



ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

9

VOLUME 41 (LXIX)
PRAHA
SEPTEMBER 1996
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. ing. Jiří Brož, CSc., Reinfelden, Switzerland

Arnost Cepica, DVM., PhD., Associate Professor (Virology/Immunology), Atlantic Veterinary College, U.P.E.I., Charlottetown, Canada

RNDr. Milan Fránek, CSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

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

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

Doc. MVDr. RNDr. Petr Hořín, CSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MUDr. M. V. Nermut, PhD., DSc. (h. c.), National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom

Prof. MUDr. MVDr. h. c. Leopold Pospíšil, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Prof. RNDr. Václav Suchý, 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., Jilové 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 Veterinární medicína uveřejňuje původní vědecké práce a studie typu review ze všech oblastí veterinární medicíny 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: Agri, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicita: Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 41 vychází v roce 1996.

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, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz. 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 zasílány na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1996 je 492 Kč.

Aims and scope: The journal Veterinární medicína original publishes papers and reviews from all fields of veterinary medicine 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: Agri, 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 41 appearing in 1996.

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, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz. 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 1996 is 115 USD (Europe), 120 USD (overseas).

EVALUATION OF THE PRESENCE OF HARMFUL POLLUTANTS IN FATTENED PIGS

ZHODNOCENÍ VÝSKYTU RIZIKOVÝCH POLUTANTŮ U VÝKRMOVÝCH PRASAT*

J. Raszyk¹, V. Gajdůšková¹, R. Ulrich¹, K. Nezveda¹, A. Jarošová¹, V. Šabatová¹, H. Dočekalová¹, J. Salava², J. Palác², J. Schöndorf²

¹*Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic*

²*District Veterinary Administration, Hodonín, Czech Republic*

ABSTRACT: Fourteen fattened pigs (age of 240–250 days, live weight 110–120 kg) were examined on three farms (D., M. and T.) in Hodonín district in 1994 for the content of some harmful pollutants (mercury, cadmium, lead, lindane, DDT sum, DDT isomers, lower and higher chlorinated biphenyls, PCB congeners) in the muscle, liver, kidneys and subcutaneous fat. Maximum allowable quantities (MAQ) of extraneous matters were slightly exceeded in mercury only, in 5 samples of the muscle (0.012–0.022 mg/kg). In comparison with the average contents of extraneous matters in pigs in the Czech Republic in 1994, higher concentrations of mercury (0.009 mg/kg), lead (0.124 mg/kg), lindane (0.060 mg/kg fat) and DDT sum (0.083 mg/kg) were observed in the muscle of pigs from Hodonín district. The liver of the pigs contained the highest average concentrations of lead (0.141 mg/kg), lindane (0.280 mg/kg fat), DDT sum (0.323 mg/kg fat), p,p'-DDE (0.106 mg/kg fat), p,p'-DDT (0.057 mg/kg fat), PCB-Delor 103 (0.415 mg/kg fat), PCB-Delor 106 (0.561 mg/kg fat) and PCB 118 congener (0.029 mg/kg fat). The highest average values of mercury (0.014 mg/kg) and cadmium (0.147 mg/kg) were determined in the kidneys of pigs. The ratio of lower-chlorinated biphenyls (Delor 103) to higher-chlorinated biphenyls (Delor 106) was approximately 1 : 3 in the muscle, 1 : 1 in the liver and 1 : 2 in subcutaneous fat. The per cent share of three PCB congeners, 101, 138 and 153, was highest in the muscle, liver and subcutaneous fat of pigs. The pigs from Hodonín district exhibited in 1994 the greater load of mercury, lead, lindane and DDT than in other regions of the Czech Republic, but these values did not mostly exceed the hygienic limits in force. It is desirable to observe the spectrum of indicator PCB congeners for objective evaluation of PCB load in pigs, as they indicate the contamination level with lower- and higher-chlorinated biphenyls (Delor 103 to Delor 106). Greater attention should be paid to the congener PCB 118, which is the most toxic out of the indicator congeners concerned.

pigs; muscle; liver; kidneys; fat; mercury; cadmium; lead; lindane; DDT sum; DDT isomers; polychlorinated biphenyls; Delor 103; Delor 106; PCB congeners

ABSTRAKT: V průběhu roku 1994 bylo na okrese Hodonín ve třech chovech prasat (D., M. a T.) vyšetřeno 14 výkrmových prasat (věk 240–250 dní, živá hmotnost 110–120 kg), a to na obsah vybraných rizikových polutantů (rtuť, kadmium, olovo, lindan, suma DDT, izomery DDT, nižší a vyššechlorované bifenylly, kongenery PCB) ve svalovině, játrech, ledvinách a podkožním tuku. Nejvyšší přípustná množství (NPM) cizorodých látek byla mírně překročena pouze u rtuti a to u pěti vzorků svaloviny (0,012–0,022 mg/kg). Ve srovnání s průměrnými hladinami cizorodých látek u prasat v České republice v roce 1994, byly u prasat z okresu Hodonín zjištěny ve svalovině vyšší hladiny rtuti (0,009 mg/kg), olova (0,124 mg/kg), lindanu (0,060 mg/kg tuku) a sumy DDT (0,083 mg/kg tuku). V játrech prasat byly zjištěny nejvyšší průměrné hladiny olova (0,141 mg/kg), lindanu (0,280 mg/kg tuku), sumy DDT (0,323 mg/kg tuku), p,p'-DDE (0,106 mg/kg tuku), p,p'-DDT (0,057 mg/kg tuku), PCB-Deloru 103 (0,415 mg/kg tuku), PCB-Deloru 106 (0,561 mg/kg tuku) a kongeneru PCB 118 (0,029 mg/kg tuku). V ledvinách prasat byly nalezeny nejvyšší průměrné hodnoty rtuti (0,014 mg/kg) a kadmia (0,147 mg/kg). Poměr nižšechlorovaných bifenylů (Delor 103) k vyššechlorovaným bifenylům (Delor 106) byl přibližně ve svalovině 1 : 3, v játrech 1 : 1 a v podkožním tuku 1 : 2. Ve svalovině, játrech a podkožním tuku prasat byly nejvíce zastoupeny tři kongenery PCB a to 101, 138 a 153. Vyšetřená prasata z okresu Hodonín byla v roce 1994 více zatížena rtutí, olovem, lindanem a DDT než v jiných regionech České republiky, ale tyto hodnoty ve velké většině nepřesahovaly platné hygienické limity. K objektivnímu hodnocení zátěže prasat PCB je žádoucí sledovat spektrum indikátorových kongenerů PCB, které zachycují kontaminaci nižší

* Řešení této problematiky bylo finančně podporováno Ministerstvem zemědělství České republiky (úkol A 093 95 0048), Ministerstvem životního prostředí České republiky (projekt GA/1650/93) a Grantovou agenturou České republiky (projekt 525/96/0924).

i výšechlorovanými bifenylly (Delor 103 až Delor 106). Zvýšenou pozornost zasluhuje kongener PCB 118, který je ze sledovaných indikátorových kongenerů nejtoxictější.

prasata; svalovina; játra; ledviny; tuk; rtuť; kadmium; olovo; lindan; suma DDT; izomery DDT; polychlorované bifenylly; Delor 103; Delor 106; kongenery PCB

ÚVOD

V našich předchozích sděleních, týkajících se ekotoxikologické problematiky okresu Hodonín, jsme uvedli poznatky o mutagenitě stájového prostředí (Raszyk aj., 1995), o výskytu rizikových chemických prvků (Raszyk aj., 1996b) a organických polutantů (Raszyk aj., 1996a) ve stájovém prostředí chovů prasat.

Cílem předkládané práce je zhodnotit výskyt vybraných rizikových polutantů ve svalovině, játrech, ledvinách a podkožním tuku výkrmových prasat chovaných na okrese Hodonín v roce 1994 a porovnat tyto nálezy s průměrnými hladinami těchto polutantů u prasat v České republice.

MATERIÁL A METODY

Výskyt rizikových polutantů ve svalovině, játrech, ledvinách a podkožním tuku byl v průběhu roku 1994 sledován u výkrmových prasat tří chovů okresu Hodonín.

Podrobnou charakteristiku sledovaných chovů prasat jsme podali v našich předchozích sděleních (Raszyk aj., 1996a,b). Ve velkovýkrmně prasat D. je chováno 17 000, ve velkochovu prasat M. 10 000 a v chovu prasat T. 1 650 výkrmových prasat. Jde o tři a čtyřplemenné křížence (bílé ušlechtilé, landrase, přeštické a duroc). Ke krmení jsou používány krmné směsi A1, A2 a CDP ve formě suché (chov D.) či tekuté (chovy M. a T.). Voda k napájení prasat pochází z veřejného zdroje (chovy D. a T.) či vlastního zdroje (chov M.).

Vzorky svaloviny, jater, ledvin a tuku byly odebírány při porážce prasat na jatcích, ve věku prasat 240 až 250 dní a hmotnosti těla 110 až 120 kg. Celkem bylo vyšetřeno 14 prasat (sedm prasniček a sedm vepů). V chovech prasat D. a M. po pěti prasatech, v chovu prasat T. čtyři prasata.

Vzorky svaloviny byly odebírány z hýžďových svalů pravé pánevní končetiny, vzorky jater z pravého jaterního laloku, vzorky ledvin z pravé ledviny a vzorky podkožního tuku z hřbetní části těla u úrovně hrudních obratlů.

Kadmium a olovo byly stanoveny atomovou absorpční spektrometrií (AAS) v plameni acetylen-vzduch na přístroji Perkin Elmer (PE 4 000). Rtuť na přístroji Trace Mercury Analyzer (TMA 254, výrobce Vysoká škola chemicko-technologická v Praze) s využitím techniky generace par kovové rtuť s následným zachycením a obohacením v amalgamátoru.

Stanovení chlorovaných pesticidů a polychlorovaných bifenylů (PCB) bylo prováděno po extrakci orga-

nickými rozpouštědly a separací koextraktů adsorpční sloupcovou chromatografií na koloně aktivního Florisilu vysoce rozlišovací kapilární plynovou chromatografií s detektorem ^{63}Ni ECD (Gajdůšková a Ulrich, 1992). Hodnocení analytů bylo prováděno z kalibračních křivek jednotlivých analytických standardů pomocí software DataApex CSW verze 1.0 ve spojení s plynovým chromatografem Varian VISTA 6 000. PCB byly v jednotlivých tkáních hodnoceny jako suma vyjádřená na Delor 103 (nižechlorované bifenylly) a Delor 106 (výšechlorované bifenylly), dále byly kvantifikovány indikátorové kongenery PCB (dle nomenklatury IUPAC) 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180. Suma DDT zahrnuje isomery o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDD, p,p'-DDD, o,p'-DDT, p,p'-DDT.

Obsah cizorodých látek ve svalovině a vnitřních orgánech byl hodnocen podle Směrnice Ministerstva zdravotnictví ČR č. 50/1978 Sb. Hygienické předpisy o cizorodých látkách v poživatinách, ve znění směrnice č. 63/1984 Sb. Hygienické předpisy, sv. 61, č. 69, 1986. Obsah polychlorovaných bifenylů byl posuzován dle nejvyšší přípustných hodnot PCB v poživatinách, tak jak byly stanoveny rozhodnutím hlavního hygienika ČR ze dne 20. 1. 1994, č. j. HEM-359-20.1.94.

K hodnocení výsledků byl použit program STAT Plus, verze 1.01 (Matoušková aj., 1992). Výsledky jsou vyjádřeny v aritmetických průměrech $\pm$ směrodatné odchylky.

VÝSLEDKY

Obsah rtuť, kadmia a olova ve svalovině, játrech a ledvinách výkrmových prasat (chovy D., M. a T.) na okrese Hodonín v roce 1994 je uveden v tab. I.

Nejvyšší přípustná množství (NPM) cizorodých látek byla mírně překročena pouze u rtuť, a to v pěti vzorcích svaloviny prasat z chovu T. (hodnoty v rozmezí 0,012 až 0,022 mg/kg). Ve srovnání s průměrnými hladinami rtuť, kadmia a olova u prasat v České republice v roce 1994 (Valčík, 1995), byly u vyšetřených prasat z okresu Hodonín: průměrné hodnoty rtuť ve svalovině (0,009 resp. 0,001 mg/kg), v játrech (0,010 resp. 0,002 mg/kg) a v ledvinách (0,014 resp. 0,007 mg/kg) vyšší; průměrné hodnoty olova ve svalovině (0,124 resp. 0,041 mg/kg), v játrech (0,142 resp. 0,055 mg/kg) a v ledvinách (0,125 resp. 0,065 mg/kg) vyšší; průměrné hodnoty kadmia ve svalovině, játrech a ledvinách mírně nižší.

Obsah vybraných chlorovaných pesticidů a polychlorovaných bifenylů ve svalovině, játrech a podkož-

I. Obsah rtuti, kadmia a olova ve svalovině, játrech a ledvinách (mg/kg) výkrmových prasat (chovy D., M. a T.) z okresu Hodonín v roce 1994 (průměr ± směrodatná odchylka) – The concentrations of mercury, cadmium and lead in mg/kg in the muscle, liver and kidneys of fattened pigs (farms D., M. and T.) from Hodonín district in 1994 (mean ± standard deviation)

Analyt ¹	Svalovina ² (n = 14)	Játra ³ (n = 13)	Ledviny ⁴ (n = 14)
Rtut ⁵	0,0088 ± 0,0059	0,0100 ± 0,0050	0,0138 ± 0,0084
Kadmium ⁶	0,0079 ± 0,0083	0,0325 ± 0,0095	0,1471 ± 0,0467
Olovo ⁷	0,1236 ± 0,0269	0,1415 ± 0,0733	0,1250 ± 0,0521

¹analyte, ²muscle, ³liver, ⁴kidneys, ⁵mercury, ⁶cadmium, ⁷lead

II. Obsah vybraných chlorovaných pesticidů a polychlorovaných bifenylů ve svalovině, játrech a podkožním tuku (mg/kg tuku) výkrmových prasat (chovy D., M. a T.) z okresu Hodonín v roce 1994 (průměr ± směrodatná odchylka) – The concentrations of some chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls (mg/kg fat) in the muscle, liver and subcutaneous fat in fattened pigs (farms D., M. and T.) from Hodonín district in 1994 (mean ± standard deviation)

Analyt	Svalovina ² (n = 14)	Játra ³ (n = 13)	Podkožní tuk ⁴ (n = 14)
Lindan ⁵	0,0604 ± 0,0438	0,2797 ± 0,1238	0,0410 ± 0,0832
Suma DDT ⁶	0,0832 ± 0,0491	0,3231 ± 0,1846	0,0601 ± 0,0459
PCB (Delor 103)	0,0366 ± 0,0193	0,4154 ± 0,4974	0,0449 ± 0,0833
PCB (Delor 106)	0,1188 ± 0,0709	0,5608 ± 0,3285	0,0937 ± 0,0989

¹analyte, ²muscle, ³liver, ⁴subcutaneous fat, ⁵lindane, ⁶DDT sum

ním tuku výkrmových prasat (chovy D., M. a T.) na okrese Hodonín v roce 1994 je uveden v tab. II.

Nejvyšší přípustná množství vybraných chlorovaných pesticidů a PCB nebyla překročena ani u jednoho vzorku svaloviny, jater a podkožního tuku vyšetřených prasat. V játrech prasat byly zjištěny nejvyšší průměrné hodnoty lindanu (0,280 mg/kg tuku), sumy DDT (0,323 mg/kg tuku), níže chlorovaných bifenylů–Delor 103 (0,415 mg/kg tuku) a výše chlorovaných bifenylů–Delor 106 (0,561 mg/kg tuku). Poměr níže chlorovaných bifenylů (Delor 103) k výše chlorovaným bifenylům (Delor 106) byl přibližně ve svalovině 1 : 3, v játrech 1 : 1 a v podkožním tuku 1 : 2.

Ve srovnání s průměrnými hladinami cizorodých látek u prasat v České republice v roce 1994 (Valčík, 1995) byly u prasat z okresu Hodonín ve svalovině vyšší průměrné hladiny lindanu (0,060; resp. 0,004 mg/kg tuku) a sumy DDT (0,083; resp. 0,030 mg/kg tuku).

Hladiny PCB (Delor 106) ve svalovině prasat na okrese Hodonín (0,119 mg/kg tuku) byly obdobné jako průměrné hodnoty PCB (Delor 106) u prasat v České republice v roce 1994 (0,108 mg/kg tuku).

Obsah vybraných izomerů DDT ve svalovině, játrech a podkožním tuku výkrmových prasat (chovy D., M. a T.) na okrese Hodonín v roce 1994 je uveden v tab. III.

Nejvyšší průměrné hodnoty izomeru p,p'-DDE (0,106 mg/kg tuku) a p,p'-DDT (0,057 mg/kg tuku) byly zjištěny v játrech prasat.

Poměr p,p'-DDE ku p,p'-DDT byl ve svalovině a podkožním tuku přibližně 1 : 1, v játrech 2 : 1.

Obsah vybraných kongenerů PCB ve svalovině, játrech a podkožním tuku výkrmových prasat (chovy D., M. a T.) na okrese Hodonín v roce 1994 je uveden v tab. IV.

Ve svalovině byly v největším množství zastoupeny kongenery PCB 138 (0,019 mg/kg tuku), 153 (0,019 mg/kg tuku) a 101 (0,016 mg/kg tuku). V játrech byly v největším množství zastoupeny kongenery PCB 101 (0,096 mg/kg), 153 (0,093 mg/kg tuku) a 138 (0,076 mg/kg tuku). V podkožním tuku byly v největším množství zastoupeny kongenery PCB 138 (0,014 mg/kg tuku), 101 (0,012 mg/kg tuku) a 153 (0,012 mg/kg tuku).

DISKUSE

Jako průměrné hodnoty některých rizikových polutantů ve svalovině a orgánech prasat v České republice v roce 1994 byly použity údaje Státní veterinární správy České republiky získané při plánovaných vyšetřeních na chemické prvky, pesticidní látky a polychlorované bifenylly (Valčík, 1995). Přitom počet vyšetřených prasat na sledované polutanty se pohyboval v rozmezí 441 až 449 kusů (chemické prvky) a 382 až 440 kusů (chlorované pesticidy, polychlorované bifenylly).

Koncentrace rtuti (Hodonín 0,005; ČR 0,005 mg/kg) a kadmia (H. 0,048; ČR 0,053 mg/kg) v krmných směsích pro prasata na okrese Hodonín (Raszyk aj., 1996b) se prakticky neodlišovaly od jejich průměrných hodnot v krmných směsích v České republice v roce 1994 (Valčík, 1995). Pouze hladina olova v krmných směsích pro prasata na okrese Hodonín byla vyšší než jeho průměrná hodnota v krmných směsích v České republice (H. 0,420; ČR 0,261 mg/kg). Ve stájovém prachu odebraném ve výkrmových halách pro prasata byla hladina olova (8,569 mg/kg) dokonce 20krát vyšší než v krmných směsích pro výkrmová prasata (Raszyk aj., 1996b).

III. Obsah vybraných isomerů DDT ve svalovině, játrech a podkožním tuku (mg/kg) výkrmových prasat (chovy D., M. a T.) z okresu Hodonín v roce 1994 (průměr ± směrodatná odchylka) – The concentrations of some DDT isomers (mg/kg fat) in the muscle, liver and subcutaneous fat in fattened pigs (farms D., M. and T.) from Hodonín district in 1994 (mean ± standard deviation)

Izomer DDT ¹	Svalovina ² (n = 14)	Játra ³ (n = 13)	Podkožní tuk ⁴ (n = 14)
p,p'-DDE	0,0213 ± 0,0107	0,1062 ± 0,0572	0,0159 ± 0,0115
p,p'-DDT	0,0276 ± 0,0152	0,0566 ± 0,0413	0,0184 ± 0,0118

¹DDT isomer, ²muscle, ³liver, ⁴subcutaneous fat

IV. Obsah vybraných kongenerů PCB ve svalovině, játrech a podkožním tuku (mg/kg) výkrmových prasat (chovy D., M. a T.) z okresu Hodonín v roce 1994 (průměr ± směrodatná odchylka) – The concentrations of some PCB congeners (mg/kg fat) in the muscle, liver and subcutaneous fat in fattened pigs (farms D., M. and T.) from Hodonín district in 1994 (mean ± standard deviation)

Kongener PCB ¹	Svalovina ² (n = 14)	Játra ³ (n = 13)	Podkožní tuk ⁴ (n = 14)
28	0,0072 ± 0,0048	0,0463 ± 0,0318	0,0059 ± 0,0079
52	0,0032 ± 0,0025	0,0432 ± 0,0709	0,0074 ± 0,0163
101	0,0158 ± 0,0108	0,0955 ± 0,0563	0,0118 ± 0,0144
118	0,0074 ± 0,0084	0,0291 ± 0,0165	0,0078 ± 0,0132
138	0,0186 ± 0,0124	0,0765 ± 0,0604	0,0135 ± 0,0115
153	0,0186 ± 0,0115	0,0932 ± 0,0713	0,0116 ± 0,0110
180	0,0088 ± 0,0053	0,0410 ± 0,0414	0,0079 ± 0,0105

¹PCB congener, ²muscle, ³liver, ⁴subcutaneous fat

Zvýšené hladiny olova ve svalovině a orgánech prasat na okrese Hodonín jsou pravděpodobně způsobeny jeho zvýšeným příjmem s krmnými směsmi. Nelze však podceňovat i vdechování prachových částic kontaminovaných olovem.

Zvýšené hladiny rtuti ve svalovině a orgánech prasat na okrese Hodonín nejsou způsobeny aktuální kontaminací krmných směsí rtutí. Pravděpodobně se jedná o dlouhodobě přetrvávající kontaminaci stájového prostředí rtutí, způsobenou dřívější neodbornou a nesprávnou manipulací s obilím mořeným fenylmerkurichloridem. Dohledání těchto chronických zdrojů rtuti v chovech prasat je dle našich zkušeností mimořádně obtížné.

Obsah rtuti ve stájovém prachu odebraném ve výkrmových halách pro prasata na okrese Hodonín činil 0,018 mg/kg (Raszyk aj., 1996b). Byl tedy 3,5krát vyšší než v krmných směsích pro výkrmová prasata.

V napájecích vodách pro prasata na okrese Hodonín byly zjištěny čtyřikrát vyšší hladiny rtuti než jsou jejich průměrné hladiny v napájecích vodách pro hospodářská zvířata v České republice (H. 0,0016; ČR 0,0004 mg/l). Příjmem rtuti v napájecí vodě však nelze vysvětlit zvýšené hladiny rtuti ve svalovině a orgánech výkrmových prasat.

Hlavní zdroje rtuti, kadmia a olova v chovech výkrmových prasat na okrese Hodonín jsme podrobně popsal v našem předchozím sdělení (Raszyk aj., 1996b). Souhrnné údaje o obsahu rtuti, kadmia a olova ve tkáních prasat uvádějí Cibulka aj. (1991).

