

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH  
BUDĚJOVICÍCH  
Zemědělská fakulta  
Katedra rybářství a myslivosti**

**Studijní program: M4101 Zemědělské inženýrství**

**Studijní obor: Rybářství**

**Diplomová práce**

**Testování léčiv perspektivních pro využití v  
rybářské praxi**

Akademická knihovna JU



3291021214

**Vedoucí diplomové práce:** prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc.

**Odborný konzultant:** MVDr. Eliška Sudová

**Autor:** Pavel Scheiner

**2008**

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Pavel SCHEINER**

Studijní program: **M4101 Zemědělské inženýrství**

Studijní obor: **Rybářství**

Název tématu: **Testování léčiv perspektivních pro využití v rybářské praxi.**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Nedostatečná znalost přesného účinného množství terapeutik a jejich účinnosti na vodní organismy a prostředí, ve kterém se nacházejí, spolu s nízkou dostupností farmak (minimální množství registrovaných přípravků pro ryby v ČR) brzdí ozdravné programy v chovech ryb. Cílem diplomové práce je posouzení vlivu a toxicity praziquantelu na ryby a vodní prostředí a na podkladě provedených testů akutní toxicity vyhodnotit rizika spojená s aplikací tohoto antiparazitika.

V rámci práce budou provedeny testy akutní toxicity na rybách, dafniích a zelených sladkovodních řasách. Dále bude vyhodnocen vliv praziquantelu na vybrané hematologické a biochemické ukazatele (hematokrit, hemoglobin, počet erytrocytů a leukocytů a případně další parametry) medikovaných ryb.

Metodicky bude postupováno podle platných standardních operačních postupů, které byly zpracovány akreditovanou toxikologickou laboratoří VÚRH JU Vodňany. Tyto postupy vycházejí z norem OECD a ISO pro testy akutní toxicity na zástupcích vodních organismů. Hematologické vyšetřování bude prováděno dle jednotlivých hematologických metod. K biochemickým analýzám krevní plazmy bude využit analyzátor VETTEST 8008.

Rozsah práce: 40 stran  
Rozsah příloh: 3 grafy  
Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

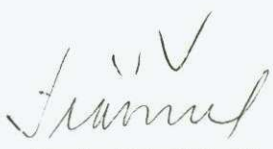
- KOLÁŘOVÁ, J, NEPEJCHALOVÁ, L 2006: Principles and possibilities of treatment in aquacultures in Czech Republic. Veterinářství 56: 31-34  
SVOBODOVÁ, Z, PALÁČKOVÁ, J, PRAVDA, D 1986: Jednotné metody hematologického vyšetřování ryb. Edice Metodik, VÚRH Vodňany, 36 s  
ZAPLETAL, O 1997: Obecná veterinární toxikologie. VFU Brno, 43s

Vedoucí diplomové práce: prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc.  
Katedra anatomie a fyziologie hospodářských zvířat  
Konzultant diplomové práce: MVDr. Eliška Sudová  
Datum zadání diplomové práce: 29. března 2006  
Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2008

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA  
studijní oddělení  
Studentská 13  
370 05 České Budějovice

L.S.

  
prof. Ing. Magdalena Hrabánková, CSc.  
děkanka

  
doc. Ing. Jan Trávníček, CSc.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 29. března 2006

Prohlašuji tímto, že jsem předloženou diplomovou prací vypracoval samostatně a použil jsem pramenů, které cituji a uvádím v seznamu literatury.

Dále prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce fakultou a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.



.....  
Pavel Scheiner

V Českých Budějovicích 25. dubna 2008

Děkuji prof. MVDr. Zdeňce Svobodové, DrSc. za metodické vedení při vypracování této diplomové práce.

Dále děkuji MVDr. Elišce Sudové za odbornou pomoc, poskytnuté rady a cenné připomínky.

Děkuji také celému kolektivu oddělení vodní toxikologie a nemocí ryb VÚRH JU se sídlem ve Vodňanech za pomoc a čas, který mi věnovali v průběhu této práce.

