat již druhým rokem nevakcinovaných. Po stanovení hladin protilátek v naší laboratoři, byl a séra rozdělena do dvou souborů a vyšetřena stejnou metodou v dalších dvou nezávislých laboratořích. Získané výsledky byly použity k hodnocení diagnostické shody při provádění preventivní sérologické diagnostiky viru SLAK u skotu. Z celkového počtu 50 vzorků sér bylo podle výsledků naší laboratoře zjištěno 35 sér (70 %) s protilátkami proti jednomu ze tří sérotypů viru SLAK. Protilátky proti jednotlivým antigenům byly zastoupeny z 58 % (A<sub>5</sub>), 66 % (O<sub>1</sub>) a 58 % (C<sub>1</sub>). Diagnostická shoda mezi laboratořemi v konečném posouzení sérologických výsledků lpb-ELISA testu, zahrnující všechny tři sérotypy viru SLAK, byla zjištěna celkem u 48 vzorků sér (96 %). Nejvíce diskrepancí bylo zaznamenáno u sér s nízkými titry protilátek nebo hodnotami absorbancí, které se pohybovaly těsně kolem stanovené hranice pozitivivity. Ve vztahu k použitému referenčnímu antigenu bylo zaznamenáno nejvíce neshodných výsledků s antigenem typu A<sub>5</sub> (10 %). Vyšší koncentrace antigenu C<sub>1</sub> ve směsi s inkubovanými vzorky sér nepříznivě ovlivnila citlivost imunoenzymatické reakce a hladiny protilátek do výše titru 1 : 90 již nebyly při screeningovém typu vyšetření zachyceny. K dokonalejší reprodukovatelnosti výsledků lpb-ELISA testu, zejména mezi diagnostickými laboratořemi, by napomohl soubor definovaných referenčních sér, podle kterých by se optimální enzymatická reakce mohla nastavit.

skot; slintavka a kulhavka; SLAK; lpb-ELISA; protilátky

## INTRODUCTION

FMD is a highly contagious infection of cloven-footed animals. Any outbreak is associated with high economic losses resulting not only from the implementation of strict veterinary control measures, but also from restrictions in international trade in animals and animal products.

The last outbreak of FMD in the former Czechoslovakia was recorded in 1973. Extensive annual vaccination of all cattle and swine herds against FMDV serotypes A, O and C successfully prevented any further outbreaks up to the time in 1991 when vaccination was stopped to comply with the strategy adopted by member countries of the European Union (EU). This decision, however, raised a number of problems resulting from the increasing proportion of susceptible livestock and rising imports of live animals and animal products. Important tasks of the veterinary services now include not only the protection of the Czech Republic against the intrusion and spread of FMD, but also the necessity to carry out serological tests for FMD on animals to be exported into EU countries to demonstrate absence of specific antibodies.

Although reliable, conventional serological tests, such as virus neutralization (VNT) or the complement fixation test (CFT) are laborious and time-consuming and use live virus at high concentrations. Strict safety precautions against the escape of FMDV outside the laboratory limit the application of those methods to a few specialized laboratories.

Successful development of enzymeimmunoanalytical techniques for the detection of antibodies to FMDV (Abu Elzein and Crowther, 1978; Rai and Lahiri, 1981; Franz et al., 1982) has allowed conventional laboratories to carry out serological tests for FMD, particularly where reliably inactivated antigens with unaffected antigenic potency are available, and to obtain results comparable with those of VNT (De Simone et al., 1981; Hamblin et al., 1986). As the resistance to FMDV infection is proportional to the level of circulating antibodies, the results of ELISA, correlating with those of VNT, can be interpreted in terms of actual resistance to experimental infection (Franz et al., 1982; Periolo et al., 1993).

Our aim was to apply the liquid-phase blocking sandwich ELISA (lph-ELISA) developed by Hamblin et al. (1986) for the detection and quantification of antibodies to A, O and C serotypes of FMDV. Assays on the same sera were carried out in another two independent laboratories to provide a basis for the assessment of the diagnostic reliability of the test.

## MATERIALS AND METHODS

### SERA

A set of fifty blood sera of adult cattle was examined by lph-ELISA; twenty had been collected before exten-

sive vaccination with a commercial inactivated trivalent vaccine was ceased in 1991 and the remaining thirty originated from animals that had not been vaccinated for more than one year. After completing the tests in our laboratory (VRI), the set was divided into two, one was sent to the National Veterinary Institute, Nitra, Slovakia (NVI) and the other to the World Reference Laboratory for Food-and-Mouth Disease (WRL), Pirbright, U.K. to be examined by the same assay.

### lph-ELISA

FMDV specific reagents for the lph-ELISA were obtained from the WRL. The „Standard Operating Procedure for Detection of Antibodies to FMD“ supplied with the kit was strictly followed (Hamblin et al., 1966). Titrations of rabbit and guinea pig type-specific antisera (anti-146S), non-concentrated (crude) and purified FMDV antigens (A<sub>5</sub> Allier; O<sub>1</sub> BFS 1860; C<sub>1</sub> Noville) and peroxidase conjugate (anti-guinea pig IgG/Px, Sigma) were necessary for the optimization of the assay. Box titrations yielded the following optimal dilutions: rabbit antiserum – 1 : 5,000; guinea pig antiserum – 1 : 1,000; conjugate – 1 : 1,000. Working dilutions of FMDV serotypes were set by titration to yield 1.000 to 1.500 multiples of maximal optical density (OD<sub>max</sub>). Sandwich ELISA was used for the titration of non-concentrated inactivated antigens and the following working dilutions were chosen: A<sub>5</sub>-1 : 60; O<sub>1</sub>-1 : 80; C<sub>1</sub>-1 : 60. The values corresponded roughly to those recommended by the WRL. Concentrated and inactivated antigens were used in the WRL and NVI, with final working dilutions of 1 : 1,000 (type O<sub>1</sub>), 1 : 600 (type A<sub>5</sub>) and 1 : 1,500 (type C<sub>1</sub>).

### INTERPRETATION

The enzymatic reaction was stopped with sulphuric acid after 15 (antigens A<sub>5</sub> and O<sub>1</sub>) or 20 (antigen C<sub>1</sub>) minutes after the addition of the substrate/chromogen mixture (hydrogen peroxide/OPD, Sigma) and absorbances were measured at 492 nm. Two modifications of the lph-ELISA were carried out:

- Screening tests of samples using one serum dilution: mean OD was calculated from quadruplicates of serum dilution 1 : 32 and compared with OD<sub>max</sub> of the homologous control antigen included in each microtitre plate. The reaction was classified as positive (+) if the mean OD was lower than 50% of OD<sub>max</sub>, and as doubtful (±) if the mean absorbance was equal to 50% of OD<sub>max</sub>, but SD was equal to or higher than ±0.100.
- Titration assays: Twofold dilution series of the sera to be tested, ranging from 1 : 16 to 1 : 2,048 were prepared in duplicates. The serum titre was defined as the highest dilution with mean OD equal to 50% of OD<sub>max</sub>. According to the Standard Operating Pro-

cedure, antibody titres 1 : 16 and 1 : 32 were regarded as negative and titres equal to or higher than 1 : 45 as positive. The cut-off value 1 : 45 has been set by the authors of the method and is based on the correlation of results of VNT and ELISA (Hamblin et al., 1986).

## RESULTS

Of the total number of fifty bovine sera tested for the presence of antibodies to FMDV types A, O and C, thirty were examined in VRI and NVI and twenty in VRI and the WRL.

The results have confirmed our expectation that serum samples collected in 1991–1993 would contain antibodies to FMDV as a result of previous extensive vaccination against the types A, O and C. Antibodies to at least one of the three serotypes were found in 35 (70%) of the animals. Positive or doubtful reactions with the antigens A<sub>5</sub> Allier, O<sub>1</sub> BFS 1860 and C<sub>1</sub> Noville were recorded in 29 (58%), 33 (66%) and 29 (58%) of the animals, respectively.

I. Results of comparative tests of bovine blood sera for the presence of antibodies to FMDV serotypes A, O and C – screening tests with sera diluted 1 : 32

Ipb-ELISA/ FMDV Serum No.	A <sub>5</sub>		O <sub>1</sub>		C <sub>1</sub>	
	NVI	VRI	NVI	VRI	NVI	VRI
1.	+	+	+	+	+	+
2.	-	-	-	-	-	-
3.	±	-	±	-	-	-
4.	+	+	+	+	+	+
5.	+	+	+	+	+	+
6.	-	-	-	-	-	-
7.	+	+	+	+	-	-
8.	+	+	+	+	-	+
9.	-	-	-	-	-	-
10.	-	-	-	-	-	-
11.	-	-	-	-	-	-
12.	-	-	-	-	-	-
13.	-	-	-	-	-	-
14.	+	+	+	+	+	+
15.	+	+	+	+	-	-
16.	-	-	-	-	-	-
17.	-	-	-	-	-	-
18.	+	+	+	+	+	+
19.	-	-	-	-	-	-
20.	-	-	+	+	±	-

+ = ≥50% inhibition of mean OD<sub>max</sub>

- = < 50% inhibition of mean OD<sub>max</sub>

± = doubtful reaction

\* = discrepancy between laboratories

NVI = National Veterinary Institute, Nitra

VRI = Veterinary Research Institute, Brno

Overall agreement between results obtained in laboratories testing the same subsets of samples was found for 48 (96%) of the animals. Discrepancies were associated with low levels of antibodies to one of the three types found in one of the laboratories and interpreted as a doubtful result (Tab. I, sera Nos. 3, 8 and 20), or with a low antibody titre (Tab. II, serum No. 29; Tab. III, sera Nos. 2, 10, 12 and 19). Different type-specific reactions with the antigens A<sub>5</sub> Allier (dilution in VRI 1 : 60), O<sub>1</sub> BFS 1860 (1 : 80) and C<sub>1</sub> Noville (1 : 60) were found in 5 (10%), 2 (4%) and 4 (8%) serum samples.

Effects of antigen dilution on the results are evident from data in Tab. IV. Mean OD relative to OD<sub>max</sub> in reactions with the inactivated antigen C<sub>1</sub> Noville diluted 1 : 60 was 0.519 ± 0.076 although the incubation with substrate was prolonged to 20 min. The corresponding values for the reactions with the antigens A<sub>5</sub> Allier and O<sub>1</sub> BFS 1860 at the same or similar dilutions were 1.083 ± 0.094 and 1.370 ± 0.104, respectively. The relative mean OD reached 1.024 ± 0.070 when the C<sub>1</sub> antigen was diluted 1 : 20 (and dilutions of type-specific sera were unchanged). However, the sensitivity of the reaction decreased at higher concentrations of C<sub>1</sub> and screening tests at sera with antibody titres equal to or lower than 1 : 90 yielded negative results (Tab. III).

## DISCUSSION

The results of between-laboratory trials of the Ipb-ELISA have confirmed the claims of other authors

II. Identification of foot-and-mouth disease virus antibodies in selected postvaccination bovine sera by the Ipb-ELISA. Results of screening tests conducted at the National Veterinary Institute in Nitra and titration assays (end-point titre determination) conducted at the Veterinary Research Institute in Brno

Ipb-ELISA/ FMDV Serum No.	A <sub>5</sub>		O <sub>1</sub>		C <sub>1</sub>	
	NVI	VRI	NVI	VRI	NVI	VRI
21.	+	512 <sup>a</sup>	+	256	+	256
22.	+	256	+	512	+	128
23.	±	128	+	64	-	16
24.	-	32	-	32	-	16
25.	+	128	+	256	+	128
26.	-	128	+	128	+	128
27.	+	128	+	128	+	64
28.	+	128	+	64	+	64
29.	+	128	+	64	+	32
30.	+	512	+	512	+	256

a = end-point titre determination for each serum

+ = ≥50% inhibition of mean OD<sub>max</sub>

- = < 50% inhibition of mean OD<sub>max</sub>

± = doubtful reaction

\* = discrepancy between laboratories

NVI = National Veterinary Institute, Nitra

VRI = Veterinary Research Institute, Brno

III. Identification of foot-and-mouth disease virus antibodies in selected postvaccination bovine sera by the lpb-ELISA. Results of screening tests conducted at the Veterinary Research Institute in Brno and titration assays (end-point titre determination) conducted at the World Reference Laboratory for FMD, Pirbright

lpb-ELISA/FMDV		A <sub>5</sub>	O <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>
Lab. #.	Id. #.	VRI/WRL	VRI/WRL	VRI/WRL
31.	1 591	+/45 <sup>a</sup>	+/90	+/90
32.	1 592	*-/45*	+/90	±/45
33.	1 593	-/22	-/22	-/22
34.	1 594	+/181	+/724	+/181
35.	1 595	+/45	+/64	+/64
36.	1 596	+/64	+/181	+/90
37.	1 597	-/32	-/16	+/90
38.	1 598	-/16	+/45	±/45
39.	1 599	+/45	-/64	+/64
40.	1 600	-/32	+/45	*+/22*
41.	1 601	+/90	+/181	+/90
42.	1 602	*-/45*	+/45	-/22
43.	1 603	+/90	+/181	+/90
44.	1 604	-/16	-/22	-/22
45.	1 605	+/45	+/90	+/45
46.	1 606	+/512	+/362	+/362
47.	1 607	±/45	+/45	+/45
48.	1 608	+/45	±/45	+/64
49.	1 609	-/16	*-/64*	-/16
50.	1 610	+/128	+/64	+/45

a = end-point titre determination for each serum  
 + = ≥ 50% inhibition of OD<sub>max</sub>  
 - = < 50% inhibition of OD<sub>max</sub>  
 ± = doubtful reaction  
 \* = discrepancy between laboratories  
 WRL = World Reference Lab. for FMD, Pirbright  
 VRI = Veterinary Research Institute, Brno

IV. The effects of two different concentrations of inactivated FMDV type C antigen on the sensitivity of the lpb-ELISA. Results of comparative trials conducted at the Veterinary Research Institute in Brno

lpb-ELISA/FMDV		C <sub>1</sub>	
Lab. #.	Id. #.	VRI	VRI
		final working dilution	
		1 : 20	1 : 60
31.	1 591	-	+
32.	1 592	-	±
33.	1 593	-	-
34.	1 594	+	+
35.	1 595	-	+
36.	1 596	-	+
37.	1 597	-	+
38.	1 598	-	±
39.	1 599	-	+
40.	1 600	-	+
41.	1 601	+	+
42.	1 602	-	-
43.	1 603	-	+
44.	1 604	-	-
45.	1 605	-	+
46.	1 606	+	+
47.	1 607	+	+
48.	1 608	±	+
49.	1 609	-	-
50.	1 610	-	+

+ = ≥50% inhibition of OD<sub>max</sub>  
 - = < 50% inhibition of OD<sub>max</sub>  
 ± = doubtful reaction  
 \* = discrepancy between laboratories  
 VRI = Veterinary Research Institute, Brno

(Hamblin et al., 1986; Periolo et al., 1993) that the test is a suitable alternative to conventional assays for detection of antibodies to selected serotypes of FMDV. The lpb-ELISA is also applicable in virological diagnosis of FMD if an appropriate combination of antigen types is chosen (Hafez et al., 1993).

The lpb-ELISA has advantage of being a rapid, simple, sensitive and efficient procedure, and also as one avoiding the hazards associated with the handling of live virus antigens (Ferris et al., 1990). Hence it allows an extension of preventive tests for FMD from specialized centres to laboratories engaged in routine diagnostic services (Kitching, 1992).

The principle of the lpb-ELISA consists in a multi-layer system of type-specific antibodies detecting binding sites on the FMDV antigen blocked during previous incubation with the tested serum (Hamblin et al., 1986). Therefore, the importance of proficiency and observation of all steps leading to the optimization of the test for obtaining reproducible results in all laboratories engaged in the diagnosis of FMD should be stressed. The exclusive use of reagents prepared in and

supplied by WRL contributes considerably to the standardization of the lpb-ELISA.

Our experiments have shown that changes in working dilutions of inactivated non-purified antigens have marked effects on the results of the lpb-ELISA. In this respect, the C<sub>1</sub> Noville antigen proved to be more labile than the A<sub>5</sub> Allier and O<sub>1</sub> BFS 1860 antigens. The C<sub>1</sub> Noville antigen was used at a higher concentration to reach the optimal relative OD 1.000 to 1.500. As can be seen in Tab. III, the increased concentration affected the sensitivity of the reaction and screening tests of sera with anti-C<sub>1</sub> antibody titres 1 : 90 and lower yielded negative results. A similar unwanted decrease in sensitivity may also be due to adverse conditions during transport and/or storage of inactivated antigens. Comparison of those results of the lpb-ELISA obtained in individual laboratories revealed discrepancies in sera with low antibody titres or OD values around the cut-off point. It was rather difficult to define this point in screening tests when mean absorbance was equal to 50% of OD<sub>max</sub>, but SD was high. Such sera should be either classified as doubtful and require repeat tests, or animals to be rebled or included among the positive

category although some of them might actually be negative. The latter classification is preferable considering the high contagious nature of FMD. Discrepancies in the interpretation of reactions with individual antigens never exceeded 10% and final conclusions considering the reactions with all the three serotypes differed only in 4% of the samples.

The overall percentage of serologically positive animals does not reflect the current prevalence of post-vaccination antibodies in the bovine population, because twenty of the fifty samples had been collected before extensive vaccination against FMD was ceased. Standardization of the procedure can be further improved not only by the optimization of all components, but also by the use of reference control sera of known titres with defined upper and lower control limits. We believe that the set of sera tested in VRI, NVI and the WRL could be usable for this purpose.

## REFERENCES

- ABU ELZEIN, E. M. E. – CROWTHER, J. R.: Enzyme-labelled immunosorbent assay techniques in foot-and-mouth disease virus research. *J. Hyg. Camb.*, 80, 1978: 391–399.
- DE SIMONE, F. – BROCCHI, E. – PANINA, G. F. – BAREI, S.: Titration of FMD antibodies in cattle sera. Comparative study of serum-neutralization on mice and ELISA. Report on the session of the research group of the standing technical committee of the European commission for the control of foot-and-mouth disease, Tübingen, 1981. 73.
- FERRIS, N. P. – KITCHING, R. P. – OXTOBY, J. M. – PHILPOT, R. M. – RENDLE, R.: Use of inactivated foot-and-mouth disease virus antigen in liquid-phase blocking ELISA. *J. Virol. Meth.*, 29, 1990: 33–42.
- FLACHSEL, R. – FRANZ, J. – HUBÍK, R. – MENŠÍK, J.: A study of the level of immunity against FMD in pigs using the indirect ELISA test. In: De La XVIème Conférence de la Commission Permanente de la Fièvre Aphteuse de l'O.I.E., Paris, 14–17 Septembre, 1982: 335–350.
- FRANZ, J. – FLACHSEL, R. – HUBÍK, R. – MENŠÍK, J.: Estimation of antibodies against the FMD virus in pigs by enzyme labelled immunosorbent assay (ELISA). In: De La XVIème Conférence de la Commission Permanente de la Fièvre Aphteuse de l'O.I.E., Paris, 14–17 Septembre, 1982: 325–334.
- HAFEZ, S. M. – FARAG, M. A. – MAZLOUM, K. S. – ALBOKMY, A. M.: Application of double sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of foot-and-mouth disease in Saudi-Arabia. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 100, 1993: 103–106.
- HAMBLIN, C. – BARNETT, I. T. R. – HEDGER, R. S.: A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus I. Development and method of ELISA. *J. Virol. Meth.*, 93, 1986: 115–121.
- KITCHING, R. P.: The application of biotechnology to the control of foot-and-mouth disease virus. *Brit. Vet. J.*, 148, 1992: 375–388.
- PERIOLO, O. H. – SEKI, C. – GRIGERA, P. R. – ROBILOLO, B. – FERNANDEZ, G. – MARADEI, E. – D'ALOIA, R. – LA'TORRE, J. L.: Large-scale use of liquid-phase blocking sandwich ELISA for the evaluation of protective immunity against aphthovirus in cattle vaccinated with oil-adjuvanted vaccines in Argentina. *Vaccine*, 11, 1993: 754–760.
- RAI, A. – LAHIRI, D. K.: Subtyping of foot-and-mouth disease virus by the micro-enzyme-labelled immunosorbent assay (Microelisa). *Acta Virol.*, 25, 1981: 53–56.