Obsah lindanu (H. 0,054; ČR 0,001 mg/kg) a sumy DDT (H. 0,019; ČR 0,010 mg/kg) v krmných směsích pro prasata na okrese Hodonín (Raszyk aj., 1996a)

byl vyšší než jejich průměrné hodnoty v krmných směsích v České republice (Valcl, 1995).

Koncentrace lindanu v napájecích vodách pro prasata na okrese Hodonín (22,5 ng/l) byla třikrát vyšší než jeho průměrný obsah v napájecích vodách pro hospodářská zvířata v České republice (7,0 ng/l), zatímco obsah sumy DDT byl v napájecích vodách pro prasata na okrese Hodonín nižší (H. 4,0; ČR 14,0 ng/l) – Valcl (1995), Raszyk aj. (1996a).

Hladina lindanu ve stájovém prachu odebraném ve výkrmových halách pro prasata (0,040 mg/kg) byla mírně nižší a obsah sumy DDT (0,026 mg/kg) mírně vyšší než v krmných směsích pro výkrmová prasata (Raszyk aj., 1996a).

Ve svalovině prasat z okresu Hodonín byly hodnoty lindanu a sumy DDT vyšší, než jejich průměrné hodnoty ve svalovině prasat v České republice v roce 1994 (Valcl, 1995).

Na zvýšených hladinách lindanu a sumy DDT ve svalovině výkrmových prasat na okrese Hodonín se mohly podílet tři faktory, a to jejich zvýšený příjem s krmnými směsmi, vdechování kontaminovaných prachových částic a konečně jejich intradermální vstřebávání z prachu usazeného na povrchu těla prasat.

Ve stájovém prostředí výkrmových prasat byly zjišťovány v nejvyšších koncentracích dva izomery DDT, a to p,p'-DDE a p,p'-DDT (Raszyk aj., 1996a). Obdobná situace byla zaznamenána i ve svalovině a orgánech výkrmových prasat v tomto prostředí chovaných. Tyto dva izomery reprezentují přibližně 50 % sumy DDT zjišťované ve vnitřních orgánech prasat. Přitom p,p'-DDT je toxičtější a p,p'-DDE perzistentnější (Corn, 1993).

V krmných směsích pro prasata na okrese Hodonín měly v roce 1994 výraznou převahu nížechlorované bifenylly typu Deloru 103 (0,228 mg/kg), jejich poměr k výšechlorovaným bifenylům typu Deloru 106 (0,019 mg/kg) byl 12 : 1 (Raszyk aj., 1996a).

V krmných směsích v České republice byla stanovena pouze průměrná hladina výšechlorovaných bifenylů typu Deloru 106, která činila 0,214 mg/kg (Valcl, 1995).

Ve svařovině vyšetřených prasat z okresu Hodonín byl poměr nížechlorovaných (Deloru 103) k výšechlorovaným (Deloru 106) bifenylům 1 : 3. Tuto skutečnost si lze vysvětlit jednak tím, že nížechlorované bifenylly se obecně rychleji metabolizují (Safec, 1994) a dále pak tím, že doposud nelze zcela vyloučit i další zdroje výšechlorovaných bifenylů ve stájovém prostředí (Deloru 106 uvolňovaný z kontaminovaných náterových hmot). Tuto druhou domněnku podporuje fakt, že ve stájovém prachu ze sledovaných chovů prasat poměr nížechlorovaných bifenylů (0,025 mg/kg) k výšechlorovaným bifenylům (0,171 mg/kg) byl 1 : 7 (Raszyk aj., 1996a).

Hladiny Deloru 106 ve svařovině prasat na okrese Hodonín (0,119 mg/kg tuku) byly obdobné jako průměrné hladiny Deloru 106 ve svařovině prasat v České republice (0,108 mg/kg tuku) v roce 1994 (Valcl, 1995). Průměrné hladiny Deloru 103 ve svařovině prasat v České republice nebyly zveřejněny.

Průměrné hladiny chlorovaných pesticidů a polychlorovaných bifenylů v játrech a podkožním tuku prasat v České republice nebyly zveřejněny, takže je nelze srovnat s námi zjištěnými hodnotami.

Pro objektivní posouzení zátěže živočišných produktů PCB je optimální provádět hodnocení podle koncentrace indikátorových kongenerů PCB, které postihují celé spektrum různých chlorovaných bifenylů. V České republice jsou živočišné suroviny a potraviny analyzovány na indikátorové kongenery PCB od roku 1995, doposud však nebyly hlavním hygienikem ČR vydány platné hygienické limity. Hodnocení PCB v živočišných produktech, dle indikátorových kongenerů PCB, je již v řadě zemí zavedené.

Ze sledovaných indikátorových kongenerů PCB je nejtoxickejší kongener 118 (2,3',4,4',5 pentachlorbifenyl), který patří mezi mono-ortho-koplanární kongenery PCB (Safec, 1994). Jeho nejvyšší koncentrace byla zjištěna v játrech prasat (0,029 mg/kg tuku). Ve svařovině a tuku prasat jsou jeho hladiny podstatně nižší (0,007 resp. 0,008 mg/kg tuku).

Problematické polychlorovaných bifenylů je tedy žádoucí i nadále věnovat zvýšenou pozornost. V roce 1994, ve srovnání s rokem 1993, se ve vepřovém mase v České republice zvýšilo procento nadlimitních náleží PCB z 0,6 na 1,1 % a současně se zvýšila průměrná hladina PCB (Deloru 106) z 0,083 na 0,108 mg/kg tuku (Valcl, 1995).

Hlavní zdroje chlorovaných pesticidů a polychlorovaných bifenylů v chovech výkrmových prasat na okrese Hodonín jsme podrobně uvedli v našem předchozím sdělení (Raszyk aj., 1996a).

Zatížení jednotlivých orgánů prasat polutanty není rovnoměrné. Z hlediska námi sledovaných rizikových polutantů jsou nejvíce zatížená játra prasat, kde byly zjištěny nejvyšší průměrné hladiny olova (0,141 mg/kg), lindanu (0,280 mg/kg tuku), sumy DDT (0,323 mg/kg tuku), p,p'-DDE (0,106 mg/kg tuku), p,p'-DDT (0,057 mg/kg tuku), Deloru 103 (0,415 mg/kg tuku), Deloru 106 (0,561 mg/kg tuku) a kongeneru PCB 118 (0,029 mg/kg tuku). V ledvinách prasat byly nalezeny nejvyšší průměrné hodnoty rtuti (0,014 mg/kg) a kadmia (0,147 mg/kg).

Srovnáme-li hodnoty sledovaných polutantů u prasat z Hodonínska s průměrnými hladinami u prasat v České republice v roce 1994 je zřejmé, že u prasat chovaných na okrese Hodonín byly zjištěny ve svařovině a orgánech vyšší průměrné hladiny rtuti, olova, lindanu a sumy DDT. Platné hygienické limity však byly mírně překročeny pouze u rtuti ve svařovině v chovu prasat T.

Zvýšené hladiny olova, lindanu a sumy DDT ve svařovině a orgánech prasat chovaných na okrese Hodonín jsou důsledkem jejich zvýšených koncentrací v krmných směsích (olovo, lindan, suma DDT), napájecí vodě (lindan) a stájovém prachu (olovo). Příčinu zvýšených hladin rtuti ve svařovině a orgánech prasat chovaných na okrese Hodonín se doposud nedaří jednoznačně objasnit. Nelze vyloučit, že kromě obilí mořeného fenylmerkurichloridem se na tomto stavu mohou podílet i další zdroje rtuti o jejichž existenci doposud nevíme.

Z uvedeného je zřejmé, že hospodářská zvířata chovaná v různých regionech v České republice mohou být vystavena rozdílné zátěži rizikových polutantů. Také při řešení „Programu Teplice“ (Kotěšovec aj., 1994) bylo zjištěno, že potravní řetězec je v regionu Teplice více zatížen kadmii, než v jiných regionech České republiky. V tomto případě se kadmium dostává ve zvýšené míře do ovzduší při spalování hnědého uhlí.

LITERATURA

- CIBULKA, J. – DOMAŽLICKÁ, E. – KOZÁK, J. – KUBIZ-
ŇÁKOVÁ, J. – MADER, P. – MACHÁLEK, E. – MAŇ-
KOVSKÁ, B. – MUSIL, J. – PAŘÍZEK, J. – PÍŠA, J. –
POHUNKOVÁ, H. – REISNEROVÁ, H. – SVOBODOVÁ,
Z.: Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře. 1. vyd. Praha,
Academia 1991. 432 s.
CORN, M. (ed.): Handbook of hazardous materials. 1st ed.
New York, Academic Press 1993. 772 s.
GAJDŮŠKOVÁ, V. – ULRICH, R.: Využití analýzy speci-
fických kongenerů polychlorovaných bifenylů pro kontrolu
potravin a surovin živočišného původu, Veter. Med. (Praha),
37, 1992: 471–478.
KOTĚŠOVEC, F. – ŠRÁM, R. – JELÍNEK, R. (ed.): Pro-
gram Teplice. Základní údaje 1993–1994. 1. vyd. Praha, Čes-
ký ekologický ústav 1994. 81 s.
MATOUŠKOVÁ, O. – CHALUPA, J. – CIGLER, M. –
HRUŠKA, K.: STAT Plus – uživatelská příručka, verze 1.01.

1. vyd. Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1992. 256 s.

RASZYK, J. – POKORNÁ, Z. – STRNADOVÁ, V. – GAJDŮŠKOVÁ, V. – ULRICH, R. – JAROŠOVÁ, A. – SALAVA, J. – PALÁC, J.: Mutagenicity of stable dust and drinking water in swine and cattle farms. *Vet. Med. – Czech*, 40, 1995: 273–278.

RASZYK, J. – GAJDŮŠKOVÁ, V. – ULRICH, R. – JAROŠOVÁ, A. – ŠABATOVÁ, V. – SALAVA, J. – PALÁC, J.: Výskyt chlorovaných pesticidů a polychlorovaných bifenyli ve stájovém a mimostájovém prostředí farem pro výkrm prasat. *Vet. Med. – Czech*, 41, 1996a: 165–171.

RASZYK, J. – NEZVEDA, K. – DOČEKALOVÁ, H. – SALAVA, J. – PALÁC, J.: Výskyt rizikových chemických prvků (Hg, Cd, Pb) ve stájovém prostředí chovů prasat. *Vet. Med. – Czech*, 41, 1996b: 207–211.

SAFE, S. H.: Polychlorinated biphenyls (PCBs): Environmental impact biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. *Crit. Rev. Toxicol.*, 24, 1994: 87–149.

VALCL, O. (ed.): Kontaminace potravních řetězců cizorodými látkami. Situace v roce 1994. *Inf. Bull. SVS ČR*, 4, 1995 (1). 286 s.

Kontaktní adresa:

MVDr. Josef R a s z y k, CSc. Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno, Česká republika
Tel. 05/41 32 12 41, fax 05/41 21 12 29

EFFECT OF HYPODYNAMIA ON STRIATED MUSCLE OF JAPANESE QUAILS

VPLYV HYPODYNAMIE NA PRIEČNE-PRUHOVANÚ SVALOVINU JAPONSKÝCH PREPELÍC

J. Kočišová¹, V. Sabo², E. Tomajková³, K. Bod'a²

¹ Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic

² Institute of Animal Biochemistry and Genetics, Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji, Slovak Republic

³ University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: The effect of hypodynamia during 9, 30, 60 and 90 days on the striated muscle *m. gastrocnemius* in Japanese quails was studied. We have found different developed dystrophic changes of mitochondria, myofibrils and sarcotubular system. Changes of the studied tissue caused by hypodynamia in the first two groups (9 and 30 days hypodynamy) are the reaction to stress and developing situation. Gradually Japanese quails have come up to the influence of the hypodynamia (60 days hypodynamia). In the last experimental group deposit changes were observed (90 days hypodynamia). In comparison with control group we have found perturbations considered as non-specific, short-term and reversible.

hypodynamia; ultrastructure; striated muscle; Japanese quail

ABSTRAKT: Sledovali sme vplyv 9, 30, 60 a 90-dňovej hypodynamie na priečne-pruhovanú svalovinu *m. gastrocnemius* japonských prepelíc. V jednotlivých skupinách sme nachádzali rôzne vyvinuté dystrofické zmeny na mitochondriách, myofibrilách a sarkotubulárnom aparáte. Zistené zmeny na sledovanom tkanive vyvolané hypodynamiou v prvých dvoch skupinách (9- a 30-dňová hypodynamia) sú reakciou na záťažovú, novovzniknutú situáciu. Postupne dochádzalo k vyrovnaniu sa s hypodynamickým pôsobením (60-dňová hypodynamia). K ložiskovému rozvoju dochádzalo u poslednej experimentálnej skupiny (90-dňová hypodynamia). V porovnaní s kontrolnou skupinou sú zistené odchýlky považované za nešpecifické, krátkodobé a reverzibilné.

hypodynamia; ultraštruktúra; priečne-pruhovaná svalovina; japonská prepelica

ÚVOD

Naše predchádzajúce práce sa zaoberali štúdiom priečne-pruhovanej svaloviny pri obmedzenom pohybe – hypokinézii (Bělák a i., 1977). Hypokinézia – obmedzený pohyb – u experimentálnych zvierat bola vyvolaná tým, že prepelice boli umiestnené v úzkych klietkach, ktoré im neumožňovali žiaden pohyb, okrem prijímania krmiva a vody. Po dlhodobom pôsobení sme nachádzali pomerne rozsiahle poškodenie myofibril a mitochondrií v priečne-pruhovanej svalovine. V experimentoch s hypergravitáciou, po pôsobení centrifúgy sme zisťovali len ložiskové zmeny v priečne-pruhovanej svalovine (Kočišová a i., 1993). Táto práca sa zaoberá vplyvom hypodynamie na priečne-pruhovanú svalovinu japonských prepelíc. Hypodynamia – imitácia bezvážového stavu – sa vyvolala tým, že experimentálne zviera bolo v kletke pomocou košíčky navlečenej cez trup upevnené k stropu kletky. Prepelice sa končatinami nedotýkali dna kletky, avšak mali voľný prístup ku krmivu a vode.

MATERIÁL A METÓDY

V pokusoch boli použité japonské prepelice vyselektovanej línie proti hypodynamii vo veku šesť týždňov (Juráni a i., 1988). Metóda hypodynamie bola popísaná autormi Juráni a i., 1983. Vplyv hypodynamie bol sledovaný v štyroch experimentálnych skupinách. V každej skupine bolo 10 až 12 japonských prepelíc a boli porovnávané s piatou (kontrolnou) skupinou. V prvej skupine sme sledovali vplyv 9-dňovej, v druhej 30-dňovej, v tretej 60-dňovej a napokon v štvrtej skupine 90-dňovej hypodynamie. Excízie z *m. gastrocnemius* japonských prepelíc pre elektrónovomikroskopické štúdium boli fixované v 3,5% glutaraldehyde v 0,1M fosfátovom tlmivom roztoku, postfixované v 1% kyseline osmičej, dehydratované v stúpajúcej alkoholovej rade a napokon zaliate do Durkupanu. Ultratenké rezy boli kontrastované podľa autorov Watson (1958) a Reynolds (1963) a prezerané v elektrónovom mikroskope JEM 1200 EX.

VÝSLEDKY

I. skupina zvierat (9-dňová hypodynamia). Štúdiom elektrónogramov sme pozorovali neporušené myofibrily a pravidelné sarkoméry so zachovalým striedaním I- a A-prúžkov. Z-línie vykazovali nepravidelný priebeh. Ďalej sme zistili zmeny na mitochondriách (obr. 1), prejasnenú mitochondriálnu *matrix* a poškodené vnútorné mitochondriálne krysty, ktoré sa prejavovali vakuolizáciou v rôznom stupni. Sporadicky sme zaznamenali miernu edematizáciu sarkotubulárneho aparátu.

II. skupina zvierat (30-dňová hypodynamia). Myofibrily boli usporiadané do pravidelných sarkomérov, ojedinele s nevýraznými hranicami medzi I- a A-pásmi (obr. 2). Mitochondrie sa kumulovali na väčších plochách a vykazovali miernu vakuolizáciu s presvetlenou *matrix*. Nachádzali sme gigantické mitochondrie (obr. 2), ktorých dĺžka často presahovala sarkoméru. Oproti predchádzajúcej skupine sme pozorovali ložiskový výraznejší edém sarkotubulárneho aparátu. Intermyofibrilárny priestor len ojedinele javil známky edému.

III. skupina zvierat (60-dňová hypodynamia). Sarkoméry zachovali svoju pravidelnosť, avšak hranice medzi I- a A-pásmi sa postupne vytrácali (obr. 3). Z-línie

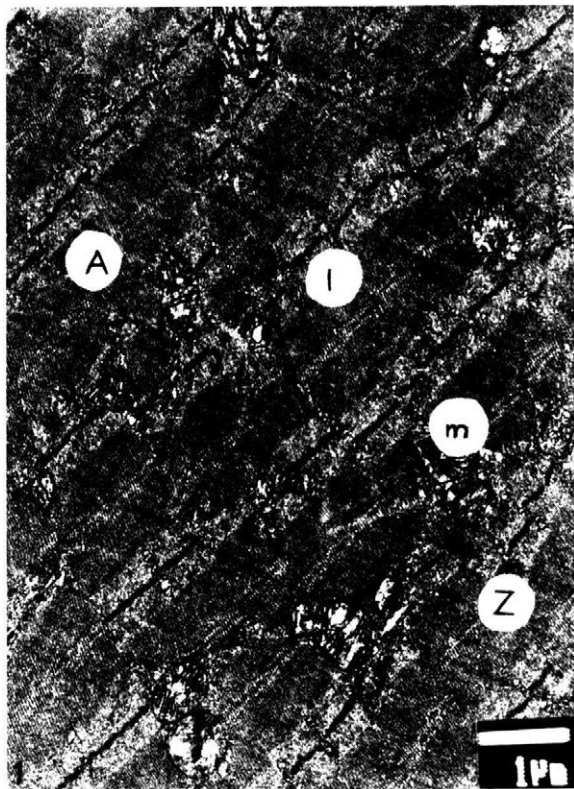
zriedka mali nepravidelný priebeh a často javili zdvojenie. Myofibrily neboli poškodené. Sarkotubulárny aparát sa prejavoval edematóznymi prvkami. Mitochondrie sa vyznačovali prehustenými mitochondriálnymi kristami a ich miernou vakuolizáciou.

IV. skupina zvierat (90-dňová hypodynamia). Oproti predchádzajúcej skupine sa vplyv hypodynamie v svojej podstate neodlišoval. Nachádzali sme rozsiahlejšiu vakuolizáciu mitochondrií a výraznejšiu edematizáciu sarkotubulárneho aparátu (obr. 4). Pričnie pružovanie bolo zachované s vyznačenými I- a A-pásmi. Z-línie mali nepravidelný priebeh. Mitochondrie sa vyznačovali porušenými vnútornými membránami.

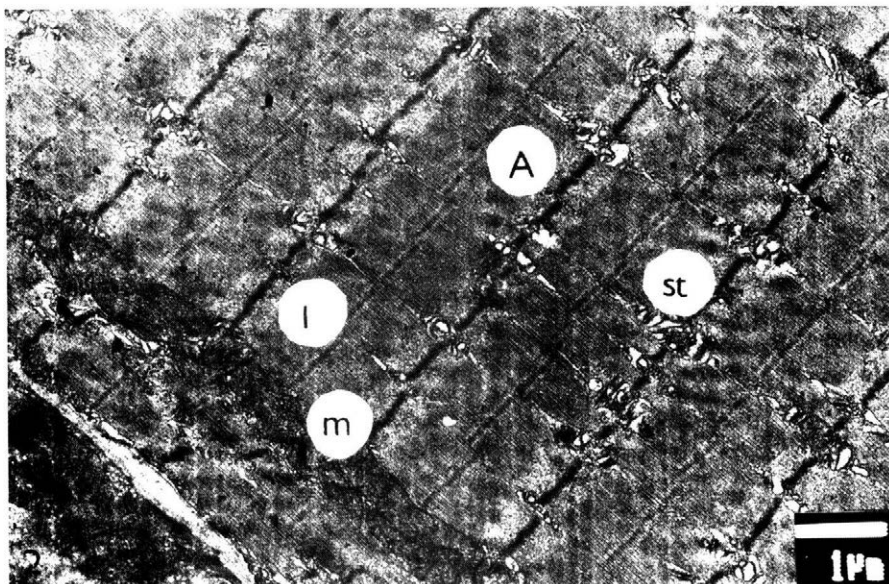
V. skupina zvierat (kontrolná). Vykazovala pravidelné sarkoméry s výraznými striedajúcimi sa I- a A-pásmi, rovno prebiehajúce Z-línie (obr. 5), v blízkosti ktorých je nedilatovaný sarkotubulárny aparát a mitochondrie s bohatým vybavením vnútorných membrán.