## SUMMARY

The aim of the study was to assess the effects of orally applied praziquantel on the treatment efficacy against most abundant tapeworms (*Atractolytocestus huronensis* Anthony, 1958 and *Khawia sinensis* Hsü, 1935) of common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus). Naturally infected fish (one-year-old; K<sub>1+</sub>) were divided into 3 trial groups containing 17 specimens and administered with praziquantel mixed in heat-treated amyloid vehicle (in doses of 50 mg.kg<sup>-1</sup> body weight). In 3 groups of control, the fish were administered amyloid vehicle only. Fish were examined by using of gut dissection 2, 4 and 6 days after administration. At 48 hours post-treatment, significantly lower prevalence of both parasites was found. The invasion of *A.huronensis* was fully eliminated in all fish after 96 hours whereas some specimens of *K.sinensis* still persisted in the gut of few fish. The full elimination of both parasites was observed 6 days after administration. Our results showed that elimination of *K. sinensis* takes longer than elimination of *A.huronensis*. The dose of 50 mg.kg<sup>-1</sup> of orally applied praziquantel is effectual to control *A.huronensis* and *K sinensis* infections in common carp successfully.

The effect of oral applied praziquantel on the hematology and biochemical parameters blood of common carp (*Cyprinus carpio* L.), infected by the tapeworms *Atractolytocestus huronensis* and *Khawia sinensis* was the object of analyse. It was the partial goal of the work. The infected fishes were divided to the six groups. The praziquantel was applied stirred in amyloid vehicle in dose 30 mg/kg of quick materiality for two groups and for two to other groups in dose 50mg/kg of quick materiality. Only clean amyloid vehiculum was applied to two control groups. Blood taking and resulting patoanatomic investigation was effected 24 and 96 hours after application of praziquantel.

Results of hematology investigation of blood obtained 24 hours after the application point on significant fall ( $p < 0,01$ ) of the number of erythrocytes, hemoglobin and hematocrit in both groups E1 and E3, which achieved the original surface after 96 hours. The significant upsurge ( $p < 0,05$ ) of the surface serum hepatic enzyme ALT was recorded after 96 hours.

**Keywords:** tapeworms, common carp (*Cyprinus carpio*), *Atractolytocestus huronensis*, *Khawia sinensis*, praziquantel.

# Obsah

1. ÚVOD .....	12
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	13
2.1. SPECIFIKA RYB .....	13
2.2. ANATOMIE TRÁVICÍ SOUSTAVY JAKO MÍSTO VÝSKYTU DOSPĚLÝCH TASEMNIC .....	13
2.2.1. <i>Stavba trávicího ústrojí</i> .....	14
2.3 FYZIOLOGIE TRÁVENÍ RYB .....	16
2.3.1. <i>Metabolismus dusíkatých látek</i> .....	17
2.3.2. <i>Metabolismus tuků</i> .....	19
2.3.3. <i>Metabolismus cukrů</i> .....	20
2.3.4. <i>Metabolismus vitaminů</i> .....	21
2.3.5. <i>Metabolismus minerálních látek</i> .....	23
2.4. PŘIROZENÁ POTRAVA A KRMENÍ RYB .....	24
2.5. CHARAKTERISTIKA TASEMNIC .....	25
2.5.1. <i>Morfologie</i> .....	26
2.5.2. <i>Vývoj</i> .....	28
2.5.3. <i>Khawia sinensis</i> .....	29
2.5.4. <i>Atractolytocestus huronensis</i> .....	32
2.6. PRAZIQUANTEL .....	33
2.7. TAENIFUGIN CARP .....	35
3. METODIKA .....	36
3.1. TESTOVÁNÍ ÚČINNOSTI ORÁLNĚ APLIKOVANÉHO PRAZIQUANTELU U KAPRA OBECNÉHO PŘIROZENĚ INFIKOVANÉHO TASEMNICEMI .....	36
3.2. EFEKT PERORÁLNĚ APLIKOVANÉHO PRAZIQUANTELU NA HEMATOLOGICKÉ A BIOCHEMICKÉ UKAZATELE KRVE KAPRA OBECNÉHO (CYPRINUS CARPIO L.) .....	36
4. VÝSLEDKY .....	39
4.1. TESTOVÁNÍ ÚČINNOSTI ORÁLNĚ APLIKOVANÉHO PRAZIQUANTELU U KAPRA OBECNÉHO PŘIROZENĚ INFIKOVANÉHO TASEMNICEMI .....	39
4.2. EFEKT PERORÁLNĚ APLIKOVANÉHO PRAZIQUANTELU NA HEMATOLOGICKÉ A BIOCHEMICKÉ UKAZATELE KRVE KAPRA OBECNÉHO (CYPRINUS CARPIO L.) .....	42

