



ÚZPI

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

5

VOLUME 42 (LXIX)
PRAHA
MAY 1997
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

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, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

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

Prof. MuDr. Drahomír Horký, DrSc., Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

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

Doc. MVDr. František Kovář, DrSc., 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 Vězník, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Editor-in-Chief – Vedoucí redaktořka

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-Abstracts, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicita: Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 42 vychází v roce 1997.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Zdeňka Radošová, vedoucí redaktořka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz. Podrobné pokyny pro autory lze vyžádat v redakci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a zasílají se na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1996 je 564 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-Abstracts, 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 42 appearing in 1997.

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.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz. Applications for detailed instructions for authors should be sent to the editorial office.

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 132 USD (Europe), 138 USD (overseas).

SECONDARY STRUCTURE OF THE 5'-NONCODING REGION OF BORDER DISEASE VIRUS GENOME RNAs*

SEKUNDÁRNA ŠTRUKTÚRA 5'-NEKODUJÚCEJ OBLASTI RNA GENÓMU VÍRUSU BORDER CHOROBY OVIEC

Š. Vilček

University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: The computer predicted secondary structures from the 5'-NC genome region of four border disease virus (BDV) strains collected from sheep in England and Scotland over a period 1976–1986 were prepared. The FOLD program from GCG sequence analysis software package was used for the analysis of a 243 bp RNA fragment. Two typical shapes of secondary structures were observed which contained multiple imperfect stem-loop motifs. The shape of those structures exactly fit with the grouping of BDV strains to two phylogenetic groups. Secondary structures are typical only of BDV strains and they are different from the structures prepared for NADL (BVDV) and Alfort (CSFV) strains.

pestivirus; border disease virus; BDV; 5'-noncoding region; computer modelling; secondary structure

ABSTRAKT: Počítačovou analýzou boli pripravené sekundárne štruktúry časti 5'-nekodujúcej oblasti genómu štyroch kmeňov vírusu border choroby oviec (BDV), ktoré boli izolované z oviec v Anglicku a Škótsku v období 1976 až 1986. Na analýzu 243 bp RNA fragmentu bol použitý FOLD program z GCG. Analýza potvrdila dve charakteristické formy sekundárnych štruktúr s viacerými oblasťami nedokonalne parovaných nukleotidov. Tvar týchto štruktúr dobre koreloval s umiestnením kmeňov BDV do dvoch fylogenetických skupín. Sekundárne štruktúry boli typické pre kmene BDV a odlišovali sa od štruktúr pripravených pre NADL (BVDV) a Alfort (CSFV) kmene.

pestivirus; vírus border choroby oviec; BDV; 5'-nekodujúca oblasť genómu; počítačové modelovanie; sekundárna štruktúra

INTRODUCTION

Bovine viral diarrhoea virus type I (BVDV I), type II (BVDV II), classical swine fever virus (CSFV) and border disease virus (BDV) of sheep make up the genus *Pestivirus* of the *Flaviridae* family. All pestiviruses are antigenically and genetically related (Moennig, 1990).

Genomes of reference strains for BVDV I – NADL (Collett et al., 1988) and Osloss (Renard et al., 1987), BVDV II – prototype strain 890 (Ridpath and Bolin, 1995), CSFV – Alfort (Meyers et al., 1989) and Brescia (Moorman et al., 1990) have already been completely sequenced. Pestivirus genome is a single strand, positive sense RNA with a size of about 12.5 kb. The open reading frame (ORF) encodes polypeptide of 4 000 amino acids in length. The most conservative part of the genome is the 5'-noncoding region (5'-NC) which is composed of 360–385 nucleotides. It involves three variable regions forming characteristic stem-loop secondary structures (Brown et al., 1992; Deng and Brock, 1993). Recently, the occurrence of internal ribosome entry site (IRES) has

been confirmed in the 5'-NC region of BVDV genome (Poole et al., 1995). The 3'-end of genome contains 3'-noncoding region (3'-NC) of about 228 bases long which also forms characteristic secondary structures (Brown et al., 1992; Deng and Brock, 1993).

Pestivirus infection of sheep, termed border disease, is characterized clinically by a fetal death, intrauterine growth retardation or by the birth of lambs called „hairy shaker“ or „fuzzy“ lambs (Nettleton et al., 1992). Genome of BDV was rather poorly described to date. Only certain genomic fragments of several ovine strains have been sequenced so far (De Moerloose et al., 1993; Lowings and Paton, 1992; Hofmann et al., 1994; Sullivan et al., 1994; Becher et al., 1995). Recently, we have performed comprehensive genetic study of ovine pestiviruses in the 5'-NC and N^{pro} regions. The results of our study revealed that BDV strains form a distinct phylogenetic lineage among pestiviruses which was divided to two (A, B) groups (Vilček et al., in press).

The aim of the present work is to describe the computer modelling of the secondary structure of a longer

* Partially supported by the Grant Agency VEGA of the Slovak Republic (Grant No. 1/3001/96).

part of the 5'-NC genomic region of BDV strains which phylogenetically fall to the separate A, B groups.

MATERIAL AND METHODS

Viral strains

Four BDV strains from two phylogenetic groups A and B (Vilček et al., in press) were used in this study. The group A was represented by the strains G 1305 (Nettleton, 1987) and G 2048 (Bonniwell et al., 1987) isolated in Scotland in 1986, while the group B comprised the reference strain Moredun cp, isolated in Scotland in 1976 (Vantis et al., 1976) and the strain JH 2816 coming from England, 1985 (Brockman et al., 1988).

Sequencing of the 5'-NC region

A 288bp PCR fragment was amplified using the 324/326 primers (Vilček et al., 1994). Sequences for the 243 bp DNA fragment (primers omitted) of the 5'-NC region were obtained from our previous study (Vilček et al., in press). The alignment of sequences was performed using a MegAlign program from computer package program DNASTAR (DNASTAR Inc., Madison, WI, USA).

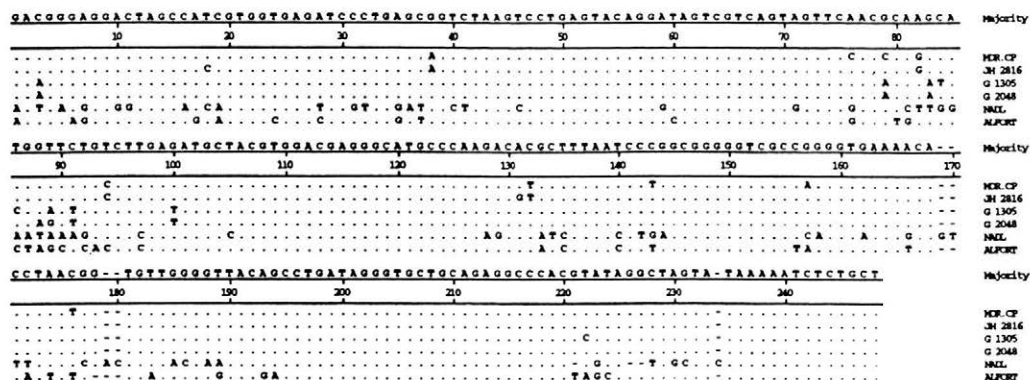
Computer modelling of secondary structures

DNA sequences were converted to RNA sequences. Computer predicted secondary structures were prepared using the program FOLD (using SQUIGGLES) from Genetic Computer Group (GCG) sequence analysis software package. The folding free energies (ΔG) were also calculated by the program.

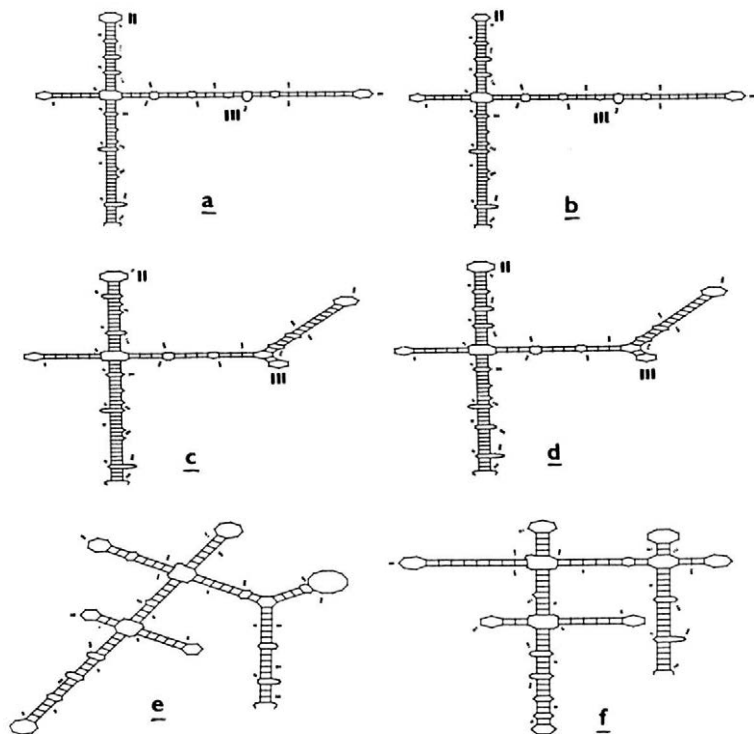
RESULTS AND DISCUSSION

Nucleotide alignment of the 243 bp DNA fragments from the 5'-NC region of four BDV strains is given in Fig. 1. For comparison, sequences for NADL (reference BVDV strain) and Alfort (reference CSFV strain) are also shown. As it is possible to recognize from the alignment, the sequences of BDV strains form two groups. The Moredun cp and JH 2816 strains form a separate group which differ from the strains G 1305 and G 2048. Sequences of all four BDV strains are entirely different from NADL and Alfort strains. These results are in a good concordance with the phylogenetic study of the 5'-NC and N^{pro} genomic regions (Vilček et al., in press). The sequenced region represents D domain of the 5'-NC pestivirus genome region (Deng and Brock, 1993) which contains two of three variable regions present inside the whole 5'-NC part of genome.

Secondary structures constructed by the computer program FOLD for four BDV strains, as well as for NADL and Alfort strains, are shown in Fig. 2. Two characteristic structures have been observed within BDV strains which exactly follow nucleotide sequence grouping (Fig. 1) and their phylogenetic distribution (Vilček et al., in press). Strains G 1305 and G 2048 (phylogenetic group A of BDV strains) possessed very similar secondary structures (Fig. 2a, b) which differ from the Moredun cp and JH 2048 (phylogenetic group B) structures (Fig. 2c, d). Nucleotide sequences of both groups of BDV strains formed typical multiple imperfect stem-loop structures. Interestingly, even though variable region II is more variable than region III (Vilček et al., in press), the shape of stem-loop structures is more affected in nucleotide region III. On the other hand, the secondary structures of NADL (Fig. 2, e) and Alfort (Fig. 2f) strains are completely different from BDV strains. Stability of all structures repre-



1. Nucleotide alignment of the DNA fragments prepared from the 5'-NC pestivirus genome region using the 324/326 primers. Nucleotide sequence for NADL and Alfort strains were taken from published data by Meyers et al. (1989) and Moormann et al. (1990), respectively. Dot indicates the same nucleotide as in the Majority line, dash indicates the gap



2. Secondary structures prepared from the sequences given in Fig. 1 (after conversion to RNA) for pestivirus strains: a – BDV strain G 1305, ($\Delta G = -81.4$ kcal/mol), b – BDV strain G 2048 ($\Delta G = -81.9$ kcal/mol), c – BDV strain Moredun cp ($\Delta G = -79.4$ kcal/mol), d – BDV strain JH 2048 ($\Delta G = -80.9$ kcal/mol), e – BVDV strain NADL ($\Delta G = -79.3$ kcal/mol), f – CSFV strain Alfort ($\Delta G = -83.6$ kcal/mol), II, III – variable regions II and III

sented by a free energy (ΔG) varied only in a range from -79.3 to -83.6 kcal/mol.

This is the first report describing the secondary structure of a longer part of the 5'-NC region of BDV strains. Harasawa (1994, 1996) and Harasawa and Mizusawa (1995) described the secondary structures of a short loop of 15–25bp and it cannot be compared with our results. The structures of 5'-NC region of BVDV and CSFV reference strains presented by Brown et al. (1992) and Deng and Brock (1993) differed from structures ascertained in this work. They have also shown that NADL, Osloss, Alfort and Brescia strains had very similar stem-loop secondary structures in the 5'-NC region. On the other hand, the secondary structure of the 5'-end of NADL strain prepared by Poole et al. (1995) was very similar to our results. The above mentioned discrepancies can be explained by different programs and selected parameters used in the computer modelling as well as by a different length of RNA fragments studied. Computer modelling of RNA structures is still under development and the results are strongly influenced by both factors mentioned.

Biological role of computer predicted structures is not known yet. It is questionable whether such structures exactly exist under *in vivo* conditions. Stability of

stem-loop structures in BDV strains collected over a period of 10 years indicates their important role most likely in virus replication and virulence. Poole et al. (1995) have shown that the 5'-NC region contains internal ribosome entry site (IRES), an important region for transcription of viral genes.

Computer predicted stem-loop structures prepared from 15–25bp RNA fragments of the 5'-NC region were used for differentiation of pestiviruses (Harasawa and Mizusawa, 1995; Harasawa, 1996). Since the secondary structures shown in our work are typical only of BDV strains, it is theoretically possible to consider that they can be used as an additional approach for typization of BDV strains from other pestiviruses. The analysis of other six strains from both phylogenetic BDV groups (A and B, data not shown) always confirmed the existences of two typical secondary structures as presented in Fig. 2. We realize that computer modelling is not a convenient method for routine differentiation of pestiviruses. RT-PCR coupled with rapid sequencing is a much more powerful and faster method for typization of pestiviruses (Hofmann et al., 1994). Future progress in computer modelling of secondary structures of RNA and better characterization of the pestivirus genome will show if this approach can be used for typization of pestiviruses.

In summary, computer modelling of the 5'-NC region of BDV genome revealed two typical stem-loop structures which exactly correspond to the nucleotide sequence and phylogenetic grouping of BDV strains.

Acknowledgement

My thank belongs to Dr. M. Špakulová for a critical reading of manuscript and to Dr. A. Ballagi-Pordány (National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden) for his valuable help with the computer modelling.

REFERENCES

BECHER, P. – KÖNIG, M. – PATON, D. J. – THIEL, H. J. (1995): Further characterization of border disease virus isolates: Evidence for the presence of more than three species within the genus pestivirus. *Virology*, 209, 200–206.

BONNIWELL, M. A. – NETTLETON, P. F. – GARDINER, A. C. – BARLOW, R. M. – GILMOUR, J. S. (1987): Border disease without nervous signs of fleece changes. *Vet. Rec.*, 120, 246–249.

BROCKMAN, S. J. – WOOD, L. – EDWARDS, S. – HARKNESS, J. W. (1988): Selection of an appropriate pestivirus strain for border disease sero-diagnosis. *Vet. Rec.*, 122, 586–587.

BROWN, E. A. – ZHANG, H. – PING, L. H. – LEMON, S. M. (1992): Secondary structure of the 5' nontranslated regions of hepatitis C virus and pestivirus genomic RNAs. *Nucl. Acid. Res.*, 20, 5041–5045.

COLLETT, M. S. – LARSON, R. – GOLD, C. – STRICK, D. – ANDERSON, D. K. – PURCHIO, A. F. (1988): Molecular cloning and nucleotide sequence of the pestivirus bovine viral diarrhoea virus. *Virology*, 165, 191–199.

DE MOERLOOZE, L. – LECOMTE, C. – BROWN-SHIMMER, S. – SCHMETZ, D. – GUIOT, C. – VAN DEN BERGH, D. – ALLAER, D. – ROSSIUS, M. – CHAPPUIS, G. – DINA, D. – RENARD, A. – MARTIAL, J. A. (1993): Nucleotide sequence of the bovine viral diarrhoea virus Osloss strain – comparison with related viruses and identification of specific DNA probes in the 5' untranslated region. *J. Gen. Virol.*, 74, 1433–1438.

DENG, R. – BROCK, K. V. (1993): 5' and 3' untranslated regions of pestiviruses genome: primary and secondary structure analyses. *Nucl. Acid. Res.*, 21, 1949–1957.

HARASAWA, R. (1994): Comparative analysis of the 5' non-coding region of pestivirus RNA detected from live virus vaccines. *J. Vet. Med. Sci.*, 56, 961–964.

HARASAWA, R. (1996): Phylogenetic analysis of pestivirus based on the 5'-untranslated region. *Acta Virol.*, 40, 49–54.

HARASAWA, R. – MIZUSAWA, H. (1995): Demonstration and genotyping of pestivirus RNA from mammalian cell lines. *Microb. Immunol.*, 39, 979–985.

HOFMANN, M. A. – BRECHTBÜHL, K. – STAUBER, N. (1994): Rapid characterization of new pestivirus strains by

direct sequencing of PCR-amplified cDNA from the 5' noncoding region. *Arch. Virol.*, 139, 217–229.

LOWINGS, J. P. – PATON, D. J. (1992): Amino acid sequence of the border disease virus (*Moredun strain*) major glycoprotein. In: *Proc. 2nd Symp. on Pestiviruses*. Annecy, 1–3 October 1992.

MEYERS, G. – RUMENAPF, T. – THIEL, H. J. (1989): Molecular cloning and nucleotide sequence of the genome of hog cholera virus. *Virology*, 171, 555–567.

MOENNIG, V. (1990): Pestiviruses: a review. *Vet. Microbiol.*, 23, 35–54.

MOORMANN, R. J. M. – WARMERDAM, P. A. M. – VAN DER MEER, B. – SCHAAPER, W. M. M. – WENSVOORT, G. – HULST, M. M. (1990): Molecular cloning and nucleotide sequence of hog cholera virus strain Brescia and mapping of the genomic region encoding envelope protein E1. *Virology*, 177, 184–198.

NETTLETON, P. F. (1987): Pathogenesis and epidemiology of border disease. *Ann. Rec. Vet.*, 18, 147–155.

NETTLETON, P. F. – GILMOUR, J. S. – HERRING, J. A. – SINCLAIR, J. A. (1992): The production and survival of lambs persistently infected with border disease virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 15, 179–188.

POOLE, T. L. – WANG, C. – POPP, R. A. – POTGIETER, L. N. D. – SIDDIQUI, A. – COLLETT, M. S. (1995): Pestivirus translation initiation occurs by internal ribosome entry. *Virology*, 206, 750–754.

RENARD, A. – DINO, D. – MARTIAL, J. (1987): Vaccines and diagnostics derived from bovine diarrhoea virus. *Eur. Patent Appl. No 868 70095.6*. Publication No 0208672, 14 January, 1987.

RIDPATH, J. F. – BOLIN, S. R. (1995): The genomic sequence of a virulent bovine viral diarrhoea virus (BVDV) from the type 2 genome. Detection of a large insertion in a non-cytopathic BVDV. *Virology*, 212, 39–46.

SULLIVAN, D. G. – CHANG, G. J. – TRENT, D. W. – AKKINA, R. K. (1994): Nucleotide sequence analysis of the structural gene coding region of the pestivirus border disease virus. *Virus Res.*, 33, 219–228.

VANTIS, J. T. – BARLOW, R. M. – FRASER, J. – MOULD, D. L. (1976): Experiments in border disease. VIII. Propagation and properties of a cytopathic virus. *J. Comp. Pathol.*, 86, 111–120.

VILČEK, Š. – HERRING, A. J. – HERRING, J. A. – NETTLETON, P. F. – LOWINGS, J. P. – PATON, D. J. (1994): Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Arch. Virol.*, 132, 309–323.

VILČEK, Š. – NETTLETON, P. F. – PATON, D. J. – BELÁK, S.: Molecular characterization of ovine pestiviruses. *J. Gen. Virol.* (in press).

Received 96–12–11

Accepted after correction 97–03–07

Contact Address:

Doc. Ing. Štefan Vilček, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/633 21 11, fax 095/632 36 66

DETERMINATION OF TETRACYCLINES IN BONES, MECHANICALLY SEPARATED BEEF AND BONES BY HPLC METHOD AND MICROBIOLOGICAL AGAR DIFFUSION TESTS

STANOVENIE TETRACYKLÍNŮ V KOSTIACH, MECHANICKY SEPAROVANÝCH KOSTIACH A MÄSE METÓDOU HPLC A MIKROBIOLOGICKÝMI PLATŇOVÝMI METÓDAMI

L. Korimová, D. Máté, P. Turek, J. Sokol

University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: HPLC method with solid phase extraction, and microbiological agar diffusion tests for determination of oxytetracycline (OTC), tetracycline (TC) and chlortetracycline (CTC) in bones, mechanically separated beef and bones were developed. Both mechanically separated bones and bovine flat bones showed the highest yield of tetracyclines by HPLC method. Among tetracyclines, the highest yield was determined in chlortetracycline. The strains of *Bacillus subtilis* (PH 6.0) and *B. stearothermophilus* showed the highest sensitivity to the presence of tetracyclines.

residues; tetracyclines; beef; bones; mechanically separated beef; HPLC; microbiological methods

ABSTRAKT: Bola vypracovaná metóda HPLC s extrakciou na tuhej fáze pre stanovenie oxytetracyklínu (OTC), tetracyklínu (TC) a chlortetracyklínu (CTC) v mechanicky separovaných kostiach a mäse a hovädzích kostiach. Najvyššiu výťažnosť metódy HPLC pri stanovení tetracyklínov sme zistili v mechanicky separovaných kostiach a v plochých kostiach. Z jednotlivých tetracyklínov bola najvyššia výťažnosť použitej HPLC metódy pri chlortetracyklíne. Najcitlivejšie na tetracyklíny reagovali z použitých testovacích kmeňov *Bacillus subtilis* (pH 6.0) a *B. stearothermophilus*.

reziduá; tetracyklíny; hovädzie mäso; kosti; mechanicky separované kosti; HPLC; mikrobiologické metódy

ÚVOD

Používaním širokej škály antibiotík v kuratívnej činnosti v profylaxii i ako stimulátorov rastu, vyvolal problém výskytu rezidií týchto látok v surovinách a potravinách živočíšneho pôvodu, ktorých pôsobenie vo výžive ľudí môže mať ďalekosiahle následky. Problematika rezidií antibiotík a iných antimikrobiálnych látok spočíva v nedodržiavaní ochranných lehôt, problematika metabolitov a nejednotnosť a reprodukovateľnosť vyšetrovacích metodík (Nagy a i., 1996).