DISKUSIA

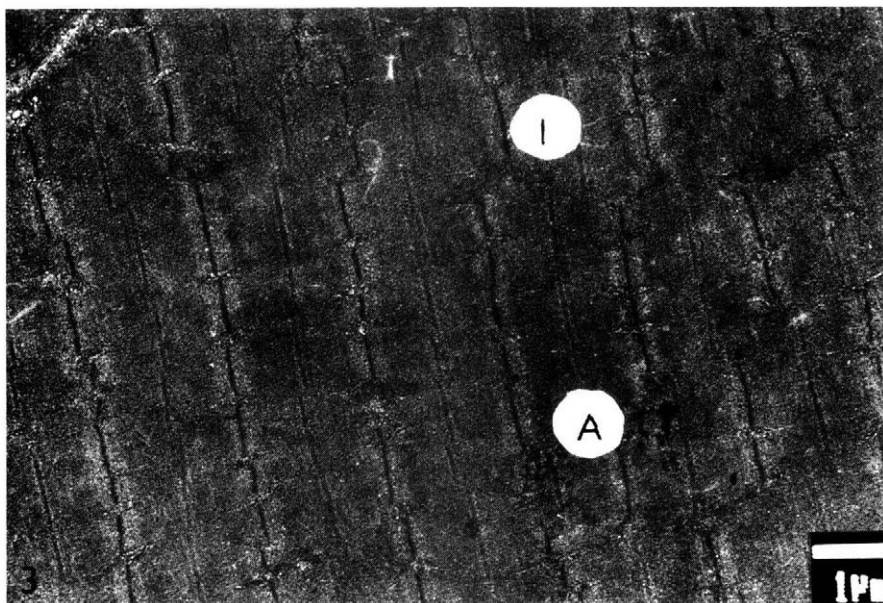
Hypodynamické podmienky zanechávali na jednotlivých zložkách priečne-pruhovanej svaloviny japon-



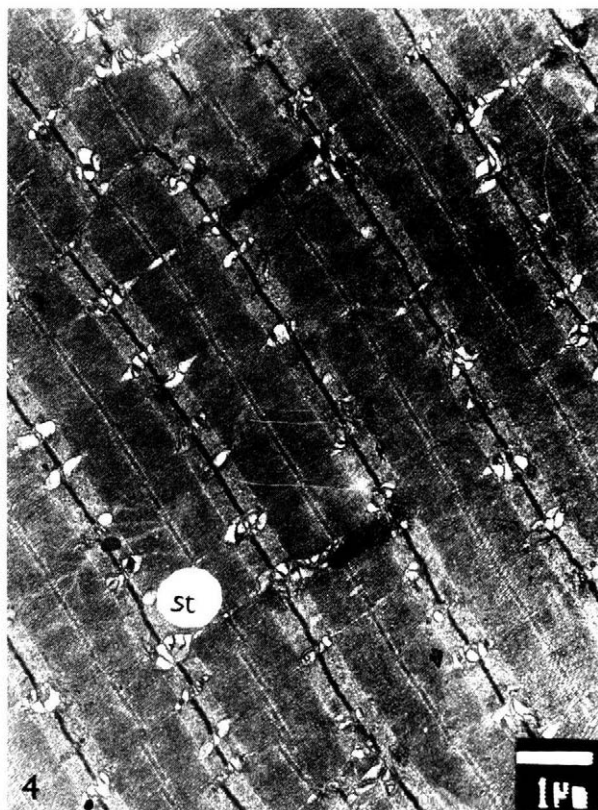
1. Elektrónogram *m. gastrocnemius* japonskej prepeľice po 9-dňovej hypodynamii. Sarkoméry sú zachované, striedanie I- a A-prúžkov pravidelné, Z-línie posunuté; mitochondrie vakuolizované (m) – Electronogram of *m. gastrocnemius* of Japanese quail after 9-day hypodynamia. Sarcomeres are well-preserved, alteration of I and A striae is regular, Z lines are shifted; mitochondria vacuolization (m)



2. Ultraštruktúra *m. gastrocnemius* po 30-dňovej hypodynamii. Vidieť menej výrazné hranice medzi I- a A-prúžkami; zaznamenali sme gigantickú mitochondriu (m); zjavný je mierny edém sarkotubulárneho aparátu (st) – Ultrastructure of *m. gastrocnemius* after 30-day hypodynamia. Less clear boundaries between I and A striae are discernible; a gigantic mitochondrion was observed (m); moderate edema of the sarcotubular system is apparent (st)



3. Elektrónogram *m. gastrocnemius* po 60-dňovej hypodynamii. Dokumentuje nevýrazné hranice medzi I- a A-prúžkami – Electronogram of *m. gastrocnemius* after 60-day hypodynamia. The unclear boundary between I and A striae is documented

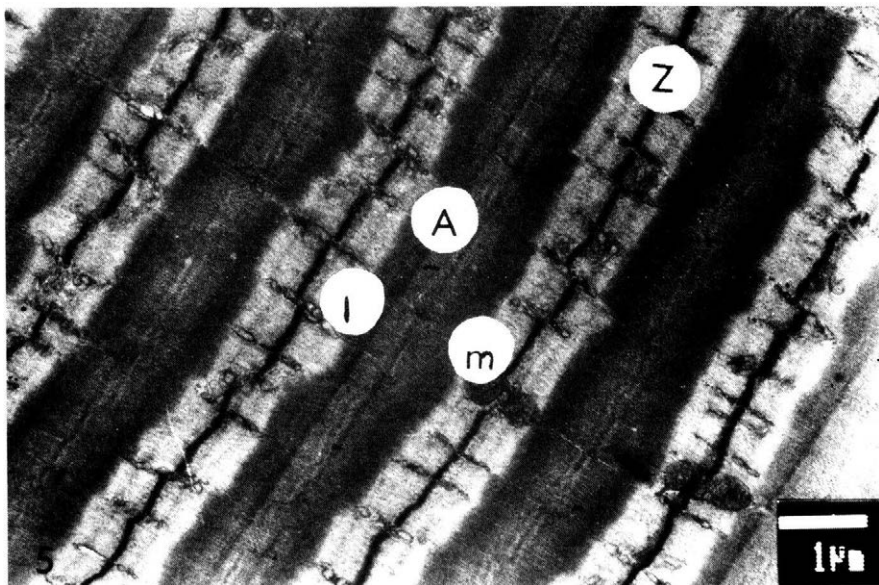


4. Elektrónovomikroskopický obraz *m. gastrocnemius* po 90-dňovej hypodynamii. Výrazná edematizácia sarkotubulárneho aparátu (st) – Electron microscopic picture of *m. gastrocnemius* after 90-day hypodynamia. Expressive edematization of the sarcotubular system (st)

ských prepelíc rôzne rozsiahle zmeny. Pomer mitochondrií k myofibrilám podáva informáciu o frekvencii kontrakcie svalu a o vyvíjaní sily. O čo viac mitochondrií sa vyskytuje vo svalových vláknach, o to častejšie sú kontrakcie. Pri prevahe myofibril stúpa výkon ale klesá frekvencia. Spravidla u priečne-pruhovanej svaloviny sú mitochondrie koncentrované perinukleárne, avšak vyskytujú sa aj pod bunkovou membránou tak isto ako medzi myofibrilami. Svojím membránovým usporiadaním tvoria energetické akumulčné centrum a veľmi citlivo reagujú na pôsobenie rôzne zmenených fyziologických pomerov. V prvej fáze hypodynamie dochádza k snahe organizmu vyrovnat sa s nepriaznivým pôsobením, výsledkom čoho sú skoncentrované mitochondrie na väčších plochách a prehustené ich vnútorné membrány. V neskorších štádiách dochádzalo k miernemu jasu *matrix* s malými vakuolami, ktoré sa často spájali do veľkých vakuol. Časť mitochondrií nadobúdala väčšie rozmery. Stretávali sme sa aj s mitochondriami, ktorých dĺžka presahovala sarkomér. Tieto sú označované ako tzv. gigantické. Nález zmnožených, koncentrovaných a gigantických mitochondrií v druhej experimentálnej skupine je dôkazom zvýšenej potreby energie a zvýšeného metabolizmu v porušenom svalu.

Nečinnosť orgánu alebo zoslabenie jeho funkcie, ktorá je spôsobená čiastočným obmedzením pohybu vyvoláva zmeny v rade cytochemických ukazovateľov, čo v konečnej fáze vrcholí morfológickými zmenami. Prvotná príčina je v nedostatočnom prekrvení svalu, čo vedie k rozvoju patologických zmien. Odrazom toho je zistená zmenená aktivita rôznych enzýmov (Belák a i., 1979; Konrád a i., 1980). Pri zníženom odvode tekutín môže dôjsť k ich hromadeniu v tkanivách a k edému. Voda je vlastne prebytočným produktom odbúravania tukov.

Dystrofický proces postihoval ojedinelé svalové vlákna. Nápadná bola strata priečnej pruhovitosti s nevýznačenou hranicou myofilamentov. Sprevádzajúcim faktorom tohoto procesu sa javili Z-línie s nepravidelným a nerovným priebehom. Zriedka sme nachádzali mierne rozostúpené myofibrily a priestory medzi nimi boli edematické. Sarkoméry zostávali zachovalé. Tieto zmeny dosahovali väčších rozmerov po vplyve 60-dňovej hypodynamie. 90-dňové pôsobenie vykazovalo len ložiskové zmeny, avšak na základe niektorých prác (Portugalov, 1971; Ilyina-Kakueva a i., 1976) zmeny takéhoto charakteru sú považované za nespecifické, krátkodobé a reverzibilné. Svalové vlákna



5. Elektronogram kontrolnej skupiny. Pravidelné striedanie I- a A-prúžkov s výraznými Z-liniami; mitochondrie (m) s bohatým vybavením vnútorných membrán – Electronogram of control group. Regular alteration of I and A striae with clearly discernible Z lines; mitochondria (m) with the ample presence of internal membranes

so zachovalou sarkolemou sú ešte schopné regenerácie. Podobne ak nedochádza ku kompletnému narušeniu vonkajšieho komorového kompartmentu mitochondrie, možno považovať proces dystrofických zmien za ľahší stupeň poškodenia s možnosťou obnovy poškodeného ložiska priečne-pruhovanej svaloviny. Poškodením mitochondriálnych kríst a *matrix* sa narušuje funkcia enzýmových systémov mitochondrie, čoho následkom môžu byť určité katabolické zmeny v oxidatívne-redukčných procesoch svalu.

Ak máme porovnávať naše predchádzajúce výsledky (Belák a i., 1977) s rovnako dlhým pôsobením hypodynamie (90 dní) na priečne-pruhovanú svalovinu japonských prepelíc, jednoznačne rozsiahlejšie zmeny v sledovanom tkanive sme zistili pri obmedzenom pohybe (hypokinézii).

Je pravdepodobné, že tieto rozdiely nie sú zapríčinené rôznym spôsobom imobilizácie (hypokinézia, hypodynamia), ale skôr súvisia s tým, že v pokuse s hypodynamiou boli použité zvieratá selektované na odolnosť proti hypodynamiu. Kombinované pôsobenie hypergravitácie a hypodynamie vyvolalo rozsiahlejšie zmeny na *m. gastrocnemius* ako samotné pôsobenie hypodynamie (Kočišová a i., 1993).

Podakovanie

Ďakujeme za technickú spoluprácu Ing. M. Korkardovej.

LITERATÚRA

- BELÁK, M. – KOČIŠOVÁ, J. – BOĐA, K.: Studium der Ultrastruktur von Mitochondrien in der quergestreiften Muskulatur der Vogel unter Berücksichtigung der experimentell hervorgerufenen Hypokinäse. Arch. Exp. Vet. Med., 31, 1977: 537.
- BELÁK, M. – KOČIŠOVÁ, J. – MARCANÍK, J. – BOĐA, K. – ŠKARDA, R.: Elektronenmikroskopische und histochemische Studien an der quergestreiften Muskulatur der Vogel nach langfristiger Hypokinese. Arch. Exp. Vet. Med., 33, 1979: 37.
- ILYINA-KAKUEVA, E. I. – PORTUGALOV, V. V. – KRIVENKOVA, N. P.: Space Envir. Med., 47, 1976: 700.
- JURÁNI, M. – VÝBOH, P. – LAMOŠOVÁ, D. – BAROŠKOVÁ, Z. – SOMOGYIOVÁ, E. – BOĐA, K. – GAŽO, M.: The effect of a 90-day hypodynamy on the neurohumoral system, egg laying and metabolism of proteins in Japanese quail. The Physiologist S, 26, 1983: 145–148.
- JURÁNI, M. – BOĐA, K. – KOŠTÁL, L. – SOMOGYIOVÁ, E. – LAMOŠOVÁ, D. – VÝBOH, P. – AMBRUŠ, B. – BAUMGARTNER, J.: Selection of Japanese quail line resistant to hypodynamy. The Physiologist S, 31, 1988: 140–141.
- KOČIŠOVÁ, J. – GAŽO, M. – JURÁNI, M. – KOKARDOVÁ, M. – JANKELA, J. – SABO, V.: Effect of overload on ultrastructure of striated muscle in Japanese quail. Biológia, Bratislava, 48/3, 1993: 309.
- KONRÁD, V. – MARCANÍK, J. – ŠKARDA, R.: Histopatologické a histoenzymologické zmeny v kostrovej svalovine

- pri japonskej prepelici po experimentálnej hypodynamii. Folia Vet., 24, 1980: 149–165.
- PORTUGALOV, V. V. – ILYINA-KAKUEVA, E. I. – STAROSTIN, V. I. – ROCHLENKO, K. D. – SAVIK, Z. F.: Strukturnye i cytochemičeskije izmenenija skeletnych myšc krys pri ograničenii podvižnosti. Arch. Anat. Gist. Embryol., LXI, 1971: 82.
- REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 17, 1963: 208.
- WATSON, M. L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 1958: 475.

Došlo 20. 3. 1996

Kontaktná adresa:

MVDr. Jolana Kočíšová, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Šoltésova 4–6, 040 01 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/76 50 77, fax 095/76 21 62

POSSIBILITY OF BLOCKING *N. ISCHIADICUS* WITHIN *FORAMEN ISCHIADICUM MAJUS* IN SHEEP

MOŽNOST BLOKÁDY *N. ISCHIADICUS* V OBLASTI *FORAMEN ISCHIADICUM MAJUS* U OVCÍ

D. Matičić¹, D. Mihelić², M. Zobundžija², A. Brkić¹, K. Babić²,
V. Gjurčević-Kantura², D. Capak¹, V. Sušić³

¹ Clinic of Surgery, Orthopedy and Ophthalmology, Veterinary Faculty, University of Zagreb, Croatia

² Department of Anatomy, Histology and Embryology, Veterinary Faculty, University of Zagreb, Croatia

³ Department of Animal Breeding and Husbandry, Veterinary Faculty, University of Zagreb, Croatia

ABSTRACT: The blocking of the ischiadic nerve within *foramen ischiadicum majus* of 8 sheep was performed with 6–12 ml 2% xylocain from three different places: 1. From the middle of a line joining the top of *processus spinosus* of the 1st sacral vertebra and the peak of *trochanter major*. The needle pierces vertically through the skin, gluteal fascia and *m. gluteus medius* till *foramen ischiadicum majus*. 2. Along the most prominent part of *crista iliaca* on the gluteal surface of *ala ossis ilium* along the medial side of well expressed *linea glutea*. The needle pierces by an angle of 45° through the skin, gluteal fascia and *m. gluteus medius* till the nerve itself. When the nerve is touched the animal makes a jerk. 3. Along the caudal part of *tuber sacrale* with the needle orientated caudo-ventro-laterally through the skin, gluteal fascia and *m. gluteus medius* toward *foramen ischiadicum majus*. The most appropriate approach for blocking is along *crista glutea* on the gluteal surface of *ala ossis ilii*. In this approach the success is complete. The symptoms of the blocking appear immediately after the application. The complete akinesia of the limb appears 15 minutes after the application of 6 ml, and 5–10 minutes after being applied 12 ml of 2% xylocain. The blocking symptoms disappear within 90–100 or 120–140 minutes. Beside the blocking of *n. ischiadicus*, a simultaneous blocking of *n. gluteus cranialis*, *n. caudalis* and *n. cutaneus femoris caudalis* as well was performed within *foramen ischiadicum majus*.

sheep; *n. ischiadicus*; blocking

ABSTRAKT: U 8 ovcí jsme provedli blokádu sedacího nervu v oblasti *foramen ischiadicum majus* ze tří různých míst aplikací 6–12 ml 2% xylokainu: 1. Ze středu linie, která spojuje vrcholek *processus spinosus* 1. sakrálního obratle a vrcholek *trochanter major*. Jehla je vedena vertikálním směrem kůži, dále prochází gluteální fascií a *m. gluteus medius* až do *foramen ischiadicum majus*. 2. Podél nejvíce čnící části *crista iliaca* na gluteálním povrchu *ala ossis ilii* podél středové strany zřetelně se rýsující *linea glutea*. Jehla je vedena v úhlu 45 stupňů kůži, gluteální fascií a *m. gluteus medius* až k samotnému nervu. Při doteku nervu sebou zvíře škubne. 3. Podél kaudální části *tuber sacrale*, přičemž jehla je vedena ve směru kaudo-ventro-laterálním kůži, gluteální fascií a *m. gluteus medius* směrem k *foramen ischiadicum majus*. Nejvhodnějším způsobem blokády je cesta podél *crista glutea* na gluteálním povrchu *ala ossis ilii*. Použití tohoto přístupu zaručuje úspěch. Příznaky blokády se objeví ihned po aplikaci. Úplné zněhybnění končetiny se dostaví za 15 minut po aplikaci 6 ml a 5–10 minut po aplikaci 12 ml 2% xylokainu. Příznaky blokády zmizí za 90–100 minut nebo za 120–140 minut. Kromě blokace *n. ischiadicus* došlo současně k blokádě *n. gluteus cranialis*, *n. gluteus caudalis* a *n. cutaneus femoris caudalis* v oblasti *foramen ischiadicum majus*.

ovce; *n. ischiadicus*; blokáda

INTRODUCTION

The origin and the extension of *n. ischiadicus* as one of the strongest nerves of the body was described in many veterinary textbooks, manuals and papers (El-

lenberger and Baum, 1943; Linzel, 1959; Sisson and Grossman, 1962; Gashal and Getty, 1977, 1971; Getty, 1975; Koch, 1975; Nickel et al., 1984; Koch and Berg, 1985). The available literature still offers few data concerning the

access to *n. ischiadicus*. Such an approach was described by Magda (1960), Westhues and Fritsch (1960, 1961), Zobundžija and Babić (1985) and Brkić et al. (1991a) indicating that the region along the caudal edge of *trochanter majus*, where the nerve turns distally, was an appropriate location for reaching *n. ischiadicus* in order to provide its blocking. The space between *tuber sacrale* and the lateral edge of lumbar bone, i. e. on *foramen ischiadicum majus*, was quoted by Brkić et al. (1991b) as a possible place to reach *n. ischiadicus*. Its position and the access to *n. ischiadicus* within equine, bovine, porcine and canine *incisura ischiadica majus* were described by Brkić and Mihelić (1992), Brkić et al. (1992, 1993), Mihelić (1993) and Mihelić et al. (1994).

In the available literature no data could be found concerning a possible access to *n. ischiadicus* within sheep's *foramen ischiadicum majus*. Therefore we began studying anatomic relations as well as an approach to *n. ischiadicus* in view of its blocking on *foramen ischiadicum majus* since the access to the sciatic nerve in the region between *trochanter majus* and *tuber ischiadicum* (Magda, 1960) is somewhat different and unsuccessful. Beside *n. ischiadicus*, also *n. gluteus cranialis* and *n. gluteus caudalis* are available in the same location so that the application of the anaesthetic in this place may inactivate all tissues enervated by these nerves. It means that in the case of successful blockade the anaesthetic area will be more extensive and the number of atonic muscles greater. Sheep breeding being rather an important activity in our country and because tendon and muscle lesions as well as hoof illnesses in these animals may cause a production decrease, i. e. they can cause the reduction and total stopping of reproductive activity in rams. The present paper is meant to be a contribution to an easier, simpler, quicker and cheaper treatment of illnesses in

sheep's hind limbs, especially in field conditions and particularly when it concerns worthy rams kept for breeding.

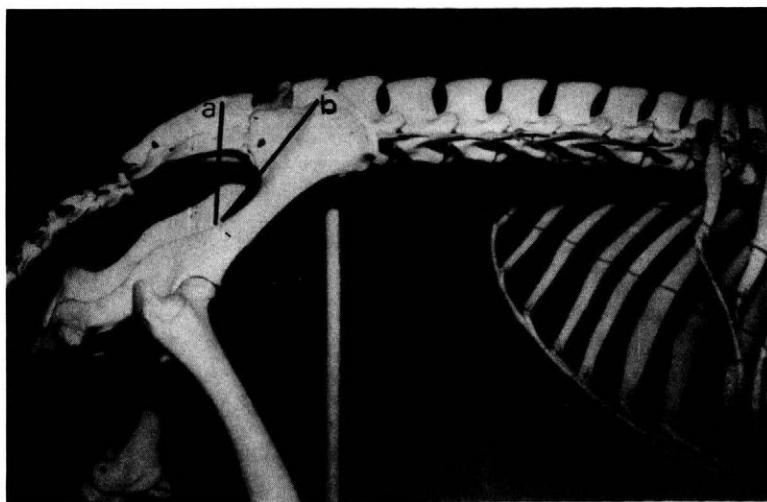
MATERIAL AND METHODS

The position and the extension of *n. ischiadicus* as well as the access to it within *foramen ischiadicum majus* were investigated on the basis of an anatomic dissection of 2 dead sheep, on a composed sheep skeleton and on 8 alive sheep. Osseous protuberances were studied on the composed sheep skeleton in order to locate some orientation points in order to find a precise spot for reaching the nerve. A dissection was performed on dead sheep to determine the extension of *n. ischiadicus* and its relation with the chosen orientation points. On the opposite non-dissected part of dead sheep bodies 10 ml methylene blue was applied to check whether the previously determined osseous protuberances could be used as orientation points. After making some small corrections, such orientation points and the depth of the nerve location were precised.

Three reaching points were chosen in order to approach to *n. ischiadicus*.

The first one was from the middle of an imaginary line between the *processus spinosus* of the 1st sacral vertebra and the top of *trochanter majus femoris* (Fig. 1). Precisely in the middle of this line the needle pierces vertically through the skin, the superficial and the deep fascia and *m. gluteus medius* till *n. ischiadicus* within *foramen ischiadicum majus*.

The second approach to *n. ischiadicus* within *foramen ischiadicum majus* was performed along the most prominent part of *crista iliaca* (Fig. 4) so that the needle was introduced by an angle of 45° piercing through the skin, *fascia glutea* and *m. gluteus medius* along the medial side of *linea glutea*. Thus the needle point



1. Approach to the sciatic nerve on the *foramen ischiadicum majus*

a) from the position of imaginary line between *processus spinosus* of 1st sacral vertebra and *trochanter majus*; b) position of the needle for approach along the *linea glutea*

reaches the caudal edge of *ala ossis ilium* and then the needle is directed a little bit medially and reaches the nerve.

The third reach to *n. ischiadicus* within *foramen ischiadicum majus* was performed along the caudal edge of *tuber sacrale* by piercing the needle obliquely in caudo-ventro-lateral direction through the skin, *fascia glutea* and *m. gluteus medius* toward *foramen ischiadicum majus*.

Application and efficacy of *n. ischiadicus* blocking, the time of appearance and duration of the anaesthesia considering the quantity of the applied anaesthetic, and the possibility of using the anaesthetized limb while standing and moving, as well as the sensibility of the skin on some parts of the limbs were investigated in 8 alive Istrian and Sardinian crossbred sheep aged over 5 years and averagely fattened. To avoid the possibility of cumulating the anaesthetic, the experiment was conducted once a week during 5 weeks alternately on the left and right flank. Altogether 40 experiments were done. The blocking of *n. ischiadicus* was performed applying 6–12 ml of 2% xylocain by a 10 cm long needle.

RESULTS

N. ischiadicus in sheep derives from the 6th lumbar nerve and from the 1st and the 2nd sacral nerve. Sacral branches are stronger than the lumbar ones. The nerve comes out from the pelvic cavity within *incisura ischiadica major* through *foramen ischiadicum majus* together with *n. gluteus cranialis* and *n. gluteus caudalis* as well as with *v. et a. glutea cranialis*. *N. cutaneus femoris caudalis* is emerging more caudally. The same nerve lies on the lateral surface of *lig. sacrotuberale latum*, it crosses *m. gluteus profundus* covered by *m. gluteus medius* and *m. gluteobiceps*, it reaches *trochanter majus* and then it turns distally from acetabulum lowering down the lateral part of the thigh. In the proximal third part of a thigh it splits in two branches: *n. tibialis* which is stronger, and *n. peroneus* which is finer.