5. DISKUZE .....	45
6. ZÁVĚR .....	48
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	49
8. PŘÍLOHY .....	55



## 1. Úvod

Tasemnice (Cestoda) jsou ekonomicky významnou skupinou endoparazitů hospodářských ryb způsobujících oslabení jejich kondice a při rozsáhlejších invazích až úhyn. Cestodózy můžeme rozdělit do dvou skupin. První skupinu tvoří onemocnění ryb vyvolaná parazitismem vývojových stádií - ryba zde vystupuje v roli meziphostitele. Druhou, častější skupinu, pak představují onemocnění ryb vyvolaná parazitismem dospělců – ryba zde vystupuje jako definitivní hostitel (Čítek et al. 1998). U hospodářsky významných druhů ryb se nejčastěji setkáváme s tasemnicemi ve střevě – definitivním hostitelem je kapr (Navrátil et al., 2000). Závažným problémem terapie cestodóz je výskyt nových druhů tasemnic, u kterých není dostatečně známá přesná citlivost k používaným druhům endoparazitik.

K nejčastěji nacházeným druhům tasemnic u kaprů patří zástupci čeledi Caryophyllaeidae a Botriocephalidae. Jejich dospělci cizopasí v trávicím ústrojí ryb, kde vyvolávají mechanické poškození a zánětlivé změny střevní sliznice. Nejčastější cestodózou vyskytující se u kaprů je kavióza způsobená tasemnicí *Khawia sinensis*. Vyvolává ztráty především u plůdku, u ryb vyšších věkových kategorií je intenzita napadení tasemnicemi nižší a onemocnění se zjevně neprojevuje (Čítek et al. 1998). Do popředí zájmu nyní vstupuje tasemnice *Atractolytocestus huronensis*, která byla poprvé v Evropě nalezena u kaprů v Maďarsku (r. 2001) a byla již izolována i ze střev kaprů pocházejících z ČR (Majoros et al. 2003).

V současné době nejsou k dispozici žádné schválené a vyzkoušené léky proti tasemnicím hospodářských ryb. Přípravku Taenifugin carp v roce 2001 skončila registrace a v současné době ho již nelze používat.

Byly stanoveny dva cíle této práce. Prvním z nich je stanovení efektu praziquantelu na výše uvedené druhy tasemnic u kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Druhým cílem je vyhodnocení biochemických a hematologických ukazatelů a na základě výsledků určit ty, které nejcitlivěji odrážejí změny spojené s aplikací.

V teoretické části se věnuji vymezení pojmů, jako je fyziologie a anatomie kapra, popis vybraných druhů tasemnic a přípravku praziquantel.

Podkladem praktické části je výzkum v laboratorních podmínkách. Byly stanoveny dvě hypotézy, které jsou uvedeny v části Materiál a metodika.

## 2. Literární přehled

### 2.1. *Specifika ryb*

Ryby jsou nejpočetnější třídou obratlovců. Svými tělesnými tvary, vnitřním uspořádáním, způsobem rozmnožování a potravními nároky jsou plně přizpůsobeny trvalému životu pod vodou. Pro ryby je charakteristická značná variabilita v tělesné stavbě, což svědčí o jejich přizpůsobení různým životním podmínkám (Dubský et al. 2003).

Kostra ryb je pevná a pružná. Ve srovnání se suchozemskými obratlovci je relativně křehká. To je způsobeno trvalým životem ryb ve vodním prostředí, které vzhledem k vyšší hustotě rybí tělo nadlechčuje. Kostra ryb se skládá z kostry hlavy, trupu, ocasu a kostry ploutví (Baruš et al. 1995).

Sluchově rovnovážné ústrojí ryb má jednodušší stavbu než u vyšších obratlovců. Tvoří jej neúplné vnitřní ucho, střední a vnější ucho chybí.