Medzi reziduami inhibičných látok majú významné miesto tetracyklíny, ktoré v súčasnosti patria k najčastejšie používaným v terapii vo veterinárnej medicíne. Biologický polčas vylučovania TC z organizmu je pomerne dlhý. U klasickej skupiny TC šesť až deväť hodín, u novších, napr. doxycyklin, 17 až 20 hodín. Potravinový kódex Slovenskej republiky (príloha č. 1 tretej hlavy druhej časti) dovoľuje maximálny limit rezidií TC v mäse 0,1 mg/kg. Je ale známe, že TC sa ukladajú v kostiach vo vyšších množstvách ako v iných tkanivách. Zvýšená stabilita TC v kostiach oproti mäsu je daná tvorbou tetracyklín-Ca komplexu (Hönike l., 1976). Podstatne stálejšie sú soli chlortetracyklínu s minerálnymi kyselinami (Zalabák a kol., 1980).

Kosti v ľudskej výžive majú podradnú úlohu, ale pri použití mechanicky separovaného mäsa vo výrobe nadobúdajú z hľadiska hygienického významnú úlohu. Kosti sú tiež surovinou pri výrobe krmných kostných a mäso-kostných múčok.

Na stanovenie rezidií tetracyklínov sa používajú rôzne metodické postupy: mikrobiologické (Bogerts a Wolf, 1980), kvapalinovou chromatografiou (Blanchflower a i., 1989), plynovou chromatografiou (Epstein a i., 1987), elektroforézou s bioautografickou detekciou (Hrdlička, 1991), imunochemické metódy (Brady a Katz, 1988), kapilárnou izotachoforézou (Nagy, 1992).

Cieľom práce bolo porovnať identifikáciu TC v kostiach, v mechanicky separovanom mäse a v mechanicky separovaných kostiach metódou kvapalinovej chromatografie a mikrobiologickými platňovými metódami a posúdiť záchytnosť TC v rôznych druhoch kostí a mechanicky separovaného mäsa a kostí.

MATERIÁL A METÓDA

Ako materiál boli použité rúrovité kosti (femur, humerus), ploché kosti (scapula, kosti rebier), mecha-

nicky separované mäso a mechanicky separované kosti dospelého hovädzieho dobytku. Vzorky kostí boli rozdružené, zomleté a hydrolyzované metódou podľa Hönikela (1976). K jednej skupine vzoriek sme pridali roztoky obsahujúce 0,001 g/ml oxytetracyklínu, 0,001 g/ml tetracyklínu a 0,001 g/ml chlortetracyklínu. Druhá skupina vzoriek bez prídavku TC slúžila ako kontrolná. Po centrifugácii a premývaní supernatantu vzoriek v roztoku kyseliny šťavelovej v metanole sme stanovili jednotlivé TC metódou kvapalinovej chromatografie HPLC – (HP 10 50) (Sokol a Matisová, 1994). Citlivosť mikroorganizmov voči TC sme stanovili štvorplatňovým testom podľa metodiky autorov Bogearts a Wolf (1980). Pre vyšetrenie mikrobiologickými metódami boli použité vzorky pripravené pre spracovanie metódou HPLC, do ktorých sa ponoril disk filtračného papiera (priemer 8 mm). Takto pripravený disk sa položil na povrch testovacej platne. Ako testovacie mikroorganizmy, kultivované na agare (MERCK) pre štvorplatňový test, sme použili *Bacillus subtilis* BGA: pH pôdy 6,0; 7,2; 8,0 a *Micrococcus luteus* CCM 559, pH 6,0. Ako ďalší testovací kmeň mikroorganizmov sme použili *Bacillus stearotherophilus* var. *caditolactis* C 953, pH 8,0. Súbežne s mikrobiologickým vyšetrením vzoriek sa robila kontrola citlivosti testovacích kmeňov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Dosiahnuté výsledky sú znázornené v tab. I a II. V skupine vzoriek, ku ktorým sa nepridávali roztoky tetracyklínov, boli hodnoty stanovené kvapalinovou

chromatografiou nulové. Taktiež výsledky štvorplatňového testu a testu s *Bacillus stearotherophilus* boli negatívne.

V skupine vzoriek, ku ktorým boli pridávané roztoky tetracyklínov (tab. I), sme zistili rozdielnú výťažnosť metódy pomocou HPLC v závislosti na druhu tetracyklínu. Najvyššie priemerné hodnoty výťažnosti sme zistili u mechanicky separovaných kostí, a to 96 % – OTC, 99 % – TC, 100 % – CTC, najnižšiu v mechanicky separovanom mäse – 62,7 %. Ak porovnáme rôrovité kosti s plochými, vyššia výťažnosť bola u kostí plochých, a to 89,4 % oproti 72,4 % u rôrovitých kostí. Samake a i. (1992) uvádza, že pri detekcii TC pomocou fluorescencie je rozdielna intenzita fluorescencie v závislosti aj od typu kostí. Tieto skutočnosti nás vedú k názoru, že TC majú zvýšenú afinitu k plochým kostiam, čo je veľmi dôležité, nakoľko na mechanickú separáciu sa používajú najmä ploché kosti. Šilhánková (1983) udáva, že TC pôsobia väčšinou tým, že tvoria komplexy so železom dýchacích enzýmov a cytochrómom. Táto skutočnosť môže podporiť našu hypotézu. Domienka, že TC majú afinitu k plochým kostiam, sa však zrejme vzťahuje len na dospelé jedince vzhľadom k ireverzibilnej premene hemoblastickej kostnej drene na tukovú v rôrovitých kostiach, čím u starších zvierat hemoblastická kostná dreň prevláda najmä v kostiach plochých, krčných a hrudných stavcoch.

Rozdielna bola aj výťažnosť jednotlivých TC obsiahnutých v prídavnom roztoku TC (tab. I). Najvyššia výťažnosť metódy HPLC bola u chlortetracyklínu z mechanicky separovaných kostí – 100 %, v plochých kostiach bola 94,8 %, v rôrovitých kostiach 77,1 % a v mechanicky separovanom mäse 58,0 %. Najnižia vý-

I. Výťažnosť HPLC metódy pri stanovení tetracyklínov v mechanicky separovanom mäse a kostiach, v rôrovitých a plochých kostiach – The yield of tetracyclines determined by HPLC method in mechanically separated meat and bones, in tubular and flat bones

Vzorky ¹	OTC (%)	TC (%)	CTC (%)
Mechanicky separované mäso ²	68	62	58
Rôrovité kosti (femur) ³	68,6	71,5	77,1
Ploché kosti (costae) ⁴	84,8	88,6	94,8
Mechanicky separované kosti ⁵	96,0	99	100,0

¹samples, ²mechanically separated meat, ³tubular bones (femur), ⁴mechanically separated bones, ⁵flat bones (costae)

II. Priemerné veľkosti (mm) inhibičných zón vzoriek mechanicky separovaného mäsa a kostí, rôrovitých a plochých kostí po pridaní tetracyklínov – Average size (mm) of inhibitory zones in samples of mechanically separated meat and bones, tubular bones and flat bones after tetracycline supplementation

Vzorky ¹	<i>Bacillus stearotherophilus</i> pH 8,0	<i>Bacillus subtilis</i> pH 6,0	<i>Bacillus subtilis</i> pH 7,2	<i>Bacillus subtilis</i> pH 8,0
Mechanicky separované mäso ²	2,0	8,0	3,0	1,5
Rôrovité kosti (femur) ³	2,0	8,0	3,0	2,0
Ploché kosti (costae) ⁴	4,0	10,0	4,0	2,5
Mechanicky separované kosti ⁵	3,0	10,0	3,0	2,0

For 1–5 see Tab. I

ťažnosť oxytetracyklínu bola v tom istom poradí vzoriek 96,0 %, 84,8 %, 68,6 % a 68,0 %. U mechanicky separovaného mäsa bola výťažnosť jednotlivých tetracyklínov v opačnom pomere: najvyššia oxytetracyklínu – 68,0 %, najnižšia chlortetracyklínu – 58,0 %. Zdá sa že aj v týchto prípadoch zohrávajú významnú úlohu oxidoredukčné systémy, hemové enzýmy, resp. prenášači molekúl kyslíka.

Pri hodnotení štvorplatňového testu výsledky korešpondovali s dosiahnutými hodnotami metódou HPLC (tab. II). Najväčšie zóny inhibície boli zaznamenané u plochých kostí. Na prídavok tetracyklínov vo všeobecnosti najcitlivejšie reagoval *Bacillus subtilis* pri pH 6,0. Pri kmeni *Micrococcus luteus* sme nezaznamenali žiadnu zónu inhibície. Pri kmeni *Bacillus subtilis* vzostupom pH sa znižuje zóna inhibície. Sedláček a Drápal (1989) udávajú, že uvoľňovanie reziduí TC v prevádzkových podmienkach z tetracyklín-Ca komplexu sa predpokladá hlavne pri zmene pH v mäse pri zrení (pH pod 6,0). Zalaabák a kol. (1980) uvádzajú, že chlortetracyklín v kyslom prostredí je stálejší a jeho stabilita klesá so stúpajúcim pH. Pri hodnotení reakcií ďalšieho kmeňa mikroorganizmov na TC *Bacillus stearothermophilus* var. *cadilolactis*, reakcia bola citlivá, obdobne ako *Bacillus subtilis*.

LITERATÚRA

BLANCHFLOWER, W. J. – McCKRACKEN, R. J. – RICE, D. A. (1989): Determination of chlortetracycline residues in tissue using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analyst*, 114, 421–423.
BOGEARTS, R. – WOLF, P. (1980): A standardized method for the detection of residues of antibacterial substances in fresh meat. *Fleischwirtschaft*, 60, 627.
BRADY, M. S. – KATZ, S. E. (1988): Mikrobial diffusion assay for antibiotics in feeds using a simplified design. *J. Assoc. Anal. Chem.*, 71, 717–720.
EPSSTEIN, R. S. (1987): Influence of heal and cure preservatives on residues of sulfamethazine, chloramphenicol, and

cytomazine in muscle tissue. *J. Agric. Food Chem.*, 36 (5), 1 009–1 012.

HÖNIGEL, K. O. (1976): Tetracyclinrückstände in Knochen verschiedener Schlachttiere und deren Verhören bei der Verarbeitung. *Fleischwirtschaft*, 5, 722–725.

HRDLÍČKA, J. (1991): Identifikace reziduí antibiotik ve tkáňích jatečných zvířat elektroforézou s bioautografickou detekcí. *Veter. Med. (Praha)*, 36 (11), 695–701.

NAGY, J. (1992): Mikrobiologické platňové metódy a analytická kapilárna izotachofóza pri dôkaze inhibičných látok v potravinách živočíšneho pôvodu. [Kandidátska dizertácia.] Košice – Univerzita veterinárskeho lekárstva.

NAGY, J. – CABADAJ, R. – TUREK, P. – PIPOVÁ, M. (1996): Reziduí farmakologicky aktívnych látok v potravinách a surovinách živočíšneho pôvodu. *Slov. Vet. Čas.*, 21, 85–89.

SAMAKE, S. – MARTINEAU, G. P. – DAUGNEAULT, J. – MARTINEAU-DOIZE, B. (1992): Dépistage, par fluorescence, des tetracyclines dans les carcasses de porcs. *J. Rech. Porcine France*, 24, 85–88.

SEDLÁČEK, O. – DRÁPAL, J. (1989): K hygienické závažnosti výskytu reziduí tetracyklínu v kostech jatečných telat. *Veterinářství*, 39, 125–127.

SOKOL, J. – MATISOVÁ, P. (1994): Determination of tetracycline antibiotics in animal tissue of food-producing animals by high-performance liquid chromatography using solid-phase extraction. *J. Chromatogr. A*, 669, 75–80.

ŠILHÁNKOVÁ, L. (1983): Mikrobiologie pro potravináře. Praha, SNTL, 241 s.

ZALABÁK, V. a kol. (1980): Špecificky účinné látky ve výživě zvířat. Praha, Akademia, 230 s.

Výnos Ministerstva pôdohospodárstva SR a Ministerstva zdravotníctva SR č. 981/1996 – 100 z 20. 5. 1996, ktorým sa vydáva prvá časť a prvá, druhá, tretia hlava druhej časti Potravinového kódexu SR (registrovaný v číastke 70 Zz. 29. 6. 1996).

Received: 95–11–15

Accepted after corrections: 96–12–12

Kontaktná adresa:

MVDr. Ľudmila K o r i m o v á, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/633 18 17, fax 095/632 36 66, e-mail: hygiena@vsvnov.uvm.sk

Ústav zemědělských a potravinářských informací v Praze

vydává

z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a s gescí České akademie zemědělských věd celkem 10 vědeckých časopisů, které uveřejňují původní vědecké práce, vědecká pojednání, studie a přehledy zahraniční literatury z odvětví zemědělství, potravinářství a lesnictví. Časopisy jsou určeny především pracovníkům výzkumu, vysokých škol, vedoucím pracovníkům, odborníkům ve šlechtitelství a semenářství, plemenářství, ochraně rostlin, veterinářství, vývojových pracovištích zemědělské techniky, zemědělských staveb aj.

Rostlinná výroba (*Plant Production*)

Měsíčník, formát A4, počet stran 48, předplatné: celoroční Kč 672,–, jednotlivá čísla Kč 56,–

Živočišná výroba (*Animal Production*)

Měsíčník, formát A4, počet stran 48, předplatné: celoroční Kč 672,–, jednotlivá čísla Kč 56,–

Zemědělská ekonomika (*Agricultural Economics*)

Měsíčník, formát A4, počet stran 48, předplatné: celoroční Kč 672,–, jednotlivá čísla Kč 56,–

Lesnictví – Forestry

Měsíčník, formát A4, počet stran 48, předplatné: celoroční Kč 672,–, jednotlivá čísla Kč 56,–

Veterinární medicína (*Veterinary Medicine – Czech*)

Měsíčník, formát A4, počet stran 32, předplatné: celoroční Kč 564,–, jednotlivá čísla Kč 47,–

Potravinářské vědy (*Food Sciences*)

Dvouměsíčník, formát A5, počet stran 80, předplatné: celoroční Kč 306,–, jednotlivá čísla Kč 51,–

Zemědělská technika (*Agricultural Engineering*)

Čtvrtletník, formát A4, počet stran 40, předplatné: celoroční Kč 204,–, jednotlivá čísla Kč 51,–

Ochrana rostlin (*Plant Protection*)

Čtvrtletník, formát A5, počet stran 80, předplatné: celoroční Kč 204,–, jednotlivá čísla Kč 51,–

Genetika a šlechtění (*Genetics and Plant Breeding*)

Čtvrtletník, formát A5, počet stran 80, předplatné: celoroční Kč 204,–, jednotlivá čísla Kč 51,–

Zahradnictví (*Horticultural Science*)

Čtvrtletník, formát A4, počet stran 40, předplatné: celoroční Kč 204,–, jednotlivá čísla Kč 51,–

Objednávku zašlete na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací

referát odbytu

Slezská 7

120 56 Praha 2

SURVIVAL OF *SALMONELLA TYPHIMURIUM* IN THE SOLID FRACTION FROM A PIG FARM WASTE WATER TREATMENT PLANT

PREŽÍVANIE *SALMONELLA TYPHIMURIUM* V PEVNEJ FRAKCII Z POĽNOHOSPODÁRSKEJ ČISTIARNE ODPADOVÝCH VÔD

I. Plachá¹, J. Venglovský¹, V. Lašanda², P. Plachý³

¹Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

²State Veterinary Institute, Košice, Slovak Republic

³Parasitological Institute of the Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: Survival of *Salmonella typhimurium* pathogens was followed in the slurry solid fraction from a pig farm waste water treatment plant. The tested *S. typhimurium* pathogens have survived for 117 days. The solid fraction was kept in the laboratory at 20–23 °C. Indicatory microorganisms at the beginning of the experiment numbered 10^8 – 10^9 CFU in 1 ml sample. This number decreased by 4–5 series throughout the experiment, except for faecal coliform bacteria, which were not detected after 43 days of cultivation. Enterobacteria showed a decreasing tendency until day 83, however, on the final sampling (day 117) their count was almost double. Of physico-chemical parameters, pH showed the most striking variations. Its initial value of 6.9 increased to 8.1 at day 30, then decreased to 7.2 at day 43, and increased to 7.7 at the end of the experiment. Ammoniacal nitrogen in solid fraction was almost twice as high as the initial level. Other physico-chemical parameters were not changed significantly throughout the experiment. On the results of this experiment, decimal reduction times T_{90} were determined for indicatory microorganisms during the storage of solid fraction under constant conditions: psychrophilic bacteria 31.25; mesophilic bacteria 38.12; coliform bacteria 27.49; faecal streptococci 24.57 and enterobacteria 30.46 days. These data suggest a relatively long time of survival for indicatory microorganisms in the solid fraction from agricultural waste water treatment plants.

waste water treatment plant; pig farm; solid fraction; *Salmonella typhimurium*; indicatory microorganisms; survival

ABSTRAKT: Sledovali sme prežívanie *Salmonella typhimurium* v pevnej frakcii hnojovice z poľnohospodárskej čistiare odpadových vôd (ČOV) pri farme ošipáných. Testované mikroorganizmy *Salmonella typhimurium* prežili 117 dní. Pevná frakcia bola uložená v laboratóriu pri teplote v rozpätí 20 až 23 °C. Počty indikátorových mikroorganizmov na začiatku experimentu boli v rozpätí 10^8 až 10^9 CFU v 1 ml vzorky. V priebehu sledovaného obdobia došlo k ich poklesu o štyri až päť rádov, s výnimkou fekálnych koliformných mikroorganizmov, ktoré sme po 43 dňoch kultivačne nepreukázali. Počty enterobaktérií do 83. dňa mali klesajúcu tendenciu, avšak pri poslednom odbere (117. deň) sme zaznamenali takmer ich dvojnásobnú hodnotu. Z fyzikálno-chemických parametrov sme najväčšie zmeny zaznamenali u pH, kde počiatočná hodnota 6,9 vzrástla na 8,1 na 30. deň na hodnotu 8,1; na 43. deň klesla na 7,2 a na konci experimentu bola 7,7. Hodnoty amoniakálneho dusíka v pevnej frakcii v porovnaní so začiatkom experimentu dosiahli takmer dvojnásobnú hodnotu. Hodnoty ostatných fyzikálno-chemických parametrov sa počas sledovaného obdobia výrazne nemenili. Na základe vykonaného experimentu sme stanovili decimálne časy T_{90} indikátorových mikroorganizmov v priebehu skladovania pevnej frakcie za konštantných podmienok: psychrofilné mikroorganizmy 31,25; mezofilné mikroorganizmy 38,12; koliformné mikroorganizmy 27,49; fekálne streptokoky 24,57 a enterobaktérie 30,46 dňa. Tieto údaje svedčia o pomerne dlhej dobe prežívania indikátorových mikroorganizmov v pevnej frakcii poľnohospodárskej ČOV.

čistiare odpadových vôd; farma ošipáných; pevná frakcia; *Salmonella typhimurium*; indikátorové mikroorganizmy; prežívanie

ÚVOD

Odhaduje sa, že viac ako dva milióny ľudí za rok je postihnutých salmonelózami a tento počet má stúpajúcu tendenciu. Jednou z príčin je i kontaminácia život-

ného prostredia odpadmi zo živočíšnej výroby. Táto otázka je závažná najmä v oblastiach s koncentrovanou živočíšnou výrobou, kde produkcia tekutých exkrementov presahuje kapacitné možnosti príľahlej pôdy (Strauch a Balarini, 1994).

Patogénne zárodky prežívajú v tekutých exkrementoch pomerne dlhú dobu a pri aplikácii na poľnohospodársku pôdu dochádza k jej kontaminácii. Hospodárske, ale i voľne žijúce zvieratá sa môžu nakaziť priamo na pastve alebo prostredníctvom kontaminovaného krmiva.

V infekčnom cykle mnohých ochorení majú dôležitú úlohu aj voda, hmyz, vtáky a hlodavce, prostredníctvom ktorých patogénne zárodky z exkrementov alebo čistiarenských kalov infikujú hospodárske zvieratá alebo človeka.

Aktuálne hygienické problémy vznikajú najmä pri veľkochovoch ošipáných a chovoch hydiny (Ivanová a i., 1995), kde je na relatívne malom priestore sústredený veľký počet zvierat. Za účelom zníženia ich negatívneho vplyvu na životné prostredie boli postavené poľnohospodárske čistiarene odpadových vôd (ČOV). Odpadové vody z fariem hospodárskych zvierat sú v nich spracovávané technológiami, pri ktorých dochádza k oddeleniu tekutej a pevnej frakcie hnojovice na vibrositách alebo pásových lisoch. Tekutá frakcia je následne v niekoľkých stupňoch biologicky aeróbne čistená s odtokom do recipienta. Pevná frakcia hnojovice sa vyváža na poľné hnojiská, resp. skládky a následne sa používa na hnojenie poľnohospodárskej pôdy.

Prieskumom efektívnosti poľnohospodárskych ČOV na Slovensku sa zaoberali Venglovský a i. (1994) a Ondrašovič a i. (1994). Uvedení autori zistili, že poľnohospodárske ČOV vo väčšine vyhovujú požiadavkám vodohospodárov i požiadavkám hygienickým, ale problematickou zostáva pevná frakcia hnojovice, v ktorej sa koncentrujú patogénne zárodky. Zvyšuje sa tak hygienicko-epidemiologické riziko ich prenosu na zvieratá i ľudí.