From the first reaching point 6 ml of 2% xylocain was applied. First symptoms of blocking of *n. ischiadicus* but also of *n. gluteus cranialis* and *n. gluteus caudalis* appeared in a minute or two. Weakness of the hind leg was getting more pronounced as the time passed after the application of the anaesthetic. The animal was leaning on the anaesthetized limb and its walk was swerving (Fig. 2). While standing the animals were leaning on the side where the blocking had been performed, which they tried to compensate by spreading apart their hind limbs. Beside swerving and leaning of the body, a gentle abduction of the anaesthetized leg accompanied by a slight circumduction was manifest pretty soon as well. The animal transported the weight of its body on the unanaesthetized limb, shortening its pace, as it hardly could keep the equipoise of the rear



2. Swerving in the walk after blockade of left *n. ischiadicus*



3. Left anaesthesia leg is in the position under the body

part of its body and frequently it sat down tucking the anaesthetized limb under the unanaesthetized one (Fig. 3). The muscles on the caudal and caudo-lateral side of the thigh as well as the muscles situated distally from the knee joint were atonic so that the animal was not able to burden the anaesthetized limb. The sheep was not able to flex actively its fingers nor to extend them, so that it would rather drag the dorsal part of the fingers on the ground (Fig. 4). About 100–130 minutes after the application of the anaesthetic, the blocking symptoms completely disappeared so that the animal was able to walk normally. Such symptoms were generally manifest in only 3 of 8 sheep used for this



4. On the leg in anasthesion active flexion and extension of fingers is not possible, and in walk sheep drag the dorsal part of the leg on the ground

experiment, while in 5 sheep the insecure walking appeared with different intensity some 2–10 minutes after the application of the anaesthetic. In these 5 animals the anaesthesia was repeated adding 6 ml of 2% xylocain so that the obtained results were better but still not so good as in 3 sheep previously described. Besides, the whole procedure was rather long lasting and, as it was pointed out, the anaesthesia was successful in some 37% of cases, which is not satisfactory.

From the second reaching point some 6 ml of 2% xylocain were applied. By such an approach the needle point reaches *incisura ischiadica majus* and it touches *n. ischiadicus* itself, which is manifest from a jerk made by the animal. The first signs of the blocking of *n. ischiadicus* appearing immediately after the application of the anaesthetic, i. e. already while pulling out the needle from the place of application, an insecurity of the anaesthetized limb was manifest at once, and 2–3 minutes later a partial akinesia of the same limb was noted. The complete akinesia appeared after 15 minutes. The blocking of *n. ischiadicus* was obvious because of the insensibility of the skin in the crupper region, in lateral and rear surface of thighs and lower legs. The tonus in the crupper as well as in other pelvic-femoral and pelvic muscles (*m. gluteus medius*, *m. gluteobiceps*, *m. semitendinosus*, *m. semimembranosus*) was reduced.

A clinical manifestation was apparent in a little instability and in a gentle abduction of the knee as well as in a slight insecurity to burden the leg while walking. In other words, the symptoms were almost identical to those described in the case of the first approach to *n. ischiadicus*, but the efficacy of the anaesthesia was big (100%). The anaesthetic symptoms completely disappeared within 90–100 minutes. When 12 ml of 2% xylocain was applied at the same place, the blocking of

n. ischiadicus appeared very fast too. It was manifest in a complete atony of the crupper, pelvic-femoral as well as of the lower leg muscles. The burdening of the anaesthetized limb was quite impossible because it slipped away beneath the animal. The limb remained useless for walking as the animal was stumbling and finally it laid down. A complete akinesia appeared in 5–10 minutes. An extension of knee joint as well as of tarsal joint was evident. It was established by palpation that the long pelvic-femoral muscles (*m. gluteobiceps*, *m. semitendinosus*, *m. semimembranosus*) and the lower leg muscles were completely atonic. The limb could be moved passively in all directions without almost any resistance, although the musculature enervated by *n. femoralis* and *n. obturatorius* remained intact, but still it was not able to keep the mobility of the leg. *M. quadriceps femoris* was tonic and it pulled the leg cranially, while the musculature in the medial part of the thigh (*m. gracilis*, *m. pectineus*, *m. adductor*), enervated by *n. obturatorius*, pulled the leg medially and even to the opposite side over the medial plane. The skin was insensible in the region of cruppers, of the lateral and caudal side of thighs, and of lower legs. The blocking symptoms provoked by 12 ml of anaesthetic completely disappeared within 120–140 minutes. Not a single case of bleeding from artery nor from *v. glutea cranialis* was registered so far.

After the application 6 ml 2% xylocaine on the third reaching point, symptoms of blocking of *n. ischiadicus* were manifest due to the weakness of the hind leg, which was getting more pronounced as the time passed after the application of the anaesthetic. This particular approach, as well as the first one, did not enable a satisfactory anaesthesia, so that 6 ml of the anaesthetic should be added and the whole procedure was repeated. All this procedure is rather uncertain and it lasts rather a long time.

DISCUSSION

The formation and the extension of *n. ischiadicus* correspond to the descriptions found in literature (Eilenberger and Baum, 1943; Sison and Grossman, 1962; Gashal and Getty, 1970, 1971; Getty, 1975; Koch, 1975; Nickel et al., 1984; Koch and Berg, 1985). Classic surgery manuals (Magda, 1960; Westhues and Fritsch, 1960, 1961; Zobundžija and Babić, 1985) quote the approach to the ischiadic nerve from the *trochanter major femoris – tuber ischiadicum* line in the point in which this nerve is covered by *m. gluteus medius* passing from a caudo-ventral course on the pelvis into a latero-ventral course on the thigh. In this access point the nerve is located immediately behind the acetabulum. Magda (1960) also mentioned an approach to this nerve in the middle of the thigh from a furrow between *m. biceps femoris* and *m. semitendinosus*. Considering that the access to the ischiadic nerve within *foramen ischiadicum majus* is possibly the most dorsal approach, we suggest that such an approach might be called upper, being middle the second one between *trochanter majus* and *tuber ischiadicum* (Magda, 1960), while the lower approach is the one performed from a furrow between *m. biceps femoris* and *m. semitendinosus* (Magda, 1960). The position of this nerve on the pelvis and its passing through *foramen ischiadicum majus*, i. e. across the initial part of *incisura ischiadica major*, as well as the pronounced and palpable osseous elements such as *crista iliaca*, *tuber sacrale*, *trochanter major*, the tops of thornlike lumbar sprouts or *crista sacralis mediana* did originate the idea to try an approach to the ischiadic nerve within *foramen ischiadicum majus* (Brkić et al., 1991b). Such an idea was successfully applied on horse, cattle, dog and swine (Brkić and Mihelić, 1992; Brkić et al., 1992, 1993; Mihelić, 1993; Mihelić et al., 1994). It was shown that the position, aspect and size of *ala ossis ilium* did influence the approach to the ischiadic nerve within *incisura ischiadica majus*. Therefore three possible approaches to the ischiadic nerve through sheep's *foramen ischiadicum majus* were chosen. In the region of this orifice *n. gluteus cranialis*, *n. gluteus caudalis* and *n. cutaneus femoris caudalis* diverge from the ischiadic nerve. Therefore the anaesthetic applied in the region of *foramen ischiadicum majus* may produce a simultaneous blocking of all three nerves. It means that the field of anaesthesia is moved more proximally and because of atony of the pelvic-femoral muscles which are attached to the pelvic bone as well the sacral and the caudal vertebrae (*mm. glutei*, *m. gluteobiceps*, *m. semitendinosus*, *m. semimembranosus*) the possibility of motion of the hind leg is remarkably greater and because of this the possibility of taking the best position for treatments of the leg enlarged. By the approach to the sciatic nerve in the region between *trochanter majus* and *tuber ischiadicum* (Magda, 1960), as well from the groove between *m. gluteo-*

biceps and *m. semitendinosus* in the middle of the thigh (Magda, 1960) the anaesthetic area lies distally of *os ischii* and the tonus of the long pelvic-femoral muscles is remarkably preserved and the possibility of moving the leg is remarkably diminished.

The access from the midline joining the top of a thornlike sprout of the first lumbar vertebra and the *trochanter majus* is rather uncertain because it is not possible to determine precisely the depth of *n. ischiadicus*. In order to produce the akinesia of the region enervated by the mentioned nerves, it would be necessary to repeat the application and the approach itself requires more time.

The approach along the medial side of *linea glutea* on gluteal (crupper) surface of the ilium bone appeared to be the simplest and the most efficient one. The anaesthesia was manifest very soon so that the symptoms of the weakening of the leg were already noted while pulling out the needle after the application of 6 ml of 2% xylocain. An anaesthesia of the whole region enervated by *n. ischiadicus*, *n. gluteus cranialis* and *n. gluteus caudalis* appeared after the application of 12 ml of 2% xylocain. Therefore we consider that this approach is the most acceptable one, not only because of its simple performance but also due to the quick manifestation of akinesia and as it requires a small quantity of anaesthetics.

The third approach, along the caudal surface of *tuber sacrale* by piercing in ventro-caudo-lateral direction toward *foramen ischiadicum majus*, was uncertain too. Although one may suppose that such an access is simple, in practice it appeared to be quite different. The application of the anaesthetic had to be repeated and the anaesthesia itself appeared slowly, which required more anaesthetics. That is why this approach is not recommendable.

While performing the anaesthesia of *n. ischiadicus* within sheep's *foramen ischiadicum majus*, in order to obtain a quick, prolonged and complete blocking, 10–12 ml of 2% xylocain has to be used, which depends on the fatness and the size of the animal.

The akinesia of the muscles enervated by *n. ischiadicus*, *n. gluteus cranialis* and *n. gluteus caudalis* as well as the anaesthesia of the skin on the caudal and caudo-lateral side of a thigh and of a lower leg appear after such a blocking, which is quite sufficient to perform some smaller and quick surgical interventions on sheep's hind limbs.

REFERENCES

- BRKIĆ, A. – MIHELIĆ, D.: Usporedba efikasnosti blokade *n. ischiadicus* u konja na *foramen ischiadicum majus* i na *incisura ischiadica minor*. In: 5th Zavrnik memorial meeting, Gozd Martuljek 2.–4. April, 1992: 14–15 (Abstr.).
BRKIĆ, A. – ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K. – MIHELIĆ, D.: Clinical significance of topographo-anatomical relations of *nervus ischiadicus* and *foramen ischiadicum majus* in horses. Vet. Arhiv, 61, 1991a: 233–238.

- BRKIĆ, A. – MIHELIĆ, D. – BABIĆ, K. – ZOBUNDŽIJA, M. – GJURČEVIĆ-KANTURA, V.: Possibility of the *n. ischiadicus* blockade in *foramen ischiadicum majus* in horses. Vet. Arh., 61, 1991b: 289–295.
- BRKIĆ, A. – ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K. – MIHELIĆ, D. – GJURČEVIĆ-KANTURA, V.: Kliničko značenje topografsko-anatomskih odnosa *n. ischiadicus* na *foramen ischiadicum majus* u goveda. Vet. Arh., 62, 1992: 34–41.
- BRKIĆ, A. – MIHELIĆ, D. – ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K. – GJURČEVIĆ-KANTURA, V.: Possibility of access to porcine *n. ischiadicus*. In: 16th Alps-Adria meeting of anatomists, Zagreb, 20.–23. May, 1993: 25 (Abstr.).
- ELLENBERGER, W. – BAUM, H.: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. Berlin, Springer Verlag 1943: 880–899.
- GASHAL, N. G. – GETTY, R.: The lumbosacral plexus of the goat. J. Sci. Iowa State, 45, 1970: 269–275.
- GASHAL, N. G. – GETTY, R.: The lumbosacral plexus of the sheep. N. Z., Vet. J., 19, 1971: 85–90.
- GETTY, R.: Sisson-Grossman's the Anatomy of the Domestic Animals. Vol. 2. Philadelphia, London, Toronto, W. B. Saunders Company 1975: 1705–1711.
- KOCH, T.: Lehrbuch der Veterinaer-Anatomie. Jena, Gustav Fischer Verlag 1975: 342–346.
- KOCH, T. – BERG, R.: Lehrbuch der Veterinaer-Anatomie. Vol. 3. Jena, VEB Gustav Fischer 1985: 358–368.
- LINZELL, J. L.: The innervation of the mammary glands in the sheep and goats with observations on the lumbosacral nerves. Quant J Exp Physiol, 44, 1959: 160–176.
- MAGDA, I. I.: Lokalanästhesie Anleitung für Tierärzte. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1960: 153–160.
- MIHELIĆ, D.: Mogućnost pristupa do nekih živaca stražnje noge psa. [Dissertation.] Zagreb, Veterinarski fakultet 1993.
- MIHELIĆ, D. – ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K. – BRKIĆ, A.: Pristup do *n. Ischiadicus* na *incisura ischiadica majus* u psa. Vet. Stanica, 4, 1994: 295–310.
- NICKEL, R. – SCHUMMER, A. – SEIFERLE, E.: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Vol. 4. Berlin und Hamburg, Verlag Paul Parey 1984: 224–249.
- SISSON, S. J. – GROSSMAN, D.: Anatomija domaćih životinja. Zagreb, Poljoprivredni nakladni zavod 1962: 961–963.
- WESTHUES, M. – FRITSCH, R.: Die Narkose der Tiere. Berlin und Hamburg, Paul Parey 1960: 117–119.
- WESTHUES, M. – FRITSCH, R.: Demonstration as specific nerve paralyses in the dog. JAVMA, 131, 1961: 174–178.
- ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K.: Primjenjena anatomija domaćih životinja. Skripta. Zagreb, Veterinarski fakultet 1985: 130.

Arrived on 2nd August 1995

Contact Address:

Dr. Dražen Matičić, Clinical of Surgery, Veterinary Faculty University of Zagreb, Heinzelova 55, 41000 Zagreb, Croatia
Tel., fax 385 41/21 46 97

DEMONSTRATION OF ANTIBODIES TO HERPES VIRUS IN THE SERA OF RED DEER (*CERVUS ELAPHUS*) IMPORTED INTO THE CZECH REPUBLIC

PRŮKAZ PROTILÁTEK PROTI HERPESVIRŮM V SÉRECH JELENA EVROPSKÉHO (*CERVUS ELAPHUS*) IMPORTOVANÉHO DO ČESKÉ REPUBLIKY

Z. Pospíšil, R. Vybíčka, P. Číhal, P. Lány, D. Zendulková

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Antibodies reacting in the virus-neutralisation test with bovine herpesvirus (BHV-1), the causative agent of infectious bovine rhinotracheitis (IBR), were demonstrated in a herd of red deer (*Cervus elaphus*) imported into the Czech Republic. Sera from the same collection were later tested against a homologous virus, termed herpesvirus cervidae 1 (HVC-1), isolated from red deer in Scotland. Out of 165 imported animals, antibodies to BHV-1 were found in 68% and to HVC-1 in 71% of the animals. Titres of antibodies to the two viruses ranged from 1 : 2 to 1 : 4 or were occasionally greater. As documented by several experimental studies carried out abroad, the HVC-1 virus, though antigenically closely related to BHV-1 virus, is not pathogenic to cattle under natural conditions. Antibodies which reacted with both BHV-1 and HVC-1 were also demonstrated in 3 out of 7 roebucks randomly shot in this territory.

red deer; cattle; roebuck; antibody; herpesvirus; infectious bovine rhinotracheitis

ABSTRAKT: Ve stádě jelena evropského (*Cervus elaphus*), dovezeného do České republiky, byly zjištěny protilátky, které ve virusneutralizačním testu reagovaly s bovinním herpesvirem 1 (BHV-1), původcem infekční bovinní rinotracheitidy (IBR). Séra ze stejných odběrů byla později testována s homologním virem, izolovaným ve Skotsku z jelenů, nazvaným herpesvirus cervidae 1 (HVC-1). Ze 165 importovaných jelenů byly s virem BHV-1 prokázány protilátky u 68 % a s virem HVC-1 u 71 % zvířat. Titry protilátek proti oběma virům se pohybovaly v rozmezí od 1 : 2 do 1 : 4, výjimečně výše. Podle řady experimentálních prací, prováděných v zahraničí, je virus HVC-1 antigenně úzce příbuzný s virem BHV-1, není však v přirozených podmínkách pro skot patogenní. Protilátky, které reagovaly jak s virem BHV-1, tak i s virem HVC-1, byly prokázány i u tří ze sedmi srnců náhodně odstřelených na našem území.

jelen evropský; skot; srnec; protilátky; herpesvirus; infekční bovinní rinotracheitida

ÚVOD

Na přelomu roku 1992 a 1993 bylo na okres K. dovezeno ze Skotska stádo jelena evropského (*Cervus elaphus*). Po ustájení v karanténě na našem území byla provedena řada sérologických vyšetření, při nichž jsme spolu s dalším pracovištěm nezávisle na sobě zjistili u mnoha kusů specifické protilátky proti viru infekční bovinní rinotracheitidy (IBR). Tyto nálezy vyvolaly značnou polemiku a vyvstaly otázky o nebezpečí sérologicky pozitivních jelenů pro náš skot.

První literární údaje o izolaci herpesvirů z jelenů pocházejí ze Skotska. U faremně chovaných jelenů evropských tam byl prokázán virus, který byl sérologicky úzce příbuzný s bovinním herpesvirem 1 (BHV-1), původcem infekční bovinní rinotracheitidy (Ingliš aj., 1983). U postiženého stáda byly pozorovány příznaky onemocnění horních cest dýchacích, spojivky a příleži-

točně i léze na rohovce. Příznaky pneumonií však nebyly zaznamenány.

Izolovaný virus, který v křížově virusneutralizačních testech reagoval s protilátkami proti viru BHV-1, avšak v nižších titrech, byl označen herpesvirus cervidae 1 (HVC-1) (Nettelton aj., 1986; Roizmann, 1992). Podobný virus zjistili u sobů Ek-Kommonen aj. (1986).

Restrikční endonukleázovou analýzou byla prokázána jeho zřetelná odlišnost od viru BHV-1 (Ronsholt aj., 1987). Při ověřování patogenity HVC-1 pro skot nebyly po experimentální infekci telat zjištěny žádné klinické příznaky, i když první a druhý den po infekci bylo možné virus z nosních výtěrů v nízkých titrech reisolovat a za 14 dní se u telat objevily i nízké titry protilátek (Reid aj., 1986).

Při sérologickém průzkumu u jelenů ve Velké Británii prokázali Nettleton aj. (1986) protilátky proti

viru HVC-1 u 29 % zvířat a současně zjistili, že pozitivní kusy se nacházejí jak v Anglii, tak i ve Skotsku. Přitom došli k přesvědčení, že tento virus není pro skot nebezpečný.

Na základě těchto poznatků jsme výsledky našich sérologických vyšetření projednali s pracovníky Státní veterinární správy; karanténa byla zrušena a problematikou jsme se přestali zabývat. Po pozdějším získání viru HVC-1 z renomované skotské laboratoře jsme se však k původním nálezům vrátili. Ve studii jsme srovnávali výšky titrů virusneutralizačních protilátek v sérech jelenů proti virům BHV-1 a HVC-1. Tyto výsledky jsou spolu s literárními poznatky o významu viru HVC-1 pro skot předmětem našeho sdělení.

MATERIÁL A METODY

Vyšetřovaná zvířata

Do karantény v okrese K. bylo dovezeno 165 jelenů evropských (*Cervus elaphus*). U zvířat nebyly pozorovány žádné příznaky respiračního či jiného onemocnění. Přibližně za týden po náoze byla všem zvířatům odebrána krev k různým sérologickým vyšetřením, mj. i na protilátky proti IBR. Vzhledem k pozitivnímu průkazu protilátek proti viru IBR byly přibližně za dva měsíce odebrány další vzorky krve k novému vyšetření. Pro nedostatečné označení zvířat nebyly vzorky odebrány od identických kusů. Od některých zvířat nebyla vzhledem k silnému odchytovému stresu a ohrožení jejich života krev vůbec odebrána.

Použité viry

Ve virusneutralizačním testu byl nejdříve použit tuzemský izolát viru BHV-1, kmen TD (Pospíšil aj., 1979; Sbírka zoopatogenních mikroorganismů při Výzkumném ústavu veterinárního lékařství, Brno). Později byl laskavostí dr. Nettletona z Moredun Research Institute, Edinburgh, získán skotský izolát HVC-1, jimi označený Cervine Herpes Virus-1 (Cer HV1). Oba viry byly kultivovány běžnou metodou buďto na primárních buněčných kulturách fetálních telecích ledvin, nebo na liniích MDBK.

Virusneutralizační test

Sérologické vyšetření bylo prováděno v mikrosystému na plotnách s 96 jamkami. Po dvojnásobném sériovém ředění séra v množství 50 µl bylo do každé jamky přidáno stejné množství viru BHV-1 nebo HVC-1 obsahujícího 100 TKID₅₀. Po jednohodinové inkubaci při teplotě 37 °C bylo do každé jamky přidáno 50 µl suspenze buněčné linie MDBK o obsahu 400 000 buněk v 1 ml. Plotny byly poté inkubovány při teplotě 37 °C

v 5% atmosféře CO₂ a výsledky byly odečítány po 48 a 72 h inkubace (Pospíšil aj., 1979).

Pokusy o izolaci viru

Nosní a oční výtěry odebrané pomocí sterilních tamponů do média MEM s antibiotiky byly použity k infekci primárních buněčných kultur fetálních telecích ledvin. Ve třech slepých pasážích byl v buněčných kulturách sledován případný cytopatický efekt svědčící pro herpesvirovou infekci (Pospíšil aj., 1979).

VÝSLEDKY

Počáteční stanovení protilátek bylo prováděno jen s virem BHV-1. Virusneutralizační protilátky proti tomuto viru byly zjištěny u 68 % jelenů a titry se pohybovaly v rozmezí od 1 : 2 do 1 : 8 s výraznou převahou hodnot 1 : 2 a 1 : 4. V sérech z druhého odběru vykazovalo pozitivitu 66 % zvířat a titry protilátek se vyskytovaly přibližně ve stejném rozsahu jako při prvním odběru (tab. I).

Vyšetření stejných sér, provedené později s homologním virem HVC-1, přineslo velmi podobné výsledky jako s virem BHV-1. Mírně sice vzrostlo procento sérologicky pozitivních zvířat (z 68 % na 71 %), bylo zaznamenáno jedno zvíře i s titrem 1 : 16, protilátky se však opět vyskytovaly převážně jen v titrech 1 : 2 a 1 : 4. Stejně srovnatelné bylo i vyšetření sér z druhého odběru (tab. II).