Srdce ryb (cor) je uloženo v přední části tělní dutiny, těsně za zadním okrajem skřelových víček. Je chráněno kostmi lopatkového pásma a je poměrně malé. Jeho hmotnost je jen 0,4 % až 1 % hmotnosti těla, zatímco u savců je průměrná hmotnost 4,6 % hmotnosti savců. U ryb je srdce žilné to znamená, že do něj přitéká i odtéká odkysličená krev. Skládá se ze čtyřech částí: žilného splavu, předsíně, komory a tepenného násadce. Termoregulační funkci u ryb jako u poikilotermních organismů krev neplní. (Dubský et al. 2003)

### 2.2. *Anatomie trávicí soustavy jako místo výskytu dospělých tasemnic*

Trávicí soustava zajišťuje příjem potravy, její štěpení na látky jednodušší, vstřebávání a využití v organismu pro zajištění důležitých životních funkcí (růst, rozmnožování). Plní také funkci odsunu balastních látek z těla. Trávicí soustava ryb má poměrně jednoduchou stavbu. Tvoří ji ústa, hltan, jícen, žaludek, střevo a konečník. K trávicí soustavě patří játra a slinivka břišní (Baruš et al. 1995).

### 2.2.1. Stavba trávicího ústrojí

Trávicí ústrojí začíná ústy (rima oris). U nedravých jsou menší, masitá, bezzubá, někdy mohou být čelisti vysunovatelné. Jsou tvořena soustavou kostí prvního, čelistního oblouku. Pohyblivost zajišťují svaly úst a ústní dutiny. Ústa otevírají vstup do ústní dutiny (cavum oris). Její sliznice je kryta vícevrstevným epitelem. Obsahuje buňky pohárkovitého tvaru produkující sliz, který usnadňuje posun potravy. Chybí slinné žlázy. V ústech a jejich okolí je množství smyslových buněk, chuťových pohárků a hmatových buněk. Umožňují vyhledávání a ochutnávání potravy (Baruš et al. 1995).

Sliznice vytváří v oblasti horní a dolní čelisti kožní záhyby, které uzavírají ústa při výdechu (čelistní záklopky). Přijatá potrava se v ústech zbavuje přebytečné vody. Jazyk je vyvinut jen velmi málo. Tvoří jej záhyb na jazylce. Hltan (pharynx) spojuje ústní dutinu s jícnem. Je to prostor v žaberní dutině procházející mezi žaberními oblouky. Slouží k posunu potravy do jícnu. Proti poškození jsou vnitřní okraje žaberních oblouků chráněny kuželovitými výrůstky, žaberními tyčinkami. U ryb, které se živí drobnou potravou tvoří hustý filtrační aparát. Tyčinky jednotlivých oblouků do sebe zapadají. Potrava se přes ně cedí. V zadní části hltanu, před vstupem do jícnu, jsou u kaprovitých a sekavcovitých ryb požerákové kosti nesoucí požerákové zuby. Spolu s bulvou patrovou umožňují drcení potravy, lisování přebytečné vody a odstraňování nevhodných částic.

Jícen (oesophagus) je vstupem do vlastní trávicí trubice. Je krátký, široký, někdy široce roztažitelný. Sliznice je zřasená, krytá vícevrstevným epitelem. Obsahuje buňky produkující sliz. Stěnu jícnu tvoří hladké a příčně pruhované svalstvo. Za jícnem mají některé druhy rezervoár potravy, který se označuje žaludková rozšířenina střev (bulbus intestinalis). Anatomicky připomíná žaludek, ale funguje jako střevo. (Hofman et al. 1996)

Střevo (intestinum) se skládá z tenkého a tlustého střeva. Obě části lze u ryb oddělit jen obtížně. Je zavěšeno na peritoneálním vaku, který jej fixuje v normální poloze. Z hlediska funkce lze rozlišit přední (proximální), střední a zadní (distální) úseky střev. Proximální část zajišťuje vstřebávání tuků, střední bílkovin a distální část zajišťuje iontovou výměnu s krví a podílí se na osmoregulaci (Baruš et al. 1995).

Na začátku tenkého střeva, v oblasti vrátníku, mají některé ryby slepě končící tzv. pylorické přívěsky, které obsahují lipázu. Patrně zvětšují trávicí plochu. Zvětšení trávicí plochy střev způsobuje také tzv. spirální řasa u vývojově starších ryb. U