Arrived on 15th July 1994

---

### Kontaktní adresa:

MVDr. Ivan Pš í k a l, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudecova 70, 621 32 Brno, Česká republika  
Tel. 05/41 32 12 41, fax 05/41 21 12 29

---

## STŘEČKOVITOST SKOTU

J. Minář

Praha, Academia 1993. 207 s. Cena 280 Kč.

Do rukou pracovníků základního i aplikovaného výzkumu, biologů, parazitologů, entomologů, veterinárních lékařů, zootekniků i pracovníků zemědělské praxe se dostává monografie shrnující poznatky o biologii závažných cizopasnů z řádu dvoukřídlého hmyzu (*Diptera*). Jde o podkožní střečky druhů *Hypoderma bovis* (De Geer, 1776) – střeček hovězí a *Hypoderma lineatum* (de Villers, 1789) – střeček jižní a o hypodermatózu (střečkovitost) působenou jejich larvami u skotu.

Toto onemocnění rozšířené v celém mírném pásmu severní polokoule působí vysoké ekonomické ztráty na masné a mléčné užitkovosti, včetně poškození kůží u paseného skotu. V bývalém Československu byly škody vyčísleny na 100–150 milionů Kčs ročně. Vzácně mohou larvy podkožních střeček vyvolat i velmi nebezpečné onemocnění člověka – myiasis.

Kniha je členěna do osmi kapitol. Po stručném úvodu následuje druhá kapitola věnovaná historickému přehledu, zahrnujícímu systematiku a morfologii střeček, jejich biologii a rozšíření, klinickým projevům střečkovitosti u skotu a jejich fenologii, škodám působeným nemocností včetně možnosti poškození zdraví člověka a tlumení této parazitózy. Ve třetí kapitole je podrobně rozvedena morfologie a biologie podkožních střeček skotu.

Významnou a nejrozsáhlejší je čtvrtá kapitola o populační ekologii. Byly předloženy důkazy o přítomnosti a činnosti pevného vnitřního regulačního systému v soustavě parazit – hostitel, který určuje úroveň početnosti cizopasnů a působí na úrovni populací. Regulační systém funguje na principu záporné zpětné vazby. Čím silnější je napadení populace hostitele populací specifického druhu cizopasnika, tím jsou silnější obranné reakce hostitele, hubící tyto cizopasníky. Tento vztah se projevuje ve výsledném zastoupení přežívajících cizopasnů, které odpovídá negativnímu binomickému rozdě-

lení. V páté kapitole autor podává přehled o výzkumu prostředků a způsobů boje se střečkovitostí skotu. Kapitola šestá je zaměřena na výzkum zjišťování hospodářských ztrát způsobených střečkovitostí. V sedmé kapitole autor rozebírá jednotlivé metody tlumení střečkovitosti a v poslední, osmé kapitole, je provedeno shrnutí problematiky se závěry pro praxi, především při tlumení a prevenci této parazitózy.

Text knihy je doplněn 41 přehlednými tabulkami, 6 grafy, 18 fotografiemi a 10 obrázky, což přispívá ke snadšímu pochopení textu. Knihu doplňuje 367 literárních citací a uzavírá stručný souhrn v angličtině.

Zcela novými vědeckými poznatky jsou výsledky výzkumu populační ekologie střeček. Jde o průkaz vnitřních regulačních systémů v populacích specifických cizopasnů a jejich hostitelů. Na modelu střečka hovězího byla prokázána obecná zákonitost těchto vnitřních regulačních systémů, která spolu se specifickým metodickým přístupem, s využitím matematicko-statistických metod, je v parazitologii novým, významným směrem a v širším smyslu též ve výzkumu ekosystémů.

Významným výsledkem pro praxi bylo potlačení střečkovitosti skotu v našich podmínkách, jehož bylo dosaženo poznáním a využitím zákonitosti populační ekologie jejich původců a vyvinutím účinných způsobů jejich hubení, použitím nových přípravků domácí proveniencce. Tento úspěch naší parazitologie, vysoce oceňovaný v zahraničí, může být využit i v jiných zemích.

Kniha je výsledkem více než dvacetipětiletých výzkumů autora v podmínkách bývalé ČSFR, SSSR, Mongolské lidové republiky a dalších zemí. Ve svém oboru je jedinečná a autorův záměr, oprostit text od zbytečných cizích slov, ji činí přístupnou širokému okruhu čtenářů.

MVDr. Jaromír Říha, CSc.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

# ASSOCIATION BETWEEN BoLA ANTIGENS AND BOVINE MASTITIS

## ASOCIÁCIA MEDZI BoLA ANTIGÉNMI A BOVINNOU MASTITÍDOU

M. Simon<sup>1</sup>, R. Dušínský<sup>1</sup>, M. Šťavíková<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Animal Biochemistry and Genetics, Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji, Slovak Republic*

<sup>2</sup>*Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic*

**ABSTRACT:** The association between BoLA class I antigens and mastitis was studied in Bohemian Pied breed ( $n = 17$ ) and its crosses – Bohemian Pied x Red Pied Holstein ( $n = 161$ ), Bohemian Pied x Red Pied Holstein x Ayrshire (37). The diagnostics of mastitis was followed in the course of two years and two diagnostic parameters were included: 1. a modified California Mastitis Test (CMT) was performed once a month; 2. a bacteriological infection was examined once quarterly using biochemical and serological methods. BoLA class I antigens were determined by specific antisera in the standard microlymphocytotoxicity test. During testing the majority of cows had at least one positive reaction of CMT test. The bacterial findings were detected in 31.63% of animals. The antigen A16 was found to be significantly associated with susceptibility to mastitis in both diagnostic tests. Animals A16 positive showed the highest CMT values and repeated bacterial infections (Fig. 1). The high values observed in A2 positive animals were not significant due to the very low frequency of this allele in the population under study. There was a slight increase of CMT values and the infection frequency in animals with higher parity number (Fig. 2). However, the order of lactations did not influence the relationship of BoLA A16 and mastitis. This association was not significantly affected by the breed. The increased bacterial infection observed in the Bohemian Pied breed is likely due to relatively high incidence of A16 allele rather than to breed differences (Fig. 3).

cattle; mastitis; BoLA

**ABSTRAKT:** V populácii dojníc českého strakatého plemena a krížencov s holštajnským a ayrshirským plemenom bola študovaná asociácia BoLA antigénov a mastitídy. Výskyt mastitídy bol sledovaný počas dvoch rokov na základe mastitis testu-NK a bakteriologického vyšetrenia štvrtvých vzoriek mlieka. Získané údaje boli analyzované podľa opakovaných bakteriálnych nálezov, poradia laktácií, plemennej príslušnosti a BoLA antigénov triedy I. Pri štúdiu vzťahu BoLA a mastitídy sa ukázalo, že prítomnosť alely BoLA A16 zvýšila riziko pre ochorenie na mastitídu. Nositeľky tejto alely mali najvyššie hodnoty mastitis testu-NK a frekvenciu bakteriálnej infekcie. S rastúcim počtom laktácií dochádzalo k miernemu zvýšeniu hodnôt oboch diagnostických parametrov. Avšak vek alebo plemenná príslušnosť nemali preukazný vplyv na zistenú asociáciu.

dobytok; mastitída; BoLA

### ÚVOD

Mastitída patrí medzi ekonomicky najvážnejšie ochorenie hovädzieho dobytka. Početné pokusy a poznatky získané pri výskume mastitídy dokazujú, že sa jedná o polyfaktoriálnu chorobu, pri vzniku ktorej sa predovšetkým uplatňujú exogénne vplyvy. Niektoré výsledky však poukazujú na to, že určitú úlohu v etiopatogenéze mastitídy hrá aj genetická dispozícia. Podiel genotypu pri vzniku mastitídy bol analyzovaný výpočtom koeficientu heritability ( $h^2$ ). Hodnoty  $h^2$  zistené v rôznych populáciách sú odlišné a pohybujú sa v rozpätí od 0,02 do 0,5 (Emmanuelson, 1987; Šťavíková a i., 1990). Tento rozptyl hodnôt  $h^2$  môže byť odrazom skutočných individuálnych a plemenných rozdielov v rezistencii ale aj použitia rôznych metód výpočtu  $h^2$  a diagnostických metód definujúcich

stav mastitídy. Nájdenie asociácie medzi mastitídou a definovanými genetickými markermi by jasnejšie ukázalo účasť genetických faktorov pri ochorení. Vhodným polymorfným systémom (zahrňujúci veľký počet aliel) pre štúdium týchto vzťahov je hlavný histokompatibilitný komplex hovädzieho dobytka – BoLA. Molekuly kódované týmto komplexom génov sprostredkujú rozpoznávanie cudzích antigénov v imunitnom procese. U viacerých plemien sa ukázal častý výskyt alely BoLA A16 u zvierat so znakmi klinickej a subklinickej mastitídy (Solbu a i., 1982; Larsen a i., 1985; Spooner a i., 1988). Iní autori však popísali možný vzťah mastitídy s inými BoLA antigénmi – A6, A11 (Oddgiersson a i., 1988), A14(A8) (Weigel a i., 1991), W2 (Solbu a i., 1982), A13 (Meyer a i., 1984). Vage a i. (1993) nezistili žiadny vzťah BoLA antigénov triedy I k bovinej mastitíde. Roz-

dielna vnímavosť k mastitíde bola zaznamenaná vzhľadom k polymorfizmu BoLA antigénov triedy II. Zvieratá s haplotypom DQ<sup>1A</sup> boli vnímavejšie ku klinickej mastitíde, ako zvieratá s iným haplotypom (L u n d e n a i., 1990).

Cieľom tejto práce bolo analyzovať vplyv génov BoLA triedy I na vnímavosť zvierat k mastitíde u českého strakatého dobytká.

## MATERIÁL A METÓDY

Výskum sa uskutočnil u 215 dojníc českého strakatého plemena ( $n = 17$ ) a krížencov: české strakaté x holštajnské ( $n = 161$ ) a české strakaté x holštajnské x ayrshirské ( $n = 37$ ) chovaných v jednom veľkokapacitnom kravíne. Mastitída bola sledovaná počas dvojrôčného obdobia a bola diagnostikovaná zo štvrtových vzoriek mlieka na základe nepriameho cytologického mastitis testu-NK (ďalej MT-NK) a bakteriologického vyšetrenia.

MT-NK bol vyšetřovaný raz mesačne a reakcie boli hodnotené podľa stupnice 0 (-), 0,5 ( $\pm$ ), 1 (+), 2 (++), 3 (+++) (R y š á n e k a R e n d a, 1971). Priemerné hodnoty MT-NK boli vypočítané zo štvrtových vzoriek mlieka. Vzorky na bakteriologické vyšetřenie boli odobrané raz štvrtročne. Boli získané asepticky pred dojením po dezinfekcii strukov a ihneď zaslané do laboratória. Izolácia a diagnostika baktérií bola uskutočnená pomocou laboratórných veterinárnych metodík (A n o n y m, 1975). Infekcia mliečnej žľazy bola posudzovaná na základe nálezov *Streptococcus agalactiae*, *S. disgalactiae*, *S. uberis*, *Actinomyces pyogenes* a *Staphylococcus aureus* (kmene s koagulázovou aktivitou), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* sa vyskytli sporadicky a neboli zahrnuté pri analýze asociácií. Pri nejasných výsledkoch, napr. pri výskyte zmesi baktérií bol opakovaný odber vzoriek.

Antigény BoLA triedy I boli určované štandardným mikrolýmfcytotoxickým testom (B u l l a i., 1989).

Priemery a štandardné odchýlky hodnôt MT-NK boli vypočítané pre každý antigén a testované Studentovým *t*-testom. Frekvencie bakteriologických nálezov boli vypočítané pre každý antigén a analyzované pomocou Chi-kvadrát testu.

## VÝSLEDKY

V sledovanom súbore zvierat boli nasledovné frekvencie BoLA antigénov (v %): A2 (1,40), A6 (14,90), A7 (2,80), A8 (45,12), A10 (16,74), A11 (6,98), A12 (16,74), A16 (7,91), A20 (18,14), A26 (7,44). Žiadny antigén nebol detegovaný u 5,58 % zvierat.

Počas pokusného obdobia väčšina testovanej populácie vykazovala aspoň raz zvýšené hodnoty MT-NK (vyššie ako 0,95). Bakteriálne nálezy sa vyskytli u 31,63 % zvierat. Pritom priemerná hodnota MT-NK

bola preukazne vyššia u skupiny infikovaných zvierat v porovnaní s neinfikovanými zvieratmi ( $P < 0,001$ ).

Najvyšší priemer hodnôt MT-NK bol zaznamenaný pri dojniciach s alelou A16 a najnižší pri A11. Závislosť MT-NK hodnôt a BoLA antigénov bola preukazaná len pri alele A16 ( $P < 0,001$ ) – obr. 1. Bakteriálna infekcia bola taktiež najčastejšie zaznamenaná pri dojniciach s alelou A16. U týchto zvierat bol pozorovaný aj najčastejší výskyt opakovaných infekcií, zatiaľčo zvieratá s inou BoLA alelou mali nižší výskyt recidív (obr. 1). Vyššie hodnoty MT-NK a výskytu baktérií mali tiež zvieratá s alelou A2.

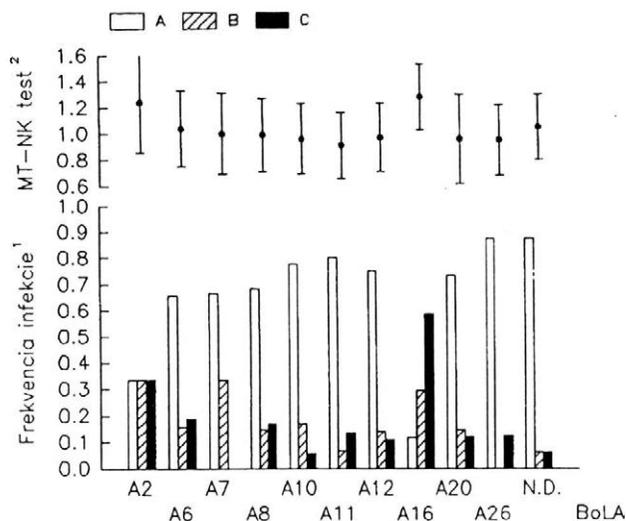
Pri sledovaní výskytu mastitídy v závislosti na veku sa ukázalo, že hodnoty MT-NK majú s vekom mierne vzrastajúci trend. Frekvencia bakteriálnych infekcií neukazuje jasný vzťah k narastajúcemu počtu laktácií (obr. 2). Rozdelenie väčšiny BoLA antigénov vzhľadom k laktáciám bolo v súlade s frekvenciou zvierat v jednotlivých laktáciách.

Pri analýze výskytu bakteriálnej infekcie podľa plemien sa ukázalo, že najviac infikovaných vzoriek sa vyskytovalo u čistého plemena české strakaté. U tohoto plemena bola súčasne aj najvyššia frekvencia alely A16. Na obr. 3 je uvedené pomerne zastúpenie infikovaných zvierat podľa prítomnosti A16 a ostatných alií u jednotlivých plemien. Pozorované rozdiely vo frekvencii infikovaných zvierat medzi plemenami sa výrazne zmenšili, ak sa z hodnotenia oddelili zvieratá A16.

## DISKUSIA

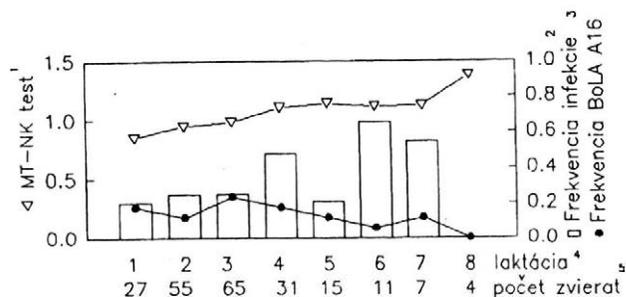
Pri štúdiu asociácie mastitídy s kvalitatívnymi genetickými markermi sme použili pre diagnostiku ochorenia kritériá, ktoré je možné objektívne merať laboratórnymi metódami. Oba sledované parametre – MT-NK a bakteriálne nálezy naznačili vzájomnú závislosť. Výhodu stanovenia celkového počtu buniek v mlieku pri štúdiu asociácií ukázal E m a n u e l s o n (1987), ktorý zistil vyššiu heritabilitu pre tento parameter ako pre klinickú mastitídu.

Preukazne najvyššie hodnoty MT-NK ako aj výskytu bakteriálnych infekcií u zvierat s alelou BoLA-A16 (na rozdiel od ostatných sledovaných alií) naznačuje vzťah tejto alely k vnímavosti k mastitíde. U A16-pozitívnych zvierat prevládali opakované bakteriologické nálezy, čo môže odrážať väčšiu vnímavosť týchto zvierat. Študovaný súbor zahŕňoval pomerne malý počet zvierat plemena české strakaté a trojplemenných krížencov, čo nedovoľuje extrapolovať výsledky na posúdenie rozdielnej vnímavosti plemien. Z analyzovaných údajov vyplýva, že najviac infikovaných zvierat bolo u českého strakatého oproti krížencom. Tu však bola silná interakcia plemena s BoLA alelou A16. Pri tak malom počte zvierat nie je možné exaktne posúdiť, či okrem A16 alely mala aj plemenná príslušnosť nejaký účinok na vnímavosť zvierat. Získané výsledky nie sú jednoznačne v súlade s predpokladom vyššej vnímavosti starších dojníc k mastitíde i keď je možné pozo-



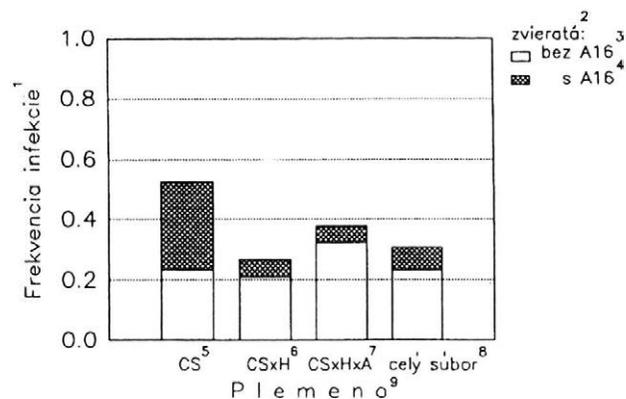
1. Bakteriálna infekcia a hodnoty MT-NK u zvierat s rôznymi BoLA antigénmi. Zobrazená je priemerná frekvencia neinfikovaných zvierat (A), zvierat infikovaných len raz počas dvojročného obdobia (B) a zvierat s viacnásobnými infekciami (C). Priemery a smerod. odchýlky hodnôt MT-NK boli vypočítané z hodnôt zistených počas dvojročného obdobia. N. D. = neurčený BoLA antigén – The bacterial infection and CMT values in animals with various BoLA antigens. Average frequency of non-infected animals (A), animals infected once during the two-year period (B), animals with multiple infections (C) are shown. The means of CMT values and s.d. were calculated from the values recorded during the two-year period. N. D. = not determined BoLA antigen

<sup>1</sup>infection frequency, <sup>2</sup>CMT



2. Frekvencia bakteriálnej infekcie a hodnoty MT-NK u zvierat v rôznych laktáciách. Znárodná je tiež frekvencia BoLA A16 antigénu podľa laktácií – The frequency of bacterial infection and CMT values in animals in various lactations. The BoLA A16 antigen frequency according to lactation also is shown

<sup>1</sup>CMT, <sup>2</sup>infection frequency, <sup>3</sup>BoLA A16 frequency, <sup>4</sup>lactation, <sup>5</sup>number of animals



3. Bakteriálna infekcia u študovaných plemien (krížencov). Priemerná frekvencia bola vypočítaná z hodnôt získaných počas dvojročného obdobia. Šrafovaná časť stĺpcov vyjadruje podiel zvierat s A16 antigénom – Bacterial infection in the studied breeds (crossbreeds). The average frequency was calculated from the values recorded during the two-year period. The cross-hatched bars express the portion of BoLA A16 positive animals

<sup>1</sup>infection frequency, <sup>2</sup>animals, <sup>3</sup>without A16, <sup>4</sup>with A16, <sup>5</sup>Czech Pied breed, <sup>6</sup>Czech Pied x Holstein, <sup>7</sup>Czech Pied x Holstein x Ayrshire, <sup>8</sup>whole population, <sup>9</sup>breed

rovať určitý trend zvýšenia hodnôt MT-NK a bakteriálnych infekcií s rastúcim počtom laktácií. Vek zvierat však zistenú asociáciu s BoLA typom neovplyvnil, pretože nebol významný rozdiel v distribúcii alely A16 medzi dojnícami na nižších a vyšších laktáciách.