Z tohto dôvodu sme sa zamerali na sledovanie prežívania nepriamo inokulovaných mikroorganizmov *S. typhimurium* v pevnej frakcii hnojovice ošipáných v laboratórnych podmienkach. Zároveň sme sledovali dynamiku indikátorových mikroorganizmov v priebehu skladovania pevnej frakcie z poľnohospodárskej ČOV.

MATERIÁL A METÓDY

Pevnú frakciu hnojovice po mechanickej separácii sme získali z čistiarene odpadových vôd pri farme ošipáných v Košickej Polianke a umiestnili v 50 l nádobe pri teplote prostredia 20 až 23 °C. Teplota pevnej frakcie v priebehu skladovania sa pohybovala v rozpätí 17 až 19 °C.

Ako testovaný kmeň sme použili lyofilizovaný kmeň *S. typhimurium* SK 14/39 (Štátny zdravotný ústav, Praha). Z resuscitovanej kultúry sme 0,2 ml inokulovali na štvorčky kože (4 x 4 cm) a 0,5 ml priamo do pevnej frakcie, ktorou sme naplnili PVC fľaše s otvormi v plášti na zabezpečenie kontaktu s prostredím. Vysušené kúsky kože sme vložili do termostatu na 24 hodín pri teplote 37 °C. Tento krok sme urobili, aby sme dosiahli dobrú adhéziu salmonel na nosiče. Po

inkubácii sme z troch nosičov paralelne urobili rad riedení od 10^{-1} do 10^{-10} , vyočkovali na XLD agar (Imuna, Šarišské Michaľany) a inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C. Rad riedení s následným vyočkovaním a inkubáciou sme previedli aj z troch PVC nosičov. Počiatočná koncentrácia na nosiči z kože bola $4,70 \times 10^9$ v 1 ml a z PVC fľaše $7,50 \times 10^9$ v 1 ml. Oba nosiče sme vložili do nádoby s pevnou frakciou a nosiče sme vyšetrovali v časových intervaloch uvedených v tab. I metódou podľa Müllera (1973). Každý nosič sme sterilnými nástrojmi vybrali a preniesli do 50 ml sterilného 0,9% fyziologického roztoku a 30 minút pretrepávali. Po 30-minútovej sedimentácii sme urobili rad riedení do 10^{-10} , vyočkovali na XLD a SS agar (Imuna, Šarišské Michaľany) a inkubovali 48 hodín pri teplote 37 °C.

I. Doba prežívania *S. typhimurium* v pevnej frakcii – Survival time of *S. typhimurium* in solid fraction

Čas (dni) ¹	Nosič z kože v 1 ml vzorky ² (CFU/ml)	Pevná frakcia v PVC fľaši v 1 ml vzorky ³ (CFU/ml)
0	$4,70 \times 10^9$	$7,50 \times 10^9$
12	$4,38 \times 10^9$	$3,31 \times 10^9$
22	$3,29 \times 10^4$	$2,92 \times 10^3$
32	+	+
36	+	+
43	+	+
57	+	+
73	+	+
85	+	+
97	+	+
107	–	+
117	–	+
127	–	–

¹time (days), ²leather carrier in 1 ml of sample, ³solid fraction in PVC flask in 1 ml of sample

Zároveň sme z každého nosiča vykonali kvalitatívne vyšetrenie na prítomnosť salmonel nasledovným spôsobom: 1 ml roztoku, v ktorom sa pretrepávali nosiče, sme preniesli do 9 ml živného bujónu č. 2 (Imuna, Šarišské Michaľany) a inkubovali 24 h pri teplote 37 °C. Z kultúry získanej neselektívnym pomnožením sme 1 ml naočkovali do 9 ml selenitovej pôdy (Imuna, Šarišské Michaľany) a inkubovali 24 a 48 h pri teplote 37 °C a 0,1 ml sme naočkovali do 10 ml selektívnej pomnožovacej pôdy podľa Rappaporta a Vassiliadis (Merck, Darmstadt) a inkubovali 24 a 48 h pri teplote 43 °C.

Po inkubácii sme z každej pôdy urobili rozter na XLD a SS agar (Imuna, Šarišské Michaľany) a inkubovali 48 h pri teplote 37 °C. Podozrivé kolónie sme vyšetřili sérologicky a biochemicky.

Na začiatku experimentu sme vykonali vyšetrenie na prítomnosť *Salmonella* spp. v pevnej frakcii, kultivá-

Indikátorové mikroorganizmy v 1 ml vzorky ¹	0. deň ⁸	43. deň ⁹	83. deň ¹⁰	117. deň ¹¹	T ₉₀ (dni) ¹²
Psychrofilné ²	1,35 x 10 ⁹	1,04 x 10 ⁶	2,54 x 10 ⁶	7,27 x 10 ⁴	31,25
Mezofilné ³	1,27 x 10 ⁹	3,90 x 10 ⁵	1,99 x 10 ⁶	3,37 x 10 ⁵	38,12
Koliformné ⁴	1,16 x 10 ⁹	1,20 x 10 ⁴	7,85 x 10 ⁴	1,50 x 10 ⁴	27,49
Fekálne koliformné ⁵	1,63 x 10 ⁸	—	—	—	—
Fekálne streptokoky ⁶	1,51 x 10 ⁸	3,60 x 10 ⁴	2,00 x 10 ⁴	1,00 x 10 ³	24,57
Enterobaktérie ⁷	1,63 x 10 ⁸	6,00 x 10 ³	6,50 x 10 ³	1,20 x 10 ⁴	30,46

¹indicator microorganisms in 1 ml of sample (CFU/ml), ²psychrophilous, ³mesophilous, ⁴coliforms, ⁵faecal coliforms, ⁶faecal streptococci, ⁷enterobacteria, ⁸day 0, ⁹day 43, ¹⁰day 83, ¹¹day 117, ¹²T₉₀ (days)

ciou na XLD a SS agare s neselektívnym predpomnožením v bójone a následným selektívnym pomnožením v Rappaport–Vassiliadisovej pomnožovacej pôde (Merck, Darmstadt).

Vzorky pevnej frakcie na sledovanie dynamiky indikátorových mikroorganizmov a na chemické vyšetrenie boli odoberané ako priemerné vzorky o hmotnosti 50 g na začiatku a na 43., 83. a 117. deň experimentu.

Výšetrenia dynamiky indikátorových mikroorganizmov sme vykonávali podľa ČSN 83 0531, pričom sa sledovali počty psychrofilných, mezofilných, fekálne koliformných, koliformných mikroorganizmov, enterobaktérií a fekálnych streptokokov. Vzorky sa riedili v 0,9% fyziologickom roztoku do koncentrácie 10⁻⁶. Na kvantitatívny rozbor psychrofilných a mezofilných baktérií sme použili živný agar č. 2 (Imuna, Šarišské Michaľany), fekálne koliformných a koliformných baktérií Endov agar (Imuna, Šarišské Michaľany) a selektívny agar (Imuna) na izoláciu fekálnych streptokokov. Počty enterobaktérií sme zisťovali na McConkeyovom agare (Imuna, Šarišské Michaľany).

Výšetrenie fyzikálno-chemických parametrov, pH, sušiny, amoniakálneho dusíka, celkového dusíka sme vykonali podľa ČSN 83 0540 a celkového fosforu podľa Štandardných metód (APHA, 1985).

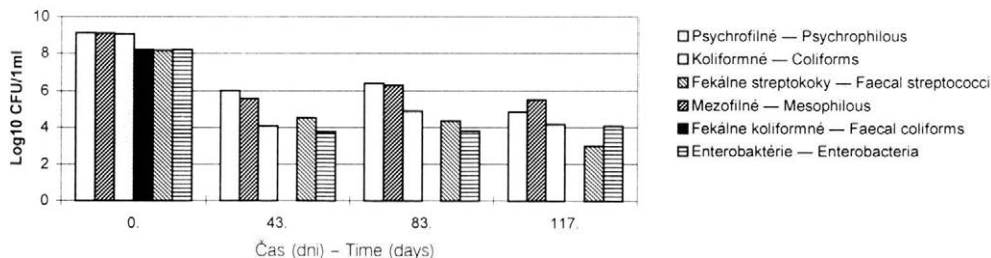
VÝSLEDKY

Testované baktérie *S. typhimurium* preživali v pevnej frakcii hnojovice z ČOV 117 dní (tab. I). Počiatočná koncentrácia zárodkov salmonel na koženom nosiči

bola 4,7 x 10⁹ CFU v 1 ml vzorky a na 12. deň experimentu bol počet salmonel 4,38 x 10⁹ CFU v 1 ml. Na 22. deň experimentu došlo k výraznému poklesu na hodnotu 3,29 x 10⁴ CFU v 1 ml vzorky. Od 32. dňa sme kvantitatívne zárodky *S. typhimurium* nezaznamenali. Kvalitatívne sme ich prítomnosť zaznamenali do 97. dňa. V pevnej frakcii v PVC fľašiach bola situácia podobná až do 22. dňa experimentu, keď počiatočná koncentrácia salmonel v pevnej frakcii v PVC fľašiach (7,5 x 10⁹ CFU v 1 ml vzorky) na 12. deň mierne poklesla na hodnotu 3,31 x 10⁹ CFU v 1 ml a na 22. deň došlo k výraznému poklesu na hodnotu 2,92 x 10³ CFU v 1 ml vzorky. Od 32. dňa experimentu sme zaznamenali kvalitatívnu prítomnosť salmonel až do 117. dňa. Kvantitatívne sme stanovili salmonely z obidvoch nosičov do 22. dňa. Kvalitatívne sme prítomnosť salmonel zaznamenali do 97. dňa na nosiči z kože a do 117. dňa v pevnej frakcii v PVC fľašiach.

Prítomnosť mikroorganizmov *Salmonella* spp. v pevnej frakcii na začiatku experimentu sme kultivačne nepreukázali.

Počty indikátorových mikroorganizmov v pevnej frakcii na začiatku experimentu sa pohybovali v rozpätí 10⁸ až 10⁹ CFU v 1 ml vzorky (tab. II). V priebehu sledovaného obdobia (117 dní) došlo k ich poklesu na konečný stav o štyri až päť rádov nižší. K najvýraznejšiemu poklesu počtu mikroorganizmov došlo v prvej tretine experimentu (43. deň). Výnimkou boli len fekálne koliformné baktérie, keď po vzraze pH po 30 dňoch na hodnotu 8,1 sme ich už kultivačne nepreukázali. Pri enterobaktériách, hodnoty ktorých mali tiež klesajúcu tendenciu až po 83. deň, sme zaznamenali na konci



I. Dynamika indikátorových mikroorganizmov v pevnej frakcii hnojovice – Dynamics of indicator microorganisms in solid fraction of slurry

experimentu takmer ich dvojnásobný vzrast. Hodnoty decimálnych časov T_{90} v priebehu experimentu boli v rozpätí 38,12 (mezofilné mikroorganizmy) až 24,57 dňa (fekálne streptokoky) – obr. 1.

Z fyzikálno-chemických parametrov (tab. III) najväčšie zmeny sme zaznamenali u pH, kde počiatočná hodnota 6,9 vzrástla po 30 dňoch na hodnotu 8,1; na 43. deň poklesla na 7,2 a po opätovnom nepravidelnom vzraste a poklese na konci experimentu bola 7,7. Hodnoty amoniakálneho dusíka v priebehu experimentu dosiahli takmer dvojnásobnú počiatočnú hodnotu.

III. Fyzikálno-chemické parametre – Physico-chemical parameters

	0. deň ⁴	43. deň ⁵	83. deň ⁶	117. deň ⁷
pH	6,93	7,15	6,7	7,69
Sušina ¹ (%)	16,75	14,78	12,52	13,3
N-NH ₄ (g/kg)	28,5	48,6	47,1	47,8
N-celkový ² (g/kg)	19,8	14,6	16,9	22,4
P-celkový ³ (g/kg)	19,9	18,9	13,6	13,2

¹dry matter, ²N-total, ³P-total, ⁴day 0, ⁵day 43, ⁶day 83, ⁷day 117

Hodnoty ostatných fyzikálno-chemických parametrov sa počas sledovaného obdobia výrazne nemeni. Hodnoty celkového dusíka mierne kolísali, s celkovým miernym vzrastom na konci experimentu, zatiaľ čo hodnoty celkového fosforu a sušiny mierne poklesli.

DISKUSIA

Výsledky, ktoré sme dosiahli poukazujú na to, že testovaný kmeň *S. typhimurium* je schopný dlhodobo prežívať v pevnej frakcii hnojovice z ČOV. I napriek tomu, že sme kvantitatívne preukázali jeho prítomnosť do 22. dňa experimentu, po resuscitovaní sme zaznamenali prežívanie až do 117. dňa. Toto zistenie je veľmi významné aj z toho hľadiska, ako uvádza Böhm (1994), že *S. typhimurium* je schopná sa rozmnožovať pri minimálnej ponuke živín a procesy inaktivácie a pomnožovania sa môžu podľa okolností prostredia prekrývať. To v praxi môže znamenať, že v prípade vhodných podmienok môže dôjsť k opätovnému pomnoženiu salmonel a kontaminácii prostredia.

Z našich výsledkov vyplýva, že pri sledovaní prežívania zárodkov *S. typhimurium* v pevnej frakcii je vhodnejšie použiť inokuláciu testovaného kmeňa do pevnej frakcie (pre ľahšiu izoláciu v PVC fľaši s otvorom), ako použiť metódu s koženým nosičom. Pri tejto metóde sme zaznamenali za rovnakých podmienok pri použití rovnakých kultivačných metód kratšiu dobu prežívania, ako pri inokulácii do pevnej frakcie. Tieto naše výsledky nemôžeme konfrontovať s výsledkami iných autorov, pretože sme sa v dostupnej literatúre s problematikou prežívania zárodkov *S. typhimurium* v pevnej frakcii nestreli.

Problematika riešená v našej práci je z hľadiska prežívania *S. typhimurium* pomerne málo preskúmaná a nepodarilo sa nám získať ani jednu prácu autora zaoberajúcu sa uvedenou problematikou, na rozdiel od veľkého množstva prác zaoberajúcich sa prežívaním salmonel v maštatnom hnoji alebo hnojovici. Pri voľbe inokulačnej dávky sme sa zámerne pohybovali v hornej časti koncentrácie, keď sme vychádzali zo skutočností zistených viacerými autormi: 2×10^8 CFU v 1 ml (Plym Forshehl a Ekesho, 1993); 5×10^7 CFU v 1 ml (Plym Forshehl, 1995); 10^6 CFU v 1 ml (Müller, 1973). Uvedení autori uvádzajú, že v heterogénnych materiáloch fekálneho pôvodu (pevného zloženia) dochádza ku kumulácii často vysokých koncentrácií salmonel v malých, priestorovo ohraničených častiach. Salmonely (predovšetkým *S. enteritidis* a *S. typhimurium*) sú schopné prežívať i rozmnožovať sa pri minimálnej ponuke živín (60 mg proteínu na liter substrátu) a pri teplote od 7 do 47 °C, takže deje inaktivácie a pomnožovania sa môžu prekrývať v závislosti na meniacich sa podmienkach v substráte. Z toho dôvodu, i z dôvodov nedostupnosti údajov o koncentracii salmonel v pevnej frakcii hnojovice sme museli brať do úvahy, že v optimálnych podmienkach môže dochádzať i k pomnoženiu *S. typhimurium* nad hranicu, ktorá odpovedá prirodzeným podmienkam. Preto sme zvolili koncentráciu v hornej časti spektra.

Ako uvádza Cabada a i. (1995), jednou z príčin vzrastajúceho počtu salmonelóz je i prenos pôvodcov prostredníctvom kontaminovaných krmív na hospodárske zvieratá. Z toho dôvodu je potrebné venovať veľkú pozornosť správnej manipulácii a hygienickému zabezpečeniu pevnej frakcie hnojovice, ktorá z hľadiska epidemiologického môže byť zdrojom šírenia sa pôvodcov infekčných ochorení v životnom prostredí. I napriek tomu, že pri výstavbe poľnohospodárskych ČOV sa rátało s hygienickým zabezpečením pevnej frakcie kompostovaním, ktoré ako uvádza Juriš (1995) je schopné zabezpečiť devitalizáciu patogénnych mikroorganizmov, v praxi sa stretávame s tým, že manipulácii a skladovaniu hnojovice sa nevenuje dostatočná pozornosť. Skladovanie hygienicky nezabezpečenej pevnej frakcie na voľných priestranstvách umožňuje často prístup voľne žijúcim zvieratám, hľadácom i vtákom a častokrát dochádza i k vyluhovaniu dažďovou vodou a možnej kontaminácii povrchových a podzemných zdrojov vôd.

Potvrdili sme zistenia Venglovského a i. (1994) o vysokej bakteriálnej kontaminácii pevnej frakcie z poľnohospodárskych ČOV. Počty mikroorganizmov na začiatku experimentu sme zistili dokonca ešte o dva až tri rády vyššie, ako uvádzajú uvedení autori (psychofilné $1,5 \times 10^7$ CFU/ml, mezofilné $1,8 \times 10^7$ CFU/ml, koliformné $1,7 \times 10^6$ CFU/ml, fekálne koliformné $5,9 \times 10^5$ CFU/ml, resp. psychofilné $1,35 \times 10^9$ CFU/ml, mezofilné $1,27 \times 10^9$ CFU/ml, koliformné $1,16 \times 10^9$ CFU/ml, fekálne koliformné $1,63 \times 10^8$ CFU/ml).

Ako vyplýva z našich výsledkov, v pevnej frakcii hnojovice z poľnohospodárskej ČOV dochádza k dlhodobému prežívaniu indikátorových mikroorganizmov. Poukazujú na to hodnoty decimálnych časov T_{90} , ktoré prekračujú aj hodnoty T_{90} , zistené pre neprevzdušňovanú aj prevzdušňovanú hnojovicu (Larsen a i, 1988).

Ak porovnáme naše výsledky zistené na 43. deň experimentu s prácou autorov Ondrašovičová a i. (1994), ktorí sledovali mikrobiologické parametre hnojovice počas šesťtyždňového uskladnenia za aeróbnych podmienok, môžeme konštatovať podobné hodnoty redukcie fekálnych koliformných a psychrofilných mikroorganizmov. Podobnosť sme zaznamenali aj pri vzraste pH, keď aj uvedení autori na 21. deň zaznamenali hodnotu 8,2. Z uvedeného vyplýva podobnosť priebehu procesov odohrávajúcich sa v aeróbne uložennej hnojovici a v skladovanej pevnej frakcii. Dávame to do súvisu s aeróbnymi podmienkami v pevnej frakcii na začiatku experimentu, ktoré sa však vplyvom intenzívnej mikrobiálnej činnosti rýchlo zmenili na anoxické.

Keďže pre vysoký obsah vody v pevnej frakcii nemôžu nastúpiť procesy podobné, ako je to pri zrení klasického maštalného hnoja (s devitalizáciou patogénov), musí sa uvedená frakcia hygienicky zabezpečiť – najoptimálnejšie kompostovaním. Okrem devitalizácie patogénnych mikroorganizmov sa tak získa kvalitný produkt s výbornými hnojivými vlastnosťami.

V prípade, že z rôznych dôvodov sa pevná frakcia hnojovice nekompostuje, alebo inak hygienicky nezabezpečí, je potrebné jej skladovaniu venovať zvýšenú pozornosť. Preto v záujme minimalizácie rizík prenosu patogénov prostredníctvom pevnej frakcie je nutné vykonávať systematický epidemiologický monitoring.

Okrem efektívnosti čistenia tekutej frakcie v poľnohospodárskych ČOV, ako o tom svedčia aj nami dosiahnuté výsledky, je potrebné venovať pozornosť i manipulácii, skladovaniu a spracovaniu pevnej frakcie.

LITERATÚRA

APHA, AWWA, WPCF (1985): Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington, 16th ed.
BÖHM, R. (1994): Verhalten ausgewählter Salmonellen in der Umwelt. Dtsch. Tierärztl. Wschr., 100, 275–278.
CABADAJ, R. – PÍPOVÁ, M. – TUREK, P. (1995): Poultry, eggs, and their products as sources of human salmonellosis

in Slovakia. In: World Vet. Congr., Yokohama, Japan, 3rd–9th September 1995.

IVANOVÁ, M. – PIPOVÁ, M. – GAJDOŠ, J. (1995): Salmonely pri depistážnom vyšetrovaní vzoriek z jatočnej hydiny. Slov. Vet. Čas., 20, 172–175.

JURIŠ, P. (1995): Využitie kompostovania pri hygienizácii pevných živočíšnych odpadov kontaminovaných patogénnymi organizmami. Slov. Vet. Čas., 20: 185–188.

LARSEN, E. – MUNCH, B. – OLSEN, E. – SCHLUNDT, J. (1988): Observations on survival of pathogenic and indicator bacteria in animal slurry subjected to various biological treatments. In: Proc. 6th Int. Congr. on Animal Hygiene. Skara, Sweden, 14th–17th June 1988, 601–605.

MÜLLER, W. (1973): Die Lebensfähigkeit von Salmonellen in belüftem kommunalem Abwasser. Schlacht u. Viehhof-Ztg, 9, 332–336.

ONDRAŠOVIČ, M. – MANDELÍKOVÁ, M. – ONDRAŠOVIČOVÁ, O. – PARA, L. – SOKOL, J. (1994): Účinnosť ČOV vo veľkovýkrmni ošipáných v jednotlivých ročných obdobiach. In: Zbor. Ref. Ekológia a veterinárna medicína. Košice, 24.–25. mája 1994, 113–116.