V pokusech o izolaci viru z nosních výtěrů od jelenů se nám nepodařilo žádný virus prokázat. Ve třech slepých pasážích nebyl v primárních buněčných kulturách fetálních telecích ledvin pozorován žádný cytopatický efekt, který by svědčil pro přítomnost viru.

DISKUSE

Srovnávací vyšetření krevních vzorků jelenů potvrdilo literární údaje uvádějící, že v jejich sérech se nacházejí protilátky, které reagují v křížově virusneutralizačním testu jak s homologním virem, izolovaným z jelenů – HVC-1, tak i s původcem infekční bovinní rinotracheitidy – BHV-1. Séra pozitivní s virem BHV-1 dávala vždy pozitivní reakci i s virem HVC-1, ale séra negativní s virem HVC-1 nebyla nikdy pozitivní s virem BHV-1.

I když titry protilátek byly poměrně nízké a jejich rozdíly nebyly příliš signifikantní, byly s homologním virem (HVC-1) získány v průměru přece jen o něco vyšší hodnoty a bylo zachyceno více pozitivních zvířat. To potvrzuje výsledky sérologických studií Nixon a aj. (1988) o křížových reakcích mezi oběma viry i poznatky Ronsholt a aj. (1987), kteří pomocí restričních endonukleáz prokázali mezi oběma viry zřetelné rozdíly.

I. Výskyt protilátek proti viru BHV-1 v sérech jelenů – The presence of antibodies to BHV-1 virus in the sera of red deer

		Počet zvířat ¹			Titry protilátek u pozitivních zvířat ²			
		celkový ³	pozitivní ⁴	negativní ⁵	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16
1. odběr ⁶	kusy ⁸	144	98	46	64	32	2	0
	%	100	68	32	65	33	2	0
2. odběr ⁷	kusy ⁸	121	80	41	58	21	1	0
	%	100	66	34	73	26	1	0

¹number of animals, ²antibody titers in positive animals, ³total, ⁴positive, ⁵negative, ⁶1st sampling, ⁷2nd sampling, ⁸number

II. Výskyt protilátek proti viru HVC-1 v sérech jelenů – The presence of antibodies to HVC-1 virus in the sera of red deer

		Počet zvířat ¹			Titry protilátek u pozitivních zvířat ²			
		celkový ³	pozitivní ⁴	negativní ⁵	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16
1. odběr ⁶	kusy ⁸	144	102	42	52	45	4	1
	%	100	71	29	51	43	4	1
2. odběr ⁷	kusy ⁸	121	85	36	49	32	4	0
	%	100	70	30	57	38	5	0

For 1–8 see Tab. I

Mimo zamýšlený rámec testování jsme měli možnost vyšetřovat i séra srnčí zvěře. Z poměrně malého souboru sedmi sér srnců, náhodně odstřelených na okrese V., byly u tří kusů zjištěny protilátky, které dávaly pozitivní reakci jak s virem HVC-1, tak i BHV-1. Vzhledem k výrazné hemolýze sér a tudíž k jejich značné toxicitě nebylo možné zjistit rozdíl v titrech proti HVC-1 a BHV-1. Výsledky nicméně ukazují, že i u naší srnčí zvěře se může vyskytovat virus podobný viru HVC-1.

V izolačních pokusech se nám z importovaných jelenů žádný virus nepodařilo zachytit. Odpovídá to i skutečnosti, že jeleni byli klinicky zdraví. K aktivaci případné latentní infekce by bylo nutno experimentálně vyvolat imunosupresi podobně, jak to prováděli Ek-Kommonen aj. (1986). Podmínky k takovému pokusům jsme však neměli.

Rozsah studie nám také nedovolil ověřit patogenitu získaného viru HVC-1 pro náš skot a našich izolátů BHV-1 pro jeleny. Tyto pokusy však prováděla skupina skotských pracovníků (Nettleton aj., 1986; Reid aj., 1986), kteří prokázali, že virus HVC-1 není v přirozených podmínkách pro skot patogenní. Po experimentální infekci tímto virem sice došlo k mírnému vzestupu protilátek a podaný virus mohl být z nosní sliznice po dobu jednoho až dvou dnů reizolován, k onemocnění však nedošlo. Rovněž u jelenů infikovaných virem BHV-1 prokázali výše zmínění autoři jen mírný vzestup protilátek.

O neškodnosti viru HVC-1 pro skot zřejmě nejvýmluvněji vypovídá nákazová situace ve Finsku (Nettleton aj., 1986, 1988). Přesto, že v Laponsku byly u sobů žijících v těsném kontaktu se skotem prokázány protilátky proti viru HVC-1 až u 23 % vyšetřovaných zvířat, zůstal veškerý skot v této oblasti protilátek proti viru BHV-1 prostý.

Na základě našich vyšetření a literárních poznatků jsme tedy mohli doporučit zodpovědným orgánům veterinární služby zrušení karantény a sérologicky pozitivní jeleny uvolnit do obory. Jejich dobrý zdravotní stav zůstal i nadále nezměněn a rovněž u naší vysoké zvěře nebyly pozorovány žádné příznaky, které by svědčily o jejím nakažení.

LITERATURA

- Ek-KOMMONEN, C. – PELKONEN, S. – NETTLETON, P. F.: Isolation of a herpesvirus serologically related to bovine herpesvirus 1 from a reindeer (*Rangifer tarandus*). Acta Vet. Scand., 27, 1986: 299–301.
- INGLIS, D. M. – BOWIE, J. M. – ALLAN, M. J. – NETTLETON, P. F.: Ocular disease in red deer calves associated with a herpesvirus infection. Vet. Rec., 113, 1983: 182–183.
- NETTLETON, P. F. – SINCLAIR, J. A. – HERRING, J. A. – INGLIS, D. M. – FLETCHER, T. J. – ROSS, H. M. – BONNIWELL, M. A.: Prevalence of herpesvirus infection in British red deer and investigations of further disease outbreaks. Vet. Rec., 118, 1986: 267–270.
- NETTLETON, P. F. – EK-KOMMONEN, C. – TANSKANEN, R. – REID, H. W. – SINCLAIR, J. A. – HERRING, J. A.: Studies on the epidemiology and pathogenesis of alphaviruses from red deer (*Cervus elaphus*) and reindeer (*Rangifer tarandus*). In: Management and Health of Farmed Deer. The Netherlands, Kluwer Acad. Publ. 1988: 143–148.
- NIXON, P. – EDWARDS, S. – WHITE, H.: Serological comparisons of antigenically related herpesviruses in cattle, red deer and goats. Vet. Res. Comm., 12, 1988: 355–362.
- POSPÍŠIL, Z. – MENŠÍK, J. – KREJČÍ, J.: Demonstration of infectious bovine rhinotracheitis virus in newborn-colostrum-deprived calves with particular reference to its epi-

- zootiological significance. Zentbl. Vet. Med., R. B, 26, 1979: 325–335.
- REID, H. W. – NETTLETON, P. F. – POW, I. – SINCLAIR, J. A.: Experimental infection of red deer (*Cervus elaphus*) and cattle with a herpesvirus isolated from red deer. Vet. Rec., 118, 1986: 156–158.
- ROIZMANN, B.: The family Herpesviridae: an update. Arch. Virol., 123, 1992: 425–449.
- RONSHOLT, L. – SIIG CHRISTENSEN, L. – BITSCH, V.: Latent herpesvirus infection in red deer: characterization of a specific herpesvirus including a comparison of genomic restriction fragment patterns. Acta Vet. Scan., 28, 1987: 23–31.

Kontakní adresa:

Prof. MVDr. Zdeněk Poříšil, DrSc., Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1–3, 612 42 Brno, Česká republika

Tel. 05/41 32 11 07, fax 05/74 88 41

SEMI-SOLID MEDIUM DIASALM FOR THE ISOLATION OF *SALMONELLA ENTERITIDIS*

POUŽITÍ POLOTUHÉHO DIASALM MÉDIA K IZOLACI *SALMONELLA ENTERITIDIS*

V. Růžicková¹, R. Karpíšková², E. Pakrová³

¹Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

²State Veterinary Institute, Brno, Czech Republic

³Department of Clinical Microbiology, Hospital, Uherské Hradiště, Czech Republic

ABSTRACT: The Diagnostic Semi-solid Salmonella Agar (DIASALM) was compared with two commercial semi-solid Rappaport-Vassiliadis media (MSRV by Oxoid and SRVA, basis by HiMedia) using 52 strains of *Salmonella* and 10 strains of interfering Gram-negative bacteria. The diagnostic potency for salmonellae was higher in DIASALM than in MSRV or SRVA. Unlike the Rappaport-Vassiliadis media, DIASALM contains a diagnostic system consisting of lactose, saccharose and bromocresol purple, allowing the differentiation of salmonellae from non-pathogenic Gram-negative sugar-fermenting bacteria (Tab. I). The semi-solid media were supplemented with 0.0015% nitrofurantoin to recover specifically *Salmonella enteritidis*. Eighty percent of strains of the latter serovar were resistant to this chemotherapeutic agent, while all the other serovars were sensitive to it. The use of discs soaked with the monovalent *Salmonella* antiserum H:g,m increased the recovery rate in 95 percent of *S. enteritidis* strains. Compared with the cultures from peptone water, the diameters of the migration zones formed by the positive cultures grown in M-broth were larger by 3 to 5 mm. Pure cultures of salmonellae were isolated in 98% of cases from the borders of the migration zones when mixed cultures of salmonellae (a *S. enteritidis* isolate from a patient, density 10^3 to 1 or 2 cells per drop) and *Citrobacter koseri* or *Edwardsiella tarda*, or *Proteus mirabilis*, or *Pseudomonas aeruginosa* (densities $\geq 10^3$ cells per drop) were inoculated onto DIASALM (Tab III).

Salmonella; detection; semi-solid DIASALM agar; modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis agars; interfering microflora

ABSTRAKT: Práce uvádí poznatky a zkušenosti s izolací 52 kmenů salmonel a 10 druhů interferujících gramnegativních bakterií pomocí Diagnostic Semi-solid Salmonella (DIASALM) agaru, ve srovnání se dvěma komerčními Semi-solid Rappaport-Vassiliadisovými médii (MSRV) fy OXOID a (SRVA) základ fy HiMedia. Bylo zjištěno, že DIASALM měl vyšší diagnostickou schopnost pro salmonely než MSRVA a SRVA média. Na rozdíl od Rappaport-Vassiliadisových půd obsahuje diagnostický systém, tj. laktózu, sacharózu a bromokresolový purpur, který umožňuje odlišit salmonely od nepatogenních gramnegativních bakterií, fermentujících cukry. Pro cílený záchyt sérovaru *S. enteritidis* byla polotuhá média doplněna nitrofurantoinem (15 mg/l), ke kterému bylo 80 % kmenů rezistentních, zatímco kmeny *S. typhimurium*, *S. agona* a *S. infantis* byly k němu citlivé. Použití disku, nasáklého sérem anti-*Salmonella* monovalentním H:g,m, zvýšilo záchytnost u 95 % kmenů *S. enteritidis*. Kultury pohyblivých salmonel a *C. koseri*, narostlé v M-bujonu, vytvářely na všech testovaných půdách migrační zóny v průměru o 3 až 5 mm větší, než kultury z peptonové vody. Ze směsných vzorků obsahujících salmonely (kmen *S. enteritidis*, izolát z pacienta) v různém rozmezí počtu, tj. od 10^3 do 1 až 2 buněk v 1 kapce inokula a *Citrobacter koseri*, nebo *Edwardsiella tarda*, nebo *Proteus mirabilis*, nebo *Pseudomonas aeruginosa* (všechny s denzitou $\geq 10^3$ v 1 kapce) vyočkovanych na DIASALM médium, byly salmonely v 98 % případů izolovány z okraje migrační zóny v čistých kulturách.

Salmonella; detekce; DIASALM agar; modifikované Semi-solid Rappaport-Vassiliadis agary; interferující mikroflóra

ÚVOD

Diagnostika netyfových druhů salmonel, které jsou stále nejčastějšími původci alimentárních onemocnění u lidí, doznala v posledních letech mimořádného rozvoje. Značné úsilí bylo vynaloženo v oblasti vývoje rychlých postupů, založených na principu metody ELISA (Araj a Chugh, 1987), DNA hybridizačních technik (Wilson aj., 1990) nebo vodivosti (Smith

aj., 1989; Blackburn, 1993). Tyto postupy lze provádět s použitím jednoho či více pomnožovacích médií. Zatímco negativní výsledek je v těchto metodách považován za definitivní, jakýkoliv pozitivní výsledek musí být potvrzen kultivačně standardními metodami.

Dosavadní zkušenosti ukazují, že média používaná v selektivním pomnožení nebo v izolaci mají jistá omezení. Ta spočívají buď v inhibici některých sérovarů salmonel, nebo v nedostatečné selektivitě, umožňující

pomnožení kompetitivní mikroflóry, která může hledaný druh přerůst a dát falešně negativní výsledek. Snahy o vysokou specifitu izolačních postupů vyústily v sestavování metod využívajících různé biochemické reakce, rezistence, resp. citlivost k antibiotikům a k jiným selektivním faktorům.

V diagnostice dosud dominujícího sérovaru *Salmonella enteritidis* jsou publikovány mnohé nové selektivně-izolační postupy, z nichž některé usnadňují jeho záchyt. Např. van Netten aj. (1991) vypracovali nové polotuhé médium, zvané Diagnostic Semi-solid Salmonella Agar (DIASALM), pro záchyt pohyblivých druhů salmonel z potravin. U tohoto média působí selektivní systém, který využívá rezistenci *Salmonella* spp. k relativně vysokému osmotickému tlaku, relativně nízkému pH, k malachitové zeleni, k novobiocinu a teplotě 42 °C. Diagnostický systém tohoto média se sestává z laktózy, sacharózy a bromkresolového purpuru. Umožňuje odlišit salmonely od jiných laktózu nebo sacharózu fermentujících gramnegativních bakterií. Pro cílený záchyt *S. enteritidis* a k inhibici růstu jiných sérovarů doporučují výše uvedení autoři přidat do média nitrofurantoin (15 mg/l).

V předložené práci byla vyzkoušena izolační úspěšnost DIASALM média pro pohyblivé kmeny salmonel a jeho selektivita pro 10 druhů interferujících gramnegativních bakterií, ve srovnání s dvěma Semi-solid Rappaport-Vassiliadisovými půdami (MSRV) fy Oxid a (SRVA) základ z fy HiMedia. Dále byla prověřena izolace *S. enteritidis* ze směsných vzorků inokula s vybranými nesalmonelovými druhy pohyblivých gramnegativních bakterií na DIASALM médium.

MATERIÁL A METODY

Bylo testováno celkem 52 kmenů bakterií rodu *Salmonella*, z toho bylo 40 kmenů *S. enteritidis* různého původu (jednalo se o izoláty z lidí, drůbeže, vajec, potravin, atp.), sedm kmenů *S. typhimurium*, po dvou kmenech, *S. agona* a *S. infantis* a jeden kmen *S. gallinarum*, dále 10 následujících druhů gramnegativních pohyblivých bakterií: *Citrobacter koseri* CCM 2535, *Edwardsiella tarda* CCM 2238, *Enterobacter cloacae* CCM 1903, *Escherichia coli* (sedm kmenů různého původu), *Morganella morganii* CCM 680, *Proteus mirabilis* CCM 1944, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960, *Hafnia alvei* (izolát z mléka), *Providencia alcalifaciens* CCM 5616 a *Serratia marcescens* CCM 303.

K testaci byla použita tři polotuhá média:

1. DIASALM, tj. Diagnostic Semi-solid Salmonella Agar se základem typu Semi-solid Indole Motility média, doplněným laktózou, sacharózou, dihydrofosforečnanem draselným, síranem železatoamonným, chloridem hořečnatým, bromkresolovým purpurem, malachitovou zelení a novobiocinem (0,01 g/l). Půda je tmavě zelená, čirá a má pH 5,5 ± 0,1 (van Netten aj., 1991; van der Zee a van

Netten, 1991). Deklarovaný kultivační režim je 42 °C/18 až 24 h.

2. MSRV, tj. Modified Semi-solid Rappaport-Vassiliadis médium (OXOID) doplněné novobiocinem (0,02 g/l), pH 5,2 ± 0,2, (de Smedt aj., 1986; de Smedt a Bolderdijk, 1987).
3. SRVA, tj. Semi-solid Rappaport-Vassiliadis Broth (fy HiMedia) doplněné 0,27% agarem a novobiocinem (0,02 g/l), pH 5,2 ± 0,2.

Pro všechna polotuhá média byl použit jednotný kultivační režim 42 °C/18 až 24 h. U silně pohyblivých kmenů se vytvořily migrační zóny již po 6 až 8 h.

Média byla očkovaná jednodenními kulturami bakterií, narostlých za 20 až 24 h, buď v peptonové vodě (ČSN 56 0100), nebo v M-bujonu (Sperber a Deibel, 1969) při kultivační teplotě 37 °C. Inokulace se provedla kapkou (objem 33 µl) centrálně umístěnou na povrch média.

Pozitivním výsledkem pro salmonely bylo vytvoření zakalené červenofialové zóny pohyblivého růstu, tzv. „halo“, na zeleném médiu DIASALM a mléčně zakalené zóny na světle modrých MSRVA a SRVA médiích. Ke zvýšení specifity DIASALM média pro sérovar *S. enteritidis* byl přidán nitrofurantoin v množství 15 mg/l. Rezistentní kmeny vytvářely na takto upravené půdě „halo“, citlivé kmeny rostly slabě a pouze v místě inokulace bez migrační zóny. Dále byly připraveny disky (z filtračního papíru Whatman č. 4) o průměru 5 mm a nasáklé monovalentním sérem anti-*Salmonella* H:g,m (Sanofi Diagnostic Pasteur). Disky byly umístěny asi 2,5 cm od místa inokulace. Pozitivním výsledkem bylo vytvoření precipitačního proužku a inhibiční zóny o velikosti ≤ 5 mm.

K izolaci čistých kultur salmonel je třeba odebrat kličkou kulturu z okraje migrační zóny, který nemusí být shodný s okrajem barevného „halo“.

Pro ověření izolace salmonel na DIASALM médium ve vztahu k počtu buněk v inokulu byla ze tří vybraných kmenů *S. enteritidis* (první kmen pocházel z lidského pacienta, druhý z potravin a třetí z vejce) připravena řada suspenzí v peptonové vodě s denzitou v rozpětí od 10⁵ do jedné až dvou buněk v 1 ml. Kapkovou metodou byla provedena inokulace média a po 6, 18 a 24hodinové inkubaci byl odečten výsledek.

Při sledování záchytnosti salmonel ze směsných vzorků inokula byly použity suspenze jednodenních kultur v peptonové vodě. Poté byly připraveny směsné vzorky následujícím způsobem: z jednodenní bujonové kultury *S. enteritidis* byla dvojnásobným ředěním v peptonové vodě připravena řada suspenzí s rozpětím počtu od 10⁵ do jedné až dvou buněk v 1 ml. Z těchto suspenzí byl připraven směsný vzorek obsahující jeden díl salmonelové suspenze (o různé denzitě od 10⁵ do 10¹ v 1 ml) a jeden díl suspenze *Citrobacter diversus* nebo *Edwardsiella tarda* anebo *Proteus mirabilis* anebo *Pseudomonas aeruginosa* (všechny s denzitou 10⁴ v 1 ml). Celkový počet mikroorganismů byl stanoven plotnovou metodou (ČSN 56 0100 a ČSN 56 0088). Ze směsných vzorků byl odebrán jeden objem (kapka

33 µl), který byl nakápnut do středu misky s DIA-SALM médiem a druhý objem 1 ml byl přidán do 9 ml peptonové vody. Následujícího dne bylo z peptonové vody, inkubované při teplotě 37 °C, odebráno inokulum, které bylo nakápnuto na střed DIASALM média. Izolace *S. enteritidis* byla provedena odebráním kultury kličkou z okraje migrační zóny a kultivací na agaru s fenolovou červení a brilantovou zelení (ČSN 56 0088).

VÝSLEDKY

Charakteristiku růstu 40 kmenů *S. enteritidis*, sedmi kmenů *S. typhimurium*, dvou kmenů *S. agona*, dvou kmenů *S. infantis*, jednoho kmene *S. gallinarum* a 16 nesalmonelových kmenů jiných gramnegativních pohyblivých bakterií je uvedena v tab. I. Kmeny pohyblivých druhů salmonel na DIASALM médiu dobře rostly a za 6 až 24 h vytvářely červenofialové zakalené zóny o velikosti 20 až ≥90 mm. Okraj migrační zóny u *S. enteritidis*, *S. typhimurium* a *S. agona* často přesáhl velikost 90 mm. Kmen nepohyblivého sérovaru *S. gallinarum* na této půdě rostl slabě, netvořil migrač-

ní zónu, pouze alkalizoval médium (červenofialové zbarvení). Stejně se chovaly kmeny *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* a podobně *Edwardsiella tarda*, *Hafnia alvei*, *Morganella morganii* a *Providencia alcalifaciens*. Poslední čtyři zástupci alkalizovali médium méně intenzivně. Z laktózy nebo sacharózy fermentujících druhů pouze *Citrobacter koseri* na DIASALM médiu dobře rostl a vytvářel žlutozelenou migrační zónu o velikosti v průměru 20 až 50 mm. Kmeny *Enterobacter cloacae* a *Serratia marcescens* nevytvářely zónu pohyblivého růstu a mírně okyselovaly médium, což se projevilo vytvořením nažloutle čiré zóny v okolí inokula. Ze sedmi kmenů *E. coli* tři vůbec na médiu nenarostly a pět z nich mělo podobný charakter růstu jako *Serratia marcescens*.

Na dvou polotuhých Rappaport-Vassiliadisových půdách, tj. na MSRVA a SRVA, salmonely vytvářely mléčně zakalené zóny pohyblivého růstu o velikosti stejné jako na DIASALM médiu. *Citrobacter koseri* na obou médiích vytvářel rovněž „halo“ o velikosti 20 až 50 mm. Stejně velké zóny vytvářela *Salmonella infantis*, což silně ztěžovalo možnost jejich rozlišení. *Proteus mirabilis* rostl v místě inokula s migrační zónou, která nikdy nepřesáhla velikost 20 mm.