Do analýzy asociácie mastitidy s BoLA antigénmi sme nezahrnuli vplyv býkov, pretože v stáde pôsobilo

54 býkov a 17 kráv – nositeľiek alely A16 bolo potomstvom 13 býkov.

Naše pozorovanie vychádza z pomerne malého súboru zvierat, ale jednoznačne potvrdzuje výsledky, ktoré udávajú Spooner a i. (1988), Solbu a i. (1982) zaznamenané na rozsiahlejšom súbore dojníc chovaných v Anglicku a Nórsku. Rovnako Larsen a i.

(1985) zistili pri dánskom červenom dobytku asociáciu medzi mastitídou a krvnou skupinou M, ktorá je vo veľmi úzkej väzbe s BoLA A16. Prvých dvaja autori tiež udávajú, že alela A2 súvisí s rezistenciou k mastitíde. Alela W2 v našom súbore súvisela skôr s vnímavosťou, ale vzhľadom k jej nízkej frekvencii (1,4 %) tento vzťah môže byť náhodný.

Konfrontáciou dosiaľ známych údajov o vzťahu mastitídy a BoLA môžeme predpokladať, že asociácie zistené v určitej populácii nemusia existovať v inej populácii. Skutočnosť, že u rôznych plemien, resp. populácií rôzne BoLA alely triedy I súvisia s rezistenciou alebo vnímavosťou, vedie k úvahám, že vo vzťahu BoLA k mastitíde sa nemusí jednať o priamy účinok molekúl triedy I, ale skôr ide o účinok väzby génov. BoLA gény triedy I môžu byť v rôznych populáciách vo väzbovej nerovnováhe s odlišnými alelami BoLA triedy II alebo s inými gémi. Napríklad v populácii zvierat švédskeho červenobieleho dobytku bola zistená analýzou polymorfizmu dĺžky restriktčných fragmentov (RFLP) asociácia výskytu klinickej mastitídy s haplotypom triedy II – DQ<sup>1A</sup> (Lundena i., 1990). Alela A16 bola však u tohoto plemena vo väzbe s DQ<sup>1B</sup> a nie s DQ<sup>1A</sup> (Lindberg a i., 1988).

Mastitída má komplexnú etiológiu, kde sú zahrnuté rôzne patogény a iné exogénne faktory. Z toho dôvodu nie je možné predpokladať jednoduchú genetickú kontrolu rezistencie. V každom prípade zistená vnímavosť, alebo rezistencia pravdepodobne zahŕňa aktivitu niekoľkých génov. Aj nami získané výsledky však poukazujú na to, že štúdium asociácií medzi BoLA gémi a mastitídou je jednou z možností na identifikáciu hereditárnych faktorov pri vzniku mastitídy.

## PodĎakovanie

Autori ďakujú pracovníkom laboratória veterinárnej laktológie OVS Brno-venkov za poskytnutie údajov bakteriologického vyšetrenia.

## LITERATÚRA

ANONYM: Veterinárni laboratorní vyšetřovací metodiky, Praha, 1975: 99–118.

BULL, R. W. – LEWIN, H. A. – WU, M. C.: Joint report of the third international bovine lymphocyte antigen (BoLA) workshop. Anim. Genet., 20, 1989: 109–132.

EMANUELSON, U.: Genetic studies on the epidemiology of mastitis in dairy cattle. [PhD Thesis.] Uppsala 1987. – Swedish University of Agriculture.

LARSEN, B. – JENSEN, N. E. – MADSEN, P. – NIELSEN, S. M. – KLASTRUP, O. – MADSEN, P. S.: Association of the M blood group system with bovine mastitis. Anim. Blood Grps Biochem. Genet., 16, 1985: 165–173.

LINDBERG, P. G. – ANDERSSON, L.: Close association between DNA polymorphism of bovine major histocompatibility complex class I genes and serological BoLA-A specificities. Anim. Genet., 19, 1988: 245–255.

LUNDEN, A. – SIGURDARDÓTTIR, S. – EDFORS-LILJA, I. – a i.: The relationship between bovine major histocompatibility complex class II polymorphism and disease studied by use of bull breeding values. Anim. Genet., 21, 1990: 221–232.

MEYER, F. – CUIK, S. – ERHARDT, G. – SCHMID, D. O. – SENFT, B.: Zum Nachweis von Lymphocytantigenen des BoLA – Systems bei Rindern mit Secretionsstörungen der Milchdrüse. Züchtungskunde, 56, 1984: 108–114.

ODDGIERSSON, O. – SIMPSON, S. P. – MORGAN, A. L. G. – ROSS, D. S. – SPOONER, R. L.: Relationship between the bovine major histocompatibility complex (BoLA), erythrocyte markers and susceptibility to mastitis in Icelandic cattle. Anim. Genet., 19, 1988: 11–16.

RYŠÁNEK, D. – RENDA, V.: Mechanismus reakce mastitis testu-NK a způsob posuzování jeho pozitivity. Veter. Med. (Praha), 16, 1971: 405–414.

SOLBU, H. – SPOONER, R. L. – LIE, O.: A possible influence of the bovine major histocompatibility complex (BoLA) on mastitis. In: Proceedings of the 2nd World Congress on Genetic Applied to Livestock Production (Madrid), 7, 1982: 368–371.

SPOONER, R. L. – MORGAN, A. – SALES, D. – SIMPSON, P. – SOLBU, H. – LIE, O.: MHC association with mastitis. Anim. Genet., 19, 1988: 57–58.

ŠTAVÍKOVÁ, M. – LOJDA, L. – ŽAKOVÁ, M. – MACH, P. – PŘÍKRYL, S. – POSPÍŠIL, J.: Genetický podíl krav na prevalenci mastitid v následující generaci. Veter. Med. (Praha), 35, 1990: 257–265.

VAGE, D. I. – LINGAAS, F. – SPOONER, R. L. – ARNET, E. F. – LIE, O.: A study on association between mastitis and serologically defined class I bovine lymphocyte antigens (BoLA-A) in Norwegian cows. Anim. Genet., 23, 1993: 533–536.

WEIGEL, K. A. – FREEMAN, A. E. – KEHRLI, J. R.: Association of a BoLA-A locus antigen with increased antibody dependent neutrophil cytotoxicity and decreased susceptibility to subclinical mastitis. Anim. Genet., Suppl. 1, 1991: 34.

Došlo 13. 12. 1993

---

## Kontaktná adresa:

Ing. Michal Šimon, CSc., Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, 900 28 Ivanka pri Dunaji, Slovenská republika  
Tel. 071/94 38 82, fax 071/94 39 32

---

# EFFECT OF MERCURY-DOMINATED HEAVY METAL EMISSION ON THE COURSE OF PASTURE HELMINTHOSES IN SHEEP

## VPLYV IMISIÍ ŤAŽKÝCH KOVŮ S DOMINANCIOU ORTUTI NA PRIEBEH PASIENKOVÝCH HELMINTÓZ OVIEC

I. Krupicer

*Parasitological Institute of the Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic*

**ABSTRACT:** A group of 30 improved Valashka sheep, grazed in submontane pastures 3 and 6 km far from the emission source of mercury-dominated heavy metals (L1 and L2) and in pasture situated out of mercury emission fall-out (K), were investigated for the prevalence and mean intensity of pasture helminth infection. Hg concentration in the grass stand was determined by the distance of emission source. The amount of mercury was increasing in the direction from control locality to locality 1, lying 3 km from the emission source. With the mean concentration of 4.298 mg Hg/kg in grass stand, 0.346 mg Hg/kg in the liver, 0.591 mg Hg/kg in the kidneys and 0.030 mg Hg/kg in the muscles (Tab. I) a high prevalence of pasture helminths was recorded in sheep. This prevalence was increasing in the direction from control locality to the nearest emission source (Tab. II). The only exception was *Moniezia* spp. and *Strongyloides papillosus*, with values at locality 2 being lower than those at control locality. *Trichostrongylus* spp. and *Cooperia* spp. were equally prevalent at all the localities studied. Mean infection intensity (Tab. III) showed an increasing tendency from control locality towards locality 1. Only *Dicrocoelium dentriticum* and *Strongyloides papillosus* were an exception, with the highest mean infection intensity recorded at locality 2 (5.3 and 3.3 specimens, respectively). The highest mean intensity at control locality was recorded for *Cooperia* spp. infection (4.5 specimens). Mean infection intensity at locality 2 (6 km from emission source) and control locality showed proximate values in *Moniezia* spp. (1.3–1.2 specimens), *Nematodirus* spp. (2.6–2.4 specimens) and *Cooperia* spp. (4.0–4.5 specimens). The highest differences in mean infection intensity between locality 1 and control locality were recorded in *Trichostrongylus* spp. (24.3–13.3 specimens), *Ostertagia* spp. (15.4–7.4 specimens) and *Nematodirus* spp. (5.1–2.4 specimens). With high values of mercury in pasture, grass grazing animals cumulate mercury in their organisms, mainly in the parenchymatous organs (liver, kidneys). Consequently, the immunity of animal organism is impaired, which is manifested by an increased prevalence and mean infection intensity of most pasture helminths.

sheep; heavy metals; mercury; prevalence; infection intensity

**ABSTRAKT:** Na súbore 30 oviec plemena zošlachtená valaška, pasúcich sa na pasienkoch podhorskej oblasti vzdialených 3 a 6 km od emisného zdroja ťažkých kovov s prevalenciou ortuti (lokalita 1 a 2) a na pasienku nachádzajúcom sa mimo emisného spádu (kontrolná lokalita) bola zisťovaná prevalencia a priemerná intenzita pasienkových helmintov oviec. Koncentrácia Hg na trávnom poraste a v organizme oviec bola závislá na vzdialenosti od emisného zdroja. Maximum bolo zaznamenané v lokalite 1, kde bola priemerná koncentrácia ortuti 4 298 mg Hg/kg trávy, 0,346 mg Hg/kg tkaniva pečene, 0,591 mg Hg/kg tkaniva obličiek a 0,030 mg Hg/kg svaloviny. V uvedenej lokalite bola zistená vysoká prevalencia pasienkových helmintov oviec. Prevalencia sa zvyšovala smerom od kontrolnej lokality po lokalitu najbližšiu emisnému zdroju. Výnimku tvorili *Moniezia* spp. a *Strongyloides papillosus*, kde hodnoty v lokalite 2 boli nižšie ako v kontrolnej lokalite. Prevalencia *Trichostrongylus* spp. a *Cooperia* spp. bola vo všetkých lokalitách rovnaká. Priemerná intenzita infekcie takisto stúpala s minimom v kontrolnej lokalite a maximom v lokalite 1. Výnimku tvorili *D. dentriticum* a *S. papillosus*, pri ktorých bola v lokalite 2 zaznamenaná najvyššia resp. najnižšia priemerná intenzita. Celkový počet helmintov bol v kontrolnej lokalite najnižší (348 exemplárov) v lokalite 2 vyšší (522 exemplárov) a najvyšší v lokalite 1 (785 exemplárov). Pri vysokých hodnotách ortuti na trávnom poraste pasienka, dochádza u pasúcich sa zvierat k zvýšenej kumulácii ortuti v organizme oviec, hlavne v parenchymatóznych orgánoch (pečeň, obličky) s následným oslabením imunity organizmu, čo sa prejavilo zvýšenou prevalenciou a priemernou intenzitou väčšiny pasienkových helmintov.

ovce; ťažké kovy; ortuť; prevalencia; intenzita infekcie

### ÚVOD

Medzi toxikologicky najvýznamnejšie kontaminanty životného prostredia patria, vedľa zlúčenín kadmia

a olova, i zlúčeniny ortuti. Ich zvýšená koncentrácia v jednotlivých zložkách ekosystému – voda, pôda, rastliny a i., predstavuje riziko poškodenia fyziologických funkcií organizmov. Chronický škodlivý účinok ťaž-

kých kovov sa často prejavuje skrytými, klinicky ne-manifestnými účinkami (imunopatologické zmeny, teratogenita až karcinogenita a i.)

Vzhľadom na to, že produkty hospodárskych zvierat slúžia pre výživu ľudí, preto je potrebné sledovať obsah ortute, ako aj ďalších kovových prvkov v tkanivách a orgánoch zvierat z hľadiska potencionálneho ohrozenia zdravia človeka.

Ku kontaminácii zvierat ortuťou na Slovensku dochádza predovšetkým emisiami z úpravní komplexných rúd (Fabián a i., 1984; Bencko a i., 1984; Rosival a i., 1984; Borošková a i., 1993). Podľa zahraničných údajov (Lodénus a Tulisalo, 1984) emisie z podobných závodov kontaminujú svoje okolie do vzdialenosti 20–100 kilometrov.

V organizme zvierat je ortuť prítomná predovšetkým vo forme monometyl zlúčeniny, pritom obsah metylortute na celkovom obsahu ortute v svalovine je až 90 % (Hirokatsu a Atsuschi, 1984). Z toho vyplýva, že do potravinového reťazca vstupuje biologicky naúčinnější, vysoko toxická, metylovaná ortuť (Buck a i., 1980). Významné sú toxické účinky ortute na obličky a pečeň (Trump a i., 1976). Spôsobuje cytogenetické zmeny v rastúcich a vyvíjajúcich sa bunkách (Ramel, 1969), je schopná prenikať cez placentárnu bariéru (Clarkson a i., 1972; Reynolds a Pitkin, 1976) a vylučuje sa mliekom (Ardátová a Bakum, 1976; Várnagy, 1977).

Koncentrácia ortute v organizme stúpa v závislosti na veku (Nriagu, 1979). Jej toxicita závisí od chemickej formy a druhu postihnutého zvieratá, dávky, frekvencie a trvania prívodu do organizmu (Underwood, 1977). Toxicitu a reziduá tak organickej ako anorganickej ortuti redukuje stopový prvok selén (Aoi a i., 1985).

Z uvedených údajov vyplýva, že ortuť je významným a aktuálnym kontaminantom životného prostredia. V dostupnej literatúre je málo prác zaoberajúcich sa vplyvom imisí ťažkých kovov na prevalenciu a priemernú intenzitu infekcie pasienkových helmintov prežívavcov. Krupicer a Peško (1992) sledovali prevalenciu pasienkových helmintov oviec v imisnej oblasti ťažkých kovov s dominanciou ortuti.

Cieľom práce bolo sledovať prevalenciu a priemernú intenzitu pasienkových helmintov oviec pri rôznom stupni imisného zaťaženia prvkami ťažkých kovov s dominanciou ortuti.

## MATERIÁL A METÓDY

Na dvoch hospodárstvach vzdialených 3 a 6 km od emisného zdroja – závodu na výrobu ortuti (lokality 1 a 2) a na kontrolnom hospodárstve mimo emisného spádu, boli z pasienkov ležiacich v nadmorskej výške 535–750 m a spásaných ovcami od mája do októbra odobraté pred začiatkom pasenia vzorky porastu. Tráva 1,5 cm nad povrchom pôdy bola odstrihnutá a vzorky pri hmotnosti 100 g vložené do mikroténových vrecú-

šok. Celkove bolo odobratých 30 zoriek trávy (po 10 zoriek z pasienkov zasiahnutých imisiami a 10 z kontrolného pasienka). V stádach oviec pasúcich sa v uvedených lokalitách bolo náhodne vybraných a označených po 10 oviec plemena zošlachtená valaška vo veku tri až päť rokov. Zvieratá boli pred začiatkom pasenia odčervené Vermitanom 2,5% suspenziou v doporučenej dávke s následnou koprologickou kontrolou o sedem dní. Po skončení pasienkovej sezóny koncom októbra boli zvieratá odporazené a bola na nich vykonaná úplná helmintologická pitva tráviaceho aparátu. Súčasne boli odobraté vzorky parenchymatóznych orgánov (pečeň, obličky) a svalovina na vyšetrenie množstva ortuti.

Množstvo ortuti v odobraných vzorkách biologického materiálu a na tráve bolo stanovené metódou atómovej absorpčnej spektrometrie na jednoúčelovom analyzátore TMA 254 (fy Tesla Holešovice). Obsah ostatných sledovaných kovov Pb, Cd, Cu, Zn, a Cr metódou AAS v uzavretom systéme po predchádzajúcej mechanickej homogenizácii a následnej mineralizácii. Analýzy boli robené na prístroji Varian Spectr. AA 30 P. Koncentrácia ortuti a ostatných kovov bola vyjadrená na kg čerstvo analyzovaného tkaniva resp. kg trávy.

Referenčné hodnoty (maximálne prípustné hodnoty) uvádzame podľa Hygienických predpisov č. 69. sv. 61/1986 (Smernice o cudzorodých látkach v požívatinách).

## VÝSLEDKY

Koncentrácia Hg na trávnom poraste bola závislá na vzdialenosti od emisného zdroja (tab. I). Najvyšší priemerný obsah Hg na tráve sme zistili v lokalite 1 vzdialenej 3 km od emisného zdroja (4,298 mg Hg/kg). Priemerný obsah ortuti v pečeni oviec bol v tejto lokalite 0,346 mg Hg/kg tkaniva s maximálne zistenou hodnotou 0,521 mg Hg/kg ž. h. a minimálnou 0,219 mg Hg/kg. V obličkách sme zaznamenali v uvedenej lokalite priemerný obsah ortuti 0,589 mg H/kg tkaniva s maximálnou hodnotou 0,789 mg Hg/kg a minimálnou 0,365 mg Hg/kg. V svalovine sme zaznamenali u oviec z lokality 1 priemernú koncentráciu ortuti 0,030 mg Hg/kg, maximálne 0,039 a minimálne 0,010 mg Hg/kg svaloviny.

V lokalite 2 vzdialenej 6 km od emisného centra bol priemerný obsah ortuti na trávnom poraste 0,513 mg Hg/kg s maximálnou hodnotou 0,614 mg Hg/kg, v pečeni oviec z uvedenej lokality bol priemerný obsah ortuti 0,162 mg Hg/kg s maximálnou hodnotou 0,516 mg Hg/kg, v obličkách bol priemerný obsah ortuti 0,209 mg Hg/kg ž. h. s maximálnou hodnotou 0,632 mg Hg/kg. V kontrolnej lokalite bol obsah ortuti na trávnom poraste, v parenchymatóznych orgánoch a svalovine rádovo pod referenčnými hodnotami

Priemerné koncentrácie ďalších sledovaných kovov a to Pb, Cd, Cu, Zn a Cr na trávnom poraste lokalít

I. Priemerná koncentrácia ortuti na trávnom poraste v parenchymatóznych orgánoch a svalovine oviec v imisej oblasti – Mean mercury concentration in grass stand, in the parenchymatous organs and muscles of sheep in emission area

Lokalita <sup>1</sup>	Tráva <sup>2</sup>	Pečeň <sup>3</sup>	Oblčky <sup>4</sup>	Svaly <sup>5</sup>
L1 $\bar{X}$	4,298	0,346	0,591	0,030
$\pm SD$	1,276	0,105	0,160	0,008
min.	2,723	0,219	0,365	0,010
max.	6,524	0,521	0,789	0,039
L2 $\bar{X}$	0,513	0,162	0,209	0,001
$\pm SD$	0,060	0,122	0,149	0,001
min.	0,389	0,098	0,101	0,001
max.	0,614	0,516	0,632	0,002
K $\bar{X}$	0,040	0,017	0,036	0,001
$\pm SD$	0,027	0,025	0,013	0,001
min.	0,021	0,004	0,016	0,001
max.	0,120	0,021	0,059	0,002

Legenda – Legend:

Referenčné hodnoty obsahu ortuti: tráva – 0,3 mg Hg/kg, pečeň, obličky – 0,1 mg Hg/kg, svalovina – 0,01 mg Hg/kg – Reference values for mercury contents: grass – 0,3 mg kg/Hg, liver, kidneys – 0,1 mg Hg/kg, muscles – 0,01 mg Hg/kg

V každej lokalite bolo vyšetrovaných po 10 oviec – 10 sheep were examined from each locality

L1 – lokalita vzdialená 3km od emisného zdroja, L2 – lokalita vzdialená 6 km od emisného zdroja, K – kontrolná lokalita – L1 – locality distant 3 km from source, L2 – locality distant 6 km from emission source, K – control locality

<sup>1</sup>locality, <sup>2</sup>grass, <sup>3</sup>liver, <sup>4</sup>kidneys, <sup>5</sup>muscles

I a 2 a kontrolnej nedosahovali maximálne prípustné hodnoty. Priemerné koncentrácie uvedených kovov v parenchymatóznych orgánoch a svalovine taktiež nedosahovali referenčné hodnoty a preto ich neuvádzame.