ONDRAŠOVIČOVÁ, O. – ONDRAŠOVIČ, M. – PARA, L. – VARGOVÁ, M. (1994): Zmeny niektorých chemických a mikrobiologických ukazovateľov v hnojovici počas skladovania a po pridaní chemických dezinfekčných prostriedkov. Živoč. Vyr., 39, 365–374.

PLYM FORSHELL, L. (1995): Survival of Salmonellas and *Ascaris suum* eggs in a thermophilic biogas plant. Acta Vet. Scand., 36, 79–85.

PLYM FORSHELL, L. – EKESBO, I. (1993): Survival of Salmonellas in composted and not composted solid animal manures. J. Vet. Med. B, 40, 654–658.

STRAUCH, D. – BALLARINI, G. (1994): Hygienic aspects of production and agricultural use of animal wastes. J. Vet. Med. B., 41, 176–228.

VENGLOVSKÝ, J. – JURIŠ, P. – SOKOL, J. (1994): Veterinárno-hygienické hodnotenie spracovania tekutých exkrementov z fariem ošipáných v čistiarniach odpadových vôd. In: Zbor. Ref. Ekológia a veterinárna medicína. Košice, 24.–25. mája 1994, 73–80.

ČSN 83 0531 Mikrobiologický rozbor povrchovej vody. 1978.

ČSN 83 0540 Chemický a fyzikálny rozbor odpadných vod. 1982.

Received: 96–04–12

Accepted after corrections: 96–11–14

Kontaktná adresa:

MVDr. Iveta Plachá, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A, 040 01 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/633 20 11, fax 095/633 18 53, e-mail: plachy@vsvnov.uvm.sk

**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 žadanek 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).

BIONOMY, DISTRIBUTION AND IMPORTANCE OF GIANT LIVER FLUKE (*FASCIOLOIDES MAGNA*), AN IMPORTANT PARASITE OF FREE-LIVING RUMINANTS*

BIONÓMIA, VÝSKYT A VÝZNAM CICAVICE OBROVSKEJ (*FASCIOLOIDES MAGNA*), ZÁVAŽNÉHO PARAZITA VOLNE ŽIJÚCICH PREŽÚVAVCOV

M. Špakulová¹, J. Čorba¹, M. Várady¹, D. Rajský²

¹Parasitological Institute of the Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic

²District Administration, Department of Veterinary Care, Dunajská Streda, Slovak Republic

ABSTRACT: The paper summarizes the most important knowledge of the giant liver fluke of ruminants, *Fascioloides magna*, with respect to its occurrence throughout the Northern Hemisphere, its phenotypic and genetic discriminative characteristics, its pathogenicity in various obligatory and facultative hosts and possible prophylaxis and medical control. The paper emphasizes the fact that new natural foci with heavy *F. magna* infections of deer regularly occur in Europe.

Fascioloides magna; ruminants; distribution; life cycle; genetics; pathogenicity; control

ABSTRAKT: Práca sumarizuje poznatky o závažnom parazitárnom druhu prežúvavcov, cicavici obrovskej (*Fascioloides magna*), z hľadiska jej výskytu v pôvodnom areáli (Severná Amerika) i v Európe, jej fenotypickej a genetickej druhej charakteristiky, patogenity u širokého spektra definitívnych hostiteľov – prežúvavcov a možnej profylaxie a liečby. Zdôrazňuje sa skutočnosť, že sa vytvárajú nové prírodné ohniská jej výskytu u jeleňovitých v rôznych oblastiach Európy.

Fascioloides magna; prežúvavce; rozšírenie; vývinový cyklus; genetika; patogenita; liečba

ÚVOD

Fascioloides magna (Bass, 1875) je závažný digenetický trematód parazitujúci v pečenej parenchýme jeleňov a inej raticovej zveri, hovädzieho dobytku, oviec a kôz, pričom na menšie zvieratá často pôsobí letálne (Foley, 1992). Je typickým príkladom parazita, ktorý bol prenesený v priebehu 19. storočia z pôvodného areálu – Severnej Ameriky, spolu so svojimi hostiteľmi, jeleňmi wapiti (*Cervus elaphus canadensis* Erx., 1777) do Talianska. Introdukcia organizmu do nového prostredia môže na jednej strane narušiť ekologickú rovnováhu a na strane druhej môže spôsobiť zmeny v genetickej štruktúre alochtónnej populácie. V prípade prenosu parazitárneho agens nadobúda tento proces závažný praktický význam, nakoľko nové prostredie môže vyvolať zmenu takých významných vlastností parazita, ako sú hostiteľská špecifickosť, patogenita či citlivosť voči antiparazitikám. Cicavica obrovská je aj v súčasnosti považovaná v USA a Kanade za jed-

ného z najzávažnejších parazitov poľovnej zveri i hospodárskych zvierat. V areáli svojho rozšírenia sa okrem stabilných ohnísk postupne objavujú ďalšie oblasti výskytu, a preto považujeme za potrebné sumarizovať doterajšie poznatky o tomto významnom parazitovi.

ROZŠÍRENIE

Severná Amerika

Cicavica obrovská sa vyskytuje na celom území USA a v južnej časti Kanady, avšak najčastejšie sa nachádza v severovýchodnej časti USA a v štátoch susediacich s Veľkými jazerami (Lankster a Luttich, 1988; Mulvey, 1991). Údaje o incidencii parazita u voľne žijúcich jeleňovitých v rôznych oblastiach Severnej Ameriky a rôznych časových periodách boli udávané v rozmedzí od 2 do 86 %. Cicavica obrovská bola najčastejšie zisťovaná u jej hlavného hos-

* Supported by the Grant Agency VEGA of the Slovak Republic (Grant No. 2/2079/96, 96/5305/589 and 2/1363/96).

teľa, ktorým je jeleník viržinský (*Odocoileus virginianus*), a ďalej u jeleňa wapiti (*Cervus elaphus canadensis*) a soba arktického – karibu (*Rangifer tarandus*), ktorí infekciu do istej miery tolerujú a u ktorých prebieha endogénna fáza vývinového cyklu tohto trematóda typickým spôsobom. Ďalší, fakultatívni (aberrantní) hostitelia, ako sú v americkom prostredí los mokračový (*Alces alces*), jeleník ušatý (*Odocoileus hemionus columbianus*), *Bison bison* alebo rôzne druhy domácich prežúvavcov (tur domáci *Bos taurus*, ovca *Ovis aries*, koza *Capra hircus*, kôň *Equus caballus*), sa síce často nakazia, ale vývinový cyklus je v týchto hostiteľoch zmenený. Juvenilné cicavce môžu dlhodobo migrovať v parenchýme pečene, ale aj iných orgánov (pľúca), kde spôsobujú fatálne poškodenie, pozorované najmä u oviec a kôz (Qureshi a i., 1995; Foreyt, 1996), alebo sa enkapsulujú a dospievajú v hrubostenných cystách nekomunikujúcich s tráviacim traktom hostiteľa. Vajíčka preto nie sú diseminované do prostredia, ale hromadia sa v cystách. U týchto zvierat spôsobuje infekcia priamu alebo nepriamu mortalitu (Pybus, 1990). Boli dokumentované prípady prirodzene i experimentálne nakazených oviec v oblasti Wisconsinu (Campbell a Todd, 1955), lamy (*Lama glama*) v Minesote (Conboy a i., 1988) a diviakov (*Sus scrofa*) v oblasti Texasu, USA (Schwartz a i., 1994).

Výskyt *F. magna* bol často monitorovaný v kanadskom štáte Alberta. Najčastejší výskyt bol zaznamenaný u jeleníka viržinského (Pybus, 1990), ale najviac poznatkov o tomto ochorení je známych u jeleňov wapiti. V národných parkoch kanadských Skalitých hôr (Banff, Kootenay, Waterton Lakes, Jasper) neboli jelene wapiti v období rokov 1944 až 1945 vôbec infikované *F. magna*, v šesťdesiatych rokoch bola zistená nízka prevalencia (Flook a Stenton, 1969), avšak o 30 až 40 rokov neskôr už boli wapiti v uvedených parkoch infikované v 86 %. Na ostatnom území Alberta bolo priemerne infikovaných 45 % wapiti (Pybus, 1990). V ďalšom kanadskom štáte Ontario sa *F. magna* nachádzala u 42 % wapiti a až u 58 % losov (Kingscote, 1950). Priemerná intenzita infekcie bola prevažne nízka, avšak Pybus (1990) udáva v jednom prípade u jeleňa wapiti až 600 cicavíc v pečeni.

Lanckester a Luttich (1988) zistili vysokú infikovanosť sobov karibu v oblastiach severného Quebecu a Labradoru (priemerne 58% prevalencia a maximálna intenzita 110 červov na hostiteľa). Karibu patrí podľa autorov k obligátnym hostiteľom a vo vzťahu k *F. magna* sa nelíši od wapiti alebo jeleníka viržinského. Na území USA bol sledovaný výskyt *F. magna* u jeleníkov viržinských v rôznych štátoch. Prevalencia bola 33,7 % v Južnej Karolíne (Mulvey, 1991), 38 až 73 % v Texase (Foreyt, 1981), 43 % v Louisiane (Pursglove a i., 1977) a 62 % v štáte New York (Smits, 1991) pri nízkych hodnotách priemernej intenzity infekcie.

Dlhodobé sledovanie výskytu *F. magna* v USA a Kanada ukázalo, že areál tohto parazita sa rozširuje

buď prirodzenou disperziou a migráciou obligátnych hostiteľov, alebo ich umelou translokáciou. Pri zavzverovaní nových oblastí sa doporučuje koprologické vyšetrenie a preliečenie jeleňovitých, nakoľko voľne žijúca vysoká zver infikovaná cicavicou obrovskou nemala v pôvodnom areáli klinické príznaky ani pri značne vysokých intenzitách infekcie (Foreyt, 1981; Wo-beser a i., 1985).

V areáloch so sympatrickým výskytom voľne žijúcich a domácich prežúvavcov sa cicavica obrovská stala závažným problémom. Už Olsen (1949) a Kingscote (1950) zistili 70 až 80% prevalenciu *F. magna* u hovädzieho dobytku v štáte Ontario. V súčasnej dobe je tento parazit spolu s ďalšou pečennou cicavicou *Fasciola hepatica* príčinou konfiškácie 17,2 % hovädzích pečeni v štáte Montana (USA), čo pri porážke okolo 6 000 kusov ročne spôsobuje nezanedbateľné straty. Podiel *F. magna* je výrazný najmä v horských a vlhkých oblastiach štátu (Knapp a i., 1992).

Mimo územia USA a Kanady bola *F. magna* nájdená aj na Kube u jeleňa wapiti tri roky po jeho transportovaní z USA (Lorenzo a i., 1989).

Európa

F. magna bola v Európe zaznamenaná prvýkrát u jeleňov v prírodnom parku La Mandria pri Turíne v Taliansku, odkiaľ pochádza aj originálny opis druhu (Bassi, 1875). Ako sme uviedli vyššie, cicavica bola introdukovaná zo Severnej Ameriky spolu so svojimi hostiteľmi, jeleními wapiti, v roku 1865 (Balbo a i., 1987). V uvedenej oblasti sa parazit vyskytuje dodnes s periodicky kolísajúcou prevalenciou. Napríklad v období rokov 1977 až 1979 bol príčinou 50% zníženia stavov jelenej zveri v obore, pričom počty vajíčok v 1 g trusu sa pohybovali od 500 do 600 a intenzita infekcie dosahovala 198 motolíc. V lokalite bolo nakažených i sedem kusov hovädzieho dobytku (z 208 kusov), jeden kôň z 19 a niekoľko diviakov (Leinati a Finazzi, 1976; Balbo a i., 1987, 1989).

Ojedinelé nálezy *F. magna* boli zaznamenané v severnej Európe na hranici Nemecka a Poľska (Salomon, 1932; Slusarski, 1955) a neskôr v Rakúsku u daniela (*Dama dama*) importovaného z Holandska (Pfeiffer, 1983). Dlh sa nálezy cicavice obrovej v Európe pokladali za raritné a ojedinelé. Do Čiech bola táto cicavica introdukovaná pravdepodobne v roku 1910 a prvý literárny údaj o jej náleze je z roku 1930 u daniela (Erhardová-Kotrlá, 1971). Odtedy tu bola sporadicky nachádzaná na rôznych lokalitách. V šesťdesiatych rokoch sa vytvorilo permanentné ohnisko jej výskytu v južných a stredných Čechách. Prevalencia u jeleňa európskeho (*Cervus elaphus hippelaphus*) bola v niektorých oblastiach 70 až 80 % (Erhardová-Kotrlá, 1971). Cicavica bola nájdená v Čechách aj u srnca, *Capreolus capreolus*, (Záh oř, 1965) a ďalej u daniela, jeleníka viržinského a jeleňa sika (*Sika nippon*), ktoré boli ako exotické cu-

dzokrajné zvieratá chované v oborách. U hospodárskych zvierat bol tento parazit zaregistrovaný zriedka u hovädzieho dobytku (Záhorský a i., 1966; Chroustová a i., 1980) a oviec (Ryšavý a Erhardová, 1954). V oblastiach najviac postihnutých fasciolidózou (niektoré obory pre chov raticovej zveri) sa po uplatnení ochranných opatrení výskyt *F. magna* znížil, avšak výskyt parazita je registrovaný aj v súčasnej dobe napríklad v Ponešickej obore pri Českých Budejoviciach (MVDr. P. Řezáč, ústna informácia).

Najnovšie ohnisko výskytu *F. magna* sa nachádza v oblasti dunajských lužných lesov na pomedzí Slovenskej a Maďarskej republiky. Pôvodne na Slovensku nebola *F. magna* pri rozsiahlom prieskume helmintofauny raticovej zveri nájdená (Rajský a Beladičová, 1987; Mituch a i., 1992). V roku 1988 bola prvýkrát *F. magna* diagnostikovaná v pečeni jeleňa európskeho v okolí staveniska vodného diela Gabčíkovo (Rajský a i., 1994). Ďalšie šírenie cicavice obrovskej malo dramatický priebeh. V súčasnej dobe jej areál zahŕňa lužné lesy v okrese Dunajská Streda a oblasť Szigetköz na severe Maďarska (Majoros a Sztojkov, 1994; Sztojkov a i., 1995; Špakulová a i., 1995; Rajský a Baka, 1996; Rajský a i., 1996). Dunajské lužné lesy sú ostrovného charakteru v ekosystéme ramennej sústavy Dunaja so zvyškami pôvodných trstinových porastov a močiarov. Priaznivé klimatické a hydrologické pomery tohoto ekosystému podmieňujú populačnú hustotu medzihostiteľov *F. magna*, ktorými sú vodné ulitníky z čeľade *Lymnaeidae*, v Európe najmä *Lymnaea truncatula* (Erhardová-Kotrlá, 1991). Priemerná prevencia nákazy v slovenskej populácii jelenej zveri dosahuje 70 % a zveri staršej ako 1,5 roka až 90 %. Prevalencia i intenzita infekcie sa zvyšuje s vekom, čo bolo zistené aj v iných oblastiach (Erhardová-Kotrlá, 1971; Mulvey, 1991). Pitvou 47 infikovaných jeleňov sa zistila priemerná intenzita infekcie 15,1 (2 až 107) parazitov na hostiteľa. Podľa koprologických vyšetrení čerstvého trusu jeleňov v zimnej sezóne 1995 až 1996, obsahovalo vajíčka *F. magna* 63 % vzoriek a priemerné EPG (eggs per gramm) bolo 12,2 na 1 g trusu (1 až 85) – Špakulová a i. (1996).

CHARAKTERISTIKA

Morfológia

Cicavica obrovská, opísaná v r. 1875 v Taliansku Bassim ako *Distomum magnum*, bola neskôr preradená do nového rodu *Fascioloides*, ktorého je jediným zástupcom (Ward, 1917). Je nápadná svojou veľkosťou – na Slovensku boli zistené maximálne rozmery 83 x 42 mm (vlastné výsledky), ale udáva sa dĺžka až 100 mm (Mulvey, 1991). Erhardová-Kotrlá (1971) upozornila, že najmarkantnejším diferenciálnym znakom *F. magna* a *F. hepatica* je okrem rozme-

rov aj uloženie vitelínnych žliaz, ktoré sú u *F. magna* uložené ventrálne od tráviaceho traktu, zatiaľ čo u *F. hepatica* obklopujú črevo z ventrálnej i dorzálnych strán.

Cytogenetika

Karyotyp je jednou zo základných druhových charakteristík. Počet chromozómov rodov *Fasciola* spp. a *Fascioloides* sp. sa líši ($2n = 20$, resp. 22) – Romanenko a Pleshanova (1975), Špakulová a Kráľová (1991), Špakulová a i. (1995). V rámci rodu *Fasciola* bola v juhovýchodnej Ázii opísaná triploidná ($3n = 30$) a mixoploidná ($2n/3n$) forma cicavice, ktoré sa od normálnej diploidnej formy *F. hepatica* líšia aberantnou spermiogenezou (Li a He, 1987; Ree a i., 1987; Sakaguchi, 1980). Chromozómy všetkých opísaných druhov pečenej cicavice (*F. hepatica*, *F. gigantica* a *F. magna*) sú relatívne veľké (do $10\ \mu\text{m}$) a väčšina chromozómových párov je telocentrických, čo sa pokladá za znak fylogeneticky starších druhov.

V posledných asi 10 rokoch sa k charakteristike, vzájomnému porovnaniu a odhadu fylogenetických vzťahov rôznych taxónov parazitov využívajú aj metódy molekulovej biológie, ako sú metódy imunotaxonomické, analýza nukleových kyselín alebo genetického základu izoenzymov. Všetky tieto prístupy boli použité k porovnaniu uvedených druhov pečenej cicavice.

Imunotaxonomía

Porovnaním profilu celkových bielkovín a exkrétno-sekréčných bielkovín *F. magna* a *F. hepatica* technikou izoelektrickej fokuscácie sa zistili markantné rozdiely medzi skúmanými cicavicami v USA (Lee a i., 1992). Profily oboch typov bielkovín u *F. magna* vykazovali väčší počet dominantných bielkovinových pásov (pikov) najmä v oblasti pH od 4,3 do 5,7. Ďalší americký kolektív autorov Qureshi a i. (1995) pokračoval v analýze celkových e-s bielkovín pomocou SDS-PAGE elektroforézy a následnej reakcie so sérami infikovaných hostiteľov (jeleníkov viržinských pri *F. magna* a hovädzieho dobytku pri *F. hepatica*) metódou Western blotu. Zistili, že proteinové profily oboch druhov boli odlišné. Sérum sa špecificky viazalo na ESP antigény o hmotnosti asi 17 a 22 kDa u *F. magna*, zatiaľ čo *F. hepatica* bola charakterizovaná bielkovinovým pásom o 15 kDa. Vytýpanie špecifických antigénov je dôležité preto, že v endemických oblastiach USA sa u hovädzieho dobytku vyskytujú oba druhy cicavíc a diagnóza poškodenia pečenej bola doteraz nešpecifická a obmedzená. Navyše ovoskopická diagnóza *F. magna* u hovädzieho dobytku nie je možná, nakoľko táto infekcia nie je patentná. Ďalší výskum bude smerovať k terénnemu overeniu výsledkov, purifikácii špecifických proteínov a vyvinutiu diagnostického setu.

Genetickú štruktúru *F. magna* u štyroch rôznych populácií jeleňov wapiti v severovýchodnej časti USA študovali metódou izoenzymovej analýzy Lydeard a i. (1989) a Mulvey (1991). Jeleň wapiti v sledovaných lokalitách boli nakazené v rôznej miere (prevalencia od 25,6 do 53,3 %, priemerná intenzita infekcie *F. magna* od 7,2 do 13,9). Porovnaním alelových frekvencií deviatich enzýmových lokusov v štyroch populáciách *F. magna* sa zistili medzipopulačné rozdiely, ktoré boli tým väčšie, čím boli populácie vzdialenejšie. Analýza genetického zloženia jedincov *F. magna* z jednotlivých jeleňov odhalila, že cicavce z jedného hostiteľa vykazujú vysokú mieru príbuznosti. Tento fakt je v súlade s aspektami zložitého vývinového cyklu parazita, ktorý zahŕňa asexuálne rozmnožovanie (t.j. množenie geneticky identických larválnych štádií) v medzihostiteľoch – vodných ulitníkoch. Rozsiahly areál hostiteľov – jeleňov wapiti (až 7 km) a relatívne dlhá patentná doba v živote dospelých cicavcov v definitívnom hostiteľovi (počas celého jeho života, maximálne však asi 10 rokov – Flook a Stenton, 1969) napopak napomáha zvyšovaniu genetickej variability populácie parazita.

Analýza DNA

Vzájomné porovnanie pečenejových cicavcov reštrikčnou analýzou celkovej a ribozomálnej DNA urobili Blair a McManus (1989) a Adlard a i. (1993). Zistili evidentné rozdiely medzi tromi druhmi a neidentifikovanú cicavicu *Fasciola* sp. z Japonska priradili k druhu *F. gigantica*. Detailná analýza úseku ribozomálneho DNA génu (ITS2) sekvenovaním umožnilo kvantifikovať medzidruhové rozdiely: *F. hepatica* sa od *F. gigantica* odlišovala v 2,8 % sekvencií tohoto úseku, zatiaľ čo od *F. magna* sa líšila až v 13,2 % sekvencií.

Druhovo špecifický úsek DNA po jeho amplifikácii je možné využiť ako špecifickú sondu, ktorá „rozoznáva“ a označuje prítomnosť sledovaného druhu parazita v hostiteľoch. Tento princíp bol využitý pri detekcii pečenejových cicavcov v ich medzihostiteľoch, vodných ulitníkoch, v USA. Doteraz boli skonštruované dve sondy s cieľom špecificky detegovať *F. hepatica*. Prvá sonda, získaná amplifikáciou (RT-PCR) DNA génu pre malú ribozomálnu podjednotku *F. hepatica*, sa špecificky viazala s DNA oboch druhov, *F. hepatica* i *F. magna* (Rognlie a i., 1994). Druhá sonda, ktorú predstavuje osekvenovaný 124bp fragment repetitívnej DNA *F. hepatica*, bola získaná klasickou technikou ligácie v plazmidoch a bola druhovo špecifická iba k *F. hepatica*; nevykazovala krížové reakcie s *F. magna* ani inými druhmi digenetických trematódov (Kaplan a i., 1995).