I. Charakteristika růstu salmonel a jiných pohyblivých gramnegativních bakterií na médiu DIASALM – Description of the growth of salmonellae and other interfering Gram-negative bacteria on DIASALM

Kmen ¹	n	Růst kultury ²	Migrační zóna ³		Alkalizace média ^{4,5}	Fermentace cukrů ⁶	Počet citlivých k ⁷	
			zákal ⁴	(mm) ⁵			NF	H.g.m
<i>Salmonella enteritidis</i>	40	+	+	90	+	–	8	38
<i>Salmonella typhimurium</i>	7	+	+	90	+	–	7	0
<i>Salmonella agona</i>	2	+	+	90	+	–	2	0
<i>Salmonella infantis</i>	2	+	+	50	+	–	2	0
<i>Salmonella gallinarum</i>	1	s	–	–	+	–	NT	NT
<i>Citrobacter koseri</i>	1	+	+	50	–	+	0	NT
<i>Edwardsiella tarda</i>	1	s	–	–	s	–	1	NT
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	+	–	–	–	s	1	NT
<i>Escherichia coli</i>	7	s	–	–	–	s	7	NT
<i>Hafnia alvei</i>	1	s	–	–	s	–	1	NT
<i>Morganella morganii</i>	1	s	–	–	s	–	1	NT
<i>Proteus mirabilis</i>	1	s	–	–	+	–	1	NT
<i>Providencia alcalifaciens</i>	1	s	–	–	s	–	1	NT
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	s	–	–	+	–	1	NT
<i>Serratia marcescens</i>	1	s	–	–	–	s	1	NT

Legenda – Legend:

- n – počet testovaných kmenů – number of tested strains
 * – velikost migrační zóny za 24 h – size of migration zone in 24 h
 ** – červenofialové zbarvení média v okolí kultury – red-purple coloration of the medium around the culture
 *** – žlutozelené zbarvení média v okolí kultury – yellow-green coloration of the medium around the culture
 NF – nitrofurantoin (15 mg/l) – nitrofurantoin (15 mg/l)
 H.g.m – monovalentní sérum anti-Salmonella – anti-Salmonella monovalent serum
 + – pozitivní – positive
 – – negativní – negative
 s – slabě – slightly
 NT – netestováno – not tested

¹strain, ²culture growth, ³migration zone, ⁴turbidity, ⁵medium alkalization, ⁶sugar fermentation, ⁷number of sensitive elements to

Kultury salmonel a *Citrobacter koseri*, narostlých v M-bujonu, vytvářely na polotuhých půdách o poznání větší migrační zóny, tj. v průměru asi o 3 až 5 mm, než kultury stejných kmenů z peptonové vody.

Jak vyplývá z tab. I, 80 % kmenů *S. enteritidis* bylo rezistentních k nitrofurantoinu (15 mg/l), přidaného do DIASALM média. Ostatní testované kmeny salmonel a jiných gramnegativních bakterií byly nitrofurantoinem inhibovány. Kolem disku nasáklého monovalentním antisérem H:g,m vytvářelo 95 % kmenů *S. enteritidis* precipitační proužek a zónu inhibice (≤ 5 mm). Kmeny *S. typhimurium*, *S. agona* a *S. infantis* byly H:g,m rezistentní, tj. nevytvářely žádný ze znaků, zaznamenaných u většiny kmenů *S. enteritidis*.

Chování salmonel na DIASALM médiu v závislosti na počtu buněk bylo vyzkoušeno na třech kmech *S. enteritidis* a dosažené výsledky jsou uvedeny v tab. II. Bylo zjištěno, že kultury s denzitou salmonel $\geq 2,6 \cdot 10^4$ v 1 ml, po nákapnutí a po inkubaci vytvářely na DIASALM médiu migrační zóny o velikosti ≥ 90 mm. To znamená, že druhý den po inkubaci migrační zóny dosáhly vždy okraje kultivační misky s průměrem 9 cm. U více naředěných kultur byly naměřeny migrační zóny v následujících rozpětích: 46 až 323 buněk v kapce vytvořilo zóny o velikosti v průměru 80 až 85 mm, 9 až 20 buněk vytvořilo zóny 75 mm velké. Jestliže bylo v kapce dvě až pět buněk, vytvořila se zóna o průměru okolo 70 mm. U kultur s denzitou jedna až dvě buňky v kapce lze očekávat zónu o velikosti ≤ 60 mm.

Vliv přítomnosti vybraných interferujících gramnegativních bakterií na izolaci salmonel ze směsných vzorků demonstruje tab. III. Kmen *S. enteritidis* byl ve 12 vzorcích, obsahujících počty buněk v rozmezí 10^5 až 10^1 v 1 ml, testován ve směsi s kmeny *Citrobacter koseri*, *Edwardsiella tarda*, *Proteus mirabilis* a *Pseudomonas aeruginosa* (všechny s denzitou 10^4 až 10^5 v 1 ml). Z údajů v tab. III vyplývá, že salmonely i v počtech menších než 10 nebyly ve směsných vzorcích přerostlé žádným z přidaných druhů gramnegativních bakterií. Po kultivaci na DIASALM médiu se vytvořily migrační zóny, se stejným vzhledem jako u samotných salmonel, pouze s tím rozdílem, že byly v průměru o 5 až 10 mm menší. Ve směsi s *Edwardsiella tarda* byly výjimečně o 15 mm menší.

Ve 47 případech z 48, bez ohledu na poměrném zastoupení počtu salmonel a jiných gramnegativních bakterií, byly z okrajů migračních zón vykultivovány vždy čisté kultury salmonel. Výjimkou byl pouze jeden případ, ve kterém byly v kapce jedna až dvě buňky salmonel a $2,5 \cdot 10^3$ buněk *Citrobacter koseri*. Na DIASALM médiu se pak vytvořila namísto červenofialové zóny pohyblivého růstu, žlutozelená zóna o velikosti 20 mm. Z okraje této zóny byl izolován pouze *Citrobacter*.

Ze všech směsných vzorků, inkubovaných 20 h v peptonové vodě (inokulační poměr 1/10) při teplotě 37 °C, byly na DIASALM médiu z okrajů migračních zón (≥ 90 mm) izolovány vždy čisté kultury salmonel.

II. Růst *Salmonella enteritidis* na médiu DIASALM ve vztahu k počtu buněk – The growth of *Salmonella enteritidis* on DIASALM in relation to the cell number

Počet buněk v 1 ml ¹	Počet buněk v 1 kapce ^{**2}	Velikost migrační zóny (mm) ³
120 000	3 960	>90
38 000	1 254	>90
26 000	858	≥90
9 800	323	85
2 400	79	80
1 400	46	80
600	20	75
440	15	75
280	9	75
160	5	70
76	2–3	70
38	1–2	≤60

Legenda – Legend:

* – počty buněk a velikosti migračních zón jsou průměrné hodnoty z výsledků získaných u tří kmenů *S. enteritidis* – cell numbers and sizes of migration zones are the average values of the results obtained in three strains of *S. enteritidis*

** – objem kapky byl 33 µl – droplet volume was 33 µl

¹cell number per 1 ml, ²cell number per droplet, ³size of migration zone (mm)

DISKUSE

Selektivní pomnožení je nedílnou součástí všech rychlých i konvenčních metod průkazu salmonel v potravinách. V této fázi, ve které dříve dominovala různá tekutá média, doznala uplatnění polotuhá selektivně pomnožovací média, jejichž smyslem je usnadnit zachyt pohyblivých druhů salmonel (Švastová aj., 1984; Perales aj., 1991; van der Zee aj., 1990, 1994; Goossens aj., 1984; De Smedt aj., 1986; Read aj., 1994).

Cílem naší práce bylo u vybraných kmenů salmonel (40 kmenů *S. enteritidis*, sedm kmenů *S. typhimurium*, po dvou kmech *S. agona* a *S. infantis*, jeden kmen *S. gallinarum*) a 10 druhů gramnegativních pohyblivých bakterií nenáležících rodu *Salmonella*, ověřit účinnost izolace pomocí polotuhého média DIASALM, ve srovnání se známějšími Semi-solid Rappaport-Vassiliadisovými (MSRVA a SRVA) médii, dále prověřit možnost zvýšení úspěšnosti zachytu sérovaru *S. enteritidis* a objasnit chování salmonel na DIASALM médiu ve směsných vzorcích s některými interferujícími bakteriemi.

Pokud se týká posouzení selektivity tří testovaných médií, lze na základě dosažených výsledků konstatovat, že DIASALM médium vykazovalo jednoznačně větší úspěšnost v izolaci salmonel, než MSRVA a SRVA půdy. Při použití Rappaport-Vassiliadisových půd, lze předpokládat přítomnost salmonel ve vzorku pouze z vytvořené mléčné zakalené zóny pohyblivého růstu

III. Růst *S. enteritidis* a vybraných interferujících bakterií ve směsných vzorcích na médiu DIASALM – The growth of *S. enteritidis* and some interfering bacteria in mixed samples on DIASALM

Celkový počet salmonel ¹		Velikost migrační zóny (mm) ^{* 4}			
1 ml směsi ²	1 kapce ³	<i>Citrobacter diversus</i> n = 2 475	<i>Edwardsiella tarda</i> n = 3 003	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> n = 4 950	<i>Proteus mirabilis</i> n = 4 785
130 000	4 290	>90	>90	>90	>90
47 000	1 551	>90	≥90	85	85
22 500	743	≥90	80	80	80
19 500	644	85	75	80	80
9 500	314	85	75	80	80
2 600	86	75	70	75	75
700	23	75	70	70	75
385	13	70	65	70	70
275	9	70	65	65	70
115	4	60	55	60	60
70	2–3	60	55	55	60
38	1–2	20**	50	50	50

Legenda – Legend:

* – červenofialové zóny – red-purple zones

n – počet buněk v jedné kapce směsného vzorku – cell number per droplet of mixed sample

** – žlutozelená zakalená zóna – yellow-green turbid zone

¹total number of salmonellae, ²in 1 ml of mixture, ³per droplet, ⁴size of migration zone (mm)

na světle prodré půdě. Stejný výsledek však mohou poskytnout i bakteriální druhy *Citrobacter koseri* a *Proteus mirabilis*. V DIASALM médiu je obsažen diagnostický systém (laktóza, sacharóza a bromkresolový purpur), který umožňuje indikovat přítomnost salmonel podle červenofialové zakalené zóny pohyblivého růstu (obvykle s průměrem 50 až 90 mm) a s výraznou alkalizací média, neboť salmonely většinou nefermentují ani laktózu, ani sacharózu. U silně pohyblivých kmenů salmonel se může růstová zóna objevit již po 6 až 8 hodinách. Interferující, laktózu a sacharózu nefermentující mikroorganismy *Edwardsiella tarda*, *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia alcalifaciens* a *Pseudomonas aeruginosa* byly selektivním systémem DIASALM média, tj. relativně vysoký osmotický tlak, nízké pH, malachitová zeleň, novobiocin a teplota 42 °C, inhibovány. Kultury slabě rostly v místě inokulace, netvořily migrační zónu, pouze alkalizovaly médium, což se projevilo červenofialovým zbarvením média. Z laktózu nebo sacharózu fermentujících enterobakterií, pouze *Citrobacter koseri* vytvářel na DIASALM média migrační zónu s průměrem 50 mm, avšak žlutozeleně zbarvenou. Stejně zbarveno bylo i okolní médium v důsledku okyselování. Pro zvýraznění tvorby migrační zóny na všech třech polotuhých médiích se nám osvědčilo předmnožení kultur v M-bujonu (Sperbera a Deibela, 1969). M-bujon svým složením posiluje rozvoj bičků u pohyblivých bakterií a je v různých modifikacích používán jako pomnožovací médium v rychlých ELISA, latex aglutinačních a konduktometrických metodách (Cher-rington a Huisin't Veld, 1993; Blackburn aj., 1994). V našich pokusech kultury salmonel a citro-

bakteria z M-bujonu vytvářely na DIASALM médiu o poznání větší zóny, než stejné kmeny předmnožené v peptonové vodě.

Použitím DIASALM média lze dobře odlišit salmonely od ostatních pohyblivých gramnegativních bakterií. Samotné médium s přidavkem 10 mg/l novobiocinu je však nedostačující pro rozlišení jednotlivých sérovarů salmonel. Na základě dřívějších zjištění van der Zee (1994) doporučil zvýšit selektivitu DIASALM média pro cílený záchyt v současnosti prevalentního sérovaru *S. enteritidis* přidavkem nitrofurantoinu (15 mg/l). Toto antibiotikum je v praxi používáno v drůbežářském průmyslu při prevenci salmonelóz a infekcí způsobených *Eimeria* spp. Rampling aj. (1990) ve své práci uvádějí, že 98 % kmenů *S. enteritidis* fagotypu 4 bylo rezistentních k nitrofurantoinu s MIK 16 mg/l, zatímco 64 % jiných sérovarů bylo k němu citlivých. V našich pokusech jsme podobně zaznamenali rezistenci u většiny ze souboru kmenů *S. enteritidis* k nitrofurantoinu, i když v nižším počtu (80 % rezistentních). Růst 11 kmenů salmonel náležejících ostatním sérovarům byl tímto antibiotikem jednoznačně potlačen. Vyšší úspěšnost sérovarové identifikace na DIASALM médiu bylo dosaženo použitím disků nasáklých anti-salmonella sérem monovalentním H:g,m. Precipitační proužek a inhibiční zónu okolo disku vytvářelo 95 % kmenů *S. enteritidis*, 5 % kmenů *S. enteritidis* a ostatní sérovary na antisérum H:g,m vůbec nereagovaly.

Záchytnost salmonel na DIASALM médiu nebyla zásadně ovlivněna menším počtem salmonel v inokulu. Při výskytu ojedinělých buněk (počet 1 až 5) v kapce inokula lze při doporučeném kultivačním režimu

(42 °C/18 až 24 h) očekávat vytvoření typické barevné migrační zóny o průměru 60 až 70 mm. Tento případ však v běžné praxi s největší pravděpodobností nenastane, neboť před použitím jakéhokoliv polotuhého média předchází fáze předmnožení v neselektivním médiu. Tam se však může uplatnit kompetitivní mikroflóra. Proto jsme prověřili vliv vybraných interferujících mikroorganismů, tj. *Citrobacter koseri*, *Edwardsiella tarda*, *Proteus mirabilis* a *Pseudomonas aeruginosa*. Zjistili jsme, že v 98 % případech, nezávisle na diskriminovaném podílu salmonel ve směsích s ostatními mikroorganismy, byly z okrajů migračních zón na DIASALM médiu izolované čisté kultury salmonel. Předmnožení všech směsných vzorků v peptonové vodě přispělo k 100% zachytu salmonel na tomto médiu, které byly vždy bez problému izolovány v čistých kulturách.

Závěrem lze konstatovat, že v předložené práci svými praktickými zkušenostmi dokládáme a potvrzujeme relativně vysokou účinnost polotuhého DIASALM média v izolaci a v částečné diferenciaci pohyblivých druhů salmonel od interferujících gramnegativních bakterií. Výsledky zjištěné při zvyšování selektivity tohoto média pro sérovar *S. enteritidis* otevírají možnost použití dalších diskriminačních faktorů, které jsou pro tento sérovar výhodné. Přes mírné omezení, týkající se obtíží při zachytu nepohyblivých druhů salmonel, které však konečně mají i všechna ostatní polotuhá média, lze DIASALM médium doporučit k využití v oblasti selektivního pomnožení. Nenáročnost a výhody, které skýtá oproti běžně používaným půdám, ať tekutým nebo polotuhým, jsou zcela evidentní a představují významnou inovaci v izolaci a diagnostice salmonel.

LITERATURA

ARAJ, G. – CHUGH, T. D.: Detection of *Salmonella* spp. in clinical specimens by capture enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, 25, 1987: 2150–2153.
 BLACKBURN, C. de W.: Review: Rapid and alternative methods for the detection of salmonellas in foods. *J. Appl. Bact.*, 75, 1993: 199–214.
 BLACKBURN, C. de W. – CURTIS, L. M. – HUMPHREY, L. – PETTIT, S. B.: Evaluation of the Vitek immunodiagnostic assay system (VIDAS) for the detection of *Salmonella* in foods. *Lett. Appl. Microbiol.*, 19, 1994: 32–36.
 ČSN 56 0088. Potravinářské výrobky. Průkaz bakterií rodu *Salmonella* 1987. 17 s.
 ČSN 56 0100. Mikrobiologické zkoušení požívatelných předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven, 1970. 239 s.
 GOOSSENS, H. – WAUTERS, G. – BROECK, M. – JANSSENS, M. – BUTZLER, J. P.: Semi-solid selective motility enrichment medium for isolation of salmonellae from faecal species. *J. Clin. Microbiol.*, 19, 1984: 940–941.

CHERRINGTON, C. A. – HUIS IN 'T VELD, J. H. J.: Development of a 24 h screen to detect viable salmonellas in faeces. *J. Appl. Bact.*, 75, 1993: 58–64.
 NETTEN, P. van – ZEE, H. van der – MOOSDIJK, A. van der: The use of a diagnostic semi-solid medium for the isolation of *Salmonella enteritidis* from poultry. In: Spelderholt Jubilee Symp. Quality of poultry products. III. Safety and marketing aspects. Doorwerth, May 1991.
 PERALES, I. – ERKIAGA, E.: Comparison between semi-solid Rappaport and modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis media for isolation of *Salmonella* species from foods and feed. *Int. J. Fd Microbiol.*, 14, 1991: 51–57.
 RAMPLING, A. – UPSON, R. – BROWN, D. F. J.: Nitrofurantoin resistance in isolates of *Salmonella enteritidis* phage type 4 from poultry and humans. *J. Antimicrob. Chemother.*, 25, 1990: 285–290.
 READ, S. C. – IRWING, R. J. – POPPE, C. – HARRIS, J.: A comparison of two methods for isolation of *Salmonella* from poultry litter samples. *Poult. Sci.*, 73, 1994: 1617–1621.
 SMEDT, J. M. de – BOLDERDIJK, R. F.: Dynamics of *Salmonella* isolation with modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium. *J. Fd Protect.*, 50, 1987: 658–661.
 SMEDT, J. M. de – BOLDERDIJK, R. F. – RAPPOLD, H. F. – LAUTENSCHLAGER, D.: Rapid *Salmonella* detection in foods by motility enrichment on a modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium. *J. Fd Protect.*, 49, 1986: 510–514.
 SMITH, P. J. – BOARDMAN, A. – SHUTT, P. C.: Detection of salmonellas in animal feeds by electrical conductance. *J. Appl. Bact.*, 67, 1989: 575–588.
 SPERBER, W. H. – DEIBEL, R. H.: Accelerated procedure for *Salmonella* detection in dried foods and feeds involving only broth cultures and serological reactions. *Appl. Microbiol.*, 17, 1969: 533–539.
 ŠVASTOVÁ, A. – SKALKA, B. – SMOLA, J.: A modified medium for *Salmonella* isolation by the selective motility test. *Zbl. Vet. Med.*, R. B, 31, 1984: 396–399.
 WILSON, S. G. – CHAN, S. – DEROO, M. – VERA-GARCIA, M. – JOHNSON, A. – LANE, D. – HALBERT, D. N.: Development of a colorimetric, second generation nucleic acid hybridization method for detection of *Salmonella* in foods and comparison with conventional culture procedure. *J. Fd Sci.*, 55, 1990: 1394–1398.
 ZEE, H. van der – NETTEN, P. van: Improved isolation of *Salmonella enteritidis* from poultry by the use of a semi-solid diagnostic *Salmonella* medium. *Ware(n)-Chemicus*, 21, 1991: 180–189.
 ZEE, H. van der.: Conventional methods for the detection and isolation of *Salmonella enteritidis*. *Int. J. Fd Microbiol.*, 21, 1994: 41–46.
 ZEE, H. van der – de BOER, E. – NETTEN, P. van: *Salmonella* isolatie met behulp van Modified Semi-solid Rappaport-Vassiliadis (MSRV) medium. *Varen(n)-Chemicus*, 20, 1990: 189–199.

Došlo 5. 1. 1996

Kontaktní adresa:

RNDr. Vladislava Růžicková, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno, Česká republika
 Tel. 05/41 32 12 41, fax 05/41 21 12 29

FIRST CASES OF CAPRINE DEMODECTIC MANGE
IN THE CZECH REPUBLIC

PRVNÍ NÁLEZY DEMODIKÓZY KOZ V ČESKÉ REPUBLICE

P. Fleischer¹, D. Lukešová¹, M. Skřivánek¹, B. Hofírek¹, I. Štursa²¹ University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic² Institute for State Control of Veterinary Biologicals and Medicaments, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: The first case of demodectic (*Acari: Demodecidae*) mange in the Czech Republic was diagnosed in a domestic White Shorthaired goat hospitalized in our clinic. A total of 128 solid protruding nodules, similar in size to lens or pea, were found on lateral parts of the neck and trunk and on proximal parts of the limbs. A pasty, creamy mass containing immature and adult mites could be pressed out of the nodules. Parasitological examinations identified the mites as *Demodex caprae* Railliet, 1895 (Fig. 1). Antiparasitic treatment was started with the pyrethroid deltamethrine (Butox^R 7.5 Pour On, Roussel Uclaf) although demodectic mange is not given in the spectrum of its applications. Ten ml of the drug were poured onto the back of the animal twice within an interval of 7 days. The next drug tested was another pyrethroid, Neostomosan^R sol. ad us. vet. (Sanofi Santé Animale) containing tetramethrine and transmix as the effective ingredients and recommended by the manufacturer for the treatment of canine and feline demodicosis. The animal was bathed twice within an interval of 14 days in a 1 : 400 dilution as recommended by the manufacturer. The mites survived the treatments with both drugs and their motility was not affected. The size of nine of the nodules (4.5 to 6.8 mm), measured before and after the treatments, remained unchanged. The third drug tested was amitraz (Tactic^R, Hoechst) known to be effective against canine demodicosis (Ectodex^R, Hoechst). Seven baths with 10-day intervals in the drug diluted 1 : 400 resulted in the decrease of the number of nodules to 83 (by 35.2%). The diameters of 7 of the measured nodules diminished by approx. 1.6 mm. No movements of the mites were observed on Day 56 after the treatment, but the immature stages probably survived because new nodules and allergy developed after the patient had been released from the clinic. The unsatisfactory effect of amitraz can be explained by the limited penetration of the drug into the nodules surrounded by fibrous tissue. Demodectic mange was subsequently diagnosed in one highly pregnant animal housed together with the patient. Further cases of demodicosis were detected by intentional examinations in the districts of Nový Jičín and Olomouc (three cases in the latter). It is apparent that the infection may remain undetected at current health checks, although it is world-wide spread and causes considerable losses to the hide-and-skin industry.

goats; skin; *Demodex caprae*; clinical findings; diagnostic; therapy

ABSTRAKT: Sledovali jsme výskyt trdníků rodu *Demodex* (*Acari: Demodecidae*) u čtyřletého kozla domácího plemene bílá krátkosrstá koza. U pacienta jsme po stranách krku, trupu a na proximálních částech končetin zjistili celkem 128 tuhých, bílých, prominujících uzlíčků o velikosti čočky až hrachu. Z uzlíčků bylo možné vymáčknot kašovitou, smetanově zabarvenou hmotu obsahující vývojová stadia a dospělé rodu *Demodex*. Parazitologickým vyšetřením byl potvrzen nález druhu *Demodex caprae* Railliet, 1895 (obr. 1). Terapii jsme zahájili deltamethrinem (Butox^R 7.5 Pour On, Roussel Uclaf); na hřbet jsme dvakrát v sedmidenním intervalu aplikovali 10 ml. Jako druhý jsme použili kombinovaný preparát obsahující tetrametrin a transmix (Neostomosan^R sol. ad us. vet., Sanofi Sante Animale). Byly provedeny dvě koupele ve 14denním intervalu v ředění 1 : 400. V obou případech zůstali trdníci po léčbě živí a schopní pohybu, počet a velikost devíti přeměřovaných uzlíků se nezměnily (4,5–6,8 mm). Poté jsme přistoupili k terapii pomocí amitrazu (Tactic^R, Hoechst). Po sedmi koupelích v 10denních intervalech při ředění 1 : 200 došlo k snížení počtu uzlíků o 35,2 % na 83 a u sedmi z devíti hodnocených uzlíků také k jejich zmenšení průměrně o 1,6 mm. Pohyb trdníků nebyl zaznamenán 56. den po ukončení léčby, ale vývojová stadia přetrvávala. Po propuštění pacienta došlo k rozvoji alergické reakce a postupně ke vzniku nových uzlíků. Demodikóza byla následně zjištěna i u jedné vysokobřeží kozy ze společného ustájení. V dubnu 1994 byl potvrzen nález demodikózy koz na Novojičínsku a také u tří koz v chovu na Olomoucku.

kozy; kůže; *Demodex caprae*; klinický nález; diagnostika; terapie

Trudníci (rod *Demodex*) náleží k parazitickým, převážně druhově specifickým roztočům. Jsou nalézáni v chlupových folikulech a kožních žlázkách všech domácích zvířat i člověka. U psů jsou řazeni k normální fauně kůže. Onemocnění – demodikóza – vzniká při jejich přemnožení (S v o b d a aj., 1994). U koz je popsán druh *Demodex caprae* Railliet, 1895. U skotu je onemocnění schopno vyvolat *D. bovis* Stiles, 1892. Popsány jsou u něj i druhy *D. ghanensis* Oppong, Lee et Yasin, 1975 a *D. tauri* Bukva, 1986. Teprve při cílených vyšetřeních se u většiny druhů zvířat zjišťuje mnohem častější výskyt trudníků než se předpokládalo (N u t t i n g aj., 1975). Také u lidí se nachází u více jak 20 % populace a mají nepatrný zdravotní význam (R y š a v ý a kol., 1988).