Prevalencia pasienkových helmintov oviec (tab. II) mala vzostupnú tendenciu od kontrolnej lokality smerom k lokalite najbližšej k emisnému zdroju. Len pri *Moniezia* spp. a *Strongyloides papillosus*, boli hodnoty v lokalite 2 nižšie ako v kontrolnej lokalite. U *Trichostrongylus* spp. a *Cooperia* spp. bola prevalencia vo všetkých lokalitách rovnaká.

Priemerná intenzita infekcie (tab. III) mala vzostupnú tendenciu smerom od kontrolnej lokality po lokalitu 1. Výnimku tvorili *Dicrocoelium dentriticum* s najvyššou priemernou intenzitou v lokalite 2 a u *Strongyloides papillosus* s najnižšou priemernou intenzitou v lokalite 2. V kontrolnej lokalite bola zaznamenaná najvyššia priemerná intenzita len pri *Cooperia* spp.

Najvyššie rozdiely v priemernej intenzite infekcie medzi lokalitou 1 a kontrolnou lokalitou boli zaznamenané pri *Trichostrongylus* spp. (24,6 ex–13,3 ex), *Ostertagia* spp. (15,4 ex–7,4 ex) a *Nematodirus* spp. (5,1 ex–2,4 ex.)

Celkový počet helmintov v lokalite 1 bol 785 exemplárov, v lokalite 2 bol 522 exemplárov a v kontrolnej lokalite len 348 exemplárov.

II. Prevalencia pasienkových helmintov oviec v imisej a kontrolnej oblasti podľa pitevných analýz – Prevalence of sheep pasture helminths in emission and control areas detected by necropsy analyses

Helminty <sup>1</sup>	Prevalencia <sup>2</sup> (%)		
	L1	L2	K
<i>Dicrocoelium dentriticum</i>	80	70	40
<i>Moniezia</i> spp.	80	30	50
<i>Strongyloides papillosus</i>	80	20	40
<i>Nematodirus</i> spp.	70	60	50
<i>Trichostrongylus</i> spp.	100	100	100
<i>Ostertagia</i> spp.	100	70	40
<i>Cooperia</i> spp.	40	40	40

Legenda: pozri tab. I – Legend: see Table I

<sup>1</sup>helminths <sup>2</sup>prevalence

## DISKUSIA

V práci sme sledovali vplyv ortuti na pasienkové helmintózy oviec. Zvieratá boli na imise zaraženej pastve po odčervení šesť mesiacov.

Pri sledovaní koncentrácie ortuti na trávnom poraste, v parenchymatóznych orgánoch a svalovine zvierat sme zistili nárast v závislosti na vzdialenosti od emisného zdroja. Tieto naše údaje potvrdzujú údaje autorov Vrzgula a Bíreš (1987), ktorí najvyššie koncentrácie ťažkých kovov zaznamenali v parenchymatóznych orgánoch zvierat v hospodárstvach nachádzajúcich sa v tesnej blízkosti emisného zdroja. Naproti tomu Bukovjan a i. (1992) uvádzajú vysoké hodnoty ortuti v tkniavách u zajačej zveri aj mimo emisného spádu ortuti a dávajú to do súvislosti s fungicídmi obsahujúcimi ortuť (Agronal), používaným na morenie osiva obsahujúceho 2 % ortuti.

Väčšina autorov zaoberajúcich sa problematikou ťažkých kovov u voľne žijúcej zveri (Chudík a Maňkovská, 1984; Páv a Márová, 1988; Bukovjan a i., 1992), ale i u domácich prežúvavcov (Fábian a i., 1987) sa zhodujú v tom, že u zvierat v imise zaraženom prostredí dochádza k postupnej kumulácii ťažkých kovov hlavne v parenchymatóznych orgánoch zvierat. Pri našich pozorovaniach sme zistili, že množstvo ortuti je závislé na vzdialenosti od emisného zdroja. U tam pasúcich sa zvierat závisí i od dĺžky pobytu, od množstva prijatej imisie a od veku zvierat. Kuluje sa v parenchymatóznych orgánoch, menej v svalovine.

Podobné výsledky uvádzajú (Bukovjan a i., 1991) s poukazom na to, že ortuť ako organický toxín negatívne vplyva na celkový zdravotný stav voľne žijúcej (srnčej) zvere.

Na porušenie imunity laboratórnych zvierat poukazujú Boršková a i. (1993), ktorí podávali imisie ťažkých kovov s prevalenciou ortuti morčatám a zisťovali po experimentálnej nákuze intenzitu infekcie *Ascaris suum* v pľúcach nešpecifického hostiteľa. Uvádzajú až osemnásobné zvýšenie priemernej intenzity infekcie

Helminty <sup>1</sup>	Lokality <sup>2</sup>	$\bar{X}$	$\pm SD$	min.	max.
<i>Dicrocoelium dentriticum</i>	L1	3,8	2,57	1	8
	L2	5,3	3,26	1	11
	K	3,8	2,05	2	7
<i>Moniezia</i> spp.	L1	2,1	1,27	1	4
	L2	1,3	0,47	1	2
	K	1,2	0,40	1	2
<i>Strongyloides papillosus</i>	L1	6,2	3,12	1	12
	L2	3,3	3,34	1	9
	K	4,2	1,48	2	6
<i>Nematodirus</i> spp.	L1	5,1	2,64	2	9
	L2	2,6	1,60	1	6
	K	2,4	1,02	1	4
<i>Trichostrongylus</i> spp.	L1	24,6	20,54	7	81
	L2	19,1	10,83	9	43
	K	13,3	4,77	8	24
<i>Ostertagia</i> spp.	L1	15,4	8,22	7	35
	L2	11,3	4,94	1	23
	K	7,4	2,97	3	12
<i>Cooperia</i> spp.	L1	4,0	1,59	1	5
	L2	4,0	2,16	1	7
	K	4,5	2,06	2	7

Legenda: pozri tab. I – Legend: see Table I

<sup>1</sup>helminths, <sup>2</sup>locality

u morčiat, ktorým boli experimentálne podávané imisie z oblasti závodu na výrobu ortuti. Krupicera a Peľko (1992) na základe ovoskopického vyšetrenia veľkého počtu oviec (1 241) v oblasti s imisným spádom ortuti zistili zvýšenú prevalenciu väčšiny pasienkových helmintov, v porovnaní s ovcami pochádzajúcimi z oblasti mimo emisného spádu. Tieto údaje boli potvrdené v terajšom experimente, kde sme na základe pitevných analýz v imisne zaťaženej oblasti zaznamenali signifikantné zmeny v prevalencii a v priemernej intenzite infekcie pri väčšine pasienkových helmintóz. Nasvedčujú tomu i absolútne počty helmintov v jednotlivých skupinách zvierat. V prvej skupine zvierat pasúcich sa na pasienku vzdialenom 3 km od emisného zdroja bol viac dvojnásobný počet pasienkových helmintov v porovnaní s kontrolnou lokalitou mimo emisného spádu. Na pasienku vzdialenom 6 km od emisného centra boli absolútne počty helmintov o tretinu vyššie v porovnaní s kontrolnou lokalitou. Z uvedeného vyplynulo, že pri vysokých hodnotách ortuti na tráve pasienkov, dochádza u tam pasúcich sa zvierat k zvýšenej kumulácii ortuti hlavne v parenchymatóznych orgánoch s následným oslabením obranyschopnosti organizmu, čo sa v našom prípade prejavilo zvýšenou intenzitou väčšiny pasienkových helmintov oviec.

V dostupnej literatúre doposiaľ nie sú známe údaje o vplyve imisí ortuti na prevalenciu a intenzitu infek-

cie pasienkovými helmintmi. Môžeme len predpokladať, že chronická intoxikácia zvierat ortuťou na pasienkoch spôsobuje narušenie imunitných procesov zvierat, čo sa prejavilo aj následnou zvýšenou prevalenciou a intenzitou infekcie sledovaných zvierat.

## LITERATÚRA

- AOI, T. – HIGUGHI, I. – KIDOKORO, R. – FUKUMURA, R. – YAGI, A. – OHGUCHI, S. – SASA, A. – HAYHASI, H. – SAKOMOTO, N. – HANAICHI, T.: An association of mercury with selenium in anorganic mercury intoxication. Hum. Toxicol., 1985: 637–642.
- ARDATOVA, A. N. – BAKUM, V. V.: Toksičnosť moloka pri intoxikácii svinomatok granzam. Bjull. Vsesojuz. Inst. Eksp. Vet., 27, 1976: 45–46.
- BENCKO, V. – CIKRT, M. – LENER, J.: Toxické kovy v pracovnóm a životnóm prostredí človeka. Praha, Avicenum 1984: 48–56.
- BOROŠKOVÁ, Z. – BENKOVÁ, Z. – ŠOLTÝS, J. – KRUPICER, I. – ŠIMO, K.: Effects of heavy metals imission on the cellular immunity of guinea pigs with experimental ascariosis. Vet. Parasitol., 47, 1993: 245.
- BUCK, B. – OSWEILER, D. G. – VAN VELDER, G. A.: Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology. Kendal (Hult) Publishing Company, 1980, USA.

- BUKOVJAN, K. – PÁV, J. – KARPENKO, A.: Zjišťování reziduí chemických prvků v orgánech a svalovině srnčí zvěře. *Folia Venat.*, 21, 1991: 67–74.
- BUKOVJAN, K. – BUKOVJANOVÁ, E. – ŠEBESTA, J. – BRYČKOVÁ, E.: Obsahy vybraných těžkých kovů v orgánech a svalovině volně žijících zajíců polních (*Lepus europaeus* Pall.) z oblasti středních a východních Čech. *Folia Venat.*, 22, 1992: 101–112.
- CLARKSON, T. W. – MAGOS, L. – GREENWOOD, M. R.: The transport of elemental mercury in fetal tissues. *Biol. Neonat.*, 21, 1972: 239–244.
- FABIÁN, A. – KÁLDY, A. – RIPPEL, A. – SVIATKO, P.: Obsah některých kovů v tkáních oviec. *Zbor. Štát. Vet. Správy MPVŽ SSR*, 21, 1987: 65–69.
- HIROKHATSHU, A. – ATSCHUSCHI, K.: A method for the determination of trace amounts of methylmercury by combined dithizone extraction and gas chromatography and its application to environmental samples. *Eisei Kagaku*, 31, P – 42, 1985. In: *Proc. 11th Symp. Environmental Pollutants and Toxicology*, October 16–17, 1984, Sapporo, Japan.
- CHUDÍK, I. – MAŇKOVSKÁ, M.: Vplyv znečistenia životného prostredia v SSR na niektoré druhy poľovnej zveri. *Folia Venat.*, 20, 1988: 15–23.
- KRUPICER, I. – PEŤKO, B.: Pasienkové helmintózy oviec v imisnej oblasti závodu na výrobu ortuti. In: *Zbor. Abstr. Aktuálna problematika v diagnostike, prevencii a terapii vnútorných chorôb prežúvavcov*. Košice, 3–4. 6. 1992. 67.
- LODENIUS, M. – TULISALO, E.: Environmental mercury contamination around a chlor-alkali plant. *Bull. Envir. Contam. Toxicol.*, 32, 1984: 439–444.
- NRIAGU, J. O.: *The biogeochemistry of mercury in the environment*. Elsevier North-Holland Biomedical Press 1979.
- PÁV, J. – MÁROVÁ, M.: Výskyt olova, kadmia a rtuti v orgánech a svalovině zajíců. *Folia Venat.*, 18, 1988: 151–167.
- REYNOLDS, A. – PITKIN, R.: Mercury in human maternal and cord blood, placenta and milk. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 151, 1976: 565–567.
- RAMEL, C.: Genetic effects of organic mercury compounds I. Cytological investigation on *Allium roots*. *Hereditas*, 61, 1969: 208–230.
- ROSIVAL, L. – TRUSKA, P. – BALÁŽOVÁ, G. – PALUŠOVÁ, O. – GRUNT, J.: Transplacentárny prechod ortuti u exponovanej populácie. *Českoslov. Hyg.*, 29, 1984: 564–567.
- TRUMP, B. F. – GOLDBLATT, P. J. – STOWEL, R. C.: Studies on necrosis of mouse liver *in vitro*: Ultrastructural alternations in the mitochondria hepatic parenchymal cells. *Lab. Invest.*, 14, 1966: 343–371.
- UNDERWOOD, E. J.: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. New York, San Francisco, London, Academic Press 1977: 95–99.
- VÁRNAGY, L.: Pesticidek okoyta állatmérgezősek és mérgezőesi veszélyek a kulföldi szakirodalom turkében, a higany-vegeuletek állategészségügyi és élelmiszerhigiéniai veszélyei. *Magy. Állatorv. Lap.*, 32, 1977: 255–259.
- VRZGULA, L. – BÍREŠ, J.: Koncentrácia Cu, Fe, Zn, As, Cd a Pb v parenchymatóznych orgánoch oviec pri priemyselnej otrave meďou. *Zbor. Štát. Vet. Správy MPVŽ SSR*, 20, 1987: 39–47.

Došlo 10. 6. 1994

---

*Kontaktná adresa:*

MVDr. Ivan Krupicer, CSc., Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika  
Tel. 095/314 11–13, fax 095/314 14

---

# INFORMACE

## NEJEN NOVÝ FORMÁT

Od letošního ročníku vychází časopis Veterinární medicína nejen ve větším formátu a s novou obálkou, ale i s novým uspořádáním článků, které umožní lepší orientaci zejména zahraničním uživatelům. Názvy článků a jejich anglické souhrny budou vždy na začátku práce, více prací by mělo být uveřejňováno v angličtině a anglický obsah bude oddělen od obsahu českého. To vše jsou však jen formální předpoklady, aby byl časopis přehlednější pro mezinárodní fórum. Větší formát umožní zařazení větších obrázků a přehlednějších grafů. Ani to však není rozhodující pro splnění našeho hlavního úkolu, kterým je zvýšení odborné kvality uveřejňovaných prací, a tím i jejich citování v publikacích jiných autorů. Tento úkol je trvalý a náročný a jeho dosažení nelze očekávat v krátké době. Namáhavé a trpělivé zvyšování úrovně lze však velmi rychle poškodit každou nevydařenou prací, která by přes úsilí lektorů a členů redakční rady byla v časopise uveřejněna. Prosíme proto autory, lektory i čtenáře o pomoc a pochopení. Výhrady lektorů k rukopisům nejsou projevem jejich neváživosti k autorům, ale odrážejí jejich odpovědnost za časopis, která je i v zájmu autorů. Zvýšení impact faktoru časopisu se autorů bezprostředně týká, pomáhají jej udržet nebo zvýšit, případně mohou být i příčinou jeho snížení a tím i snížení prestiže časopisu. Autorům lze doporučit aktivní rozeslání separátů jejich prací všem, o kterých je známo z osobních kontaktů i z literatury, že se stejným tématem zabývají. K rozeslaným separátům je možno přiložit informaci o možnostech rychlého uveřejňování práce zahraničních autorů ve Veterinární medicíně a nabídku předplatného pro knihovny partnerských pracovišť (je možno vyžádat v redakci).

Proč je pro naše pracoviště ve výzkumu vydávání Veterinární medicíny důležité? Práce, která projde lektorským řízením může být uveřejněna již za dva až tři měsíce a výsled-

ky výzkumné práce tak mohou být u zájemců skutečně během krátké doby. To je důležité nejen pro jejich rychlé uplatnění a pro zkrácení doby, za kterou mohou být výsledky citovány, ale i pro doložení výsledků, k jejichž získání přispěla některá grantová agentura, pro kterou může být uveřejnění v odpovědně lektorovaném časopise hlavní nebo i jediné kritérium splnění cíle podporovaného projektu. Proto je nutno vysokou úroveň časopisu a krátkou dobu od předložení rukopisu do jeho uveřejnění považovat za společný zájem autorů i vydavatele.

Jak k tomu mohou všichni partneři přispět? Autoři zejména kvalitou práce, která se musí odrazit v přesvědčivých a dobře zpracovaných výsledcích. Na připomínky lektorů musí autoři odpovídat rychle a jednoznačně: nemohou-li je přijmout, musí uvést svoje odborné a přesvědčivé důvody. Lektorů budou častěji vyznačovat svoje výhrady přímo v textu a jejich posudky se omezí na stručné shrnutí výhrad. Je nutno počítat i s tím, že uveřejnění práce může být odmítnuto i bez uvedení konkrétních důvodů. Výhrady k již uskutečněným pokusům nebo k celkové koncepci práce totiž nelze odstranit úpravou rukopisu.

Česká akademie zemědělských věd a její Odbor veterinárního lékařství udělají vše pro zvýšení úrovně časopisu a přivítají pomoc, připomínky a hlavně dobré rukopisy ze všech pracovišť, na kterých se dosahují výsledky přispívající k novým poznatkům veterinární medicíny. Ročníkem 1994 skončilo společně vydávání časopisu Českou akademií zemědělských věd a Slovenskou akademií zemědělských věd. Děkujeme slovenským kolegům za spolupráci v redakční radě a věříme, že v uveřejňování výsledků ze slovenských i českých pracovišť budeme i nadále pokračovat. Těšíme se na další spolupráci a všem autorům, lektorům i čtenářům přejeme úspěšný nový rok 1995.

*Prof. MVDr. Karel Hruška, CSc., předseda České akademie zemědělských věd  
Prof. MVDr. Zdeněk Věžník, DrSc., předseda Odboru veterinárního lékařství ČAZV*

# INFORMATION

The journal Veterinary Medicine – Czech has adopted a new, larger format and a new outlay allowing its readers a better orientation in English texts. Manuscripts in English, Czech and Slovak are accepted for publication and extended English summaries are provided. The scope includes original papers and review articles as a suitable source for postgraduate studies and adoption of advanced methodology. The submitted manuscripts are reviewed by Czech and foreign collaborators and can be published within two of three months after the final version is approved. The journal is listed in

CURRENT CONTENTS – ABES and its contents are included into many further significant databases and surveys.

The Editor will gratefully accept any foreign contributors' advice aimed at the enhancement of the contents and the form of the journal. Your manuscripts and suggestions will be considered with utmost care and a subscription by the library of your institution will be most welcome. Special conditions have been provided for individual subscribers.

The Editor wishes all authors, reviewers, collaborators, subscribers and readers a happy and prosperous New Year.