Metódy molekulej biológie môžu v krátkom čase zásadným spôsobom zlepšiť diagnostiku rôznych štádií

parazitárnych agens, a to i mnohobunkových helmintov.

VÝVINOVÝ CYKLUS

Vývinový cyklus *F. magna* sa v princípe zhoduje s vývinom častejšie sa vyskytujúcej cicavice pečenej *Fasciola hepatica*. Nakoľko sme niektoré aspekty vývinového cyklu už spomenuli, na tomto mieste prehľadne zhrnieme základné údaje.

Dospelé cicavce parazitujú v parenchýme pečene prežuváčov, ale môže sa nakaziť široké spektrum živočíchov. Obligátni hostelia (jeleník viržinský, jeleň wapiti a sob karibu v USA, jeleň európsky v Európe) sa nakazia požitím metacerkárií, z ktorých sa v čreve uvoľní juvenilná cicavica a aktívne preniká do pečene cez Glissonovo púzdro. Foreyt a i. (1977) a Mulvey (1991) uvádzajú, že juvenilná cicavica môže bez dosiahnutia dospelosti migrovať pečenejovým parenchýmom až rok a „čakať“ na stretnutie s inou cicavicou. Potom, najčastejšie v dvojici, sa opúzdria v parenchýme a dospejú, pričom cysty komunikujú so žľazovodmi (Foreyt a i., 1977). Prepatentná perióda trvá zvyčajne 3 až 6,5 mesiacov (Erhardová-Kotrlá, 1971; Foreyt, 1996). Cysty sú naplnené tmavozelenou tekutinou s degradovaným bilirubínom a vajčkami cicavíc, ktorých každý jedinec produkuje 10 000 až 20 000 denne (Mulvey, 1991). U nešpecifických menších hostiteľov (ovca, koza, divá sviňa, ošípaná) sa väčšinou zisťovali iba vážne poškodenia pečene spôsobené migráciou cicavíc, ktoré i v malom počte pôsobia letálne do piatich mesiacov po infekcii (Foreyt a Todd, 1976a; Foreyt a Leathers, 1980; Foreyt, 1989; Qureshi a i., 1995). U väčších zvierat (los, rôzne druhy amerických jeleňovitých, bizon, srnec, hovädzí dobytok) sa v pečeni vytvárajú hrubostenné uzatvorené cysty, ktoré obsahujú cicavice a ich vajčka, takže infekcia nie je väčšinou patentná a vajčka sa v truse nájdu iba pri ťažkom poškodení pečene (Záhorský, 1965; Balbo a i., 1987). Zdravotná záťaž takýchto hostiteľov je vysoká (Foreyt a Todd, 1976b; Foreyt, 1996). Vo vajčkách *F. magna*, diseminovaných s trusom jeleňov, sa vo vlhkom prostredí vyvinie asi po 28 dňoch obrvené miracidium, ktoré sa z vaječného obalu uvoľní odklopením malého viečka. V prípade, že do 12 až 15 hodín nájde vhodné medzihostiteľa – ulitníka čeľade *Lymnaeidae*, zavŕta sa do jeho tela a vytvorí sporocystu (Erhardová, 1961; Erhardová-Kotrlá, 1971). V Amerike bolo zistených päť druhov prirodzene infikovaných ulitníkov, z ktorých sa najčastejšie vyskytujú *Lymnaea modicella* a *L. caperata*. Ďalších päť druhov sa podarilo nakaziť v laboratórnych podmienkach (Dunkel a i., 1996). V Európe sa týmto problémom zaoberala Erhardová-Kotrlá (1971), ktorá zistila v prírodných podmienkach i experimentálne, že jediným druhom, v ktorom kompletne prebieha vývin *F. magna*, je *Lymnaea truncatula*. Druhy *Lymnaea peregra peregra* a *L. peregra*

ovata sa experimentálne nakazili, avšak vývin se zastavil v štádiu materských rēdií a nakazené slimáky uhynuli. Druhy *Succinea oblonga*, *S. putris*, *Lymnaea stagnalis*, *L. palustris* a *Physa acuta* sa nenakazili. Naopak Chroustová (1978, 1979) úspešne experimentálne nakazila mladé ulitníky *L. palustris* (veľkosti 0,5 až 1,5 mm). Zo 725 ulitníkov prežilo infekciu 400 jedincov a v 172 z nich prebehol kompletný vývin *F. magna*. Cerkárie opúšťali slimákov 68. deň p. i., čo je dlhšia doba ako pri experimentálnej infekcii *L. truncatula* – 44 dní (Erhardová-Kotrlá, 1971). Dá sa predpokladať, že postupne sa v Európe môže adaptovať viacero druhov vodných ulitníkov k introdukovanému druhu parazita. Zaujímavá je zhoda v ekologických nárokoch dvoch hlavných medzihostiteľských druhov *F. magna* (a tiež *F. hepatica*) v USA a Európe, *L. modicella* a *L. truncatula*. Oba druhy sú pomerne malé (do 6 mm) a preferujú vlhké brehy miernych vodných tokov, pričom tolerujú periodicky vysychajúce lokality (Ložek, 1956; Lisický, 1991; Dunkel a i., 1996).

Asexuálny vývin v ulitníkovi pokračuje vytvorením materských a dcérskych rēdií a konečne cercárii, ktoré asi po 42 až 44 dňoch (v prírode asi po 2 až 2,5 mesiacoch) začnú opúšťať slimáka. Plávu vo vodnom prostredí a onedlho sa encystujú na rastlinách nad hladinou vody. Takto vzniknuté metacerkárie sú vo vlhkom prostredí infekčné 2 až 2,5 mesiaca, avšak po vyschnutí odumierajú. Uvádza sa však aj možnosť nakazenia domácich zvierat pri zkrmovaní neštandardne upraveného sena, ktoré pochádzalo z lúk navštevovaných jelením (Erhardová-Kotrlá, 1971; Chroustová a i., 1980).

PATOGENITA

Ako sme uviedli, obligátni a fakultatívni hostitelia sa podstatne líšia v tolerancii voči infekcii *F. magna*. Pri silnej experimentálnej infekcii (500 metacerkárii na hostiteľa) jeleníka viržinského (obligátny hostiteľ) a jeleníka ušatého (fakultatívny hostiteľ) prvý z nich prežil bez príznakov pri infekcii 205 cicavíc, avšak všetky nakazené jeleníky ušaté uhynuli 69 až 134 dní po infekcii pri intenzite infekcie od 38 do 326 červov (Foreyt, 1992). Experimentálne infikované ovce a kozy uhynuli do 5 až 6 mesiacov po infekcii i pri nízkych intenzitách infekcie (Foreyt, 1988, 1996).

Naopak obligátni hostitelia – jelene sa môžu nakaziť niekoľko raz za život, o čom svedčí prítomnosť rôznych veľkostných a teda i vekových kategórií v pečeni jedného hostiteľa. Doteraz nebola dokázaná získaná imunita jeleňovitých voči *F. magna*. Ani pri vysokých počtoch cicavíc v pečeni jeleníka viržinského (205 červov) neboli pozorované klinické príznaky ochorenia (Foreyt, 1992). Avšak pri detailnom štatistickom vyhodnotení vplyvu infekcie *F. magna* na sexuálne významné znaky u oboch pohlaví jeleníkov viržinských bolo dokázané zhoršenie všetkých sledovaných ukazovateľov, ktoré v konečnom dôsledku znepokojujú infikované

jedince v období ruje. Mladšie samce (do 2,5 roka) jeleníkov, infikované viac ako 25 cicavicami, mali parošie s menším počtom výsad a mali menšiu telesnú hmotnosť, samice boli v čase ruje naopak väčšie a ťažšie, čo je u nich negatívnym znakom a častejšie rodili iba jedno mláďa (Mulvey a Aho, 1993; Mulvey a i., 1994). Kondičný ukazovateľ (index obličkového tuky) bol znížený u oboch infikovaných pohlaví jeleníkov.

Zaujímavé bolo zistenie Záhořa (1965), ktorý preskúmal vplyv infekcie *F. magna* u srnčej zveri v južných Čechách. Ťažké akútne zmeny pečene väčšiny srncov (hematomy na povrchu aj vo vnútri orgánu) spôsobovali ich hynutie už pri nízkej intenzite infekcie (2 až 18 červov). V roku 1964 uhynulo v jednej oblasti až 40 kusov. Napriek tomu sa v tejto oblasti vyskytlo niekoľko starších srncov a s ňs chronickou infekciou *F. magna*. V ich pečeni boli nájdené kaverny s pohlavne zrelými cicavicami, podobne ako tomu je u jelenej zveri. Autor detegoval vajčka *F. magna* v srnčom truse, čo svedčí o možnosti dobrej adaptácie ojedinelých kusov srnčej zveri k tejto cicavici.

Blažek a Erhardová-Kotrlá (1971) a Chroust (1987) porovnávali vplyv infekcie *F. magna* u rôznych druhov hostiteľov v Čechách. Patologická morfológia pečene u hovädzieho dobytky sa líšila od zmien pozorovaných u cervidov. Pečeňové cysty, obsahujúce cicavice, pozostávali u jeleňovitých z hrubej fibrózneho steny, mladšej na vnútornej strane. Nedochádzalo k prelinaniu fibrózneho a pečeňového tkaniva. Naopak, u dobytky boli cysty ohraničené iba tenkou fibróznou vrstvou, žľčovody boli celkom obturované a fibróza zasahovala do pečeňového tkaniva (Chroust, 1987). U experimentálne nakazených teliat bola zistená výrazná kalcifikácia a osifikácia stien pseudocysty. V okolí vajčiek cicavíc bola pozorovaná proliferácia lymfoidného tkaniva. Taktiež transport vajčiek z pečene do portálnych lymfatických uzlín bol výraznejší ako u cervidov. U kamzíkov a oviec bol patologický proces a ním vyvolané zmeny podobné ako u jeleňov (Blažek a Erhardová-Kotrlá, 1971).

Patologické zmeny spôsobované infekciou *F. magna* detailne študovali Conboy a Stromberg (1991) a Conboy a i. (1991) na morčatách. Po nakazení 20 metacerkáriami juvenilné cicavice migrovali rôznymi tkanivami, avšak najväčšie lézie boli pozorované v pečeni a pľúcach. Po šiestich týždňoch boli v orgánoch pozorované sekundárne zmeny po extenzívnych vaskulárnych léziách, tromboflebitis a lokálne nekrózy. Hynutie morčiat väčšinou súviselo s ťažkými pulmonárnymi léziami. Priebeh infekcie u morčiat símuloval podľa autorov infekciu *F. magna* u prasiat.

Ako sme už spomenuli, *F. magna* sa živí krvou hostiteľa. Po strávení erytrocytov vylučuje ako odpadný produkt tmavohnedý pigment, ktorý svojím zložením patrí do skupiny hemafínov (Campbell, 1960; Blažek a Gilka, 1970). Tento pigment je typický len pre *F. magna*, keď nebol nájdený pri infekcii inými druhmi pečeňových cicavíc (*F. hepatica*, *F. gigantica*, *D. dendriticum*) – Chroust (1987).

Úspešnosť liečby fascioloidózy voľne žijúcich prežúvavcov je podmienená úspešnosťou aplikácie antihelmintík v krmive. To si vyžaduje, aby použitý prípravok mal také chuťové a pachové vlastnosti, aby neodrádzal zvieratá od prijímania medikovaného krmiva. Okrem toho musí mať dostatočnú terapeutickú šírku, t. j. rozdiel medzi doporučenou terapeutickou a minimálnou toxicitou dávkou. Z uvedených dôvodov len niektoré z antihelmintík účinných u domácich prežúvavcov boli preskúšané aj u voľne žijúcich prežúvavcov infikovaných *F. magna* (tab. I).

Foreyt a Todd (1974) v USA referovali o vysokej účinnosti jednorazovej aplikácie rafoxanidu v dávke 10 mg/kg u hovädzieho dobytku prirodzene infikovaného *F. magna*. Kolář (1978) nepotvrdil tieto výsledky u jelenej zveri v Čechách, keď skúšal 2,5% suspenziu rafoxanidu. Zver prijímala tento prípravok veľmi zle a taktiež aplikácia suspenzie v teréne za mrazivého počasia bola obtiažna. Balbo a i. (1987) použili rafoxanid v medikovaných peletách v dávkach 10 a 15 mg/kg u jelenej zveri v Taliansku. Rafoxanid v oboch skúšaných dávkach vyvolal len dočasnú redukciu vylučovania vajíčok *F. magna* do fečes a po 20 až 25 dňoch boli hodnoty EPG rovnaké ako pred terapiou. Chroust (1987) overoval účinnosť rafoxanidu (Rafendazol) u asi 200 jeleňov v Ponešickej obore, kde bolo okolo 50 % zveri infikovanej *F. magna*. Po aplikácii liečiva dvakrát ročne po dobu dvoch rokov v dávke 15 mg/kg v medikovanom melasovom krmive, prijímanom zverou bez problémov a vedľajších účinkov, bolo ovoskopicky potvrdené zníženie počtu zasiahnutých lokalít (z 16 na 8) a zníženie priemerného počtu vylučovaných vajíčok v truse o 80 %. Dlhodobá redukcia fascioloidózy pokračovala i v nasledujúcich rokoch a bola potvrdená i pitevnými vyšetreniami.

Willomitzer a i. (1976), Kolář (1978), Chroustová a i. (1980) a Chroust (1982) v Čechách skúšali účinnosť prípravku BHS (bis-2-hydroxy-3,5-dichlórfenyl-sulfoxid) v jednorazovej dávke 40 až 50 mg/kg v medikovanom krmive, podávanom trikrát ročne. Jelenia zver prijímala toto krmivo dobre a neboli pozorované žiadne zmeny v ich chovaní. Koprologické

a pitevné vyšetrenia preukázali vysokú účinnosť preparátu na adultné cicavice. Vajíčka *F. magna*, ktoré sa pôvodne nachádzali v 28,3 % vzoriek trusu jeleňov (11,2 na 3 g), sa po ročnom liečení vyskytovali iba v 7 % vzoriek v množstve 2,0 na 3 g trusu. Pitevné vyšetrenia ulovených jeleňov tri, šesť alebo deväť týždňov po liečbe potvrdili účinnosť prípravku proti dospelým cicavičiam *F. magna*, jeho spontánne prijímanie zverou v bežnom krmive a jeho dostatočnú terapeutickú šírku a znášanlivosť. Prípravok BHS však nepôsobil v dostatočnej miere na juvenilné cicavice štyri mesiace po experimentálnej infekcii jeleňov ani vo zvýšenej dávke 60 mg/kg (Willomitzer a i., 1976). Nedokonale čistota preparátu a fenolové metabolity ostávajúce v mäse zapríčinili ukončenie jeho používania (Chroust, 1987).

Albendazol je širokospektrálne antihelmintikum účinné u domácich zvierat na gastrointestinálne a pľúcne nematódy a trematódy. Foreyt a Drawe (1978) v USA preskúšali účinnosť albendazolu u jeleníkov viržinských prirodzene infikovaných gastrointestinálnymi nemátodmi a cicavičiami *F. magna*. Jednorazová dávka albendazolu 11 až 54 mg/kg v krmive mala 99% účinnosť na nematódy, ale len 38% účinnosť na juvenilné *F. magna*. Qureshi a i. (1990) mali v pokuse v USA celkovo 36 ulovených jeleníkov viržinských, ktoré držali v zajatí. Štyrom skupinám deviatich zvierat aplikovali albendazol v medikovanom krmive v dávkach 0,0; 5,0; 8,5 alebo 16,5 mg/kg počas siedmich nasledujúcich dní. Sedem týždňov po terapii usmrtili všetky pokusné zvieratá a zistili pri najvyšších použitých dávkach 82% a 84% účinnosť na dospelé cicavice. Taktiež zistili výraznú redukciu počtov vylučovaných vajíčok do fečes a zvýšenie koncentrácie sérových albumínov.

Diamphenethid je prvé antifasciolikum, ktoré je účinné už na jeden týždňový juvenilný cicavice *F. hepatica* (Armour a Čorba, 1972). Proti *F. magna* u jeleňov európskych ho vyskúšali Balbo a i. (1987) v prírodnom parku La Mandria v Taliansku, kde epidémia fascioloidózy zdecimovala stavy jelenej zveri na polovicu pôvodného stavu. Autori aplikovali medikované pelety, ktoré obsahovali dávku 140 mg/kg diamphenethidu, pričom zvieratá prijali túto dávku počas

I. Prehľad novších antihelmintík účinných na *Fascioloides magna* – A list of recent anthelmintics effective in the control of *Fascioloides magna*

Účinná látka ¹	Obchodný názov ²	Dávka ³ v mg/kg	Poznámka ⁴
Bis-hydroxy-3,5-dichlórfenyl-sulfoxid	BHS	50	neúčinný na juvenilné štádiá ⁵
Albendazol	Valbazen, Vermitan	8,5–16,5	účinný len na dospelé štádiá ⁶ (82–84 %)
Diamphenethid	Coriban	140	účinný aj na juvenilné štádiá ⁷
Rafoxanid	Ranide	10–15	dubiozne výsledky ⁸
Triclabendazol	Fasinex	10	orálne: účinný aj na juvenilné štádiá ⁹
		50–60	v krmive ¹⁰

¹ active ingredient, ² trade mark, ³ dose, ⁴ note, ⁵ ineffective against juvenile stages, ⁶ effective against adult stages only, ⁷ effective also against juvenile stages, ⁸ dubious results, ⁹ orally; effective also against juvenile stages, ¹⁰ in feed

dvoch až troch dní. Na základe ovoskopických a pitevných vyšetrení Balbo a i. (1987) usudzujú, že diamphenetid v dávke 140 mg/kg aplikovaný v medikovanom krmive je spoľahlivo účinný na juvenilné i pohlavne zrelé cicavce *F. magna*. Neskôr Balbo a i. (1989) vyskúšali liečbu jelenjej zveri kombináciou štyroch antihelmintík, a to rafoxanidu, diamphenetidu, oxcyclozanidu a triclabendazolu, ktoré boli podávané v peletách pri zimnom prikrmovaní, pričom sa výskyt cicavice v obore stabilizoval. Účinok diamphenetidu nepotvrdili pokusy Foreyta a Todda (1976b), ktorí nezistili jeho dostatočnú účinnosť proti *F. magna* u prirodzene infikovaných jeleníkov viržinských v USA.

Najviac publikovaných výsledkov o úspešnej terapii infekcie *F. magna* sa týkalo novšieho antifasciolika triclabendazolu (Fasinex). Toto benzimidazolové liečivo je účinné voči juvenilným i pohlavne zrelým cicavičiam *F. hepatica* u oviec (Boray a i., 1983), kôz (Wolff a i., 1983) a dobytky (Eckert a i., 1984). Taktiež bol účinný proti zmiešanej infekcii *F. hepatica* a *F. magna* u teliat (Craig a Huey, 1984). Qureshi a i. (1989) preskúmali účinnosť tohto prípravku proti *F. magna* u prirodzene infikovaných jeleníkov viržinských v USA. Pokus urobili na 20 zvieratách, ktoré boli držané v obore. Desiatim zvieratám aplikovali triclabendazol v 5% suspenzii orálne v dávke 10 mg/kg a ďalším desiatim aplikovali placebo. Tri týždne po liečbe usmrtili všetky zvieratá. V pečeniach zvierat liečených triclabendazolom našli mŕtvé alebo silne poškodené cicavice, kým u neliečených zvierat nachádzali živé, pohyblivé helminty. Autori uvádzajú 100% účinnosť tejto dávky triclabendazolu proti *F. magna*.

Pybus a i. (1991) overovali účinnosť triclabendazolu u jeleníkov wapiti v Kanade. V pokuse mali celkovo 14 zvierat prirodzene infikovaných *F. magna*. Použili 24% suspenziu triclabendazolu v dávkach 30 až 100 mg/kg. Liečené zvieratá usmrtili po štyroch alebo ôsmich týždňoch po terapii. Zistili 90% účinnosť na juvenilné a 98% účinnosť na pohlavne zrelé cicavice.

Qureshi a i. (1994) uvádzajú výsledky experimentu s triclabendazolom aplikovanom v medikovanom krmive proti *F. magna* u prirodzene infikovaných jeleníkov viržinských v USA. Triclabendazol aplikovali v dávke 11 mg/kg/deň počas siedmich dní. Túto terapiu zopakovali počas troch nasledujúcich zím (1987, 1988, 1989). Na základe ovoskopického i pitevného vyšetrenia autori uvádzajú, že sa znížila prevencia fascioloidózy o 63 %, pričom sa významne znížili aj počty cicavíc v porovnaní s neliečenými, kontrolnými zvieratami.

Prevencia fascioloidózy, podobne ako u fasciolózy, sa dá realizovať použitím moluskocídnych látok, ktoré usmrťia medzihostiteľské slimáky. Kotrlý a i. (1961) sa pokúsili o redukciu výskytu medzihostiteľských slimákov *Lymnaea truncatula* v ohnisku fascioloidózy v Čechách použitím prípravku pentachlórfenolát sodný (NaPCP). Willomitzer a i. (1976)

použili neskôr v tejto oblasti moluskocíd Frescon (n-trityl-morpholine) v 1% koncentrácii. Výskyt infikovaných ulitníkov *L. truncatula* sa znížil po jednorazovej aplikácii postrekom z 18,3 % na 0,4 %. V našich experimentoch, súvisiacich s tlmením fasciolózy (Bruce a i., 1973), sme tiež dosiahli pomerne dobré výsledky použitím moluskocídnej látky Frescon pri ničení slimákov *L. truncatula*. Celkovo však použitie moluskocídnych látok môže mať len lokálny význam a pre mnohé vedľajšie dôsledky a aj z hľadiska ochrany životného prostredia sa táto forma prevencie fascioloidózy neodporúča (Balbo a i., 1989).