kostnatých ryb chybí. Stěna střeva obsahuje hladkou svalovinu, která zajišťuje pohyb potravy. Posunující se pohyby střev se nazývají peristaltické stahy. Jednovrstevný epitel stěny střeva plní vstřebávací funkci. Je bohatě prokrven a umožňuje příjem živin do krevního řečiště. Krev bohatou živinami z oblasti tenkého střeva sbírá a odvádí do jater vrátnicová žíla (tzv. vrátnicový krevní oběh). Sliznice tvoří četné řasy, často síťovitě uspořádané, čímž se zvětšuje resorpční plocha. Ve stěně střeva jsou slizotvorné buňky a žlázy produkující trávicí enzymy – enterokinázu, která aktivuje tripsinogen na trypsin, střevní lipázu a amylázu, u ryb bez žaludku maltázu, kolagenózu a chytinolytické enzymy. Na začátku střeva ústí do střev vývody slinivky břišní, společně se žlučovými vývody. Tím se do střev dostávají potřebné enzymy. Délka střev je různá. Obecně mají dravé ryby kratší střeva bez kliček nebo s jejich menším počtem. (Dubský et al. 2003)

Konečník u některých ryb není vyvinut, jindy je zřetelný. Sliznice je tvořena vícevrstevným epitelem, obsahuje více slizotvorných buněk a silnější vrstvu hladké svaloviny.

Řitní otvor (anus) se nachází před bází břišní ploutve na přechodu mezi trupem a ocasním násadcem. Slouží k vyměšování nestrávených zbytků. Inervaci trávicího ústrojí zajišťují větve autonomních nervů.

Játra (hepar) jsou největší žlázou trávicího ústrojí. Většinou se nachází u přední části trávicí trubice, za jícnem. U kaprovitých ryb se nalézají ve spodní části těla dutiny s kličkami střev. Jsou buď jednoduchá nebo rozdělená na dva a více laloků. Mikroskopická stavba jater ryb je jednodušší než u vyšších obratlovců. Jaterní lalůčky jsou nahrazeny prostorovou sítí buněčných skupin. Mezi buňkami probíhají žlučové kapiláry, které se spojují ve žlučovody a z jater vychází žlučový vývod. Játra jsou zásobena krví jaterní tepnou a vrátnicovou žílou. Z jater je krev odváděna přímo do žilného splavu srdce. Součástí jater je žlučový váček (vesica fellea). V něm se hromadí žluč, která je jednak odpadním produktem, jednak emulguje tuky při trávení a aktivuje enzym lipázu. Obsahuje žlučová barviva bilirubin a biliverdin. Žluč vzniká jako produkt rozkladu hemoglobinu červených krvinek. Žlučí se vylučují některé odpadní látky (močovina, železo, kyselina žlučová, toxiny). Velikost jater kolísá v průběhu roku. Zvětšená jsou obvykle na podzim a před třením jako důsledek hromadění rezervních látek (glykogenu a tuků). Naopak menší jsou na jaře a po výtěru. Játra jsou obvykle tmavočervené barvy, v zimním období mohou být žlutozelená jako následek hromadění žluči. Světlé zbarvení jater je příznakem ukládání rezervních tuků na podzim a v zimě.

Slinivka břišní (pankreas) působí jako žláza s vnější i vnitřní sekrecí. U vyšších ryb bývá rozptýlena zejména v játrech. Tento útvar je označován jako hepatopankreas. Vývod slinivky ústí do střeva těsně za vývodem žluči. Produkuje tzv. pankreatickou šťávu, která obsahuje trávicí enzymy. Jako žláza s vnitřní sekrecí tvoří v okrcích endokrinní tkáň, které jsou identické s Langerhansovými ostrůvky vyšších obratlovců, hormony inzulin a glukagon, které regulují hladinu cukru v krvi (Baruš et al. 1995).

### **2.3. Fyziologie trávení ryb**

Přeměna látek a energie v živém organismu se řídí zákonem o zachování a energie. Uvnitř organismu žádná hmota ani energie nevzniká ani nezániká pouze se přeměňuje z jedné formy do druhé. Přeměna látek tvoří jednotu protichůdných procesů anabolických a katabolických (Dubský et al. 2003).

Anabolické procesy (asimilace) představují přeměnu a osvojení látek přijímaných z prostředí za současné spotřeby energie. Výsledkem je přírůstek hmotnosti jedince. Katabolické procesy jsou pochody narušování živé hmoty (glykolýza, lipolýza, proteolýza). Při těchto dějích se látky v organismu štěpí na jednodušší a uvolněná energie se může využít při anabolických pochodech. V případě, že převažují anabolické procesy, organismus roste, přibývá na hmotnosti a vyvíjí se. Pokud převažují děje katabolické, dochází k úbytku hmotnosti. Tuto vzájemnou rovnováhu ovlivňuje řada faktorů, např. stáří, zdravotní stav, roční doba (Dubský et al. 2003).