*Prof. MVDr. Karel Hruška, CSc., President, Czech Academy of Agricultural Sciences  
Prof. MVDr. Zdeněk Věžník, DrSc., Chairman, Division of Veterinary Medicine, Czech Academy of Agricultural Sciences*

# EFFICIENCY OF THE AZAMETHIPHOS BAITS IN HOUSEFLY (*MUSCA DOMESTICA* L.) COMBATING

## ÚČINNOST' INSEKTICÍDNÝCH NÁSTRAH NA BÁZE AZAMETHIPHOSU PROTI MUCHE DOMÁČEJ (*MUSCA DOMESTICA* L.)

A. Kočišová, E. Para

*University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic*

**ABSTRACT:** The insecticidal baits Muscalik-AZA (dust formulation) and Snip (granulated formulation) contained the active ingredient azamethiphos – 1% and special fly attractant Z-9-tricosen – 0.2%. Toxicity of these baits was monitored in 4 wild resistant strains of *M. domestica* (Diptera: Muscidae) which were marked according to the locality of collection as J, KP, NC and NL and in 1 sensitive strain WHO/SRS.  $KT_{90}$  in resistant strains was in the range from 1.5 to 6.5 hrs at testing of Muscalik-AZA. The efficiency of Muscalik-AZA was manifested with 100% knock-down effect in all tested strains with exception of KP strain after 24 hrs. During the experiments with Snip the greater range of knock-down time for 90% of tested strain was observed.  $KT_{90}$  was in the range from 5 hrs to > 24 hrs. After 24 hrs a range between 83–97% of knock-down effect was found in all tested strains. In field conditions of the weaned piglets rearing, the efficiency of Muscalik-AZA in flies highly resistant to azamethiphos was in the range from 14 to 21.9% during 28 days. Efficiency of Muscalik-AZA in the range between 80–91.7% was determined in the delivery room for sows in flies with low resistance to azamethiphos. The biological efficiency of Snip to flies with moderate resistance to azamethiphos was determined in the area of veterinary ambulance. The mean efficiency of Snip was 92.2% during the 28 days of test.

housefly; bait; azamethiphos; biological efficiency; knock-down effect

**ABSTRAKT:** Toxicita insekticídnych nástrah Muscalik-AZA a Snip obsahujúcich účinnú látku azamethiphos a atraktant Z-9-tricosen bola sledovaná na štyroch divokých rezistentných populáciách označených podľa lokality odchyty ako J, KP, NC a NL a jednej citlivej WHO/SRS populácii múch. Pri testovaní nástrahy Muscalik-AZA u rezistentných populácií bol  $KT_{90}$  v rozpätí od 1,5 do 6,5 hodín a jej účinnosť sa 100% knock-down efektom prejavila s výnimkou populácie KP po 24 hodinách.  $KT_{90}$  viac ako 24 hodín bol zaznamenaný pri pokusoch s nástrahou Snip u populácií KP a NC. Percento knock-down efektu tejto nástrahy po 24 hodinách bolo v rozsahu od 83 do 97. V praktických podmienkach predvýkrmu ošpaných s vysokým stupňom rezistencie múch na azamethiphos bola účinnosť nástrahy Muscalik-AZA počas 28 dní v rozpätí od 14 do 21,9 %. Jej účinnosť v rozsahu od 80 do 91,7 % bola zistená v pôrodnici ošpaných, avšak pri nízkom stupni rezistencie múch na azamethiphos. V priestoroch ošetrovne malých a veľkých zvierat veterinárnej nemocnice bola sledovaná biologická účinnosť nástrahy Snip na muchách s miernym stupňom rezistencie na azamethiphos. Priemerná účinnosť tejto nástrahy bola počas 28 dní pokusu 92,2 %.

mucha domáca; azamethiphos; nástraha; biologická účinnosť; knock-down efekt

### ÚVOD

Prevládajúcim trendom a dosiaľ v praxi najrozšírenejšou formou boja so škodlivým hmyzom je ošetrovanie povrchov postrekmi a aerosolizácia prostredia chemickými insekticídami. Vznikajúce problémy nedostatočného účinku niektorých kontaktných insekticídov a vývoja rezistencie múch na tieto látky sú motívom hľadania nových, ekologicky vhodných prostriedkov a technológií ničenia škodlivého hmyzu.

Osobitnú pozornosť venujú naši i zahraniční odborníci insekticídnym nástrahám, pretože mnohé v nich použité účinné látky sú pri orálnom pôsobení toxickejšie ako pri pôsobení kontaktnom (Saito, 1992). Vý-

hodou insekticídných nástrah je ich bezpečnosť, šetrnosť k životnému prostrediu a vysoká špecifita, daná predovšetkým zložením nástrahy (Rosický a i., 1989). Účinné látky v nástrahách prakticky neprenikajú do potravinového reťazca (Říha a Štefan, 1990). Ďalšou kladnou vlastnosťou používania nástrah je spomalenie vývoja rezistencie hmyzu (Keiding, 1975; Bajomi, 1988; Chapman, 1993).

Ochrana životného prostredia, ako aj neustále sa zvyšujúca rezistencia múch na organofosfáty, pyretrioidy i karbamáty (Keiding, 1980; Künast, 1980; Rupeš, 1990; Kočišová, 1994) bola podnetom overenia biologickej účinnosti dvoch insekticídných nástrah voči muche domácej v laboratórnych i praktických podmienkach.

## MATERIÁL A METÓDA

### TESTOVANÉ MUŠIE POPULÁCIE

Divoké populácie múch boli odchytené na farmách s chovom ošípaných v okrese Košice-vidiek. V insektáriu boli muchy premiestnené do klietok z pevného drôtu potiahnutých technickým tylom o rozmeroch 20 x 20 x 30 cm a chované pri teplote 26 °C a relatívnej vlhkosti 60 %. Muchy boli krmené glukózou, sušeným mliekom a vodou. Laboratórne pokusy boli robené na F<sub>1</sub> až F<sub>3</sub> generáciách múch vo veku 4–7 dní. Na porovnanie bol použitý citlivý kmeň SRS/WHO (University of Pavia, Italy).

### INSEKTICÍDNE NÁSTRAHY

Muscalik-AZA – pulverizovaná bielo-šedá nástraha, s obsahom 1% azamethiphosu a 0,2% atraktantu Z-9-tricosen, výrobcu Státní statek Votice, ČR. Dávka doporučená výrobcem pre praktickú aplikáciu je 10–15 g na 10 bežných metrov.

Snip – kryštalická žltá-červená nástraha, s obsahom 1% azamethiphosu a 0,2% atraktantu Z-9-tricosen a veľkosťou častíc 1–2 mm, výrobcu CIBA-GEIGY, Švajčiarsko. Doporučená dávka pre praktickú aplikáciu je 10–15 g na 10 bežných metrov.

### STANOVENIE FAKTORA REZISTENCIE

Faktory rezistencie boli určované podľa štandardných metód zisťovania rezistencie (Rupesh et al., 1975) a vypočítané z pomerov LC<sub>50</sub> a LC<sub>95</sub> testovanej a LC<sub>50</sub> a LC<sub>95</sub> citlivej populácie múch. Pri celkovom hodnotení rezistencie boli využité poznatky Kedinga (1980), ktorý ju rozdelil na základe hodnôt faktorov rezistencie (R/S) takto:

Rezistencia	Hodnoty R/S
nízka	< 10
mierna	= 10–40
vyšoká	= 40–160
veľmi vyšoká	> 160

### SLEDOVANIE KNOCK-DOWN EFEKTU

Nástrahy Muscalik-AZA a Snip boli roztrúsené v množstve 0,45 g na kartónový papier o rozmeroch 5 x 20 cm a uložené na dno každej klietky. Snip bol pred použitím zvlhčený vodou. Do každej klietky bolo daných 100 kusov samíc múch slabو narkotizovaných éterom a kelímkom s vodou. Knock-down efekt bol sledovaný v 30minútových intervaloch počas prvých troch hodín, v hodinových intervaloch v nasledujúcich troch hodinách a potom po 24 a 48 hodinách. Jedince, ktoré neboli schopné koordinovať lokomočné pohyby, boli považované za muchy s prejavom knock-down

efektu. KT<sub>90</sub> bol vypočítaný pomocou probitovej metódy (Roth et al., 1962).

Všetky experimenty boli robené pri teplote 25 °C, relatívnej vlhkosti 50 % a za konštantného osvetlenia 100 lx. V tabuľkách a grafoch sú uvedené priemerné hodnoty z troch sledovaní pokusov.

### TERÉNNY POKUS

A. Zamorenosť objektov muchami bola stanovovaná pomocou mucholepiek, ktoré boli vyvesené počas 24 hodín vo vzájomnej vzdialenosti 5 m, vo výške 1 m nad ustajnenými zvieratami v smere diagonálnej osi objektu. Zamorenosť ustajňovacieho a vyšetrovaného priestoru bola vyjadrená ako štatistický priemer múch odchytených v priebehu 24 hodín. Rovnakým spôsobom bol zisťovaný aj počet múch 24 hodín po vložení nástrahy, ako aj na 7., 14., 21. a 28. deň pokusu.

#### B. Aplikácia nástrah:

Muscalik-AZA bol aplikovaný podľa pokynov výrobcu v dávke 10–15 g na 10 bežných metrov posypom na korýtkové misky o dĺžke 1,5–2 m s výškou hrany 5 cm a šírkou 10 cm. Korýtkové misky boli umiestnené vo výške 0,5 m nad ustajnenými zvieratami.

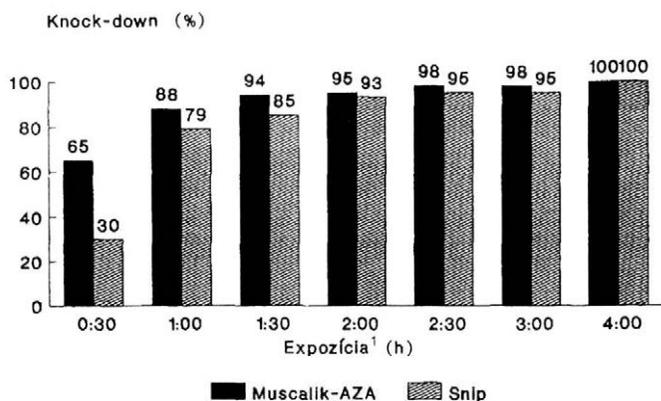
Snip bol rozsypaný na vlhké kartónové papiere o veľkosti 2 x 20 cm v dávke 15 g na 10 bežných metrov. Kartóny s nástrahou boli rovnomerne rozložené v priestoroch ošetrovni veterínárnej nemocnice. Atraktivita nástrahy bola zvýšená zvlhčením povrchu vodou.

### VÝSLEDKY

Obr. 1–5 znázorňujú knock-down efekt nástrahy Muscalik-AZA a Snip jednotlivých populácií testovaných múch. U citlivého kmeňa WHO/SRS sme 100% knock-down efekt zaznamenali po štyroch hodinách od vloženia nástrahy, pričom nástup prejavov „knock-down“ bol u nástrahy Snip pomalší. Knock-down efekt sa po 30 minútach prejavil neschopnosťou pohybu u 30 % populácie, Muscalik-AZA spôsobil lokomočné poruchy u 65 % populácie. Po štvorhodinovom pôsobení nástrahy Muscalik-AZA sme zaznamenali 100% knock-down efekt u rezistentných populácií J a NC, u 66 % populácie NL a 83 % populácie KP boli zistené poruchy koordinácie.

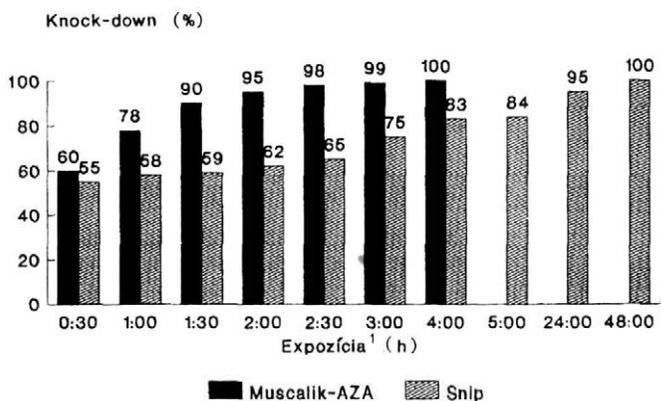
Efekt nástrahy Snip, sa okrem populácie NL prejavil pomalším nástupom lokomočných porúch oproti nástrahy Muscalik-AZA, a to i po 24 hodinách, keď ochrnutých múch bolo od 83 do 95,5 %.

Toxicitu nástrahy Muscalik-AZA a Snip v laboratórnych podmienkach uvádzame v tab. I. U populácií múch KP a NL s nízkym a stredným stupňom rezistencie na azamethiphos sa hodnoty KT<sub>90</sub> pri pôsobení nástrahy Muscalik-AZA pohybovali v rozpätí od 1,5 do 6,5 hodín a pri pôsobení nástrahy Snip od 5 do 24 a viac hodín.



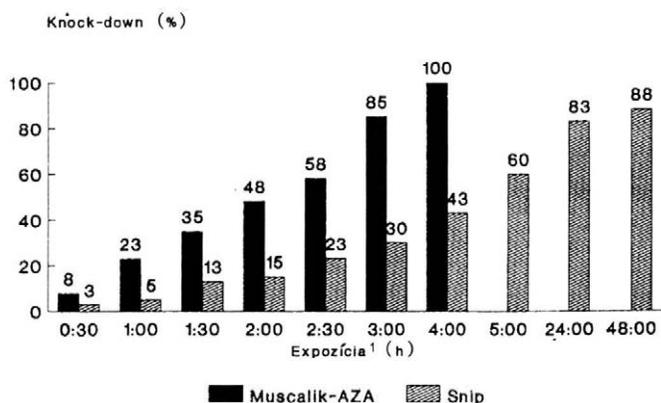
1. Knock-down efekt nástrahy Muscalik-AZA a Snip u citlivého kmeňa WHO/SRS – Knock-down effect of the baits Muscalik-AZA and Snip in sensitive strain WHO/SRS

<sup>1</sup>exposure



2. Knock-down efekt nástrahy Muscalik-AZA a Snip u rezistentného kmeňa J – Knock-down effect of the baits Muscalik-AZA and Snip in resistant strain J

<sup>1</sup>exposure



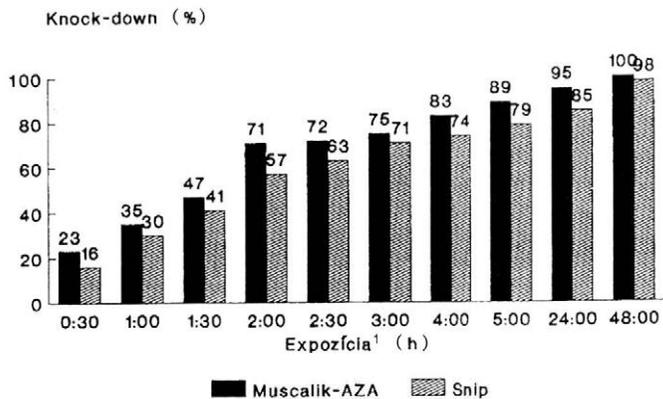
3. Knock-down efekt nástrahy Muscalik-AZA a Snip u rezistentného kmeňa NC – Knock-down effect of the baits Muscalik-AZA and Snip in resistant strain NC

<sup>1</sup>exposure

Tab. II vyjadruje biologickú účinnosť nástrahy Muscalik-AZA počas 28 dní v praktických podmienkach chovu ošípaných. V predvýkrme s vysokým stupňom rezistencie múch na azamethiphos klesol ich počet po 24hodinovej expozícii nástrahy z počiatočného počtu 628 na 507. V priebehu 28 dní sa počet múch pohyboval od 490 do 540. V pôrodnici s nižším stupňom zamorenia a nízkou rezistenciou múch na azamethiphos

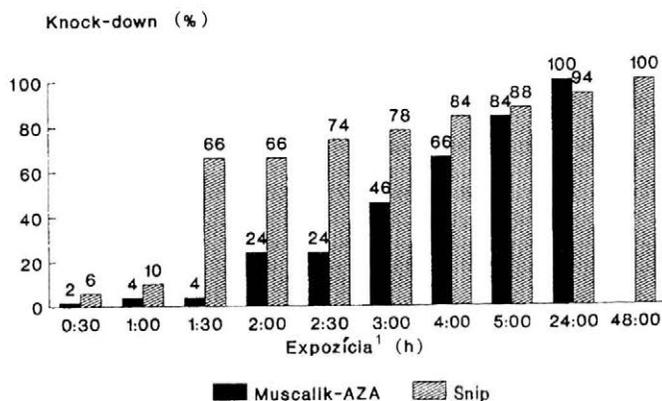
sa v priebehu 28 dní udržiaval priemerný počet múch v rozsahu od 20 do 31 oproti počiatočnému stavu 239. Percentuálne vyjadrenie biologickej účinnosti testovanej nástrahy znázorňuje obr. 6, z ktorého je zrejme, že priemerná účinnosť nástrahy počas 28 dní v pôrodnici bola 88% a v predvýkrme 19%.

Biologická účinnosť nástrahy Snip v priestoroch ošetrovní malých a veľkých zvierat veterinárnej ne-



4. Knock-down efekt nástrahy Muscalik-AZA a Snip u rezistentného kmeňa KP – Knock-down effect of the baits Muscalik-AZA and Snip in resistant strain KP

<sup>1</sup>exposure



5. Knock-down efekt nástrahy Muscalik-AZA a Snip u rezistentného kmeňa NL – Knock-down effect of the baits Muscalik-AZA and Snip in resistant strain NL

<sup>1</sup>exposure

I. Toxicita nástrahy Muscalik-AZA a Snip v laboratórnych podmienkach – Toxicity of Muscalik-AZA and Snip in laboratory conditions

Populácia <sup>1</sup>	Azamethiphos		KT <sub>90</sub> (h)		Knock-down po 24 h (%) <sup>2</sup>		Knock-down po 48 h (%) <sup>3</sup>	
	FR pre LC <sub>50</sub>	FR pre LC <sub>95</sub>	Muscalik-AZA	Snip	Muscalik-AZA	Snip	Muscalik-AZA	Snip
J	3	3	1,5	5	100	97	100	100
KP	19	33	5	>24	95	85	100	97
NC	4	4	3,5	>24	100	83	100	100
NL	10	12	6,5	5,5	100	94	100	100
WHO/SRS	1	1	1	1,7	100	100	100	100

<sup>1</sup>population, <sup>2</sup>knock-down after 24 h (%), <sup>3</sup>knock-down after 48 h (%)

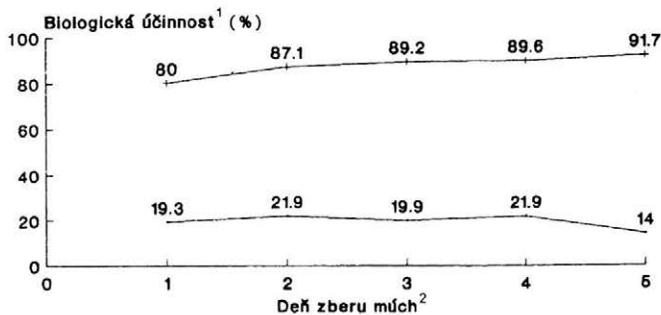
II. Biologická účinnosť nástrahy Muscalik-AZA v praktických podmienkach chovu ošpaných – Biological efficiency of the Muscalik-AZA bait in the practical conditions of pig herd

Miesto účinku <sup>1</sup>	Stupeň rezistencie <sup>2</sup>	Priemerný počet múch pred pokusom <sup>3</sup>	Priemerný počet múch po 24 h <sup>4</sup>	Priemerný počet múch na deň <sup>5</sup>			
				7	14	21	28
Predvýkrm <sup>6</sup>	vysoký (FR = 16/166)	628	507	490	503	490	540
Pôrodnica <sup>7</sup>	nízky (FR = 3/3)	239	48	31	26	25	20

<sup>1</sup>place of effect, <sup>2</sup>degree of resistance, <sup>3</sup>average fly number before trial, <sup>4</sup>average fly number after 24 h, <sup>5</sup>average fly number per day, <sup>6</sup>nursery, <sup>7</sup>delivery room

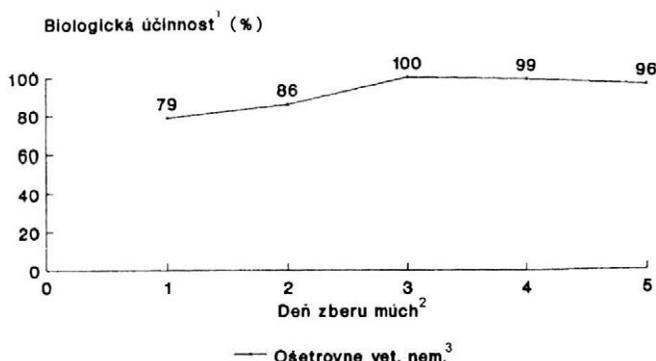
Miesto účinku <sup>1</sup>	Stupeň rezistencie <sup>2</sup>	Priemerný počet múch pred pokusom <sup>3</sup>	Priemerný počet múch po 24 h <sup>4</sup>	Priemerný počet múch na deň <sup>5</sup>			
				7	14	21	28
Malá ošetrovňa <sup>6</sup>	mierny (FR = 9/19)	46	12	2	0	0	3
Veľká ošetrovňa <sup>7</sup>	mierny (FR = 12/18)	57	9	13	0	1	1

<sup>1</sup>place of effect, <sup>2</sup>degree of resistance, <sup>3</sup>average fly number before trial, <sup>4</sup>average fly number after 24 h, <sup>5</sup>average fly number per day, <sup>6</sup>small surgery room, <sup>7</sup>large surgery room



6. Biologická účinnosť nástrahy Muscalik-AZA v podmienkach chovu ošipáných; 1 = 24 h po vložení nástrahy, 2 = po 7 dňoch, 3 = po 14 dňoch, 4 = po 21 dňoch, 5 = po 28 dňoch – Biological efficiency of the Muscalik-AZA bait in the conditions of pig herd; 1 = 24 h after bait application, 2 = after 7 days, 3 = after 14 days, 4 = after 21 days, 5 = after 28 days

<sup>1</sup>biological efficiency, <sup>2</sup>day of fly gathering, <sup>3</sup>nursery, <sup>4</sup>delivery room



7. Biologická účinnosť nástrahy Snip v podmienkach veterinárnej nemocnice; 1 = 24 h po vložení nástrahy, 2 = po 7 dňoch, 3 = po 14 dňoch, 4 = po 21 dňoch, 5 = po 28 dňoch – Biological efficiency of the Snip bait in the conditions of pig herd; 1 = 24 h after bait application, 2 = after 7 days, 3 = after 14 days, 4 = after 21 days, 5 = after 28 days

<sup>1</sup>biological efficiency, <sup>2</sup>day of fly gathering, <sup>3</sup>surgery rooms of veterinary ambulance

mocnice je uvedená v tab. III a jej priemerné percentuálne hodnoty znázorňuje obr. 7. Počas 28 dní pokusu bola priemerná biologická účinnosť nástrahy Snip 92%.