LITERATÚRA

- ADLARD, R. D. – BARKER, S. C. – BLAIR, D. – CRIBB, T. (1993): Comparison of the second internal transcribed spacer (ribosomal DNA) from populations and species of fasciolidae (*Digenea*). *Int. J. Parasitol.*, 23, 423–425.
- ARMOUR, J. – CORBA, J. (1972): The anthelmintic efficacy of diamphenethide against *Fasciola hepatica* in sheep. *Vet. Res.*, 91, 211–213.
- BALBO, T. – LANFRANCHI, P. – ROSSI, L. – MENEGUZZ, P. G. (1987): Health management of a red deer population infected by *Fascioloides magna* (Bassi, 1875, Ward, 1917). *Annali Fac. Med. Vet. Torino*, 32, 23–33.
- BALBO, T. – ROSSI, L. – MENEGUZZ, P. G. (1989): Integrated control of *Fascioloides magna* infection in northern Italy. *Parassitologia*, 31, 137–144.
- BASSI, R. (1875): Sulla cachessia ittero-vermiforme, o marciaia dei Cervi, causata dal *Distomum magnum*. *Il Medico Veterinario*, serie quarta-anno quarto, 497–515.
- BLAIR, D. – McMANUS, D. P. (1989): Restriction enzyme mapping of ribosomal DNA can distinguish between fasciolid (liver fluke) species. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 36, 201–208.
- BLAŽEK, K. – GILKA, F. (1970): Notes of the nature of the pigment of the trematode *Fascioloides magna*. *Folia Parasit.*, 17, 165–170.
- BLAŽEK, K. – KOTRLÁ-ERHARDOVÁ, B. (1974): Fascioloidóza (*Fascioloides magna* Bassi, 1875) a některé aspekty její diagnostiky a tlumení. *Veterinářství*, 24, 122–124.
- BORAY, J. C. – CROWFOOT, P. D. – STRONG, J. R. – ALLISON, M. – SCHELLENBAUM, M. – ORELLI, M. von – SARASIN, G. (1983): Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. *Vet. Res.*, 113, 315–317.
- BRUCE, G. R. – ARMOUR, J. – CORBA, J. (1973): A further study of the epidemiology of ovine fascioliasis in Scotland and its control using molluscicide. *Vet. Rec.*, 92, 518–526.
- CAMPBELL, W. C. (1960): Nature and possible significance of the pigment in fascioloidiasis. *J. Parasitol.*, 46, 769–775.
- CAMPBELL, W. C. – TODD, A. C. (1955): Natural infection of *Fascioloides magna* in Wisconsin sheep. *J. Parasitol.*, 40, 100.
- CONBOY, G. A. – STROMBERG, B. E. (1991): Hematology and clinical pathology of experimental *Fascioloides mag-*

- na infection in cattle and guinea pigs. *Vet. Parasitol.*, 40, 241–255.
- CONBOY, G. A. – O'BRIEN, T. D. – STEVENS, D. L. (1988): A natural infection of *Fascioloides magna* in a llama (*Lama lama*). *J. Parasitol.*, 74, 345–346.
- CONBOY, G. A. – HAYDEN, D. W. – STROMBERG, B. E. (1991): Hepatic and pulmonary pathology of experimental *Fascioloides magna* infection in guinea pigs. *J. Comp. Pathol.*, 105, 213–223.
- CRAIG, T. M. – HUEY, R. L. (1984): Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* and *Fascioloides magna* in naturally infected calves. *Amer. J. Vet. Res.*, 45, 1644–1645.
- DUNKEL, A. M. – ROGNLIE, M. C. – JOHNSON, G. R. – KNAPP, S. E. (1996): Distribution of potential intermediate hosts for *Fasciola hepatica* and *Fascioloides magna* in Montana, USA. *Vet. Parasitol.*, 62, 63–70.
- ECKERT, J. – SCHVEITER, G. – WOLFF, K. (1984): Fasí-nex (triclabendazole) – A new fasciolicide. *Berl. Münch. Tierarztl. Wschr.*, 97, 349–356.
- ERHARDOVÁ, B. (1961): Vývojový cyklus motolice obrovské *Fasciola magna* v podmínkách ČSSR. *Zool. Listy*, 10, 9–18.
- ERHARDOVÁ-KOTRLÁ, B. (1971): The occurrence of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) in Czechoslovakia. *Prague, Academia*, 155 pp.
- FLOOK, D. R. – STENTON, J. E. (1969): Incidence and abundance of certain parasites in wapiti in the national parks of the Canadian Rockies. *Can. J. Zool.*, 47, 795–803.
- FOREYT, W. J. (1981): Trematodes and cestodes. In: Diseases and parasites of white-tailed deer. *Tall Timbers Res. Stn. Misc. Publ.*, 237–265.
- FOREYT, W. J. (1988): Evaluation of clorsulon against immature *Fascioloides magna* in cattle and sheep. *Amer. J. Vet. Res.*, 49, 1004–1006.
- FOREYT, W. J. (1989): Efficacy of triclabendazole against experimentally induced *Fascioloides magna* infections in sheep. *Amer. J. Vet. Res.*, 50, 431–432.
- FOREYT, W. J. (1992): Experimental *Fascioloides magna* infections of mule deer (*Odocoileus hemionus hemionus*). *J. Wildlife Dis.*, 28, 183–187.
- FOREYT, W. J. (1996): Susceptibility of bighorn sheep (*Ovis canadensis*) to experimentally-induced *Fascioloides magna* infections. *J. Wildlife Dis.*, 32, 556–559.
- FOREYT, W. J. – DRAWE, D. L. (1978): Anthelmintic activity of albendazole in white-tailed deer. *Amer. J. Vet. Res.*, 39, 1901–1903.
- FOREYT, W. J. – LEATHERS, C. W. (1980): Experimental infection of domestic goats with *Fascioloides magna*. *Am. J. Vet. Res.*, 41, 883–884.
- FOREYT, W. J. – TODD, A. C. (1974): Efficacy of rafoxanide and oxylozanide against *Fascioloides magna* in naturally infected cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 35, 375–377.
- FOREYT, W. J. – TODD, A. C. (1976a): Development of the large American liver fluke *Fascioloides magna* in white-tailed deer, cattle and sheep. *J. Parasitol.*, 62, 26–32.
- FOREYT, W. J. – TODD, A. C. (1976b): Effects of six fasciolicides against *Fascioloides magna* in white-tailed deer. *J. Wildlife Dis.*, 12, 361–366.
- FOREYT, W. J. – SAMUEL, W. M. – TODD, A. C. (1977): *Fascioloides magna* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*): observation of the pairing tendency. *J. Parasitol.*, 63, 1050–1052.
- CHROUST, K. (1982): Sledování antihelmintické účinnosti bithionolsulfoxidu proti *Fasciola magna* u jelení zvěře. *Sbor. Věd. Práci, ÚSVÚ Praha*, 12, 75–79.
- CHROUST, K. (1987): Současný stav a možnosti tlumení motolice obrovské (*Fascioloides magna*) u zvěře. *Veterinářství*, 37, 514–515.
- CHROUSTOVÁ, E. (1978): *Lymnaea palustris* (Müller, 1774) jako další mezipřenositel motolice velké *Fascioloides magna* v ČSSR. *Veterinářství*, 28, 130–132.
- CHROUSTOVÁ, E. (1979): Experimental infection of *Lymnaea palustris* snails with *Fascioloides magna*. *Vet. Parasitol.*, 5, 57–64.
- CHROUSTOVÁ, E. – HŮLKA, J. – JAROS, J. (1980): Prevence a terapie fascioloidózy skotu bithionolsulfoxidem. *Vet. Med. (Praha)*, 25, 557–563.
- KAPLAN, R. M. – DAME, J. B. – REDDY, G. R. – COURTNEY, C. H. (1995): A repetitive DNA probe for the sensitive detection of *Fasciola hepatica* infected snail. *Int. J. Parasitol.*, 25, 601–610.
- KINGSCOTE, A. A. (1950): Liver rot (fascioloidiasis) in ruminants. *Can. J. Comp. Med.*, 14, 203–208.
- KINGSCOTE, B. F. – YATES, V. D. G. – TIFFIN, G. B. (1987): Diseases of wapiti utilizing cattle range in southwestern Alberta. *J. Wildlife Dis.*, 23, 86–91.
- KNAPP, S. E. – DUNKEL, A. M. – HAN, K. – ZIMMERMAN, L. A. (1992): Epizootiology of fascioliasis in Montana. *Vet. Parasitol.*, 42, 241–246.
- KOLÁŘ, Z. (1978): Příspěvek k léčbě fascioloidózy u jelení zvěře. *Veterinářství*, 28, 276–277.
- KOTRLÝ, A. – ERHARDOVÁ, B. – HANZAL, L. (1961): Použití pentachlórénolátu sodného na hubení plžů, mezipřenositelů motolice (předběžná zpráva). *Vet. Čas.*, 2, 128–131.
- LANKESTER, M. W. – TITLICH, S. (1988): *Fascioloides magna* (Trematoda) in woodland caribou (*Rangifer tarandus caribou*) of the George River herd, Labrador. *Can. J. Zool.*, 66, 475–479.
- LEE, C. G. – ZIMMERMAN, G. L. – MULROONEY, D. M. (1992): Isoelectric focusing of soluble proteins from *Fasciola hepatica* L. 1875 and *Fascioloides magna* B. 1875. *Am. J. Vet. Res.*, 53, 246–250.
- LEINATI, L. – FINAZZI, M. (1976): Contributo alla conoscenza delle lesioni epatiche da *Distomum magnum* (*Fascioloides magna*) nel cervo (*Cervus elaphus*). *La Clinica Veterinaria*, 99, 97–101.
- LI, J. H. – HE, L. (1987): Studies on the diploid and triploid of *Fasciola hepatica*. *Ann. Bull. Soc. Parasitol.*, Guangdong Province, 8–9, 102–104.
- LISICKÝ, M. J. (1991): Mollusca Slovenska. Bratislava, Veda, 341 s.
- LORENZO, M. – RAMIRIZ, P. – MENDEZ, M. – ALONSO, M. – RAMOS, R. (1989): Reporte de *Fascioloides magna*, Bassi, 1875, parasitando un wapiti (*Cervus canadensis*) en Cuba. *Rev. Cub. Cien. Vet.*, 20, 263–266.
- LOŽEK, V. (1956): Klíč československých měkkýšů. Bratislava, SAV, 437 s.

- LYDEARD, C. – MULVEY, M. – AHO, J. M. – KENNEDY, P. K. (1989): Genetic variability among natural populations of the liver fluke *Fascioloides magna* in white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*. Can. J. Zool., 67, 2021–2025.
- MAJOROS, G. – SZTOJKOV, V. (1994): Appearance of the large American liver fluke *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) (*Trematoda: Fasciolata*) in Hungary. Parasit. Hung., 27, 27–38.
- MITUCH, J. – HOVORKA, J. – HOVORKA, I. – VILÁGI-ÓVÁ, I. (1992): Helminty srnca obyčajného a jeleňa hôrneho vo Vysokých Tatrách. Folia Vet., 22, 47–52.
- MULVEY, M. (1991): Comparative population genetic structure of a parasite (*Fascioloides magna*) and its definitive host. Evolution, 45, 1628–1640.
- MULVEY, M. – AHO, J. M. (1993): Parasitism and mate competition: liver flukes in white-tailed deer. Oikos, 66, 187–192.
- MULVEY, M. – AHO, J. M. – RHODES, O. E. Jr. (1994): Parasitism and white-tailed deer: timing and components of female reproduction. Oikos, 70, 177–182.
- OLSEN, O. W. (1949): Whitetailed deer as a reservoir host of the large American liver fluke. Vet. Med., 44, 26–30.
- PFEIFFER, H. (1983): *Fascioloides magna* – erster Fund in Österreich. Wien. Tierärztl. Mschr., 70, 168–170.
- PURSGLOVE, S. R. – PRESTWOOD, A. K. – RIDGEWAY, T. R. – HAYES, F. A. (1977): *Fascioloides magna* in white-tailed deer in southeastern United States. J. Am. Vet. Med. Assoc., 171, 936–938.
- PYBUS, M. J. (1990): Survey of hepatic and pulmonary helminths of wild cervids in Alberta, Canada. J. Wildl. Dis., 26, 453–459.
- PYBUS, M. J. – ONDERKA, D. K. – COOL, N. (1991): Efficacy of triclabendazole against natural infections of *Fascioloides magna* in wapiti. J. Wildl. Dis., 27, 599–605.
- QURESHI, T. – CRAIG, T. M. – DRAWE, D. L. – DAVIS, D. S. (1989): Efficacy of triclabendazole against fascioloidiasis (*Fascioloides magna*) in naturally infected white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). J. Wildl. Sci., 25, 378–383.
- QURESHI, T. – DAVIS, D. S. – DRAWE, D. L. (1990): Use of albendazole in feed to control *Fascioloides magna* infections in captive white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). J. Wildl. Sci., 26, 231–235.
- QURESHI, T. – DRAWE, D. L. – DAVIS, D. S. – CRAIG, T. M. (1994): Use of bait containing triclabendazole to treat *Fascioloides magna* infections in free ranging white-tailed deer. J. Wildl. Sci., 30, 346–350.
- QURESHI, T. – WAGNER, G. G. – DRAWE, D. L. – DAVIS, D. S. – CRAIG, T. M. (1995): Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot analysis of excretory-secretory proteins of *Fascioloides magna* and *Fasciola hepatica*. Vet. Parasitol., 58, 357–363.
- RAJSKÝ, D. – BAKA, A. (1996): Szomszédoknál a nagy májmélt. Nimród (Budapest), 5, 18.
- RAJSKÝ, D. – BELADIČOVÁ, V. (1987): K štúdiu helmintofauny srnčej a jelenej zveri Žitného ostrova. Veterinárství, 37, 120–121.
- RAJSKÝ, D. – PATUS, A. – BUKOVJAN, K. (1994): Prvý nález *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) na Slovensku. Slov. Vet. Čas., 19, 29–30.
- RAJSKÝ, D. – PATUS, A. – ŠPAKULOVÁ, M. (1996): Rozšírenie cicavce obrovskéj (*Fascioloides magna*) v ekologických podmienkach Žitného ostrova. In: Zbor. Ref. Hygienické a ekologické problémy vo vzťahu k veterinárnej medicíne. Košice 21.–24. mája, 1996, 247–250.
- RHEE, J. K. – EUN, G. S. – LEE, S. B. (1987): Karyotype of *Fasciola* sp. obtained from Korean cattle. Korean J. Parasitol., 25, 37–44.
- ROGNLIE, M. C. – DIMKE, K. L. – KNAPP, S. E. (1994): Detection of *Fasciola hepatica* in infected intermediate hosts using RT-PCR. J. Parasitol., 80, 748–755.
- ROMANENKO, L. N. – PLESHANOVA, N. M. (1975): Chromosome sets of *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. Trudy VIGIS, 22, 137–142.
- RYŠAVÝ, B. – ERHARDOVÁ, B. (1954): Parazití ovci. Praha.
- SALOMON, S. (1932): *Fascioloides magna* bei deutschem Totwild. Berl. Tier. Woch., 48, 627–628.
- SAKAGUCHI, Y. (1980): Karyotype and gametogenesis of the common fluke, *Fasciola* sp., in Japan. Jap. J. Parasit., 29, 507–513.
- SCHWARTZ, W. L. – LAWHORN, D. B. – MONTGOMERY, E. (1994): *Fascioloides magna* in a feral pig. Swine Hlth Prod., 1, 27.
- SLUSARSKI, W. (1955): Studia nad europejskimi przedstawicielami przywry *Fasciola magna* (Bassi, 1875) Stiles, 1894. I. Acta Parasitol. Pol., 3, 1–59.
- SMITS, J. E. G. (1991): A brief review of infectious and parasitic diseases of wapiti, with emphasis on western Canada and the northwestern United States. Can. Vet. J., 32, 471–479.
- SZTOJKOV, V. – MAJOROS, G. – KÁMAN, K. (1995): Szarvasokban élt nagy amerikai májmélt (*Fascioloides magna*) megjelenése Magyarországon. Magyar Állat. Lap., 50, 157–159.
- ŠPAKULOVÁ, M. – KRÁLOVÁ, I. (1991): Chromosomes of *Fasciola hepatica* (Digenea: Fasciolidae) from western Bohemia (CFSR). Helminthologia, 28, 197–200.
- ŠPAKULOVÁ, M. – RAJSKÝ, D. – HANZELOVÁ, V. (1995): *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) in Slovakia: occurrence, morphology, karyotype. In: 7th International Helminthological Symposium, Košice, Programme and Abstracts, 29.
- ŠPAKULOVÁ, M. – ČORBA, J. – VÁRADY, M. (1996): *Fascioloides magna* in Europe: a rehashed problem. In: VII. European Multicol. of Parasitol., Parma. Parassitologia, 38, 272.
- WARD, H. B. (1917): On the structure and classification of North American parasitic worms. J. Parasitol., 4, 1–11.
- WILLOMITZER, J. – CHROUSTOVÁ, E. – KOLÁŘ, Z. (1976): Tlumení fascioloidózy u jelení zvěře. Veterinářství, 26, 417–419.
- WOBESER, G. – GAJADHAR, A. A. – HUNT, H. M. (1985): *Fascioloides magna*: occurrence in Saskatchewan and distribution in Canada. Can. Vet. J., 26, 241–244.
- WOLFF, K. – ECKERT, J. – SCHVEITER, G. – LUTZ, H. (1983): Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep and goats. Vet. Parasitol., 13, 145–150.

ZÁHOŘ, Z. (1965): Výskyt velké motolice (*Fascioloides magna* Bassi, 1875) u srnčí zvěře. Veterinářství, 15, 322–324. loidózních změn v játrech skotu. Vet. Med. (Praha), 6, 397–404.

ZÁHOŘ, Z. – PROKŠ, C. – VITOVEC, L. (1966): Nález vajíček motolice *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) a fascio-

Received 96–12–09

Accepted after corrections 97–02–17

Kontaktná adresa:

RNDr. Marta Špakulová, CSc., Parazitologický ústav Slovenskej akadémie vied, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská Republika

Tel. 095/633 44 55, fax 633 14 14, e-mail: spakulma@linux1.saske.sk

Prof. MUDr. et MVDr. h.c. Edward Babák

(Zkrácené znění referátu předneseného na zasedání odboru veterinárního lékařství České akademie zemědělských věd dne 14. června 1996 v Brně)

Chceme-li hodnotit vztah Edwarda Babáka (8. 6. 1873–30. 5. 1926) k českému zvěrolékařství, musíme se vrátit zpět, do historie institucionalizovaného zvěrolékařského vzdělávání. Na území České republiky se počalo rozvíjet, podobně jako v celém evropském kulturním okruhu, v druhé polovině osmnáctého století. Nikoliv však na samostatném učilišti – těch se v té době v Evropě objevilo téměř dvacet – ale na dvou lékařských fakultách, univerzitě pražské a univerzitě olomoucké. Na první se zvěrolékařství začalo přednášet jako jedna z osmi tradovaných medicínských disciplín v roce 1784 (Král, 1985; Litsch, 1985), na druhé o dvacet let později, v roce 1804; tam však zánikem univerzity v roce 1873, v roce narození Babáka, výuka zvěrolékařství skončila (Slavětinský, 1972; Kraváček, 1985). Na pražském vysokém učení bylo v polovině minulého století zvěrolékařské kurikulum, původně zaměřené jen na tlumení nákaz, naopak rozšířeno tak, aby lékaři mohli vykonávat i zvěrolékařskou praxi. Po jazykovém rozdělení pražské univerzity pokračovala výuka tohoto oboru jak na české, tak na německé lékařské fakultě; byla tedy zdvojnásobena (Novotný a Böhm, 1968a, b; Holub, 1994a).

To však Čechům nestačilo. Proto opakovaně, do konce minulého století více než dvacetkrát, žádali, aby bylo zřízeno vysoké zvěrolékařské učiliště české. Postupně se tento požadavek stal velmi palčivou záležitostí politickou. Objevil se i na III. sjezdu českých přírodovědců a lékařů. Revue „Naše doba“ o něm referovala a pochvalně se zmiňovala o tom, že mezi dvanácti sekcemi výsadu byla i sekce zvěrolékařská, vyznačující se čistostí v jednání, a dále konstatovala: „Stavovské hnutí projevuje se dále význačně v organizačních snahách českých zvěrolékařů, kteří – lze říci k jejich chvále – zároveň vytrvale a neodbytně se domáhají úpravy zvěrolékařského studia, povýšení vědeckosti jeho a řádně vypravené vysoké školy české.“ České zvěrolékařské obci se tedy ve zprávě o pražském vědeckém zasedání, vyvolaném – jak bylo zdůrazněno – českými kulturními potřebami, dostalo v revue redigované T. G. Masarykem významného kladného ohodnocení (Vrtiš, 1974). Ve zvěrolékařském tisku na ně upozornil Tauer (1902). V hodnocení nechyběly ani tóny kritické, například „Sekce chemická nepochybně odhaluje bídný stav chemických ústavů našich vysokých škol“ nebo „Mnoho vody uplyne, než se zmůže na významnou školu zemědělskou; ostatně naši zemědělci dosud ještě nechápou plně důležitost takové instituce.“ Autorem zprávy o sjezdu v revue „Naše doba“ nebyl nikdo jiný, než mladý, osmdesátiletý lékař Edward Babák

(1901). Nacházel se právě v nezávadné situaci. V české vědecké pospolitosti se totiž toho času střetávaly protikladné a nesmířitelné svetonázorové postoje a protichůdné zájmy.