Demodikóza způsobuje citelné škody kožedělnému průmyslu. Z tohoto důvodu byla především v Evropě a Severní Americe uskutečněna rozsáhlá sledování o demodikóze skotu a v Asii o demodikóze koz. Na jejich základě je v sousedních zemích, např. v Rakousku, považováno 5 až 10 % populace skotu za nositele trudníků (G l a w i s c h n i g a D e u t z, 1993). U skotu i koz demodikóza probíhá jako mírné chronické onemocnění kůže s nenápadnými symptomy. B u k v a aj. (1985) jako první prokázali výskyt demodikózy skotu v Čechách a také demodikózy koz na Slovensku (B u k v a aj., 1991).

V našem příspěvku jsou popisovány prvé případy demodikózy koz v České republice včetně pokusu o léčbu.

VLASTNÍ SLEDOVÁNÍ

V listopadu 1993 byl na kliniku chorob přežvýkavců VFU Brno hospitalizován pro vleklý zánět spojivek kozel-kastrát, pokusné zvíře ústavu mikrobiologie VFU.

V anamnéze bylo zjištěno, že se jedná o kozla ve věku tři roky a devět měsíců, který byl na VFU Brno přivezen z chovu již jako kůzle. Po celou dobu byl ustájen a chován ve stejných podmínkách společně s dalším zvířetem pocházejícím ze stejného vrhu; na VFU nepřišli do styku s jinými kozami. Obě zvířata byla na ústavu mikrobiologie využívána k testaci biologických preparátů, u kterých se nepředpokládá imunosupresivní účinek.

Vyšetřením byl zjištěn nenarušený celkový zdravotní stav, *conjunctivitis purulenta*, alopecie okolo očí a erytém. Pod srstí téměř po celém těle byly při palpaci nalézány tuhé bílé uzlíčky velikosti čočky až hrachu, přibližně z 1/3 prominující nad povrch kůže. Celkem bylo nalezeno 128 uzlíčků lokalizovaných po stranách krku, trupu a na proximálních částech končetin po úroveň loketních a kolenních kloubů. Pouze na levé hrudní končetině se nacházely tři uzlíky i na mediální ploše metakarpu. Devět uzlíčků bylo v průběhu celého sledování přeměřováno kutimetrem. Na počátku dosahovaly

velikosti 4,5–6,5 mm (v průměru 5,9 mm). Pevným stiskem bylo možné z většiny uzlíčků vymáčknout tenký proud husté kašovité, smetanově zbarvené hmoty. Kozel byl v dobrém výživném stavu, měl nezměněné mizní uzliny a nevykazoval příznaky dalších onemocnění.

Při vyšetření společně ustájeného zvířete pocházejícího ze stejného vrhu nebyly zjištěny žádné kožní změny.

Výsledky hematologických a biochemických vyšetření byly u hospitalizovaného pacienta, až na zvýšení obsahu celkové bílkoviny v krevní plazmě (86,0 g/l), ve fyziologických mezích. Celkový počet leukocytů v krvi činil 9,2 G/l při 20 % neutrofilů a 74 % lymfocytů. Orientační mikrobiologické vyšetření obsahu uzlíčků proběhlo bez záchytu. Parazitologickým vyšetřením obsahu byl v uzlíčcích diagnostikován *Demodex caprae* Railliet, 1895 (obr. 1).

Léčba a její průběh

Zánět spojivek po hospitalizaci, tj. po změně prostředí a po osmdenním ošetřování Ophthalmo-Framykinem^R (Léčiva Praha) a jednorázové celkové aplikaci vitamínů, odezněl.

Léčba demodikózy byla postupně prováděna třemi různými preparáty. Pro vyhodnocení jejich účinku byla sledována životnost parazitů a celkový počet a velikost vybraných uzlíčků.

Léčba byla zahájena pyretroidem deltamethrinem (Butox^R 7,5 Pour On firmy Roussel Uclaf). I když demodikóza není uváděna ve spektru jeho indikací, byl zvolen k vyzkoušení jeho účinnosti. Byl aplikován dle návodu na hřbet, a to dvakrát, se sedmidenním odstupem vždy v dávce 10 ml. Kontrolní mikroskopické vyšetření obsahu uzlíčků, provedené 16. den po ošetření, prokázalo vzhledem k pohybu některých zachycených jedinců v roztěru v kapce parafrinového oleje, že parazité zůstali po léčbě živí. Počet ani velikost vybraných uzlíčků se nezměnila.



1. *Demodex caprae* Railliet, 1895; světelný mikroskop; 1000x (originální mikrofoto) – *Demodex caprae* Railliet, 1895; light microscope; 1000x (original microphoto)

Druhým pyreteroidním preparátem užitým k léčbě byl Neostomosol^R sol. ad us. vet. firmy Sanofi Sante Animale obsahující tetramethrin a transmex. Dle výrobce je indikován k léčbě demodikózy psů a koček. Byl aplikován podle návodu formou dvou koupelí při ředění 1:400 s odstupem 14 dní. I přes tuto léčbu zůstali parazité 48. den po ošetření schopni pohybu. Také počet a velikost vybraných uzlíků se prakticky nezměnila (4,5–6,8 mm; v průměru = 6 mm).

Jako třetí byl použit amitraz v přípravku Taktic^R firmy Hoechst. Dle zkušeností s léčbou demodikózy psů (Ectodex^R firmy Hoechst) bylo provedeno sedm koupelí v 10denních intervalech při ředění 1 : 200 původního 12,5% koncentrátu (Taktic^R firmy Hoechst) při spotřebě 2,5 l zředěného roztoku na jednu koupel – prolévání srsti vleže na podestýlce kryté igelitovou fólií při současném kartáčování povrchu kůže zvířete. Poslední koupel byla provedena 169. den hospitalizace. Po léčbě přípravkem Taktic^R došlo k snížení počtu uzlíků na 83, tj. o 35,2 % a ke zmenšení sedmi z devíti přeměřovaných uzlíků o 0,5–3,0 mm (v průměru o 1,6 mm). V roztech již nebyl pozorován pohyb parazitů, ale přítomna byla všechna vývojová stadia.

Kozel byl převeden zpět na ústav mikrobiologie VFU Brno, kde však u něj byl hned druhý den zaznamenán erytém doprovázený pruritem po celém povrchu těla. Po 12 dnech byl opět hospitalizován na klinice. Hematologické vyšetření, ve srovnání se stavem zjištěným před šesti měsíci, ukázalo zvýšení počtu leukocytů (z 9,2 na 11,6 G/l) a posun v zastoupení neutrofilů (z 20 na 57 %) a lymfocytů (z 74 na 38 %). K posouzení aktivity imunitního systému u něj bylo Ústavem pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv provedeno:

1. Stanovení metabolické aktivity fagocytyjících buněk pomocí chemiluminiscence. Výsledky jsou vyjadřovány pomocí respiračního indexu (RI), který představuje podíl aktivity buněk stimulovaných škrobovými zrny a buněk nestimulovaných. U invadovaného kastráta činil RI 17, zatímco u druhého sledovaného zvířete jen sedm. To ukazuje na více jak dvojnásobně vyšší metabolickou aktivitu fagocytyjících buněk invadovaného jedince ve srovnání se zdravým jedincem z téhož vrhu.

2. Sledování aktivity lymfocytů testem blastické transformace lymfocytů. U pacienta byly u lymfocytů po stimulaci fytohemaglutininem konkanavalinem A zjištěny hodnoty mitotického indexu (MI) 122 a 93. U lymfocytů zdravého zvířete byly zjištěny hodnoty MI 177 a 174. Nižší schopnost blastické transformace lze patrně vysvětlit určitým vyčerpáním lymfocytů v důsledku zvýšené metabolické aktivity leukocytů prokázané chemiluminiscencí.

Po druhé hospitalizaci došlo bez léčby, pouhou změnou prostředí a krmiva, během týdne k ustoupení erytému i pruritu. Klinický stav byl posouzen jako suspektní vzplanutí alergické reakce na blíže nespecifikovaný alergen.

Při následných opakovaných kontrolních vyšetřeních na demodikózu (posledních 56 dní po ukončení léčby amitrazem) nebyl u parazitujících jedinců zazna-

menán pohyb. V obsahu uzlíků však přetrvávala všechna vývojová stadia a došlo také k vytvoření nových uzlíků. Kozel byl poté předán na nutnou porážku.

Během pobytu na klinice byl kozel ustájen společně s dalšími dvěma kozami téhož plemene. Po pěti měsících byly zjištěny u jedné vysokobřeží šestileté kozy tři uzlíky obsahující trudníky. Měsíc po porodu byly uzlíky krátce incidovány, důkladně vymačkány a vytřeny tampóny s jodovou tinkturou. V roztech jejich obsahu v parafinovém oleji vykazovalo (obdobně jako u kozla před léčbou amitrazem) asi 2–3 % jedinců pohyb. Ten u většiny z nich v rozteru ustal do dvou hodin po odběru, pouze výjimečně přetrvával, např. u jednoho exempláře až osm hodin.

Demodikóza koz byla v dubnu 1994 zjištěna i v jednom chovu na Olomoucku, kde z 10 vyšetřených koz byly u tří zjištěny uzlíčky přibližně poloviční a pouze v asi třetinovém počtu ve srovnání s popisovaným kozlem. Od jedné kozy byly odebrány vzorky a potvrzen *D. caprae* Railliet, 1895. Obdobně byla prokázána demodikóza v dalším chovu koz na Novojičínsku.

DISKUSE

Demodikóza u hospodářských zvířat většinou uniká pozornosti, protože nenarušuje celkový zdravotní stav a nesnižuje užitkovost chovaných zvířat. Adspekci může být u koz postřehnuta pouze výjimečně, v rozvinutých případech se vytvoří uzlíky i v krátké srsti okolo očí či mulce. Podobně jako v našem případě bývají uzlíky nejběžněji a nejhojněji lokalizovány na tvářích, krku, lopatkách a stranách trupu, tj. na místech nejčastějšího vzájemného otírání se zvířat. Jsou kryty většinou normální srstí (Linklater a Smith, 1993), která u skotu bývá nad uzlíky mírně zježená (Rosenberger, 1978). Přítomnost uzlíků není doprovázena pruritem. Uzlíky zůstávají nebolestivé a proto bývají zjištěny teprve palpací.

Velikost uzlíků kolísá od špendlíkové hlavičky po lískový ořech (The Merck Veterinary Manual, 1991), Bukva aj., (1991) naměřili 1–8 mm. Velikost uzlíků zjištěná u koz na Olomoucku (průměr 3 mm) odpovídá nejběžnější velikosti především u skotu. U koz a prasat se vytváří i větší uzlíky s možností abscedace (Blooda a Radostits, 1989). Sekundární infekci kokovitými bakteriemi u některých uzlíků s výraznějším ohraňovacím a bohatou infiltrací zjistili Bukva aj. (1991).

Uzlíky vznikají z vlasových folikulů a mazových žlázek, do kterých pronikly oplozené samičky trudníků. Ty zde zakládají kolonie a vlastní folikul je pak dilatován především těly roztočů, vajíčky, zbytky chitinných schránek a buněčným detritem. V jednom uzlíku se u skotu může nacházet až 32 000 jedinců (Schulz aj., 1968). Zánět probíhající v okolní tkáni má u skotu obecně charakter tvorby granulomu, dochází k tvorbě vazivového pouzdra (Valentin aj., 1991), které u koz na Slovensku bylo podle Bukvy aj. (1991) často jen tenké. V kůži postižených koz mohou uzlíky

přetrvávat po dobu několika měsíců až roků (Thomson a Mackenzie, 1982). U námi zjištěných případů demodikózy se jednalo vždy o tuto nodulární formu. Pouze výjimečně bývá u koz zaznamenána i skvamózní forma (Venkatesan aj., 1978), která se podobá svrabu. Ta je běžná u demodikózy psů.

V důsledku nenápadných příznaků bývají *intra vitam* náhodně diagnostikovány pouze pokročilé případy. Podstatně častější jsou nálezy při cílených vyhledáváních. I při nich se však při klinickém vyšetření skotu nalézají pouze asi 14 % uzlíků. Skutečný rozsah demodikózu způsobených poškození se zjišťuje teprve během opracovávání kůží, především po odstranění epidermis (Hoffmann a Hiepe, 1987). Škody, které takto kožedělnému průmyslu vznikají, jsou obzvláště v některých zemích značné. V Indii bývá demodikózu poškozeno až 50 % kůží koz (Venkatesan aj., 1978) a v USA byly demodikózu skotu způsobované škody odhadovány na 10 miliónů dolarů ročně (Roddy a O'Flaherty, 1965).

Demodikóza se u přežvýkavců vyskytuje celosvětově. Podíl postižených koz kolísá u různých autorů podle oblasti, plemene, typu chovu atd. V jednotlivých citovaných sledováních bylo zaznamenáno 0,5–13,5 % postižených koz v souborech o 84 až 7 850 kusech (Padilha a Faccini, 1980; Williams a Williams, 1982; Shaikh aj., 1983; Frolov a Larionov, 1984; Chakrabarti a Pradhan, 1985; Nooruddin aj., 1987; Bukva aj., 1991). Mnohem vyšší jsou počty zvířat, která jsou pouze subklinickými nosiči trudníků, především v kůži očních víček, *prepuccia* nebo vulvy. Při plošném vyšetřování byli nalezeni u 8 až 85 % koz (Nutting aj., 1975; Rak a Rahgozar, 1975; Quintero, 1978; Pratap aj., 1991). Nejvyšší stupeň invadovanosti trudníky je u skotu i koz popisován v tropických a subtropických oblastech, ale nemají je i v USA a Kanadě (Rosenberger, 1978; Williams a Williams, 1982).

V naší republice můžeme předpokládat obdobnou situaci, jaká je v sousedních zemích. Například v bývalé NDR bylo koncem 80. let přešetřeno 29 velkochovů skotu a ve všech byla demodikóza nalezena u 4–34,8 % zvířat.

Trudníci jsou přenášeni především u mláďata, a to již v prvních hodinách po porodu (Fisher aj., 1980; Williams a Williams, 1982). Náš nález demodikózy u březí kozy považujeme za důsledek společného ustájení s postiženým kozlem. Při zintenzivněném forem chovu s větší koncentrací zvířat byl u koz zaznamenán nárůst demodikózy (Dunn, 1987). Spolehlivý průkaz přenosu trudníků přímým kožním kontaktem mezi dospělými hostiteli ale zatím není znám u žádného druhu (Bukva, 1990). Ojedinelé je zvažována i možnost intrauterinního přenosu a endogenní fáze parazitování pramenící z nálezu ojedinelých trudníků v různých orgánech a exkretech (Venkatesan, 1980). Dle Svobody aj. (1994) zde ale jde o jedince pouze náhodně zanesené krví či lymfou.

Věk našich pacientů, čtyři a šest let, odpovídá zjištěním, že demodikóza koz bývá zpozorována nejdříve

od 10 až 15 měsíců věku (Euzebay aj., 1976) a že většina klinických případů je pozorována ve věku dvou a více let (Yeruham aj., 1984).

Přes postupné použití tří preparátů jsme naší léčbou dosáhli pouze u amitrazu mírného zlepšení v snížení počtu a zmenšení uzlíků. Většina autorů hodnotí demodikózu přežvýkavců jako onemocnění, u kterého dosud není znám spolehlivý způsob léčby (Rosenberger, 1978; Dunn, 1987; Blood a Radostits, 1989). V případech o léčbě demodikózy je běžné, že postup a preparát doporučený jedním autorem u dalšího nedosáhne popisovaných výsledků. Tak tomu je u trichlorfonu – Kadlec a Kubelka (1974) versus Chroustová aj. (1974), u malathionu – Das a Misra (1973) versus Sharma a Lonkar (1985), u lindanu – Groschans aj. (1980) versus Chroustová aj. (1974) i u amitrazu – Svoboda aj. (1994) versus náš případ.

Příčinou selhávání léčby je pravděpodobně i uložení parazitů ve vazivem obdaných uzličích, které jsou navíc hustě vyplněny roztoči i buněčným detritem (Rosenberger, 1978). Nezpochybujeme tedy účinnost vlastního amitrazu. Musíme pouze konstatovat, že se nám při koupelích patrně ani kartáčováním nepodařilo dosáhnout dostatečného proniknutí účinné látky do uzlíků. Na zpřístupnění trudníků kladou velký důraz i Svoboda aj. (1994). U psů je přitom postup jednodušší, protože demodikóza u nich probíhá ve skvamózní formě, často sice doprovázené záněty folikulů, ale bez tvorby vazivových uzlíků. Přesto tyto autoři rozhodně doporučují před vlastním ošetřením úplné ostříhání srsti zvířete a také důkladné odstranění šupin a krust koupeli v šamponech obsahujících antisčborické a baktericidní přísady.

Jako účinnou látku proti demodikóze koz uvádí Dunn (1987) rotenon (Cooper's Demodectic Mange Dressing, Wellcome). Pokud se ale opírá o sdělení Thomasona a Mackenzieho (1982), bylo tohoto úspěchu dosaženo kombinací celkové léčby a lokálního ošetření jednotlivých uzlíků. Dle publikace The Merck Veterinary Manual (1991) ošetření jednotlivých uzlíků (jejich incize a vytření jodovou tinkturou) dává u cenných jedinců nejspolehlivější výsledky.

U jedinců s rozsáhlým postižením, tak jak tomu bylo u námi popisovaného pacienta, sehrává patrně významnou úlohu individuální predispozice hostitele. Alergická reakce u něj pozorovaná svědčí o rozvoji imunologické dysbalance v jeho organismu, přispívající zřejmě k výrazné klinické manifestaci demodikózy. U fen, jejichž stěhata bývají postižována demodikózou, navrhuje Svoboda aj. (1994) vyřazení z chovu, protože šíří i genetickou dispozici k onemocnění. Ve stádech koz bývají výrazněji postiženy jen ojedinelé kusy. Nelze-li u nich definovat a odstranit predispoziční vlivy nebo projevy interkurentního onemocnění podílejícího se na propuknutí demodikózy, potom se obdobně jako Williams a Williams (1982) přikláníme k názoru, že namísto pracné, dlouhodobé a svým výsledkem nejisté terapie může být vhodnějším řešením vyřazení postiženého zvířete z chovu.