## DISKUSIA

Biologickú účinnosť nástrah v laboratórnych i terénnych podmienkach ovplyvňuje niekoľko faktorov, jedným z ktorých je stupeň rezistencie mušej populácie na účinnú látku použitú v nástrahе (Říha a Štefan, 1990; Barson, 1987, 1989a, b). Zistili sme, že pri vysokom stupni rezistencie múch na azamethiphos bola priemerná biologická účinnosť nástrahy Muscalik-AZA počas 28 dní 19%. Na druhej strane pri nízkom a mierne vysokom stupni rezistencie sa účinnosť testovanej nástrahy v našich experimentoch pohybovala v rozpätí od 88 do 92%.

Říha a Štefan (1990) sledovali účinnosť nástrah na báze azamethiphosu, ktorá bola podľa stupňa rezistencie v priemere od 40 do 90 %, pričom v dvoch objektoch s vysokým stupňom rezistencie bol účinok nástrahy nižší než 40 %. Podobné výsledky dosiahli vo svojich experimentoch aj Freeman a Pinniger (1992), ktorí okrem iného zistili, že muchy fyziologicky rezistentné na azamethiphos sú schopné identifikovať túto látku v nástrahе a vyhnúť sa jej prijímaniu. Ide o vyvinutie tzv. „behavioural“ rezistencie, ktorá sa objavuje spolu s biochemicko-fyziologickými mechanizmami rezistencie.

Ďalším faktorom, ktorý výrazne ovplyvňuje účinnosť nástrah je ich aplikačná forma. Z obr. 1–4 vyplýva, že pôsobenie jemnejšej, pulverizovanej formy nástrahy Muscalik-AZA malo za následok rýchlejší nástup porúch lokomočných pohybov oproti kryštalickej nástrahе Snip. Tento fakt si môžeme vysvetliť tým,

že prijímanie nástrahy vo forme prášku je pre muchy zrejme ľahšie ako prijímanie azamethiphosu z kryštálikov, hoci zvlhčených vodou. Vo svojich pokusoch B a j o m i a i. (1988) potvrdili, že nástraha v jemnejšej forme je muchami lepšie prijímaná a dosahujú sa ňou lepšie výsledky ako nástrahou v kryštalickej forme. Príjem nástrahy môže byť ovplyvňovaný tiež čistotou účinnej látky použitej v nástrahе, ako aj návnadovým materiálom. Napríklad cukor a voda kladne ovplyvňujú príjem potravy, zatiaľ čo soľ tento inhibuje (Diet-hier, 1976).

Stupeň zamorenosti objektov muchami je ďalším z faktorov ovplyvňujúcim účinnosť nástrah (Ř í h a a Š t e f a n, 1990). Aj v našich pokusoch pri vysokom zamorení priestoru sa po prekrytí aktívnej plochy nástrahy uhynutými muchami táto stala pre ostatné jedince neatraktívnou.

## LITERATÚRA

BAJOMI, D. – ERŐSS, J. – JUHÁSNÉ SASVÁRI, K.: A házi légy elleni védekezés lárvaírtó szerek és imágók elleni mérgezett csalétek alkalmazásával zárt baromfi – és sertésistállókban. Magyar állatorvosok lapja, 43, 1988: 547–554.

BARSON, G.: Laboratory assessment of different methods of applying a commercial granular bait formulation of methomyl to control adult houseflies (*Musca domestica* L.) in intensive animal units. Pestic. Sci., 19, 1987: 167–177.

BARSON, G.: Response of insecticide-resistant and susceptible houseflies (*Musca domestica* L.) to a granular bait formulation containing methomyl. Med. and Vet. Entomol., 3, 1989a: 29–34.

BARSON, G.: Laboratory evaluation of the toxicity of bomyl and methomyl to susceptible and multi resistant strains of houseflies (*Musca domestica* L.). Pestic. Sci., 27, 1989b: 85–96.

DIETHIER, D.: The hungry fly – a physiological study of the behaviour associated with feeding. Harvard University Press 1976: 499 s.

FREEMAN, Z. A. – PINNIGER, D. B.: The behavioural responses of three different strains of *Musca domestica* (*Diptera: Muscidae*) to alfalfa bait in the laboratory. Bull. Entomol. Res., 82, 1992: 471–478.

CHAPMAN, P. A. – LEARMOUNT, J. – MORRIS, A. W. – MCGREEVY, P. B.: The current status of insecticide resistance in *Musca domestica* in England and Wales and the implications for housefly control in intensive animal units. Pestic. Sci., 39, 1993: 225–235.

KEIDING, J.: Problems of housefly (*Musca domestica*) control due to multiresistance to insecticides. J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immun., 19, 1975: 340–355.

KEIDING, J.: Status of resistance in houseflies, *Musca domestica*. In: WHO expert committee on resistance vectors and reservoirs of disease, Geneva, 3.–9. jún 1980: 12 s.

KOČIŠOVÁ, A. – PARA, L. – PETROVSKÝ, M.: Rezistencia muchy domácej na organofosfáty v okrese Košice. Živoč. Výr., 39, 1994: 357–364.

KÜNAST, C.: Das Stallfliegenproblem. Untersuchungen zur Insektizidresistenz bei der Streifenfliege (*Musca domestica* L.) in Süddeutschland. BMTV, 10, 1980: 191–193.

ROSICKÝ, B. – DANIEL, M. et al.: Lékařská entomologie a životní prostředí. Praha, Academia 1989. 437 s.

ROTH, Z. – JOSÍFKO, K. – MALÝ, L. – TRČKA, K.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, 1962. 589 s.

RUPEŠ, V. – PŘÍVORA, M. – RETTICH, F.: Metody zjišťování rezistence k insekticidům u zdravotně významných členovců. Acta Hyg., Epidem. Microbiol., Příl. 14, 1975. 26 s.

RUPEŠ, V.: Některé údaje o současném stavu rezistence k insekticidům u mouchy domácí v ČSFR. In: Zbor. Ref. X. celostátní seminář DDD, Vyškov, 16.–17. 10. 1990: 97–100.

ŘÍHA, J. – ŠTEFAN, J.: Návnadové insekticidy k hubení mouchy domácí (*Musca domestica* L.). Živoč. Výr., 35, 1990: 651–654.

SAITO, K. – MOTOYAMA, N. – DAUTERMAN, W. C.: Effect of synergists on the oral and topical toxicity of azamethiphos to organophosphate-resistance houseflies (*Diptera: Muscidae*). J. Econ. Entomol., 85, 1992: 1041–1045.

Došlo 28. 6. 1994

---

### Kontaktná adresa:

MVDr. Alica Kočíšová, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika  
Tel. 095/321 11–15, fax 095/76 76 75

---

# SURVIVAL OF THE MODEL HELMINTH *ASCARIS SUUM* EGGS IN THE SLUDGE DRYING BEDS OF SEWAGE TREATMENT PLANTS

## PREŽÍVANIE VAJÍČOK MODELOVÉHO HELMINTA *ASCARIS SUUM* V KALOVÝCH POLIACH ČISTIARNÍ ODPADOVÝCH VÔD

P. Plachý, P. Juriš

*Parasitological Institute of the Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic*

**ABSTRACT:** In the period between June 1992 and May 1993 the survival of nonembryonated eggs of *A. suum* was studied in two sludge drying beds of sewage treatment plants (STP) under different climatic-geographical conditions: STP Michalovce in the East Slovak Lowland (elevation 111 m above sea-level) and STP Poprad in the submontane area of the Poprad valley (elevation 695 m). Sludge drying beds of both sewage treatment plants (STP) showed different survival of eggs (Fig. 1). In STP Michalovce we detected a rapid reduction in viable eggs from October through December (from 80.4% at the initiation of the experiment to 19.8% in December 1992). Later this decrease became less rapid and at the end of the experiment, after 240 days only 5% of eggs were viable. In STP Poprad the viability of eggs was reduced rather gradually, and after 320 days of exposure 36% of viable *A. suum* eggs were still recorded. Sludge dry matter in STP Poprad increased from 2.2% to 14.2% and in STP Michalovce from 4.1% to 19.2% at the termination of the experiment. Sludge pH showed no marked variation in both STPs, ranging between 7.1 and 7.8. The percentage of sludge organic matter was higher in STP Poprad, ranging from 55 to 75%, than in STP Michalovce, with 34–31%. We studied the correlation coefficients (Tab. I) of exposure time, air temperature, sludge drying bed temperature at 10 cm depth, pH, dry matter (Figs. 2 and 3) to the viability of model *A. suum* eggs. The most important factors reducing viability of eggs in STP Poprad were exposure time and dry matter ( $P < 0.01$ ). Other factors showed no statistically significant influence. In STP Michalovce, in addition to exposure time and dry matter ( $P < 0.01$ ) also sludge pH, drying bed temperature and air temperature statistically significantly ( $P < 0.05$ ) affected the viability of eggs. Percentage of organic substance in the sludge of both sewage treatment plants had no effect on the devitalization of the model pathogens.

sewage treatment plants; sludge drying beds; survival of *Ascaris suum* eggs

**ABSTRAKT:** V období od júna 1992 až do mája 1993 sme sledovali prežívanie neembryonovaných vajčiek *Ascaris suum* v kalových poliach dvoch čistiarní odpadových vôd (ČOV) v rôznych klimaticko-geografických podmienkach: ČOV Michalovce na Východoslovenskej nížine (nadmorská výška 111 m) a ČOV Poprad v podhorskej oblasti Popradskej kotliny (nadmorská výška 695 m). V kalovom poli ČOV Michalovce sme po 240 dňoch sledovania zistili 5 % vitálnych vajčiek, ale v kalovom poli ČOV Poprad bolo po 320 dňoch expozície vitálnych ešte 36 % vajčiek *Ascaris suum*. Zistili sme korelačné koeficienty expozičného času, teploty ovzdušia, teploty kalového poľa v hĺbke 10 cm, pH, sušiny a percento organických látok v kale vo vzťahu k vitalite modelových zárodokov *Ascaris suum*. Najvýznamnejšími faktormi v ČOV Poprad znižujúcimi vitalitu vajčiek boli expozičný čas a sušina ( $P < 0,01$ ). Vplyv ostatných nebol štatisticky významný. V ČOV Michalovce okrem významného vplyvu expozičného času a sušiny ( $P < 0,01$ ), štatisticky významne ( $P < 0,05$ ) vplývali na vitalitu vajčiek aj pH kalu, teplota kalového poľa a ovzdušia. Vplyv percenta organických látok v kale na devitalizáciu modelových zárodokov nebol, podobne ako v ČOV Poprad, štatisticky významný.

čistiarne odpadových vôd; kalové polia; prežívanie vajčiek *Ascaris suum*

### ÚVOD

Na zníženie deficitu organických látok v poľnohospodársky využívannej pôde sa okrem exkrementov hospodárskych zvierat používajú aj kaly z čistiarní odpadových vôd (ČOV). Výhodou ich aplikácie je, že okrem saturácie pôdy živinami rieši sa tak aj vzrastajúci problém využitia a likvidácie čistiarenských kalov, vedľajšieho produktu čistenia odpadových vôd.

V odpadových vodách sa mimo znečisťujúcich látok obligátne vyskytujú aj biologické patogény, ktorých skladba a počet je veľmi variabilný a závisí na množstve lokálnych faktorov (Reimers a i., 1985; Strauch a i., 1988).

Preto je v posledných desaťročiach venovaná zvýšená pozornosť čisteniu odpadových vôd aj z aspektu devitalizácie biologických patogénov. Hays (1977), Pedersen (1982), Plachý a Juriš (1993) a iní

dochádzajú k záveru, že súčasné technológie čistenia nezabezpečujú spofahlivú devitalizáciu biologických patogénov. Týka sa to najmä zárodok s vysokou tenacitou, medzi ktoré patria predovšetkým propagatívne štádiá endoparazitov.

Terminálnym stupňom spracovania kalov, schopným devitalizovať biologické patogény, sú kalové polia, kde počas niekoľkých mesiacov dochádza k odvodňovaniu a vysušaniu kalov. V našich podmienkach je tento spôsob vysušania kalov najčastejšie využívaný, avšak je málo poznatkov týkajúcich sa doby prežívania zárodok parazitov počas expozície kalov v kalových poliach. Stanovenie tejto doby je veľmi významné z hygienicko-epizootologického hľadiska, aby nedochádzalo prostredníctvom kalov k diseminácii propagatívnych zárodok endoparazitov do prostredia. Ak sú kaly aplikované na poľnohospodársky využívanú pôdu, najmä na trvalé trávne porasty a krmoviny, môže dochádzať k nakazeniu zvierat, napr. zárodkami *Taenia saginata* vyvolávajúcimi cysticerkózu hovädzieho dobytká, zárodkami *Ascaris* spp. vyvolávajúcimi askariózu a u netypických hostiteľov, napr. mladého hovädzieho dobytká, atypické pneumónie (Fitzgerald, 1962; McGraw a Lautenslager, 1971).

V našej práci sme sa zamerali na sledovanie prežívania zárodok endoparazitov v kalových poliach ČOV v dvoch pre Slovensko typických lokalitách. Ako sledovaný model sme použili neembryonované vajíčka *Ascaris suum* – zárodky endoparazitov s najvyššou tenacitou.

## MATERIÁL A METÓDY

V období rokov 1992–1993 sme sledovali prežívanie vajíčok *A. suum* v dvoch kalových poliach čistiarní odpadových vôd v Michalovciach a Poprade. Uvedené ČOV sú mechanicko-biologického typu s anaeróbnou stabilizáciou kalov. Stabilizované kaly sú vysušané v kalových poliach, resp. časť kalov v ČOV Poprad sa zahusťuje v kalovej centrifúge (fy AlfaLaval). Kapacitou patria obidve ČOV k stredne veľkým čistiarniam odpadových vôd. Kapacita ČOV Michalovce je 89 000 ekvivalentných obyvateľov (EO) a ČOV Poprad 74 000 EO. Geograficky sa nachádzajú v rôznych lokalitách; ČOV Michalovce na Východoslovenskej nížine (nadmorská výška 111 m) a ČOV Poprad v podhorskej oblasti Popradskej kotliny (nadmorská výška 695 m).

Neembryonované vajíčka *A. suum* sme získali pitvou distálnej časti materníc pohlavne zreých samíc a rozptýlili sme ich v 100 ml destilovanej vody (asi 5 000 vajíčok v 1 ml). Po premiešaní s približne 5 ml kalu sme ich zabalili do kaprónovej tkaniny (oká veľkosti 40  $\mu$ m) a uzavreli v plastovom púzdre gufového tvaru s otvormi do pláštia veľkosti 1,5–2,0 mm na zabezpečenie kontaktu s prostredím. Púzdra s vajíčkami sme vkladali do kalových polí (do hĺbky 10 cm), napustených kalom 24 hodín pred začiatkom experimentov. Experiment v ČOV Poprad sme začali v júni 1992

a ukončili sme ho v máji 1993 (320 dní). Experiment v ČOV Michalovce sme začali v auguste 1992 a ukončili v apríli 1993 (po 240 dňoch). Počas tohto obdobia sme urobili celkom sedem kontrolných odberov v ČOV Poprad a päť odberov v ČOV Michalovce. Pri kontrolnom odbere sme vybrali päť púzdiar a z nich sme izolovali vajíčka metódou podľa Čerepanova (1982). Jej princípom je spracovanie vzoriek kalu sedimentáciou a následnou flotáciou nasýteným cukrovým roztokom m. h. 1 300. Izolované vajíčka sme inkubovali v termostate pri teplote 24 °C po dobu 21 dní do invázneho štádia. Ako kultivačné médium sme použili destilovanú vodu pričom vajíčka, umiestnené na hodinových sklíčkach, sme každý deň prevzdušňovali.

Počas experimentu bola zaznamenávaná teplota v kalových poliach registračným zariadením ZEPAKOD. Teplotu ovzdušia sme získali z údajov priľahlých staníc Hydrometeorologického ústavu. Fyzikálno-chemické parametre kalov (sušina a pH) boli stanovené podľa ČSN 83 0550.

Štatisticky sme zhodnotili závislosť sledovaných parametrov vo vzťahu k vitalite modelových zárodok *t*-testom korelácie.

## VÝSLEDKY

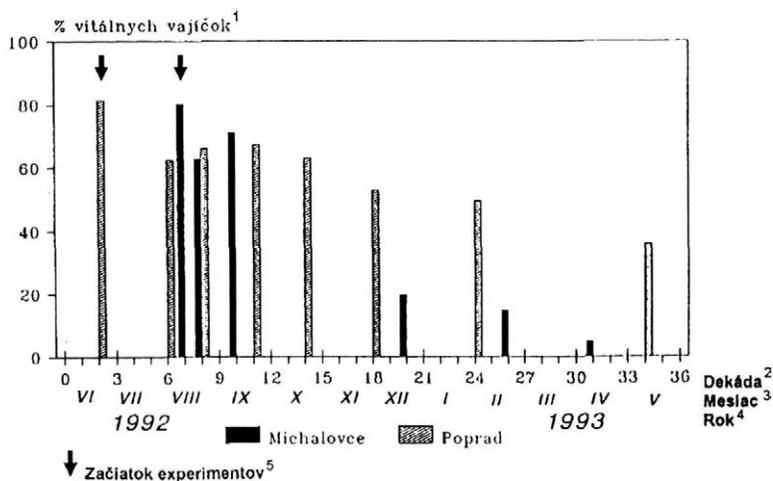
Prežívanie vajíčok v kalových poliach bolo v oboch ČOV rozdielne (obr. 1). V ČOV Michalovce sme zistili rýchly pokles vitality vajíčok v mesiacoch október až december (z 80,4 % na začiatku experimentu na 19,8 % v decembri 1992). Potom tento pokles bol už pozvolnejší a na konci experimentu, po 240 dňoch sledovania sme zistili 5 % vitálnych vajíčok. V ČOV Poprad pokles vitality bol pomerne plynulý a po 320 dňoch expozície sme zistili ešte 36 % vitálnych vajíčok *A. suum*. Sušina kalov v ČOV Poprad sa zvýšila z 2,2 na 14,2 % a v ČOV Michalovce zo 4,1 na 19,2 % po skončení experimentu. pH kalov sa v oboch čistiarniach výrazne nezmenilo a pohybovalo sa v rozpätí 7,1 až 7,8. Percento organických látok v kale, ktoré bolo v ČOV Poprad vyššie a pohybovalo sa v rozpätí 55 až 75 % a v ČOV Michalovce bolo nižšie a pohybovalo sa v rozpätí 34 až 31 %.

Vajíčka izolované z kalov oboch ČOV v priebehu celého sledovaného obdobia boli neembryonované a vo vývoji pokračovali až po izolácii a kultivácii v termostate.

Priemerné dekadné teploty v kalovom poli, priemerné dekadné, maximálne a minimálne dekadné teploty ovzdušia v ČOV Michalovce v sledovanom období boli aj napriek nižšej lokalite len o málo rozdielne ako v ČOV Poprad (obr. 2 a 3).