Nejprudčeji tyto spory probíhaly, jak opakovaně v posledních letech zevrubně popsal Janků (1982, 1993, 1995), ve vědách o životě. Poznávání a popis přírody českých zemí, sběr jejich přírodnin, přestal lákat. Do popředí zájmů se v souladu se světovými trendy začaly dostávat srovnávací a experimentální obory. Tuto novou orientaci prosazoval i nový přírodovědecký časopis „Živa“, vydávaný v redakci chemika Bohumila Raýmana a Františka Mareše, přednosta fyziologického ústavu české lékařské fakulty, kde jako asistent působil i Babák. Spolupráce obou představitelů české vědy však časem počala váznout. Narůstaly mezi nimi difference v pojmání vědy a v názorech na úlohu teorie ve vědecké práci. Raýman byl zastáncem karteziánské racionality a důrazu na empirii, která byla dle něho prvotní, zatímco teoretické zpracovávání faktů v jeden celek jen druhotné. Mareš se naproti tomu živě zajímal o teoretický kvas v biologii provázející vleklou krizi mechanistické přírodovědy. Tu pak pokládal za součást neúspěchu dosavadní teoretické a metodologické orientace přírodních věd vůbec. Toto střetávání vedlo k nucenému odchodu Mareše z redakce časopisu „Živa“ a vyvrcholilo v roce 1901, kdy vyšel jeho spis „Idealismus a realism v přírodní vědě“. Raýman reagoval tím, že zaútočil na sérii prací o respirometrii a kalorimetrii živočišné Marešova asistenta Babáka.

Vytýkal jim, že jejich metody jsou nepřesné, že jejich cílem je útok na základní principy fyziky a chemie a že jejich neexaktnost kompromituje českou vědu v zahraničí (Janků, 1993). Tato kritika navíc zahrnovala sice nevyslovenou, ale důsledně prosazovanou eliminaci prací Marešova ústavu z českých vědeckých periodik. Rozhořčenost vědeckých a názorových konfrontací však zřejmě měla hlubší, tehdy tabuizované příčiny. Lehce je naznačil jen farmakolog Kamil Josef Lhoták rytíř ze Lhoty a Na Vysoké Lhotě. Byl to boj o pozice a moc. V něm vlivný a mocný Raýman, byt v polemice těžce tratil, dosáhl svého. Postavení v akademii si upevnil tak, že Mareš počal být ohrožován i na samé lékařské fakultě. Jeho skupina, až na jedinou výjimku, „Časopis lékařův českých“, ztratila možnost publikovat česky. A tak i Babák, jedna z obětí těchto střetů, počal své práce zveřejňovat v renomovaných časopisech zahraničních. Toto potýkání a sočení nejenže otevřelo cestu moderní české, teoreticky fundované biologii, ale nakonec nebylo na škodu ani Babákově. Jeho práce do-

znaly ve světě značného ohlasu. V roce 1902 však ovlivnilo průběh jeho habilitace na pražské české lékařské fakultě z obecné biologie. Byla zamítnuta. Jeho habilitační spis byl shledán příliš spekulativním. Babákovy označení docentem v „Časopisu českých zvěrolékařů“ bylo tedy v roce 1902 předčasné (Tauer, 1902).

Nicméně se mu venia docendi na lékařské fakultě přece jen dostalo – později, v roce 1903, a z jiného oboru, z obecné a srovnávací fyziologie. Čtyři roky na to byl pak Babák jmenován mimořádným profesorem a pověřen vedením oddělení pro obecnou a srovnávací fyziologii při fyziologickém ústavu české lékařské fakulty, která se tím vyrovnala pražské lékařské fakultě německé, kde se Eugenu Steinachovi dostalo laboratoře obecné a srovnávací fyziologie – proslula výzkumem fyziologie pohlavních žláz – již v době Babákova zápolení o habilitaci, v roce 1903 (Janko, 1982).

V té době se Babákovi naskytla příležitost uplatnit se jako vysokoškolský učitel i mimo českou lékařskou fakultu, a to v oblasti, o níž se před několika lety vyjadřoval s neskrývaným despektem, v zemědělství (Babák, 1901). Právě totiž byl otevřen zemědělský odbor na tehdejší české technice. Bylo však třeba odborníků, kteří by nové vysoké učení učitelsky zabezpečili. Nejschůdnějším se jevilu přizvat pracovníky z univerzity. Byl mezi nimi i Babák, který v říjnu 1907 začal suplovat přednášky z anatomie, histologie a fyziologie domácích zvířat. Počínal si iniciativně a s dosavadním dvouhodinovým týdenním rozsahem lekcí se nespokojil. Dosáhl toho, že v březnu 1908 schválilo vídeňské ministerstvo, po předchozím projednání profesorským sborem techniky a na žádost jejího rektora, rozšíření Babákovy výuky na čtyři hodiny týdně a na dvojnásobek mu zvýšilo i suplentský honorář, ze 200 na 400 K.

Ve snaze zemědělský odbor techniky osamostatnit byl zřízen vládním rozhodnutím v říjnu 1906 a ihned otevřen jeho první ročník. Síla snaha, aby se počet suplujících snížil, a to buď jejich převodem do učitelského sboru techniky natrvalo, nebo hledáním sil nových. A tak komise jmenovaná pro obsazení řádné profesury anatomie, histologie a fyziologie domácích zvířat přišla s návrhem, aby toto místo nebylo obsazeno definitivně Babákem, jehož požadavku, aby výuka jím tradované disciplíny byla rozšířena, bylo právě vyhověno, nýbrž mimořádným univerzitním profesorem a poslancem říšské rady za českou agrární stranu, MUDr. Aloisem Velichem. Mezi profesory techniky to vyvolalo rozpory (Horská, 1978).

A. Velich pocházel z pracoviště s velkou výzkumnou aktivitou, z ústavu experimentální patologie profesora MUDr. Arnolda Spiny. Velich byl v roce 1898 pro tento obor na lékařské fakultě habilitován. Z existenčních důvodů však lékařskou fakultu opustil a přešel do výzkumné stanice cukrovarnické. Tím se dostal do sféry vlivu profesora Julia Stoklasy. Při řešení pestrého spektra problémů novátorsky rozvinul spolupráci odborníků nejen různého zaměření, ale i z různých ústavů a institucí, což v té době bylo, zvlášť v našich tehdejších

ších poměrech, zcela neobvyklé. Již v roce 1898–1899 se habilitoval i na české technice pro morfologii a patologii domácích zvířat a za dva roky na to tam ohlásil i přednášky o fyziologii a patologii zvířat se zvláštním zřetelem k živočišné produkci. Přes mnohé námitky a obavy, i profesora Stoklasy, Velich na návrh mimořádného univerzitního profesora MUDr. et MVDr. Theodora Kašpárka, jenž byl v té době přednostou zootechnického a zvěrolékařského ústavu na české univerzitě, obor zatímne suplovaný obsadil a trvale převzal. Krátké učitelské intermezzo Babáka na technice tím skončilo.

Nelze při tom nevzpomenout, že životní dráhy účastníků tohoto dění se neprotýaly poprvé. A. Spina byl členem komise, která zhatila Babákovu habilitaci z biologie. Místo něho byl zanedlouho habilitován Spinův nejproslulejší žák, Vladislav Růžička, který pak byl v roce 1909 – kdy se biologie stala v celém mocnářství obligátním předmětem lékařského studia – pro tento obor jmenován na české univerzitě mimořádným profesorem.

Babák toho času rozvíjel intenzivní aktivitu na svém mateřském pracovišti, lékařské fakultě. Pracovat však mohl jen ve velmi stísněných poměrech. Jeho oddělení sestávalo z jedné místnosti, bylo nepatrně dotováno, mělo velmi skromné technické vybavení, čehož bylo dosaženo více osobními základy na ministerstvu ve Vídni, než přízní přednosty ústavu Mareše. Jeho vztahy k Babákovi, v němž po léta živil sobě blízké filozofické myšlení (Matoušek, 1960), totiž postupně chladly a třebaže jejich pracoviště byla na téže chodbě, přestali se stýkat (Hykeš, 1954). V tomto malém, skromném a chudém oddělení rozvinul Babák s plejádou mladých, nadšených a talentovaných spolupracovníků aktivitu, která z něj učinila učitelsky nejschopnějšího českého fyziologa (Lauferger, 1954, 1960), tvůrce české fyziologické školy a hlavu ve světě známého vědeckého centra. Doma uznávaný nebyl. V českém prostředí obvyklých vědeckých poet se mu nedostalo. Nebyl zvolen ani členem Akademie, ani Královské učené společnosti.

Jak patrně, byly na začátku století kontakty mladého Babáka s českým zvěrolékařstvím jen letmé. Jejich okolnosti a atmosféra však nepostrádaly vzrušení. Jinak tomu bylo o necelých dvacet let později. Dne 12. prosince 1918 rozhodl první československý zákonodárny sbor o zřízení československé státní Vysoké školy zvěrolékařské, a to – proti vůli zvěrolékařských orgánů a organizací – v Brně. Tam však zatím nebylo kde učit. Hledala se náhradní řešení. Diplomatická jednání, aby naši studenti vypuzení z Vídně mohli studovat v cizině, například ve Švýcarsku, nepomohla. Nebyla úspěšná. A tak byly alespoň na filozofické fakultě pražské české univerzity otevřeny zatímni dvousemestrové zvěrolékařské kurzy, do nichž se zapsalo přes 200 posluchačů (Novotný a Böhm, 1968c).

Mezi jejich učiteli se objevil jako přednášející a zkoušející fyziologii i čtyřicetiletý Babák. Libil se. Na návrh a žádost posluchačů byl brzy, v květnu 1919, pověřen místo profesora Kašpárka řízením kurzů a převzal i předsednictví obou jejich státních zkušeb-

ních komisí. Brzy na to, v červenci, kurzy skončily. Práce na aktivaci brněnské školy mezitím pokročily tak, že se její profesorský sbor mohl 20. října 1919 sejit na ustavující schůzi a Babák zvolit prvním rektorem. Tím byl jeho osud přímo spojen s nově vznikajícím centrem českého veterinárního vzdělávání, s budováním našeho nového vysokého učení zvěrolékařského v Brně (Novotný a Böhm, 1968d). Ze sympatizanta českého zvěrolékařství se stal jeho úhelným organizátorem, jedním z tvůrců jeho vzdělávacího systému, jedním z jeho zakladatelů a otců.

Výsledkem Babákovy iniciativní organizátorské aktivity bylo, že již za pouhé čtyři týdny na to, 17. listopadu 1919, mohla být zahájena výuka posluchačů v Brně. Jako rektor musel Babák překonávat mnohé překážky. Postupně se jich nakupilo tolik, že se poměry staly neudržitelnými. A tak Babák v dubnu 1921 z funkce rektora odstoupil. S ním odstoupil i profesorský sbor školy. Na škole byla zastavena výuka včetně zkoušek. K protestům se připojili i studenti. Teprve po tomto dramatickém vyhození poskytl ministerstvo škole takové záruky, že rezignace rektora a profesorského sboru mohly být odvolány (Babák, 1921; Novotný a Böhm, 1968e). V těchto kritických dobách se plně vyhranily až heroické rysy Babákovy osobnosti. Byl-li dosud neprestíživní, ale náročným a dravě kritickým vědcem, projevoval se nyní i jako neústupný a zásadový organizátor a občan srdnatě čelící malichernostem a protivenstvím (Holub, 1973). Práce na zvěrolékařské škole mu však hořkla. Zvolnými opakovanými střety s malostí se, jak je patrné z jeho osobní korespondence (Franc, 1996), cítil vyčerpan. Niemeně, návrat do Prahy, s nímž po celou dobu své brněnské mise počítal, se blížil.

Na začátku Babákova rektorského působení sestával učitelský sbor školy z 15 profesorů a honorovaných docentů a 13 adjunktů, tedy asistentů. Ne všichni pracovali na škole na plný úvazek. Za výuku a vědecko-technický rozvoj českého zvěrolékařství neslo tudíž odpovědnost jen 28 honorovaných odborníků. Během jeho funkčního období se tento počet, ve vypjaté situaci, zvýšil jen mírně, na 11 profesorů, 6 docentů, z nichž někteří byli soukromí, a 28 asistentů, tedy celkem na 45 pedagogických sil. Po té růst tohoto počtu po léta stagnoval (Holub, 1994a).

Za nemalých potíží založil Babák na Vysoké škole zvěrolékařské ústav fyziologický a stačil ještě Oldřicha Viléma Hykeše habilitovat z biologie a parazitologie (22. ledna 1924) a Tomáše Vacka z fyziologie (20. srpna 1925).

Větší fundátorský a organizační prostor se v Brně Babákovi otevřel na nově zakládané univerzitě. Využil jej velkoryse. Na lékařské fakultě se stal zakládajícím přednostou ústavu fyziologického, přednostou oddělení pro teoretickou neurologii a s prof. Studničkou též spolupřednostou ústavu pro všeobecnou biologii. Na filozofické fakultě založil ústav psychologický a proti své vůli se stal i ředitelem univerzitního vzdělávacího kurzu pro učitele tělocviku na středních školách.

Na obou začínajících brněnských vysokých školách byl v krátkém, zhruba jen šestiletém období dvakrát rektorem, ale i prorektorem a na lékařské fakultě též děkanem a proděkanem. Byl však také členem přípravného sboru další nově zakládané brněnské vysoké školy, a to zemědělské (Franc, 1996 – osobní sdělení). Stál též u zrodu nových brněnských vědeckých společností. Jím založená Biologická společnost byla od samého začátku velmi aktivní a šťastně integrována do biologické společnosti francouzské tak, že mohla využívat možností v Paříži publikovat sdělení přednesená na zasedáních v Brně. Z dalších organizací to byla Moravská přírodovědecká společnost, Akvaristická společnost, Společnost pro výzkum dítěte a péči o dítě atd. Všechny tyto instituce a sdružení nejen uvedl v život, řídil, ale také je podnětně ovlivňoval a impresivně v nich působil tak, že se z nich záhy staly produktivní vědecké dílny (Holub, 1994b).

Babák byl však nejen velkým zakladatelem, efektivním a neúnávným organizátorem, ale zůstal i vůdčím, uznávaným tvůrčím duchem bouřlivě rostoucí brněnské biomedicínské community. Vpečetil se do ní neopominutelným způsobem. Po dlouhou dobu nesla znaky jeho génia v míře tak plodné, že je po desetiletí mohla rozsevat, jak přímo, v žácích a následovnicích, tak nepřímo, jako tvůrčí neviditelná škola.

Nezůstalo však jen při vědě. Babákova překypující kreativnost se nedala jejími hranicemi spoutat. Od začátku je přerůstala, přelévala se i do moravského dění kulturního a projevila se mimo jiné i udělením prvního čestného doktorátu brněnské univerzity Leoši Janáčkovi, a to právě v době Babákova rektorského působení (Holub, 1994b).

Můžeme se setkat s nostalgickými stesky, že Babák brněnského údobí již nebyl Babákem pražským. Babákem živých, přátelských diskusí a intenzivní vědecké práce v jediné místnosti, laboratoři i pracovně (Hykeš, 1926ab, 1954; Laufberger, 1960; Skládal, 1973). Mohl by proto dokonce vzniknout dojem, jako by se v Brně u Babáka snad již tolik vědecky nepracovalo. Nebylo tomu tak. Pravdou je opak. Z laboratoří a ústavů, které řídil, vyšlo, bez Babákových vlastních prací, od roku 1908 do roku 1926 celkem 134 vesměs původních experimentálních publikací (Hykeš, 1926b), tedy za rok průměrně 7,4. Na údobí pražské z toho připadá 36 titulů, na brněnské 98, tedy téměř tři čtvrtiny. Z Prahy vyšlo za rok průměrně 3,6, z Brna 14,0 prací. Brněnský roční průměr je tudíž skoro čtyřnásobný než pražský. Plná polovina titulů z brněnského údobí, 49, pak byla dílem pracovníků nevelkého, začínajícího nového českého vysokého učení zvěrolékařského, jeho fyziologického ústavu, který Babák, přes elementární nedostatky a strážné, nastartoval i jako vysoce výkonné pracoviště vědecké (Holub, 1972abcdefg, 1994c, 1996).

Tyto Babákovy zásluhy byly školou záhy oceněny. Dne 16. dubna 1923 mu udělila čestný doktorát. V době svého časného nečekaného skonu, 30. května 1926, byl vnímán nejen jako zakladatel a tvůrce teoretických

základů českého zvěrolékařství, ale jako muž, který daleko přesáhl rámec svého vědního oboru a sehrál v krátkém údobí, které mu bylo osudem dáno, prvořadou organizátorskou roli při formování Vysoké školy zvěrolékařské jako celku (Hykeš, 1926ab). I s odstupem doby bylo opakovaně konstatováno, že toto působení, zvláště při výběru spolupracovníků, z různých nesusoudržných působišť, rozdílných, někdy vysokým školám vzdálených prostředí, bylo šťastné (Novotný a Böhm, 1968de; Holub, 1973).

Do nové etapy vstoupilo hodnocení Babákovy díla až téměř po třiceti letech, v první polovině padesátých let (Hahn, 1954; Hykeš, 1954; Laufberger, 1954; Křeček, 1955). Jeho prologem bylo vystoupení prvního Babákova asistenta na Vysoké škole zvěrolékařské, O. V. Hykeše (1954). Tehdy se zdůrazňovalo, že nelze vycházet z Babákových vyhraněných idealistických hledisek a že nelze přijímat filozofické důsledky, které ze svého bádání vyvozoval. Jako nesmírně podnětné a plodné však byly přijímány jeho vědecké objevy, jeho přístupy k problémům a směry, které do vědy zanašel. Idealistickým nazíráním totiž výsledky své experimentální práce nezkrášloval (Holub, 1973). Dokladem jeho velikosti a tolerantnosti je i to, že neusiloval o to, aby svými filozofickými panpsychickými (Janík, 1982) názory své žáky ovlivnil. Nevnucoval je (Hykeš, 1954).

Jedním z největších Babákových přínosů bylo zaujetí pro ontogenezi funkcí (Laufberger, 1926). Sledoval ji v podstatě ve všech svých pokusech, ať již šlo o termoregulaci nebo o mechanismus dýchání, a právem v ní viděl cestu k založení evoluční fyziologie. Toto Babákovy dědictví bylo nejen doceněno, ale v nově, vyšší poloze na našich pracovištích rozmnoženo. Jeho pionýrská práce z přelomu století tedy nesla ovoce. I když v této oblasti zatím nemáme dostatek obecně platných teorií, máme značné množství informací. Jsme s to si klást otázky, které bychom dříve nebyli schopni formulovat. Stále častěji se objevuje koncepce kritických period, a to jak ve vývojové fyziologii, tak ve vývojové psychologii a etologii. Předpokládá se, že postnatální vývoj a růst závisí na organizujících procesech. Obecně bývá význam této koncepce formulován tak, že co bylo v průběhu individuálního vývoje již organizováno, lze reorganizovat nesnadno, to jest, organizace inhibuje reorganizaci. Organizační procesy však mohou být snadno ovlivněny v době, kdy se objevují, to jest v kritických periodách vývoje. Postnatální vývoj bývá dělen na údobí a každé je zahajováno výraznými funkčními změnami (Křeček, 1971, 1973; Holub, 1968; Křeček a Koldovský, 1995).

Babákovská plodná evoluční fyziologická orientace dozrává ocenění i dnes, jak u nás, tak i v zahraničí (Koldovský aj., 1995abcd). Její rozvoj přinesl již v medicíně humánní i veterinární a v živočišné výrobě řadu podnětů a realizovatelných výsledků. Vždyť u hospodářských zvířat je podstatná část užitekosti založena na růstových vývojových procesech, tedy dějích, k jejichž studiu položil u nás základy právě Babák.

Dalším pro Babákovu práci velmi charakteristickým rysem je úsilí o ekologickou fyziologii. Babák si byl vědom významu vnějšího prostředí a jeho vlivu na živočišný organismus. Nutnost ekologické fyziologie se mu ozřejmila, když prováděl pokusy na rozmanitých zvířatech a poznával funkční rozdíly mezi příbuznými druhy žijícími v odlišných životních podmínkách, nebo u téhož druhu v různých ročních obdobích i v různých vývojových stádiích a v neposlední řadě i za vlivu různých technologií odchovu zvířat. Byl přesvědčen, že dokonalé pozorování na celém neoperovaném zvířeti může dát platnější a skutečnosti více odpovídající výsledky, než nákladný pokus se složitou aparaturou (Babák, 1914, 1916).

Živočišné organismy chápal jako složité historické jevy, mající těsný vztah k předkům i k prostředí. Byl si vědom významu životních podmínek pro funkce organismů, a to nejen těch, které působí v přítomnosti, ale i těch, které se uplatňovaly v minulosti. Pracoval tudíž s plným vědomím souvislostí a důsledně zanašel do fyziologie čas i prostor.

Navíc je z jeho životních osudů, z reflektování jeho dvou tak rozdílných životních údobí, pražského a brněnského, patrné, že vědní politika, včetně hodnocení výsledků nebo programů výzkumu, se nemůže oprostít od zájmů předních vědců a s nimi spojených skupin a nemůže překlenout světázorové protiklady (Janík, 1993).

Proto nám má Babák a jeho vědecký i lidský odkaz co říci i dnes, v době hierarchických posunů hodnot a hluboké, historické proměny našeho oboru, veterinární medicíny, snad dokonce víc než v letech minulých.

Poděkování

Je mně milou povinností vyslovit za účinnou pomoci vřelě díky MUDr. Zdeňkovi Francovi, CSc., z Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně a paní M. Hodinářové z Archivu Českého vysokého učení technického v Praze.