Látková přeměna má tři fáze:

- přivádění látek do organismu
- příjem
- zpracování a využití látek uvnitř organismu a vylučování odpadních látek

Trávení jako fyziologický proces má tři fáze:

- vlastní trávení
- vstřebávání
- zažívání

Vlastní trávení představuje příjem látek, jejich rozmělnování a enzymatické štěpení na substance jednoduché stavby. Při vstřebávání přestupují rozštěpené látky přes

prokrvenou stěvnou do krevního řečiště. Zažívání je využití těchto látek v organismu. Při této fázi hrají hlavní roli játra.

Složky potravy a jejich trávení

Přijatou potravu tvoří tyto složky:

- dusíkaté látky: bílkoviny a dusíkaté látky nebílkovinné
- bezdusíkaté látky: cukry (glycidy) a tuky (lipidy)
- minerální látky
- vitaminy
- voda

### **2.3.1. Metabolismus dusíkatých látek**

Dusíkaté látky se dělí na bílkoviny a dusíkaté látky nebílkovinné. Bílkoviny (proteiny) plní nejdůležitější funkci. Jsou základní složkou protoplazmy. Jsou základem všech orgánů a tkání, enzymů i některých hormonů. Tvoří ochranné látky nezbytné pro organismus. Bílkoviny jsou složité makromolekuly, jejichž základním stavebním prvkem jsou aminokyseliny (AMK).

Dělí se na dvě skupiny:

- Nepostradatelné (esenciální) AMK si organismus ryby nemůže sám syntetizovat. Musí je přijmout v potravě. Je jich 10 a jsou to: arginin, fenylalanin, histidin, izoleucin, leucin, lyzin, metionin, treonin, tryptofan, valin.
- Postradatelné (neesenciální) AMK si dokáže organismus vyrobit. Dlouhodobě však nemohou v potravě zcela chybět. Je jich popisováno až 15, např. alanin, glycin, cystein, kyselina asparagová, glutamová (Dubský et al. 2003).

Z hlediska výživy se rozlišují plnohodnotné bílkoviny, které obsahují všechny esenciální AMK. Neplnohodnotné bílkoviny neobsahují všechny esenciální AMK. Plnohodnotné jsou zpravidla bílkoviny živočišného původu neplnohodnotné bílkoviny obsahují krmiva rostlinného původu. Dusíkaté látky nebílkovinné jsou např. aminy, amidy, nukleové kyseliny: glykosidy, alkaloidy apod. Z toho např. amidy mají značný nutriční význam (jsou zdrojem řady AMK). Naproti tomu glykosidy a alkaloidy mohou způsobovat dietetické potíže. Z hlediska výživy hrají nejdůležitější roli bílkoviny. Trávení bílkovin je odlišné u ryb se žaludkem a bez žaludku. U dravých ryb probíhá v



žaludku pepsinem, který je aktivován kyselým prostředím (HCl). Ve střevech pokračuje dalšími proteázami, zejména trypsinem, který dosahuje nejvyšší aktivity při neutrální až slabě zásadité reakci. U dravých ryb se také uplatňuje kolagenáza. U ryb bez žaludku se na trávení nepodílí enzym pepsin. Trávení bílkovin probíhá u obou skupin spíše v přední části střev. V zadní části střev se může uplatnit také příjem i větších bílkovinných makromolekul pinocytózou. Významnou měrou se u ryb při trávení bílkovin účastní enzymy přijaté v přirozené potravě (autolytické enzymy), a to zejména u ryb bez žaludku a u raných vývojových stadií, kdy ještě nejsou plně vyvinuty vlastní proteázové enzymové systémy. Stravitelnost bílkovin dosahuje u ryb 80 až 95%.

V důsledku enzymatického štěpení jsou složité makromolekuly bílkovin rozštěpeny až na jednoduché látky (AMK). Ty jsou vstřebány epitelem střevní sliznice do krevního oběhu. Využity jsou především při tvorbě nových tkání (proteosyntéza). Hlavní význam bílkovin je tedy jejich stavební funkce. Bílkoviny jsou také využívány jako zdroj energie při dlouhodobějším hladovění (koncem zimy, při sádkování, při třecích migracích). U ryb jsou bílkoviny využívány jako zdroj energie ve větší míře, než je tomu u suchozemských obratlovců. Výsledkem toho je snížení nespecifické odolnosti a úbytek tělesné hmotnosti (vylehčení). Toto vylehčení činí při komorování plůdku kapra 10 až 15 (30)%, při komorování násady kapra 6 až 7 (10)% tělesné hmotnosti (Dubský et al. 2003).