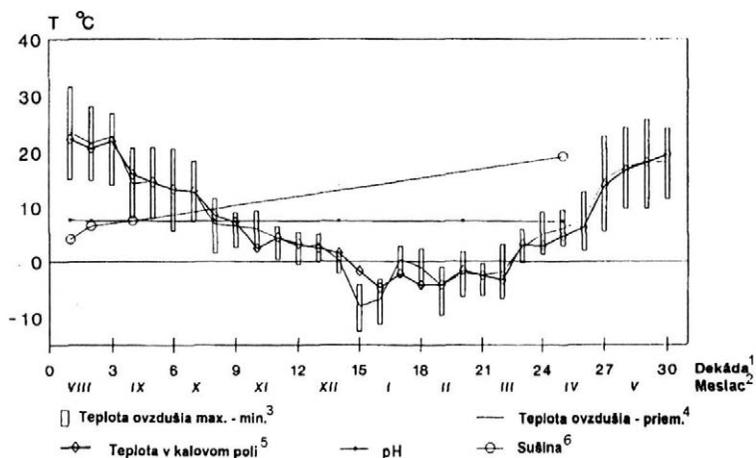
Z nameraných hodnôt sme vypočítali korelačné koeficienty expozičného času, teploty ovzdušia, teploty kalového poľa v hĺbke 10 cm, pH, sušiny a percenta organických látok v kale vo vzťahu k vitalite modelových zárodok *A. suum*.

Štatistickú významnosť korelačných koeficientov sme testovali *t*-testom korelácie. Z údajov uvedených



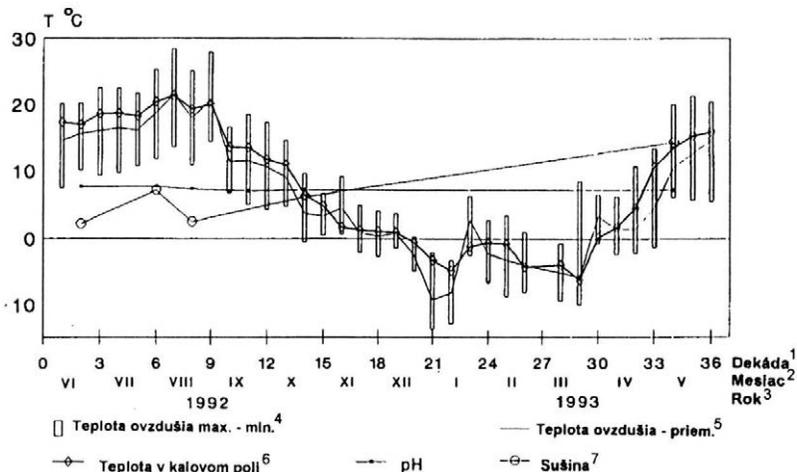
1. Prežívanie vajčiek *A. suum* v kalových poliach – Survival of *A. suum* eggs in drying beds

<sup>1</sup>% of vital eggs, <sup>2</sup>decade, <sup>3</sup>month, <sup>4</sup>year, <sup>5</sup>beginning of experiments



2. Priebeh teplôt v lokalite Michalovce – The course of temperatures in Michalovce location

<sup>1</sup>decade, <sup>2</sup>month, <sup>3</sup>air temperature max. - min., <sup>4</sup>air temperature - average, <sup>5</sup>temperature in drying beds, <sup>6</sup>dry matter



3. Priebeh teplôt v lokalite Poprad – The course of temperatures in Poprad location

<sup>1</sup>decade, <sup>2</sup>month, <sup>3</sup>year, <sup>4</sup>air temperature max. - min., <sup>5</sup>air temperature - average, <sup>6</sup>temperature in drying beds, <sup>7</sup>dry matter

	ČOV <sup>1</sup> Poprad	ČOV Michalovce
Čas <sup>2</sup>	-0,9069**	-0,9666**
Sušina kalu <sup>3</sup>	-0,9132**	-0,9731**
pH kalu <sup>4</sup>	-0,6706	0,8355*
Teplota kalového poľa <sup>5</sup>	0,5510	0,8141*
Teplota ovzdušia <sup>6</sup>	0,6124	0,8690*
Organické látky v kale <sup>7</sup>	0,4435	-0,2020

\* =  $P \leq 0,05$

\*\* =  $P \leq 0,01$

<sup>1</sup>sewage treatment plant, <sup>2</sup>time, <sup>3</sup>sludge dry matter, <sup>4</sup>sludge pH, <sup>5</sup>temperature of sludge drying bed, <sup>6</sup>air temperature, <sup>7</sup>organic matters in sludge

v tab. I vyplýva, že v ČOV Poprad štatisticky najvýznamnejšími faktormi znižujúcimi vitalitu vajčiek boli expozičný čas a sušina ( $P < 0,01$ ). Vplyv ostatných parametrov nebol štatisticky významný. V ČOV Michalovce okrem štatisticky významného vplyvu expozičného času a sušiny ( $P < 0,01$ ), štatisticky významne ( $P < 0,05$ ) na devitalizáciu vajčiek vplývalo aj pH kalu, teplota kalového poľa a ovzdušia. Vplyv percenta organických látok v kale na devitalizáciu modelových zárodkov nebol, podobne ako v ČOV Poprad, štatisticky významný.

## DISKUSIA

Z výsledkov našich experimentov vyplýva, že expozičný čas skladovania resp. vysušania kalov, spolu so zvyšovaním sušiny kalov, významnou mierou vplýva na devitalizáciu testovaných zárodkov v rôznych klimaticko-geografických podmienkach Slovenska. V nížinných podmienkach (ČOV Michalovce) sa signifikantne prejavil aj vplyv pH, teploty ovzdušia a teploty kalového poľa. Pomerne vysoké percento (36 %) vitálnych vajčiek po 320 dňoch vysušania kalov v kalových poliach ČOV Poprad v porovnaní z ČOV Michalovce (5% vitalita po 240 dňoch) podľa nášho názoru bolo podmienené predovšetkým rýchlejšim nárastom sušiny kalov v nížinnej oblasti Michaloviec, kde v zimnom období vplyvom nižšej snehovej pokrývky a nižších teplôt dochádzalo k výmrazu kalov a následnému zníženiu sušiny. Dá sa predpokladať, že okrem vyššie uvedených faktorov parciálne mohli vplývať i ďalšie faktory ako klimatické (vlhkosť, intenzita a dĺžka slnečného svitu atď.), popri prípade ako uvádza napr. K a n e s h i r o a S t e r n (1984) aj technologické vplyvy spracovania kalov v predchádzajúcom technologickom procese (účinnosť stabilizácie).

Uvedení autori v laboratórnych podmienkach pri konštantnej teplote 25 °C zistili 100% devitalizáciu vajčiek parazitov po 10 až 16 mesiacoch. Pri teplote 4 °C však časť vajčiek zostávala stále vitálna aj po 25 mesiacoch uskladnenia v kaloch. S t r a u c h a i., (1981) zis-

tili prežívanie vajčiek *A. suum* po aplikácii kalu na lesnú pôdu v rozpätí 78 až 107 dní.

P e d e r s e n (1982) poukazuje na fakt, že dĺžka prežívania zárodok endoparazitov v kalových poliach závisí na lokálnych faktoroch a to najmä na klimaticko-geografických. V krajinách s aridným podnebním dochádza k ich devitalizácii oveľa rýchlejšie ako v krajinách mierneho a chladného pásma. Aj v rámci týchto klimatických pásiem existujú rozdiely týkajúce sa dĺžky prežívania zárodok endoparazitov v kalových poliach.

Všetky izolované zárodky *A. suum* z kalových polí boli neembryované, čo vysvetľujeme absenciou kyslíka po anaeróbnej stabilizácii a jeho spotrebovaním organickými látkami v kale počas skladovania v nádržiach a na kalových poliach. Avšak nielen absencia kyslíka, ale ako uvádza S i v i n s k i (1975), celkový protektívny účinok kalov na vajčka helmintov pred pôsobením žiarenia a teploty, má významnú úlohu pri prežívaní zárodok helmintov. Takýto efekt na ontogénezu nemá napríklad pôda, keď J u r i š a i. (1991) zistili, v rovnakej klimaticko-geografickej oblasti Východoslovenskej nížiny, že s výnimkou zimného obdobia, prebieha ontogéza vajčiek *A. suum* v pôde až do embryonovaného štádia (po 200 dňoch expozície v pôde).

Vplyv na devitalizáciu zárodok parazitov v kalových poliach má i ich samotné technické prevedenie (kvalita drenáže, hĺbka) i správna technológia napuštania kalu, keď napríklad opätovné dopĺňanie kalového poľa na vrstvu čiastočne vysušeného kalu vytvorí kalovú krustu, ktorá dokonale izoluje pred abiotickými a biotickými vplyvmi prostredia a predlžuje tak čas devitalizácie zárodok endoparazitov. Zistenie tohto devitalizačného času v dvoch typických lokalitách Slovenska nám poukazuje na potrebu vypracovania legislatívy, ktorá by sa týkala aplikácie kalov na poľnohospodársku pôdu aj z aspektu zárodok endoparazitov. Je nám známy zvýšený záujem poľnohospodárov z lokalít, kde nie je prekročený obsah ťažkých kovov v kaloch, o ich využitie ako lachného, a v porovnaní s priemyselnými hnojivami v súčasnosti, cenovo bezkonkurenčného hnojiva. Túto ich snahu je potrebné

uvítať, avšak v záujme ochrany životného prostredia a ochrany zdravia hospodárskych zvierat, v nadväznosti i na naše predchádzajúce sledovania v tejto oblasti v klimaticko-geografických podmienkach Slovenska (Plachý a Juriš, 1993, 1994), je treba pri aplikácii kalov z kalových polí brať do úvahy i faktor prežívania zárodokov endoparazitov.

*Táto práca bola čiastočne financovaná Grantovou agentúrou SAV, grant 2/132/94.*

## LITERATÚRA

ČEREPANOV, A. A.: Instrukcia po laboratornomu kontrolju čistných sooruzenij na životnovodčeskich kompleksach. Moskva, Kolos 1992.

ČSN 83 0550 Chemický a fyzikálny rozbor kalov. 1985.

FITZGERALD, P. R.: The pathogenesis of *Ascaris lumbricoides* var. *suum* in lambs. Amer. J. Vet. Res., 23, 1962: 731–736.

HAYS, B. D.: Review paper potential for parasitic disease transmission with land application of sewage plant effluents and sludges. Water Res., 7, 1977: 583–595.

JURIŠ, P. – BREZA, M. – SCHMIDTOVÁ, D. – VENGLOVSKÝ, J.: Diseminácia a prežívanie zárodokov endoparazitov v životnom prostredí. Veter. Med. (Praha), 36, 1991: 665–671.

KANESHIRO, E. S. – STERN, G.: Survival of parasite eggs in stored sludge, U. S. EPA, Cincinnati, Ohio, EPA/ 600/2-85/42, 1985: 1–89.

McGRAW, B. M. – LAUTENSLAGER, J. P.: Pneumonia in calves associated with migrating *Ascaris suum* larvae. Can. Vet. J., 12, 1971: 87–90.

PEDERSEN, D. H.: Effectiveness of sludge treatment processes in reducing levels of bacteria, viruses, and parasites. In: WALLIS, P. M. – LEHMANN, D. L. (eds.): Biological health risks of sludge disposal to land in cold climates. Univ. of Calgary Press 1982: 9–33.

PLACHÝ, P. – JURIŠ, P.: Problematika komunálnych odpadových vôd urbánnej oblasti Košíc z aspektu helmintologického. Českoslov. Hyg., 38, 1993: 27–33.

PLACHÝ, P. – JURIŠ, P.: Riziká prenosu zárodokov helmintov na poľnohospodársku pôdu, Slov. Vet. Čas., XIX, 1994: 15–18.

REIMERS, R. S. – LITTLE, M. D. – ENGLANDE, A. J. – McDONELL, D. B. – BOWAN, B. B. – HUGHED, M. M.: Investigation of parasites in sludges and disinfection techniques. U. S. EPA, Cincinnati, Ohio, EPA/ 110/1-85/022, 1985: 1–232.

SIVINSKI, H. D.: Treatment of sewage sludge with combination of heat and ionizing radiation (thermoradiation). In: Proc. Symp. Radiation for the clean environment. Vienna, Inter. Atom. Energy Agency 1975: 151–167.

STRAUCH, D. – KÖNIG, W. – PHILIPP, W. – EVERS, F. H.: Untersuchungen über die Tenazität von Salmonellen und Askarideneiern bei der Ausbringung von Klärschlamm in Waldbeständen. Zbl. Bakt. Parasitenk. Infektionskrank. Hyg., Abt. 1, R. B, 174, 1981: 461–470.

STRAUCH, D.: Disinfection of sewage sludge in the Federal Republic of Germany. In: Proc. of the 6th International Congress on Animal Hygiene, Skara, Sweden, 1988: 587–591.

Došlo 3. 6. 1994

---

### Kontaktná adresa:

MVDr. Peter Plachý, Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika  
Tel. 095/314 11–13, fax 095/314 14, Email plachy @ ccsun. tuke. sk

---

## VÝZNAMNÉ ŽIVOTNÉ JUBILEUM PROF. MVDR. JÁNA ELEČKA, CSc.



Dňa 12. januára 1995 sa dožíva významného životného jubilea 70 rokov emeritný vedúci pôrodnicej kliniky Katedry reprodukcie hospodárskych zvierat Vysoké školy veterinárskej v Košiciach a bývalý vedúci Oddelenia reprodukcie hospodárskych zvierat

Ústavu experimentálnej veterinárnej medicíny v Košiciach, známa osobnosť, vysokoškolský pedagóg, vedec, popredný odborník v oblasti fyziológie a patológie rozmnožovania domácich zvierat prof. MVDr. Ján Elečko, CSc.

Pochádza z viacčlennej roľníckej rodiny z Trhovišťa na Zemplíne. Študoval na gymnáziu v Michalovciach a po ukončení Vysoké školy veterinárskej v Brne, roku 1951 nastúpil ako odborný asistent na novozaloženú Vysokú školu veterinársku v Košiciach. Od začiatku svojho pôsobenia na VŠV v Košiciach sa podieľal na budovaní kliniky pôrodnice a gynekológie a príprave výučby. V roku 1959 bol poverený prednášaním študijnej disciplíny pôrodnice domácich zvierat. V roku 1962 bol menovaný za zástupcu docenta, v roku 1964 sa habilitoval docentom a v roku 1967 úspešne obhájil kandidátsku dizertačnú prácu a získal vedeckú hodnosť kandidáta vied (CSc.). V roku 1964 bol menovaný za vedúceho pôrodnicej kliniky Katedry pôrodnice, gynekológie a umelej inseminácie. V roku 1972 bol menovaný za mimoriadneho profesora a v roku 1980 za profesora pre vedný odbor pôrodnice a gynekológia.

Klinické a experimentálne vedeckovýskumné práce jubilanta z odboru pôrodnice a chorôb mláďat rozširujú poznatky o patológii gravidity, pôrodu a puerpéria, predovšetkým u kráv a prasníc. V rámci pôsobenia na ÚEVM výskumné práce venoval riadeniu reprodukcie kráv a oviec, so zameraním na výrobné technológie s vyššou koncentráciou. Pod vedením prof. Elečka sa významne obohatili poznatky a vypracovali účinné metódy a postupy riadenej reprodukcie zvierat biotechnickej povahy. Jubilantom vedený kolektív za dosiahnuté výsledky v oblasti riadenej reprodukcie oviec dostal v roku 1986 Cenu predsedu SK VTRI.

Vo verejno-prospešnej oblasti patril medzi angažovaných učiteľov školy. V rokoch 1964–1968 vykonával funkciu prodekanu pre pedagogickú prácu a v rokoch 1988–1989 funkciu prorektora pre pedagogickú činnosť. Bol členom Vedeckej rady VŠV a ÚEVM v Košiciach, členom Celoštátnej komisie expertov pre veterinárne štúdium pri MŠ ČSR a SSR, členom a podpredsedom komisie pre obhajobu kandidátskych dizertačných prác a členom Komisie pre obhajobu doktorských prác a ďalších odborných komisií. Svoje schopnosti a skúsenosti uplatnil ako tajomník veterinárnej komisie pri SPA a v neskoršom období ako podpredseda veterinárneho odboru pri ČSAZ a člen redakčnej rady vedeckého časopisu Veterinárna medicína. Za prácu v odbore veterinárneho lekárstva ČSAZ bola mu udelená bronzová a strieborná plaketa za zásluhy o rozvoj vedy a výskumu. V roku 1990, po dovŕšení 65 rokov odišiel do dôchádzky, pričom udržiava stály kontakt s pracovníkmi katedry ako aj s oddelením teriogenológie a genetiky zdravia zvierat ÚEVM v Košiciach.

V deň životného jubilea prof. MVDr. Ján Elečko, CSc. sa pripájajú všetci jeho žiaci a spolupracovníci z UVL a ÚEVM v Košiciach ku ďalším gratulantom s prianím do ďalších rokov veľa pevného zdravia a životného optimizmu.

*I. Maraček a J. Kačmárik*

Vet. Med. – Czech, 40, 1995 (1): 28

# PLASMID ANALYSIS OF INOSITOL AND RHAMNOSA NEGATIVE STRAINS OF *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

## CHARAKTERISTIKA PLAZMIDOVÉHO PROFILU INOZITOL A RHAMNÓZA NEGATIVNÍCH KMENŮ *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

A. Čížek<sup>1</sup>, I. Mikula<sup>2</sup>, V. Kovaříková<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

**ABSTRACT:** *S. typhimurium* isolates obtained during a large outbreak of human salmonellosis associated with smoked mackerels in the Czech Republic as well as strains of *S. typhimurium* isolated from black headed gull (*Larus ridibundus*) were examined following biotyping, phage typing, plasmid profiling and restriction endonuclease analysis (Eco RI, Hind III and Bam HI) of plasmid DNA. The epidemic strain of *S. typhimurium* and two isolates from environment of nesting colony black-headed gull were meso-inositol and L-rhamnose negative, phage type 141. The isolates from human and environment of nesting colony were found to share the same plasmid profile and REA.

*Salmonella typhimurium*; DNA; plasmid; restriction endonuclease; *Larus ridibundus*, biotyping; phage typing

**ABSTRAKT:** Byla provedena charakteristika biotypu, fagotypu, analýza plazmidových profilů a restrikční analýza plazmidové DNA čtyř kmenů *Salmonella typhimurium*, izolovaných v průběhu salmonelové epidemie z lidí a potravy (uzená makrela). Do studie bylo také zařazeno devět kmenů *S. typhimurium* izolovaných z racků chechtavých (*Larus ridibundus*) a prostředí, které dávaly při předběžné biotypizaci shodné výsledky s kmenem epidemického typu. Analýza plazmidových profilů ukázala, že všechny kmeny vlastní plasmid o Mr 90 kb. Pro dva kmeny byla charakteristická přítomnost plasmidu 2,4 kb. Po štěpení plazmidové DNA restrikčními endonukleázami Eco RI, Hind III a Bam HI vykazoval kmen epidemického typu shodu v restrikčně endonukleázových profilech s dvěma kmeny izolovanými z prostředí hnízdní kolonie racka chechtavého. U ostatních kmenů byla zjištěna jen částečná podobnost. Kmen epidemického typu (člověk, potravin), kmeny z racků a prostředí patřily ke shodnému biotypu (mezo-inozitol, L-rhamnóza negativní) a fagotypu PT 141.

*Salmonella typhimurium*; DNA; plasmid; restrikční endonukleáza; racek chechtavý; biotypizace; fagotypizace

### ÚVOD

Sérovar *S. typhimurium* je charakterizován různými fenotypově a genotypově odlišnými klony (Nastasi aj., 1993). K diferenciaci těchto klonů slouží různé metody, z nichž k nejvíce užívaným patří biotypizace (Duguid aj., 1975), fágová typizace (Callow, 1959) a analýza plazmidového profilu (Taylor aj., 1982).

Skupina kmenů *S. typhimurium*, která neštěpí mezo-inozitol a L-rhamnózu a současně netvořící fimbrie typu 1, byla autory Morgenroth a Duguid (1968) označena jako FIRN kmeny. Anderson aj. (1978), kteří zjišťovali korelaci mezi biotypy, fagotypy a původem kmenů *S. typhimurium*, prokázali vysoký výskyt FIRN kmenů mezi izoláty z ptáků. U savců byl výskyt takových kmenů značně nižší.