Prameny

Archiv Českého vysokého učení technického v Praze.
Státní ústřední archiv, fond Ministerstva kultury v Praze.

Literatura

- BABÁK, E. (1901): III. Sjezd českých přírodopysků a lékařů. Naše doba, 8, 729–734.
BABÁK, E. (1914): Oekologické momenty ve fyziologii. In: Věstník V. sjezdu českých přírodopysků a lékařů v Praze, s. 349–395.
BABÁK, E. (1916): O potřebě synthesy v analytickém směru dnešní genetiky. Biol. Listy, 5, 202–205.
BABÁK, E. (1921): K posledním událostem na vysoké škole zvěrolékařské. Věst. Zvěrolék., 14, 33–36.
HAHN, P. (1954): Babákovy práce v oblasti dýchání. Českoslov. Fyziol., 3, 113–120.

- HOLUB, A. (1968): Fyziologie. In: 50 let vysokého veterinárního učení v Brně, s. 136–143.
- HOLUB, A. (1972a): List of publications 1921. Katedra fyziologie, Vysoká škola veterinární, Brno, Czechoslovakia.
- HOLUB, A. (1972b): List of publications 1922. Katedra fyziologie, Vysoká škola veterinární, Brno, Czechoslovakia.
- HOLUB, A. (1972c): List of publications 1923. Katedra fyziologie, Vysoká škola veterinární, Brno, Czechoslovakia.
- HOLUB, A. (1972d): List of publications 1924. Katedra fyziologie, Vysoká škola veterinární, Brno, Czechoslovakia.
- HOLUB, A. (1972e): List of publications 1925. Katedra fyziologie, Vysoká škola veterinární, Brno, Czechoslovakia.
- HOLUB, A. (1972f): List of publications 1926. Katedra fyziologie, Vysoká škola veterinární, Brno, Czechoslovakia.
- HOLUB, A. (1972g): List of publications 1927. Katedra fyziologie, Vysoká škola veterinární, Brno, Czechoslovakia.
- HOLUB, A. (1973): Babákov dílo a současná fyziologie. Českoslov. Fysiol., 22, 501–504.
- HOLUB, A. (1994a): Czech veterinary medicine: Past and present. Purdue University, West Lafayette, 11 p.
- HOLUB, A. (1994b): Prof. MUDr. Edward Babák a PhDr. h.c. Leoš Janáček. Vlastivěd. Věst. Mor., 46, 51–53.
- HOLUB, A. (1994c): List of publications 1973. Department of physiology. University of Veterinary and Pharmaceutical sciences, Brno.
- HOLUB, A. (1996): List of publications 1979. Department of Physiology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno.
- HORSKÁ, P. (1978): Dějiny Českého vysokého učení technického 1891–1918. In: Dějiny Českého vysokého učení technického. 1. díl, svazek 2. Praha, s. 237–392.
- HYKEŠ, O. V. (1926a): Literární činnost profesora E. Babáka. Biol. Listy, 12, 307–315.
- HYKEŠ, O. V. (1926b): Práce vyšlé z laboratoří a ústavů řízených prof. Dr. E. Babákem. Biol. Listy, 12, 316–320.
- HYKEŠ, O. V. (1954): Edward Babák. Českoslov. Fysiol., 3, 4–8.
- JANKO, J. (1982): Vznik experimentální biologie v Čechách (1882–1918). Studie ČSAV 8, Praha, 132 s.
- JANKO, J. (1993): Věda jako moc. Ke sporům českých přírodovědců na přelomu 19. a 20. století. Děj. Věd. Tech., 26, 181–195.
- JANKO, J. (1995): Vědy o životě v intelektuálních dějinách českých zemí. Děj. Věd. Tech., 28, 65–86.
- KOLDOVSKÝ, O. – DOBIÁŠOVÁ, M. – DRAHOTA, Z. – HAHN, P. (1995a): Developmental aspects of lipid metabolism. Physiol. Res., 44, 353–356.
- KOLDOVSKÝ, O. – DOBIÁŠOVÁ, M. – HAHN, P. – KOLÍNSKÁ, J. – KRAML, J. – PACHA, J. (1995b): Development of gastrointestinal functions. Physiol. Res., 44, 341–348.
- KOLDOVSKÝ, O. – HAHN, P. – HROMADOVÁ, M. – KŘEČEK, J. – MACHO, L. (1995c): Late effects of early nutritional manipulations. Physiol. Res., 44, 357–360.
- KOLDOVSKÝ, O. – ILLNEROVÁ, H. – MACHO, L. – ŠTRBÁK, V. – ŠTĚPÁNKOVÁ, R. (1995d): Milk-borne hormones: Possible tools of communication between mother and suckling. Physiol. Res., 44, 349–351.
- KRÁL, E. (1985): Výuka zvěrolékařství v českých zemích a aktivita zvěrolékařů do roku 1939. 200 let výuky veterinárního lékařství a veterinární činnosti v našich zemích. Acta Vet. (Brno), Sb 54, 25–65.
- KRAVÁČEK, F. (1985): Výuka zvěrolékařství na staré olomoucké universitě. 200 let výuky veterinárního lékařství a veterinární činnosti v našich zemích. Acta Vet. (Brno), Sb 54, 83–102.
- KŘEČEK, J. (1955): Babákovy práce o fyziologii vyvíjejícího se organismu. Českoslov. Fysiol., 4, 253–259.
- KŘEČEK, J. (1971): The theory of critical development periods and postnatal development of endocrine functions. In: The biopsychology of development. New York, s. 233–248.
- KŘEČEK, J. (1973): O kritických vývojových obdobích. Českoslov. Fysiol., 22, 505–520.
- KŘEČEK, J. – KOLDOVSKÝ, O. (1995): Traditions of Czech and Slovak developmental physiology. Physiol. Res., 44, 339–340.
- LAUFBERGER, V. (1926): Ontogenetický vývoj funkce v pracích Babákových. Biol. Listy, 12, 175–182.
- LAUFBERGER, V. (1954): Adaptace a reakce. Českoslov. Fysiol., 3, 339–343.
- LAUFBERGER, V. (1960): Malá tajemství života. Praha, 143 s.
- LITSCH, K. (1985): Začátky zvěrolékařské výuky na pražské universitě. 200 let výuky veterinárního lékařství a veterinární činnosti v našich zemích. Acta Vet. (Brno), Sb 54, 67–82.
- MATOUŠEK, M. (1960): Fysiolog František Mareš a jeho idealistická filosofie. Acta Universitatis Palackianae Olomouensis, Suppl. VII, Praha, 126 s.
- NOVOTNÝ, E. – BÖHM, R. (1968a): Snahy o zřízení Vysoké školy zvěrolékařské v českých zemích. In: 50 let vysokého učení veterinárního v Brně. Brno, s. 24–26.
- NOVOTNÝ, E. – BÖHM, R. (1968b): Výuka zvěrolékařských disciplín v rakouských zemích od r. 1784. In: 50 let vysokého učení veterinárního v Brně. Brno, s. 30–36.
- NOVOTNÝ, E. – BÖHM, R. (1968c): Události z konce války 1918. In: 50 let vysokého učení veterinárního v Brně. Brno, s. 37–38.
- NOVOTNÝ, E. – BÖHM, R. (1968d): Zřízení Vysoké školy zvěrolékařské v Brně. In: 50 let vysokého učení veterinárního v Brně. Brno, s. 39–44.
- NOVOTNÝ, E. – BÖHM, R. (1968e): Vysoká škola zvěrolékařská v období let 1919–1939. Studijní a zkušební řady a jejich reformy. In: 50 let vysokého učení veterinárního v Brně. Brno, s. 45–62.
- SKLÁDAL, J. (1973): Nedožité narozeniny profesora Edwarda Babáka. Českoslov. Fysiol., 22, 521–524.
- SLAVĚTINSKÝ, M. (1972): Přednášky ze zvěrolékařství. Acta Vet. (Brno), 41, 226–229.
- TAUFER, F. (1902): O III. sjezdu českých přírodovědců a lékařů. Čas. Čes. Zvěrolék., 7, 141–142.
- VRTIŠ, V. (1974): Počátky dalšího profesního vzdělávání českých a československých veterinárních lékařů (od konce XIX. století do r. 1945). Hradec Králové, 126 s.

Antonín Holub, Koliště 9, 602 00 Brno

**OIE MANUAL OF STANDARDS FOR DIAGNOSTIC TESTS
AND VACCINES**

Paris, OIE 1996. 3.vydání. ISBN92-9044-423-1, 723 + XXXII stran.

V úvodní části příručky OIE jsou stručně, ale velmi přesně uvedeny důležité přehledy mezinárodně požadovaných vyšetření pro udělení veterinárního souhlasu k přesunům zvířat, vysvětlení nejdůležitějších termínů, popis metod, používaných k odběru vzorků biologického materiálu k vyšetření, zásady dobré laboratorní praxe, kontroly kvality a záruky kvality. Další kapitoly popisují principy ověřování metod pro diagnostiku infekčních onemocnění, testy sterility a kontaminace biologického materiálu, zásady ochrany zdraví lidí, pracujících ve veterinárních mikrobiologických laboratořích, principy výroby veterinárních vakcín a biotechnologických metod v diagnostice infekčních onemocnění a při výrobě vakcín. Každá z 92 kapitol, věnovaných všem

onemocněním podle seznamu A a seznamu B i některým onemocněním nezařazeným, uvádí standardní metody jejich diagnostiky, stručný přehled dostupných vyšetření a používaných vakcín, postup při průkazu původce, sérologická vyšetření, požadavky na vakcíny a diagnostické biopreparáty a citace nejdůležitějších publikací. Příručku doplňuje seznam všech referenčních laboratoří OIE, uspořádaný podle jednotlivých onemocnění, seznam center, spolupracujících s OIE, a rejstřík onemocnění, zahrnutých do příručky.

Příručku lze objednat (pouze v anglické verzi) v Office International des Epizooties, 12, Rue de Prony, 75017 Paris, France. Cena FRF 800/ USD 160 a poštovné.

Karel Hruška

THIRD MEETING OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR CHLAMYDIA RESEARCH

ÚČAST VETERINÁŘŮ NA SETKÁNÍ EVROPSKÝCH CHLAMYDIOLOGŮ

Již třetí setkání Evropské společnosti pro výzkum chlamydií (Videň, 11. až 14. září 1996) se stalo reprezentativním fórem pro diskusi o současném vývoji na poli chlamydiových infekcí. Významně byla také zastoupena skupina veterinárních odborníků.

P. Timms a kol. (Austrálie) se věnovali ve svém příspěvku Phylogenetic diversity of chlamydial strains (*C. pecorum* and *C. pneumoniae*) infecting koalas chlamydiové infekci vážně ohrožující přežití medvídků koala v Austrálii. Infekce má klinickou podobu konjunktivitidy, postihuje urogenitální aparát a způsobuje infertilitu. Chlamydie izolované z těchto procesů byly dříve označovány jako *C. psittaci* s dalším subčleněním na typ I a II. V letech 1993 a 1994 se prokázalo, že typ I je úzce příbuzný lidskému kmenu *C. pneumoniae*. Autoři se proto rozhodli pro určení DNA sekvencí z co největšího počtu chlamydiových izolátů z medvídků koala. Zjistili, že tyto kmeny jsou geneticky různorodé a že by měly být reklasifikovány buď jako koala *C. pecorum*, nebo koala *C. pneumoniae*, nikoliv však *C. psittaci*. Určení koala *C. pecorum* vyvolává domněnku, že koaly byly infikovány pravděpodobně z ovčích nebo bovinních zdrojů, nikoliv z avinních, jak se dosud soudilo. Genetická různorodost kmenů může také vysvětlovat některé klinické a imunologické odlišnosti onemocnění.

Tyto výsledky potvrzují další australské autoři (J. L. Martin a G. F. Cross: Chlamydial infection in selected koala populations in Victoria, Australia), kteří analyzovali větší počet chlamydiových kmenů z koal polymerázovou řetězovou reakci (PCR) a enzymovou restrikci (RE). Zjistili rozdíly mezi izoláty z různých populací koal, které také neodpovídají kritériím pro *C. psittaci*.

Příspěvkem k otázce účinné vakcinace proti chlamydiové nákaze je sdělení belgických autorů D. Vanrompaye a kol.: *Chlamydia psittaci* infections in European turkeys: construction on an avian serovar A and D DNA vaccine.

Účast *C. psittaci* v respiračním onemocnění krocenů je stále kontroverzním problémem, dokonce účast této bakterie je i vylučována. Autoři se pokusili o zjištění, zda-li *C. psittaci* má nebo nemá signifikantní etiologický význam v respiračním onemocnění evropských krocenů. V roce 1992 byla *C. psittaci* izolována jako jediný patogen ze závažných respiračních procesů velkého počtu kroceních brojlerů. Dále byla rovněž zjištěna vysoká prevalence *C. psittaci* u krocenů v Belgii a v Německu. Sérotypizací byly tyto kmeny určeny jako sérovar A, B a D. Autoři popisují přípravu DNA vakciny ze sérovarů A a D.

Zajímavý způsob imunohistochemické diagnostiky chlamydiové infekce prasat prezentovali pracovníci univerzity v Zürichu a Alabamě (J. Schiller, B. Kaltenboeck a A. Pospischil: Detection of Chlamydial DNA in paraffin – embedded porcine tissue by PCR). Z osmi případů imunohistochemicky prokázané chlamydiové infekce fetálních prasečích orgánů (z celkového počtu 139) byla sedmkrát pozitivní PCR za použití rodově specifických primerů. Imunohistochemické vyšetření ve stěvě prokázalo chlamydie u 63 z 291 prasat. Většina těchto zvířat byla rovněž sérologicky pozitivní s *C. trachomatis*. PCR se species-specifickým primerem TRACH 269 byla pozitivní pouze částečně. Výsledky prokazují, že neobvyklé omp 1 alely *C. trachomatis* se u prasat vyskytují.

Otázku účasti *C. trachomatis* u stěvních chlamydióz prasat řešili experimentálně švýcarští autoři (F. Gussetti a kol.: Experimental infection of gnotobiotic piglets with porcine chlamydia: patterns of replication in the gut and of faecal excretion). Deset selat ve věku dva až tři dny bylo inokulováno suspenzí ze žloutkového vaku *C. trachomatis* S 45 a 18 selat inokulováno *C. pecorum* 1710S. Inokulovaná zvířata byla postupně od 2. do 13. dne po inokulaci sakrifikována a nekroptická tkáň tenkého a tlustého střeva imunohistochemicky vyšetřena na přítomnost chlamydiálního antigenu. Postupně byly vyšetřovány rovněž vzorky feces. Imunohistochemické vyšetření ukázalo, že infekce *C. trachomatis* S 45 je mnohem závažnější než infekce vyvolaná *C. pecorum* 1710S.

Příspěvkem k rychlé diagnostice respiračních infekcí způsobených *C. pneumoniae* a *C. psittaci* je práce amerických autorů (T. Messmer a kol.: Detection and discrimination of chlamydiae with a multiplex PCR and its application to a psittacosis outbreak).

Autoři vyvinuli PCR pro simultánní detekci různých druhů chlamydií v lidských a ptačích vzorcích. U lidí je nejvýznamnější respirační patogen *C. pneumoniae* a *C. psittaci*, i když *C. trachomatis* rovněž přichází v úvahu především u dětí. Autoři prokázali, že účast *C. psittaci* ve vzorcích humánního původu je daleko vyšší, než se předpokládalo. U ptačích vzorků naopak byla s pomocí PCR nebo kultivace prokázána výhradně *C. psittaci*.

Nový antigen vhodný k diferenciální diagnostickým účelům u enzootického abortu ovcí popisuje H. Kennedy se spolupracovníky: A novel antigen at 60 kDa of *C. psittaci* serotype 1 useful for the differential diagnosis of chlamydial abortion. Sérologická diferenci-

ce mezi *C. psittaci* a *C. pecorum* je závažným problémem kontrolního programu enzootického abortu ovcí. Autoři připravili monoklonální protilátky proti *C. psittaci* sérotyp 1 a vyzkoušeli jejich diferenciální potenci mezi *C. psittaci* a *C. pecorum* a vhodnost k diagnostickému využití v kompetitivní ELISA reakci.

Chlamydia psittaci a *C. pecorum* jsou velmi rozšířené patogeny, které mohou způsobovat inaparentní nebo manifestní infekce (aborty, polyarthritis, conjunctivitis, pneumonie) domácích nebo divoce žijících zvířat. Kmeny náležející k oběma druhům vykazují vysoký stupeň variability (při sérotypizaci s monoklonálními protilátkami a při analýze genomu). O této problematice pojednává práce S. Magnina a kol. z Itálie „Report on the isolation and typing of *Chlamydia psittaci* strains from ruminants and birds in Northern Italy“.

Cílem studie P. C. Griffithse a kol. z Velké Británie „Evaluation of a recombinant LPS ELISA for the serodiagnosis of ovine and bovine abortion caused by *Chlamydia psittaci*“ bylo zjištění, zda-li rekombinantní lipopolysacharidový ELISA test (medac), modifikovaný pro bovinní nebo ovinní séra, může být citlivým a specifickým screeningovým testem ovinního enzootického a epizootického bovinního zmetání. Pro srovnávací účely byl použit nepřímý inkluzní fluorescenční test. Podle autorů nelze ELISA reakcí rozlišit

infekce *C. psittaci* a *C. pecorum* ovcí a reakce nemůže ani predikovat chlamydiální abort. Naproti tomu je reakce vhodná pro primární screening bovinní chlamydiální infekce.

S. Appinot a kol. z Itálie se zabývají využitím PCR u chlamydiózy skotu („Diagnosis of Chlamydial infections in cattle by PCR“). Hovězí dobytek bývá infikován *C. psittaci*, která může být příčinou abortů nebo *C. pecorum*, často izolovanou ze zvířat s metritidou a hypofertilitou. Diagnóza se opírá o sérologické testy a o průkaz infekčního agens. Žádná z těchto metod nemůže diferenciovat uvedená dvě species. Naopak PCR popsaná autory umožňuje detekci a určení chlamydiového agens, včetně jeho korelace s klinickými příznaky.

Práce G. E. Jonesa a kol. ze Skotska „Studies on the operational site(s) of immunity in enzootic (chlamydial) abortion of ewes (EAE)“ je příspěvkem k imunologii chlamydióz. Bachyně, které prodělaly abort v důsledku infekce *C. psittaci*, nepotratí nikdy znovu po přirozené reinfekci stejným mikroorganismem. Mechanismus této imunity není znám. Autoři ve snaze přispět k objasnění této otázky infikovali subkutánně a intravenózně imunní a neimunní březí bachyně *C. psittaci*. Zjistili, že nejpodstatnější úlohu při eliminaci chlamydiové infekce imunních zvířat má lymfatický systém.

Prof. MUDr. MVDr. h.c. Leopold Pošpišil, DrSc.
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

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 kurzívy, glosy, dopisu redakci, diskusního příspěvku, kritiky zásadního článku apod., ale i zkušenosti z cest do zahraničí, z porad a konferencí.

Autoři 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 zřetel k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce. Redakce přijímá práce imprimitované vedoucím pracoviště nebo práce s prohlášením všech autorů, 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 měrových jednotek SI.

Rukopis má být napsán na papíře formátu 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 použitého programu. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

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

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 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 autory, jejichž práce mají k publikované práci bližší vztah). Je přípustné spojení v jednu kapitolu spolu s výsledky.

Literatura citovaná v textu práce se uvádí jménem autora a rokem vydání. Do seznamu se zařadí jen publikace citované v textu. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů.

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 autor plné jméno (i spoluautorů), 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 should be typed on standard paper (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.

References in the manuscript are given in form of citations of the author's name and year of publication. A list of references should contain publications cited in the manuscript only. References are listed alphabetically by the first author's name.

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 42, No. 5, May 1997

CONTENTS

Vilček Š.: Secondary structure of the 5'-noncoding region of border disease virus genome RNAs (in English)	125
Korimová L., Máté D., Turek P., Sokol J.: Determination of tetracyclines in bones, mechanically separated beef and bones by HPLC method and microbiological agar diffusion tests	129
Plachá I., Venglovský J., Lašanda V., Plachý P.: Survival of <i>Salmonella typhimurium</i> in the solid fraction from a pig farm waste water treatment plant	133
REVIEW ARTICLE	
Špakulová M., Čorba J., Várady M., Rajský D.: Bionomy, distribution and importance of giant liver fluke (<i>Fascioloides magna</i>), an important parasite of free-living ruminants	139
INFORMATION	
Holub A.: Prof. MUDr. et MVDr. h.c. Edward Babák	149
Pospišil L.: Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research	155
BOOK REVIEW	
Hruška K.: OIE: OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines	154

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Ročník 42, č. 5, Květen 1997

OBSAH

Vilček Š.: Sekundární struktura 5'-nekodující oblasti RNA genomu viru border choroby oviec	125
Korimová L., Máté D., Turek P., Sokol J.: Stanovení tetracyklinů v kostech, mechanicky separovaných kostech a máse metodou HPLC a mikrobiologickými platňovými metodami	129
Plachá I., Venglovský J., Lašanda V., Plachý P.: Prežívání <i>Salmonella typhimurium</i> v pevné frakci z poľnohospodárskej čistiarne odpadových vôd	133
PŘEHLED	
Špakulová M., Čorba J., Várady M., Rajský D.: Bionómia, výskyt a význam cicavce obrovskej (<i>Fascioloides magna</i>), závažného parazita voľne žijúcich prežúvavcov	139
INFORMACE	
Holub A.: Prof. MUDr. et MVDr. h.c. Edward Babák	149
Pospišil L.: Účast veterinářů na setkání evropských chlamydiologů	155
RECENZE	
Hruška K.: OIE: OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines	154

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 1997

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