Kondiční a výživný stav ryb vyjadřuje obsah celkových bílkovin v krevní plazmě (TP). U kapra se pohybuje v rozmezí 20 až 40 g.l<sup>-1</sup>. Nejvyšší bývá na podzim, nejnižší na jaře (Dubský et al. 2003).

Konečným produktem bílkovinného metabolismu je u kostnatých ryb čpavek (90%) a močovina (10%), u chrupavčitých ryb močovina. Čpavek je vylučován žaberním aparátem, močovina močí. Koncentrace čpavku v krevní plazmě velmi kolísá, pohybuje se v rozmezí 100 až 800 μmol.l<sup>-1</sup>. V zimním období je nejnižší, ve vegetačním období dosahuje nejvyšších hodnot.

Koncentrace čpavku v krevní plazmě může překročit fyziologické meze a být příčinou autointoxikace ryb čpavkem, tedy otravy způsobené odpadním produktem vlastní látkové přeměny spojené s následným úhynem. Autointoxikace čpavkem hrozí zejména při zvýšeném obsahu amonných iontů v okolním prostředí. Takové situace mohou nastat např. po nakrmení a náhlém poklesu teploty nebo obsahu kyslíku ve vodě. Ryby nejsou schopny vylučovat čpavek proti koncentračnímu spádu. Ten se hromadí v

jejich organismu a je příčinou otravy.

### 2.3.2. *Metabolismus tuků*

Tuky (lipidy) jsou v potravě obsaženy především v podobě triglyceridů (neutrální tuky), dále jako fosfolipidy a estery cholesterolu. Neutrální tuky jsou emulgovány žlučí a štěpeny enzymem lipázou na monoglyceridy a z části až na glycerol a vyšší mastné kyseliny. Lipáza je obsažena v pankreatické šťávě a částečně je produkována střevní sliznicí. Optimální pro působení lipázy je pH 8,4 až 8,7. Trávení tuků u ryb probíhá hlavně v přední části střev. Je poměrně pomalé, fáze vstřebávání trvá déle než 10 hodin. Stravitelnost tuků je u ryb vysoká, může být až 90%. Také stravitelnost tuků kladně ovlivňují autolytické enzymy obsažené v přirozené potravě. Po vstřebání slouží tuky jako důležitý zdroj energie, která se uvolňuje jejich štěpením (lipolýza).

Významný je také přísun vitaminů rozpustných v tucích (A, D, E, K) a nenasycených mastných kyselin do organismu. Množství energie uvolněné štěpením tuků je 2,3 krát větší než při štěpení cukrů nebo bílkovin. Ve tkáních se tuky uplatňují jako tuky funkční, využité jako zdroj energie a tuky zásobní, sloužící jako rezervoár energie. Zásobní tuk (také depotní) je u ryb ukládán v játrech, ve svalovině, v podkoží, v tělní dutině (tzv. vnitřnostní tuk). Tuky se do zásob ukládají ve zvýšené míře na podzim v důsledku poklesu teploty vody a snižování intenzity slunečního záření. Jako zdroj energie slouží hlavně v zimě a na jaře. Obsah celkových lipidů v krevní plazmě se pohybuje v rozmezí 2 až 8 g.l<sup>-1</sup>. Obsah tuků ve svalovině ryb je druhově různý. U dravých ryb je do 1%, u kapra je 2 až 3 %, u tolstolobika 5 až 10%, u úhoře dosahuje 25 až 30% (Dubský et al. 2003).

Některé mastné kyseliny si živočišný organismus nedokáže syntetizovat a musí být obsaženy v přijaté potravě. Mezi tyto esenciální mastné kyseliny patří kyselina linolová, linolenová a arachidonová.