LITERATURA

- BLOOD, D. C. – RADOSTITS, O. M.: Veterinary Medicine. 7th ed. London, Baillière Tindall 1989. 1 502 s.
- BUKVA, V. – VÍTOVEC, J. – SCHANDEL, V.: První nálezy demodikózy skotu v Československu. Veter. Med. (Praha), 30, 1985: 515–520.
- BUKVA, V.: Transmission of *Demodex flagellus* (Acari: Demodicidae) in the house mouse, *Mus musculus*, under laboratory conditions. Exp. Appl. Acarol., 10, 1990: 53–60.
- BUKVA, V. – VÍTOVEC, J. – POKORNÝ, T.: První nálezy demodikózy koz v Československu. In: Parazitózy hospodářských zvířat. České Budějovice, 1991: 133–135.
- DAS, D. N. – MISRA, S. C.: Studies on caprine demodectic mange with institution of effective therapeutic measures. Indian Vet. J., 49, 1972: 96–101.
- DUNN, P.: The Goatkeepers Veterinary Book. 2nd ed. Inverness, Great Britain, John G. Eccles Printers Ltd. 1987. 198 s.
- EUZEBY, J. – CHERMETTE, R. – GEVREY, J.: Demodex infestation in goats in France. In: Les maladies de la chevre, Colloque International, Noirt, France, 1984: 573–580.
- FISHER, W. F. – MILLER, R. W. – EVERETT, A. L.: Natural transmission of *Demodex bovis* stiles to dairy calves. Vet. Parasit., 7, 1980: 233–241.
- FROLOV, B. A. – LARIONOV, S. V.: Distribution, clinical manifestations and diagnosis of demodectic mange in goats. Sanitarno-toksikologicheskaya otsenka veterinarnykh preparatov i voprosy mikologii i sanitarii kormov. Moscow, 1984: 78–83.
- GLAWISCHNIG, W. – DEUTZ, A.: Oberflächenschäden auf österreichischem Rinderleder unter besonderer Berücksichtigung der Demodikose. Wien. Tierärztl. Mschr., 80, 1993: 346–351.
- GROSSHANS, E. – DUNGLER, T. – KIEN, T. T. – KREMER, M.: Demodex folliculorum and rosacea: experimental and immunological studies. Z. Hautkrankh., 55, 1980: 1211–1218.
- HOFFMANN, G. – HIEPE, T.: Zur gegenwärtigen Situation der Rinderdemodikose in der DDR. Mh. Vet.-Med., 42, 1987: 704–708.
- CHAKRABARTI, A. – PRADHAN, N. R.: Demodicidosis in livestock in West Bengal. Int. J. Zoonoses, 12, 1985: 283–290.
- CHROUSTOVÁ, E. – WILLOMITZER, J. – MRVA, V.: Výskyt demodikózy u ovce. Veterinářství, 24, 1974: 115–116.
- KADLEC, V. – KUBELKA, J.: Demodikóza ovčí. Veter. Med. (Praha), 19, 1974: 249–254.
- LINKLATER, K. A. – SMITH, M. C.: Color Atlas of Diseases and Disorders of the Sheep and Goat. Aylesbury, England, Wolf Publishing 1993. 256 s.
- NOORUDDIN, M. – HOQUE, M. H. – BARIK, M. A. – ISLAM, S. M. N.: Prevalence of skin diseases in Black Bengal goats. Bangladesh Vet., 4, 1987: 1–2, 5–9.
- NUTTING, W. B. – KETTLE, P. R. – TENQUIST, J. D. – WHITTEN, L. K.: Hair follicle mites (*Demodex* spp.) in New Zealand. N. Z. J. Zool., 2, 1975: 219–222.
- PADILHA, T. N. – FACCINI, J. L.: Prevalence of mange caused by *Demodex* in caprines in north-eastern Brazil: preliminary observations. In: Anais do II Seminario Brasileiro de Parasitologia Veterinaria, Brasília, 1980: 319.
- PRATAP, G. – MISRA, S. C. – PANDA, M. R.: A note of the incidence of ectoparasites on Black Bengal goats at Bhubaneswar. Indian Vet. J., 68, 1991: 92–94.
- QUINTERO, M.: Frequency of *Demodex* mites in the eyelids of different species of domestic animals. Veterinaria Mexico, 9, 1978: 111–114.
- RAK, H. – RAHGOZAR, R.: Demodectic mange in the eyelid of domestic ruminants in Iran. Bull. Soc. Pathol. Exot., 68, 1975: 591–593.
- RODDY, W. T. – O'FLAHERTY, F.: Ten million dollar robbery. Leat. Manufact., 82, 1965: 21–24.
- ROSENBERGER, G.: Krankheiten des Rindes. 2. vyd. Berlin, Verlag Paul Parey 1978. 1 403 s.
- RYŠAVÝ, B. a kol.: Základy parazitologie. 1. vyd. Praha, Státní pedagogické nakladatelství 1988. 261 s.
- SHAIKH, H. u D. – HUQ, M. M. – KARIM, M. J. – KHAN, M. M. M.: Parasites of zoonotic importance in domesticated ruminants. Pakist. Vet. J., 3, 1983: 23–25.
- SHARMA, M. M. – LONKAR, P. S.: A case of demodectic mange in Sirohi goat. Indian J. Parasit., 9, 1985: 167–168.
- SCHULZ, W. – GRÄFNER, G. – HIEPE, K.: Untersuchungen über die Rinderdemodikose in Rinderbeständen. Mh. Vet.-Med., 23, 1968: 408–412.
- SVOBODA, M. aj.: Dermatologie psa a kočky. 1. vyd. Brno, ČA VLMZ 1994. 360 s.
- THOMSON, J. R. – MACKENZIE, C. P.: Demodectic mange in goats. Vet. Rec., 111, 1982: 185.
- VALENTIN, A. – GLASER, B. – MATTHES, H. F.: Zur Pathologie Haarfollikelveränderungen bei der nodulären Form der Rinderdemodikose. Mh. Vet.-Med., 46, 1991: 82–85.
- VENKATESAN, R. A.: Significance on the presence of *Demodex caprae* in the internal organs of goats. Cheiron, 9, 1980: 15–21.
- VENKATESAN, R. A. – SUGUMAR, M. – NANDY, S. C.: Effect of demodectic mange on the leather-making quality of Indian goatskins. J. Amer. Leath. Chem. Assoc., 73, 1978: 422–432.
- WILLIAMS, J. F. – WILLIAMS, C. S. F.: Demodicosis in dairy goats. JAVMA, 180, 1982: 168–169.
- YERUHAM, I. – ROSEN, S. – HADANI, A.: Demodicosis (*Demodex caprae*, Railliet, 1895) in local goats in Israel. Refuah Vet., 41, 1984: 142–143.
- The Merck Veterinary Manual. 7th ed. Rahway, New Jersey, Merck & Co. 1991. 1 832 s.

Došlo 10. 8. 1995

Kontaktní adresa:

MVDr. Petr Fleischer, Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1–3, 612 42 Brno, Česká republika
Tel. 05/41 32 11 07, fax 05/41 21 11 51

**Nejčerstvější informace o časopiseckých člancích
poskytuje automatizovaný systém**

Current Contents

na disketách

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna odebírá časopis „**Current Contents**“ řadu „**Agriculture, Biology and Environmental Sciences**“ a řadu „**Life Sciences**“ na disketách. Řada „**Agriculture, Biology and Environmental Sciences**“ je od roku 1994 k dispozici i s abstrakty. Obě tyto řady vycházejí 52krát ročně a zahrnují všechny významné časopisy a pokračovací sborníky z uvedených oborů.

Uložení informací z **Current Contents** na disketách umožňuje nejrozmanitější referenční služby z prakticky nejčerstvějších literárních pramenů, neboť báze dat je **doplňována každý týden** a neprodleně expedována odběratelům. V systému si lze nejen prohlížet jednotlivá čísla **Current Contents**, ale po přesném nadefinování sledovaného profilu je možné adresně vyhledávat informace, tisknout je nebo kopírovat na disketu s možností dalšího zpracování na vlastním počítači. Systém umožňuje i tisk žádanek o separát apod. Kumulované vyhledávání v šesti číslech **Current Contents** najednou velice urychluje rešeršní práci.

Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojím způsobem:

- 1) Zakázkový přístup** – po vyplnění příslušného zakázkového listu (objednávky) je vhodný především pro mimopražské zájemce.

Finanční podmínky: – použití PC – 15 Kč za každou započatou půlhodinu
– odborná obsluha – 10 Kč za 10 minut práce
– vytištění rešerše – 1 Kč za 1 stranu A4
– žádanky o separát – 1 Kč za 1 kus
– poštovné + režijní poplatek 15 %

- 2) „Self-service“** – samoobslužná práce na osobním počítači v ÚZLK.

Finanční podmínky jsou obdobné. Vzhledem k tomu, že si uživatel zpracovává rešerši sám, je to maximálně úsporné. (Do kalkulace cen nezapočítáváme cenu programu a databáze **Current Contents**.)

V případě Vašeho zájmu o tyto služby se obraťte na adresu:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna

Dr. Bartošová

Slezská 7

120 56 Praha 2

Tel.: 02/24 25 79 39, l. 520, fax: 02/24 25 39 38

Na této adrese obdržíte bližší informace a získáte formuláře pro objednávku zakázkové služby. V případě „self-servisu“ je vhodné se předem telefonicky objednat. V případě zájmu je možné si objednat i průběžné sledování profilu (cena se podle složitosti zadání pohybuje čtvrtletně kolem 100 až 150 Kč).

UNITED NATIONS ENVIRONMENTAL PROGRAM

PROGRAM OSN PRO ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ (UNEP)

Program pro životní prostředí byl založen Valným shromážděním OSN v roce 1972 na základě doporučení konference o životním prostředí, konané téhož roku ve Stockholmu. UNEP se stal první mezinárodní institucí OSN s ústředím v rozvojové zemi – v kenském hlavním městě Nairobi. V úzké návaznosti na tento sekretariát pracují regionální centra UNEP – pro Evropu v Ženevě, Latinskou Ameriku a karibskou oblast v Mexico City, Asii a pacifickou oblast v Bangkoku (Thajsko), západní Asii v Manamě (Bahrain), Afriku v Nairobí, Severní Ameriku v New Yorku a kontaktní centra ve Washingtonu a v Káhiře. Součástí UNEP je Mezinárodní registr potenciálně toxických chemikálií (International Register of Potentially Toxic Chemicals – IRPTC) se sídlem v Ženevě a Centrum pro průmysl a životní prostředí (Industry and Environment Centre – IEC) v Paříži.

Posláním Programu OSN pro životní prostředí je stimulovat a koordinovat akce na ochranu životního prostředí především v mezinárodním měřítku a poskytovat podklady pro rozhodování ve prospěch životního prostředí. Po celosvětové Konferenci OSN o životním prostředí a rozvoji v Rio de Janeiro v roce 1992 se stal UNEP jednou z nejvýznamnějších organizací napomáhající prosazovat závěry konference.

Od vzniku UNEP je jeho činnost zaměřena do oblastí životního prostředí, důležitých z celosvětového hlediska:

- ochrana atmosféry opatřeními proti změně klimatu, globálnímu oteplování, poškozování ozonové vrstvy a znečišťování ovzduší přesahující hranice států,
- ochrana kvality vodních zdrojů,
- ochrana oceánů a mořských pobřeží,
- ochrana proti odlesňování a rozšiřování pouští,
- ochrana biologické rozmanitosti,
- uplatňování biotechnologií nenarušujících životní prostředí,
- zpracovávání odpadů a toxických chemikálií nepoškozujících životní prostředí,
- ochrana lidského zdraví.

Pro zajištění stanovených cílů byly vytvořeny regionální systémy monitorování a vyhodnocování stavu životního prostředí – GEMS (Global Environmental Monitoring System), EARTHWATCH, stavu čerpání zdrojů – GRID (Global Resource Information Database), registrace potenciálně toxických látek – IRPTC a mezinárodního informačního systému INFOTERRA (International Environmental Information System).

UNEP byl iniciátorem akcí na záchranu tropických lesů a na zabránění rozšiřování pouští a znehodnocová-

ní půdy. V posledním období je pozornost soustředěna především na globální otázky související s narušováním ozonové vrstvy, klimatickými změnami a na nebezpečí vyplývající pro životní prostředí ze zvýšení celosvětového obchodu (jako důsledek nedávných jednání podporujících liberalizaci a rozvoj mezinárodního obchodu). Ze sektorově zaměřených otázek se UNEP zabývá kvalitou a množstvím vody, biologickou diverzitou (zejména ohrožení biologických zdrojů, nedovolený obchod ohroženými druhy zvířat), degradací půdy a programy na její ozdravení, kvalitou městského ovzduší, populačním růstem a důsledky pro životní prostředí.

Důležitou součástí činnosti UNEP představuje výchova, organizování kurzů umožňujících zavádění nových a šetrnějších technologií a zvyšování ekologického povědomí širší veřejnosti. Společně s UNESCO je realizován Mezinárodní výchovný program zaměřený na životní prostředí. UNEP se stal iniciátorem vyhlášení mezinárodních dnů na podporu ochrany životního prostředí a různých akcí v jejich rámci probíhajících na mezinárodní, státní i lokální úrovni. Již tradičně je oslavován 5. červen jako Mezinárodní den životního prostředí, od roku 1995 Mezinárodní ozonový den (16. září) a Mezinárodní den biologické rozmanitosti (29. prosinec). Za významný přínos k ochraně životního prostředí uděluje UNEP každoročně vybraným jedincům či skupinám ocenění, z nichž k nejvyšším patří GLOBAL 500 a Sasakawa Environment Prize. V roce 1994 bylo navrženo udělování Mezinárodní ceny pro biodiverzitu, při příležitosti Mezinárodního dne biologické rozmanitosti.

Z iniciativy UNEP došlo k přijetí řady důležitých mezinárodních úmluv, k nimž se řadí Úmluva o mezinárodním obchodu ohroženými druhy volně žijících živočichů a rostlin – CITES (Washington, 1973), Úmluva o ochraně stěhovavých druhů volně žijících živočichů (Bonn, 1979) a s ní související Dohoda o ochraně netopýrů v Evropě (Londýn, 1991), Vídeňská úmluva o ochraně ozonové vrstvy (Vídeň, 1985), Montrealský protokol o látkách, které porušují ozonovou vrstvu (Montreal, 1987) a jeho dodatky – Londýnský (1990) a Kodaňský (1992), Basilejská úmluva o řízení pohybu nebezpečných odpadů přes hranice států a jejich zneškodnění (Basilej, 1989), Rámcová úmluva OSN o změnách klimatu (New York, 1992) a Úmluva o biologické rozmanitosti (Rio de Janeiro, 1992). UNEP úzce spolupracuje či přímo zaštiťuje činnost sekretariátů uvedených úmluv.

Program OSN pro životní prostředí se musí svou organizací i zaměřením činnosti přizpůsobovat měni-

cím se podmínkám ve světě. Vystává řešení nových, aktuálních úkolů. Pozornost vyžaduje především řešení vztahu rozvojových a rozvinutých zemí, což se promítá do všech mezinárodních jednání. Důležitým krokem je posílení činnosti na úrovni regionální a vzrůst významu regionálních center UNEP. Závažnost řešení globálních problémů vyžaduje spolupráci a koordinaci činnosti různých mezinárodních organizací a institucí. Vyrůstá význam výměny informací, informačních systémů a jejich vzájemného propojení.

Snahou UNEP je posílit vazbu životního prostředí a sociálně-ekonomické sféry, dále rozvinout mezinárodní politiku a zákonodárství zaměřené na životní prostředí, posílit svou úlohu v oblasti informací o životním prostředí, zintenzivnit činnost výchovnou a vzdělávací a podporovat ministerstva životního prostředí v rozvojových zemích a zemích s přechodnou ekonomikou poskytováním doporučení v oblasti politické a technické pomoci. Posílen má být rozvoj činnosti na úrovni hlavních světových oblastí a z toho vyplývá narůstající význam regionálních center UNEP. Značná pozornost je věnována posílení spolupráce s dalšími mezinárodními organizacemi, především UNDP (United Nations Development Programme). UNEP se má zaměřit na činnost v celosvětovém a regionálním měřítku, zatímco těžiště činnosti UNDP je na úrovni jednotlivých států. Významnou úlohou UNEP je hledání dalších finančních zdrojů pro činnosti ve prospěch životního prostředí. Na základě dosažených zkušeností jsou možnosti v zakládání fondů a v dobrovolných příspěvcích, ve spojování fondů a ve společném využívání personálu s dalšími mezinárodními organizacemi. UNEP zůstává nejvýznamnější organizací pro oblast životního prostředí v celosvětovém měřítku. Jejím úkolem je mj. pomáhat vládám jednotlivých zemí při prosazování jejich ekologické politiky.

Spolupráce naší země s UNEP se začala rozvíjet již v období československého státu. V roce 1989 schválila tehdejší federální vláda koncepci spolupráce s UNEP a zároveň byl zřízen Československý výbor pro spolupráci s UNEP, který organizoval např. vzdělávací kur-

zy pro rozvojové země. ČSFR se stala v roce 1992 členem Řídící rady UNEP. Po rozdělení federace přešlo členství na Slovensko (do 31. 12. 1995). Gestorstvím spolupráce České republiky s UNEP je pověřeno Ministerstvo životního prostředí ČR. Kontakty jsou zajišťovány za spolupráce Ministerstva zahraničních věcí a prostřednictvím velvyslanectví (zejména Nairobi) či stálých misí (Ženeva).

Česká republika přistoupila či sukcesí se stala členským státem většiny mezinárodních úmluv uzavřených pod záštitou UNEP. Její zástupci se účastní jednání zaměřených na naplňování těchto úmluv. Nejvýznamnějšími událostmi v současném úsilí o zabránění zhoršování životního prostředí se staly první konference smluvních stran Úmluvy o biologické rozmanitosti (Nassau, Bahamy, 26. 11.–11. 12. 1994) a Rámcové úmluvy OSN o změnách klimatu (Berlín, 28. 3.–7. 4. 1995).

Česká republika úzce spolupracuje s evropským regionálním centrem UNEP v Ženevě a je napojena na Mezinárodní registr potenciálně toxických chemikálií, v jehož rámci byla uspořádána v červnu 1994 v Průhonicích u Prahy Sub-regionální porada pracovníků vybraných rezortů ze zemí Visegrádské čtyřky o implementaci Londýnských směrnic. Oživena byla spolupráce s organizací INFOTERRA novým ustavením kontaktního centra ČR na Ministerstvu životního prostředí ČR v roce 1994. UNEP byl jedním z partnerů pro seminář „Ekonomické nástroje pro trvale udržitelný rozvoj“, který se konal v Průhonicích u Prahy v lednu 1995 v rámci činnosti Komise OSN pro trvale udržitelný rozvoj.

Při Referenčním a informačním středisku MŽP ČR bylo v roce 1994 zřízeno Informační středisko UNEP, zaměřené na shromažďování literatury, zahraniční dokumentace a zpracovávání informačních přehledů.

Spolupráce s UNEP napomáhá České republice při zajišťování mezinárodních úmluv, při řešení vnitřních ekologických problémů a při uplatňování českých odborníků v zahraničí, především v rozvojových zemích.

Milena Roudná
Ministerstvo životního prostředí ČR

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. Časopis zveřejňuje i názory, postřehy a připomínky čtenářů ve formě kurziv, glosy, dopisu redakci, diskusního příspěvku, kritiky zásadního článku apod., ale i zkušenosti z cest do zahraničí, z porad a konferencí.

Auťori jsou plně odpovědní za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení 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. Redakce přijímá práce imprimované vedoucím pracoviště nebo práce s prohlášením všech auťorů, že se zveřejněním souhlasí.

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

Vlastní úprava práce rukopisu má odpovídat státní normě ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojité mezery). K rukopisu je vhodné přiložit disketu s textem práce, popř. s grafickou dokumentací pořízenou na PC s uvedením použitých programů. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

Pokud auťor 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.

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů a musí dát přesnou představu o obsahu práce. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

Krátký souhrn (Abstrakt) musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo v práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě.

Rozšířený souhrn prací v češtině nebo slovenštině je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 1–2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je vhodné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

Literární přehled má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému. Tato úvodní část přináší také informaci, proč byla práce provedena.

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 a způsob hodnocení výsledků.

Výsledky tvoří hlavní část práce a 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 nedostacích a výsledky se konfrontují s údaji publikovanými (požaduje se citovat jen ty auťory, 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 auťorů. 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.

Klíčová slova mají umožnit vyhledání práce podle sledovaných druhů zvířat, charakteristik jejich zdravotního stavu, podmínek jejich chovu, látek použitých k jejich ovlivnění apod. Jako klíčová slova není vhodné používat termíny uvedené v nadpisu práce.

Na zvláštním listě uvádí auťor plné jméno (i spoluauťory), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSČ, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

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 or a longer summary. The journal also publishes readers' views, remarks and comments in form of a text in italics, gloss, letter to the editor, short contribution, review of a major article, etc., and also experience of stays in foreign countries, meetings and conferences.

The authors are fully responsible for the originality of their papers, for its subject and formal correctness. The authors shall make a written declaration that their papers have 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 editors accept papers approved to print by the head of the workplace or papers with all the authors' statement they approve it to print.

The extent of original papers 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). A PC diskette with the paper text or graphical documentation should be provided with the paper manuscript, indicating the used editor program. 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 and it should provide a clear-cut idea of the paper subject. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract. It must present 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.

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. This introductory section also provides information why the study has been undertaken.

Review of literature should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem.

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 and the method of result evaluation.

In the section **Results**, which is the core of the paper, 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.

Key words should make it possible to retrieve the paper on the basis of the animal species investigated, characteristics of their health, husbandry conditions, applied substances, etc. The terms used in the paper title should not be used as keywords.

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, telephone and fax number, or e-mail.

VETERINARY MEDICINE – CZECH

Volume 41, No. 9, September 1996

CONTENTS

Raszyk J., Gajdůšková V., Ulrich R., Nezveda K., Jarošová A., Šabatová V., Dočekalová H., Salava J., Palác J., Schöndorf J.: Evaluation of the presence of harmful pollutants in fattened pigs.....	261
Kočišová J., Sabo V., Tomajková E., Boďa K.: Effect of hypodynamia on striated muscle of Japanese quails.....	267
Matičić, D., Mihelić, D., Zobundžija, M., Brkić, A., Babić, K., Gjurčević-Kantura, V., Capak, D., Sušić, V.: Possibility of blocking <i>n. ischiadicus</i> within <i>foramen ischiadicum majus</i> in sheep.....	273
Pospišil Z., Vylvlečka R., Číhal P., Lány P., Zendulková D.: Demonstration of antibodies to herpes virus in the sera of red deer (<i>Cervus elaphus</i>) imported into the Czech Republic.....	279
Růžicková V., Karpíšková R., Pakrová E.: Semi-solid medium diasalm for the isolation of <i>Salmonella enteritidis</i>	283
STUDY	
Fleischer P., Lukešová D., Skřivánek M., Hofírek B., Štursa I.: First cases of caprine demodectic mange in the Czech Republic.....	289
INFORMATION	
Roudná M.: United Nations Environmental Program.....	295

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Ročník 41, č. 9, Září 1996

OBSAH

Raszyk J., Gajdůšková V., Ulrich R., Nezveda K., Jarošová A., Šabatová V., Dočekalová H., Salava J., Palác J., Schöndorf J.: Zhodnocení výskytu rizikových polutantů u výkrmových prasat.....	261
Kočišová J., Sabo V., Tomajková E., Boďa K.: Vplyv hypodynamie na priečne-pruhovanú svalovinu japonských prepelíc.....	267
Matičić, D., Mihelić, D., Zobundžija, M., Brkić, A., Babić, K., Gjurčević-Kantura, V., Capak, D., Sušić, V.: Možnost blokady <i>n. ischiadicus</i> v oblasti <i>foramen ischiadicum majus</i> u ovcí.....	273
Pospišil Z., Vylvlečka R., Číhal P., Lány P., Zendulková D.: Průkaz protilátek proti herpes-virům v sérech jelena evropského (<i>Cervus elaphus</i>) importovaného do České republiky.....	279
Růžicková V., Karpíšková R., Pakrová E.: Použití polotuhého diasalm média k izolaci <i>Salmonella enteritidis</i>	283
STUDIE	
Fleischer P., Lukešová D., Skřivánek M., Hofírek B., Štursa I.: První nálezy demodikózy koz v České republice.....	289
INFORMATION	
Roudná M.: Program OSN pro životní prostředí (UNEP).....	295

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA ● Vydává Ústav zemědělských a potravinářských informací ● Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38 ● Sazba: Studio DOMINO – ing. Jakub Černý, Bří. Nejedlých 245, 266 01 Beroun, tel.: 0311/229 59 ● Tisk: ÚZPI Praha ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1996

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