Význam plazmidů v patogenitě salmonel (Baird aj., 1985) a při určování příbuznosti kmenů (Smarth aj., 1988; Holoda a Mikula, 1993) byl popsán

celou řadou autorů. Při ověřování identity kmenů salmonel jsou využívány rovněž metody restrikční analýzy DNA (Rychlík aj., 1993).

V této studii jsou hodnoceny znaky, které mají umožnit posouzení vzájemné příbuznosti kmenů *S. typhimurium* izolovaných během salmonelové epidemie, která proběhla v České republice v srpnu 1993 a za jejíž zdroj byla označena uzená makrela. Do studie byly zařazeny také kmeny *S. typhimurium*, izolované z racků chechtavých (Litérák aj., 1992) a prostředí, které dávaly při předběžné biotypizaci shodné výsledky s kmenem epidemického typu.

### MATERIÁL A METODY

#### BAKTERIÁLNÍ KMENY

*S. typhimurium*: R79, R110, R57, R98, R95, R105, R83 – izoláty z racků chechtavých.

*S. typhimurium*: L61628, L61485 – izoláty z lidí.  
*S. typhimurium*: 1307, 1308 – izoláty z potravin (uzená makrela).  
*S. typhimurium*: P54, P58 – izoláty z prostředí.

## BIOTYPIZACE

K biotypizaci byly použity testy štěpení D-xylózy v Bitterově půdě, štěpení mezo-inozitolu, L-rhamnózy v peptonové vodě a průkaz fimbrií typu 1 podle popisu autorů Duguid a j. (1975).

## IZOLACE A ANALÝZA PLAZMIDOVÉ DNA

Plazmidová DNA byla extrahována metodou podle autorů Kado a Liu (1981). Kultury pomnožené přes noc v Luria-Bertani (LB) bujónu (Bacto-tryptone 10 g; yeast extract 5 g; NaCl 10 g na litr destilované vody, pH 7,5) byly odsředěny při 5 700 rpm 15 minut při teplotě 4 °C. Sediment buněk byl resuspendován v 1 ml E pufru (40 mM Tris acetát, pH 7,9; 2mM EDTA) a lyzován přidáním 2 ml lyzačního roztoku (3 % SDS; 50 mM Tris, pH 12,6). Za účelem analýzy plazmidových profilů byly extrakty plazmidové DNA podrobeny elektroforéze v 1,2% agarózovém gelu připraveného v pufru pro pulzní elektroforézu 0,5x TAE (zásobní roztok byl připraven v koncentraci 5x : Tris 242 g, kyselina octová 57,1 ml, 100 ml 0,5M EDTA pH 8,0 na 1 l roztoku). Ke stanovení molekulové hmotnosti vysokomolekulární DNA byl použit kmen *E. coli*, který vlastní plazmid pKL7 o molekulové hmotnosti 48,5 kb (Dr. Turňa). Pro zjištění restrikčně endonukleázových profilů byly extrakty plazmidové DNA štěpeny restrikčními endonukleázami Eco RI, Bam HI a Hind III (Fermentas, Litva) podle instrukcí výrobce. DNA byla po obarvení etidiem bromidem (0,5 µg/ml) vizualizována UV světlem a fotografována. Molekulová hmotnost byla odečítána z kalibrační křivky sestavené podle výsledků analýzy DNA fága lambda štěpené restrikčními endonukleázami Eco RI a Hind III.

## FÁGOVÁ TYPIZACE

Kmeny salmonely byly fagotypovány v referenční laboratoři pro salmonely ve Státním ústavu pro bakteriologii a sérologii ve Štýrském Hradci v Rakousku.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Dosažené výsledky jsou shrnuty v tab. I a dokumentovány na obr. 1 a 2. Byla prokázána shoda mezi dvěma epidemickými izoláty (L 61485 a L 61628) a dvěma izoláty *S. typhimurium* získanými ze zdroje salmonelózy (1307 a 1308), a to při hodnocení biotypu, fagotypu, plazmidového profilu a restrikčně endonukleázového profilu (REP) plazmidové DNA.

Shodnost sledovaných znaků u vyšetřených izolátů *S. typhimurium*, které pocházely z klinických případů salmonelózy lidí a z uzených makrel, podpořila závěry epidemiologických depistáží, které označily kontaminovanou šarži uzených makrel za zdroj infekce lidí.

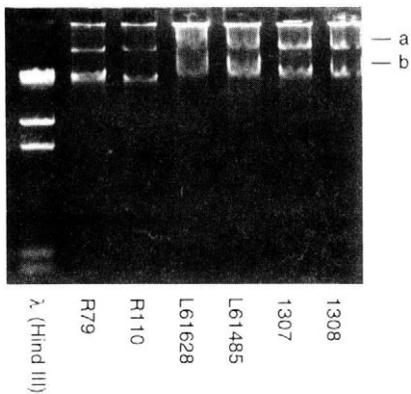
Pro objasnění primárního zdroje kontaminace makrel bylo do této studie zařazeno rovněž sedm kmenů *S. typhimurium*, které byly dříve izolovány z racků chechtavých (L i t e r á k aj., 1992). Dále pak dva kmeny izolované bezprostředně po epidemii z prostředí

I. Výsledky biotypizace, fágové typizace a analýzy plazmidové DNA kmenů *S. typhimurium* – The results of biotyping, phage typing and plasmid DNA analysis of *S. typhimurium* strains

Označení kmene <sup>1</sup>	Biotyp <sup>2</sup>			Fagotyp <sup>3</sup>	Plazmidový profil DNA <sup>4</sup> (kb)	Restrikčně endonukleázový profil plazmidové DNA <sup>5</sup>		
	Bxyl	Ino	Rha			Eco RI	Bam HI	Hind III
I 307	-	-	-	141	90	7 (1,7-21,2)*	4 (4-23)	8 (2,2-23)
I 308	-	-	-	141	90	7 (1,7-21,2)	4 (4-23)	8 (2,2-23)
L 61 485	-	-	-	141	90	7 (1,7-21,2)	4 (4-23)	8 (2,2-23)
L 61 628	-	-	-	141	90	7 (1,7-21,2)	4 (4-23)	8 (2,2-23)
R 110	-	-	-	141	90	8 (1,7-21,2)	4 (4-23)	2 (23-60)
R 79	-	-	-	141	90	7 (1,7-21,2)	4 (4-23)	1 (23)
P 54	-	-	-	141	90	7 (1,7-21,2)	4 (4-23)	8 (2,2-23)
P 58	-	-	-	141	90	7 (1,7-21,2)	4 (4-23)	8 (2,2-23)
R 57	-	+	+	46	90; 2,4	12 (1,7-21,2)	6 (2,1-23)	10 (2,3-23)
R 98	-	+	+	2	90	7 (1,7-21,2)	4 (4-23)	8 (2,2-23)
R 95	-	-	+	132	90	7 (1,7-21,2)	4 (4-23)	1 (23)
R 105	+	+	+	104	90; 2,4	8 (1,7-21,2)	6 (2,3-23)	9 (2,4-23)
R 83	+	-	+	1	90	3 (9,2-21,2)	4 (2,5-23)	1 (23)

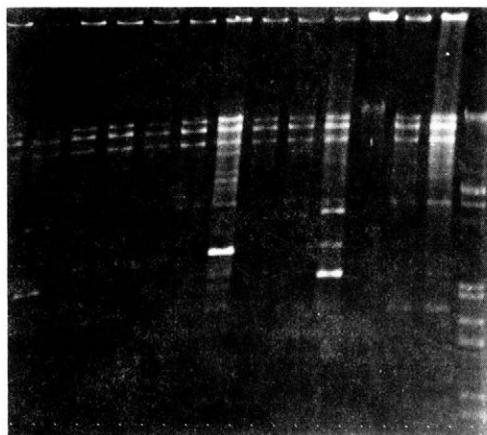
\* – počet fragmentů DNA, hodnoty v závorce udávají rozsah jejich molekulové hmotnosti v kb – number of DNA fragments, ranges of molecular-weight are in parentheses

<sup>1</sup>strain designation, <sup>2</sup>biotype, <sup>3</sup>phagotype, <sup>4</sup>plasmid DNA profile, <sup>5</sup>restriction endonuclease profile of plasmid DNA



1. Profil plazmidové DNA izolované z kmenů *S. typhimurium*; a – plazmidová DNA (90 kb), b = chromozomální DNA – Analysis of *S. typhimurium* plasmid DNA digested with Eco RI; a = plasmid DNA (90 kb), b = chromosomal DNA

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 15



kb  
— 21,22  
— 5,14  
— 3,53  
— 2,02  
— 1,58  
— 1,37  
— 0,94

2. Profil plazmidové DNA izolované z kmenů *S. typhimurium* a štěpené restriční endonukleázou Eco RI – Analysis of *S. typhimurium* plasmid DNA digested with Eco RI

#### Legenda – Legend:

1–13 = profily kmenů *S. typhimurium* – 1–13 = analysis of *S. typhimurium* strains: 1 = R79, 2 = R110, 3 = L611628, 4 = L61485, 5 = 1 307, 6 = 1 308, 7 = R57, 8 = R98, 9 = R95, 10 = R105, 11 = R83, 12 = P54, 13 = P58

15 = fágová DNA (fág lambda) štěpená restričními endonukleázami Eco RI a Hind III (standarda molekulové hmotnosti) – molecular-weight standard – lambda DNA digested with Eco RI a Hind III

hnízdni kolonie racků nedaleko potravinářského výrobního podniku, v němž byla kontaminovaná potravinová výroba. Z těchto kmenů měly shodný biotyp a fagotyp s epidemickým kmenem čtyři, z nichž dva (P54 a P58) měly podobný i REP plazmidové DNA. Všechny analyzované kmeny vlastnily velký plazmid 90 kb, kmeny R 105 a R 57 byly charakteristické přítomností malých plazmidů o molekulové hmotnosti 2,4 kb. REP plazmidové DNA štěpené restričními endonukleázami Eco RI, Bam HI a Hind III ukázaly, že všechny kmeny vlastní velký plazmid 90kb, který je v literatuře popisován jako plazmid pSLT, jehož výskyt u *S. typhimurim* je běžný (Brown aj., 1986). Na základě obdržných výsledků můžeme konstatovat, že izoláty epidemického kmene izolované z uzené makrelky a nemocných lidí, a dva kmeny pocházející z prostředí hnízdní kolonie racka chechtavého, vykazovaly ve sledovaných znacích značnou podobnost. Pro bližší upřesnění příbuznosti epidemického kmene a izolátů z prostředí bude třeba vyšetřit další kmeny podobné charakteristiky dalšími technikami molekulární biologie, např. hybridizační analýzou plazmidové a chromozomální DNA.

#### Poděkování

Autoři práce děkují MVDr. R. Karpíškové ze Státního veterinárního ústavu v Brně a pracovníkům Státního ústavu pro bakteriologii a sérologii ve Štýrském Hradci v Rakousku za fágovou typizaci kmenů salmonel.

#### LITERATURA

- ANDERSON, E. S. – WARD, L. R. – DE SAXE, M. J. – OLD, D. C. – BARKER, R. – DUGUID, J. P.: Correlation of phage type, biotype and source in strains of *Salmonella typhimurium*. J. Hyg., Camb., 81, 1978: 203–217.
- BAIRD, G. D. – MANNING, E. J. – JONES, P. W.: Evidence for related virulence sequences in plasmids of *Salmonella dublin* and *S. typhimurium*. J. Gen. Microbiol., 131, 1985: 1815–1832.
- BROWN, D. J. – MUNRO, D. S. – PLATT, D. J.: Recognition of the cryptic plasmid, pSLT, by restriction fingerprinting and a study of its incidence in Scottish salmonella isolates. J. Hyg., Camb., 97, 1986: 193–197.

- CALLOW, B. R.: A new phage typing scheme for *Salmonella typhimurium*. J. Hyg. Camb., 57, 1959: 346–352.
- DUGUID, J. P. – ANDERSON, E. S. – ALFREDSSON, G. A. – BARKER, R. – OLD, D. C.: A new biotyping scheme for *Salmonella typhimurium* and its phylogenetic significance. J. Med. Microbiol., 8, 1975: 149–166.
- HOLODA, E. – MIKULA, I.: Characterization of plasmid profile in attenuated *Salmonella* strains. Folia Vet., 37, 1993: 27–31.
- KADO, C. T. – LIU, S. T.: Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J. Bact., 145, 1981: 1365–1373.
- LITERÁK, I. – ČÍŽEK, A. – HONZA, M.: Using examinations of young black-headed gulls (*Larus ridibundus*) for the detection of salmonellae in the environment. Acta Vet. (Brno), 61, 1992: 141–146.
- MORGENROTH, A. – DUGUID, J. P.: Demonstration of different mutational sites controlling rhamnose fermentation in FIRN and non-FIRN rha<sup>-</sup> strains of *Salmonella typhimurium*: an assay in bacterial archaeology. Genet. Res., 11, 1968: 151–154.
- NASTASI, A. – MAMMINA, C. – VILLAFRATTE, M. R.: Epidemiology of *Salmonella typhimurium*: ribosomal DNA analysis of strains from human and animal sources. Epidemiol. Infect., 110, 1993: 553–565.
- RYCHLÍK, I. – ŠIŠÁK, F. – LÁNY, P.: Differentiation of *Salmonella enteritidis* and *S. typhimurium* by plasmid profile analysis and restriction endonuclease analysis of chromosomal DNA. Vet. Med. – Czech, 38, 1993: 433–439.
- SMARTH, N. L. – MINIATS, O. P. – McINNIS, J. I.: Analysis of *Haemophilus parasuis* isolates from Southern Ontario swine by restrictive endonuclease fingerprinting. Can. J. Vet. Res., 52, 1988: 319–324.
- TAYLOR, D. N. – WASCHMUTH, I. K. – SHANGUAN, Y. H. – SCHMIDT, E. V. – BARRETT, T. J. – SCHRADER, J. S. – SCHREARACH, S. C. – McGEE, H. B. – FELDMAN, R. A. – BRENNER, D. J.: Salmonellosis associated with marijuana: a multistate outbreak traced by plasmid fingerprinting. N. Engl. J. Med., 306, 1982: 1249–1253.

Došlo 4. 4. 1994

---

*Kontaktní adresa:*

MVDr. Alois Čížek, CSc., Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Palackého 1–3, 61242 Brno, Česká republika  
Tel. 05/41 32 11 07, fax 05/41 21 11 51

---

## POKYNY PRO AUTORY

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem.

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce.

Rozsah vědeckých prací nemá přesáhnout 10 stran psaných na stroji včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI (ČSN 01 1300).

**Vlastní úprava rukopisu** má odpovídat státní normě ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojitě mezery). Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

**Název práce (titul)** nemá přesáhnout 85 úhozů. Je nutné vyvarovat se v něm obecných názvů. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

**Krátký souhrn (Abstrakt)** je informačním výběrem obsahu a závěru článku, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě. Je uveřejňován a měl by být dodán ve stejném jazyce jako vědecká práce.

**Rozšířený souhrn (Abstract)** je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je nutné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

**Úvod** má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce realizována a velmi stručnou formou má být popsán stav studované otázky.

**Literární přehled** má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému. Doporučuje se co nejnižší počet citovaných autorů.

**Metoda** se popisuje pouze tehdy, je-li původní, jinak postačuje citovat autora metody a uvádět jen případné odchylky. Ve stejné kapitole se popisuje také pokusný materiál.

**Výsledky** – při jejich popisu se k vyjádření kvantitativních hodnot dává přednost grafům před tabulkami. V tabulkách je třeba shrnout statistické hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

**Diskuse** obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostatcích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, jejichž práce mají k publikované práci bližší vztah). Je přípustné spojení v jednu kapitolu spolu s výsledky.

**Literatura** musí odpovídat státní normě ČSN 01 0197. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu. Na práce v seznamu literatury musí být odkaz v textu.

Na zvláštním listě uvádí autor plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSČ, číslo telefonu a faxu.

Pokud autor používá v práci zkratky jakéhokoliv druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vysvětleny (vypsány), aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratky nepoužívat.

## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short and a longer summary.

The author is fully responsible for the originality of his paper, for its subject and formal correctness. The author shall make a written declaration that his paper has not been published in any other information source.

The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper.

The paper extent shall not exceed ten typescript pages, including tables, figures and graphs.

**Manuscript layout** shall correspond to the State Standard ČSN 88 0220 (quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript). Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

The **title** of the paper shall not exceed 85 strokes. It is necessary to avoid in the title the usage of common expressions. Subtitles of the papers are not allowed either.

**Abstract** is an information selection of the contents and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes, and comprise base numerical data including statistical data. It should be submitted in English and if possible also in Czech or Slovak.

**Introduction** has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form.

**Review of literature** should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem. It is recommended to cite the lowest possible number of authors.

Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material.

In the section **Results** figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

**Discussion** contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited). The sections Results and Discussion may be presented as one section only.

The citations are arranged alphabetically according to the surname of the first author. References in the text to these citations comprise the author's name and year of publication. Only the papers cited in the text of the study shall be included in the list of references. All citations shall be referred to in the text of the paper.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code.

# VETERINARY MEDICINE – CZECH

Volume 40, No. 1, January 1995

## CONTENTS

Pšíkal I., Zendulková D., Franz J., Lenčuchová L., Ferris N. P.: Comparative between-laboratory trials of the liquid-phase blocking sandwich ELISA for the detection of antibodies to foot-and-mouth disease virus.....	1
Simon M., Dušínský R., Šťavíková M.: Association between BoLA antigens and bovine mastitis.....	7
Krupícer I.: Effect of mercury-dominated heavy metal emission on the course of pasture helminthoses in sheep.....	11
Kočíšová A., Para L.: Efficiency of the azamethiphos baits in housefly ( <i>Musca domestica</i> L.) combating.....	17
Plachý P., Juriš P.: Survival of the model helminth <i>Ascaris suum</i> eggs in the sludge drying beds of sewage treatment plants.....	23
Čížek A., Mikula I., Kovaříková V.: Plasmid analysis of inositol and rhamnosa negative strains of <i>Salmonella typhimurium</i> .....	29
RECENZION	
Říha J., Minář J.: Hypodermosis in cattle.....	6
INFORMATION	
Hruška K., Věžník Z.: Not only a new size.....	16
FROM THE SPHERE OF SCIENCE	
Maraček I., Kačmárik J.: Important Jubilee of Prof. MVDr. Ján Elečko, CSc.....	28

## VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Ročník 40, č. 1, Leden 1995

## OBSAH

Pšíkal I., Zendulková D., Franz J., Lenčuchová L., Ferris N. P.: Posouzení mezilaboratorních výsledků liquid-phase blocking sandwich ELISA při stanovení protilátek proti viru SLAK u skotu.....	1
Simon M., Dušínský R., Šťavíková M.: Asociácia medzi BoLA antigénmi a bovinou mastitídou.....	7
Krupícer I.: Vplyv imisíí ťažkých kovov s dominanciou ortuti na priebeh pasienkových helmintóz oviec.....	11
Kočíšová A., Para L.: Účinnosť insekticídnych nástrah na báze azamethiphosu proti muche domácej ( <i>Musca domestica</i> L.).....	17
Plachý P., Juriš P.: Prežívania vajčiek modelového helminta <i>Ascaris suum</i> v kalových poliach čistiarní odpadových vôd.....	23
Čížek A., Mikula I., Kovaříková V.: Charakteristika plazmidového profilu inozitol a rhamnóza negativních kmenů <i>Salmonella typhimurium</i> .....	29
RECENZE	
Říha J., Minář J.: Sřečkovitost skotu.....	6
INFORMACE	
Hruška K., Věžník Z.: Nejen nový formát.....	16
Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA	
Maraček I., Kačmárik J.: Významné životné jubileum prof. MVDr. Jána Elečka, CSc.....	28

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA ● Vydává Ústav zemědělských a potravinářských informací ● Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 75 41, fax: 02/25 70 90 ● Sazba: Studio DOMINO – ing. Jakub Černý, Pražská 108, 266 01 Beroun, tel.: 0311/240 15 ● Tisk: ÚZPI Praha ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1995

Rozšiřuje Ústav zemědělských a potravinářských informací, referát odbytu, Slezská 7, 120 56 Praha 2