Složení rybího tuku se vyznačuje poměrně vysokým obsahem látek, které způsobují snižování obsahu chlesterolu a triglyceridů v krvi. Jde o kyselinu arachidonovou a eikosapentaenovou, které jsou substrátem pro vznik vysoce účinných eikosanoidů. To vysvětluje pozitivní vliv konzumace rybího masa jako prevence kardiovaskulárních chorob lidí. Nejhodnotnější je z tohoto pohledu tuk mořských ryb a tolstolobika bílého. (Dubský et al. 2003)



### 2.3.3. *Metabolismus cukrů*

Cukry (sacharidy) jsou v potravě přijímány jako:

- monosacharidy: glukóza, galaktóza, fruktóza aj.
- disacharidy: maltóza, sacharóza, laktóza
- polysacharidy: škrob, celulóza, hemicelulóza, pentosany aj.

Trávení probíhá ve střevech pomocí enzymu amylázy, která je tvořena slinivkou břišní a v distální části také stěnou střevní sliznice.

U kapra obecného a herbivorních ryb se uplatňuje také enzym maltáza. U některých druhů ryb (insektivní, omnivorní) je schopnost trávit chitin zajištěna chitinolytickými enzymy produkovanými v žaludku, u ryb bez žaludku střevní sliznicí. V procesu trávení cukrů se opět významně účastní enzymy z přirozené potravy (zejména nitěnek). U ryb je uváděna poměrně velmi špatná schopnost trávit celulózu, a to z důvodů malé prostornosti zažívacího ústrojí a často nevhodných teplot při trávení (Dubský et al. 2003).

Trávení cukrů probíhá u ryb hlavně v zadní části střev. Stravitelnost klesá se stavbou cukru, u glukózy je až 99%, u složitějších cukrů může klesnout až na 40 %. Při trávení jsou cukry přijaté v potravě enzymaticky rozštěpeny až na monosacharidy (glukózu) a vstřebány sliznicí střeva do krve. Glukóza představuje pro organismus okamžitý zdroj energie. Proces štěpení glukózy při současném uvolňování energie se nazývá glykolýza.

Při nadměrném přísunu sacharidů potravou je v játrech syntetizován zásobní polysacharid glykogen. Je ukládán v játrech a hepatopankreatu ve formě glykogenových rezerv (glykogen tvoří 4 až 19% jaterní tkáně). Částečně je obsažen také ve svalovině (0,4 až 2%). Obsah glykogenu v játrech se na podzim zvyšuje. V počátku jarního období, když se ryby zvedají z loží, je využíván jako zdroj energie a jeho množství v játrech klesá. Podobně se obsah glykogenu zvyšuje před výtěrem a klesá po výtěru (Dubský et al. 2003).

Metabolismus sacharidů je řízen neurohormonálně prostřednictvím hormonů inzulínu, glukagonu, adrenalinu a noradrenalinu. Koncentrace glukózy v krevní plazmě

se pohybuje v rozmezí 1,5 až 3 mmol.l<sup>-1</sup>. Závisí na obsahu kyslíku ve vodě a je významným ukazatelem působení stresových faktorů na ryby. V ranních hodinách, kdy klesá obsah kyslíku ve vodě, je obsah glukózy v krevní plazmě nejvyšší. V odpoledních hodinách, kdy obsah kyslíku díky probíhající fotosyntéze stoupá, se obsah glukózy v krevní plazmě snižuje. Tuto skutečnost lze vysvětlit tak, že při vyšším obsahu kyslíku je intenzita metabolismu vyšší a obsah glukózy tak v krvi klesá. Při stresu (výlov ryb, přeprava ryb, manipulace s rybami) se v důsledku nedostatku kyslíku a manipulace s rybami obsah glukózy v krevní plazmě zvyšuje až několikanásobně.

#### **2.3.4. Metabolismus vitaminů**

Vitaminy patří mezi biokatalyzátory. Jejich význam spočívá v tom, že jsou nezbytné pro průběh určitých reakcí v organismu. Nedostatek vitaminů ve výživě se projevuje zdravotními poruchami. Při hypovitaminóze (částečném deficitu vitaminů) se snižuje užitek, odolnost, schopnost reprodukce atd., ale neprojevují se příznaky onemocnění z nedostatku vitaminů. Avitaminóza (zásadní nedostatek vitaminů) se projevuje klinickými příznaky onemocnění způsobeného deficitem určitého vitaminu. Na nedostatek vitaminů jsou zvláště citlivé mladé organismy (raná stadia plůdku) a jedinci v období reprodukce. Potřeba vitaminů se zvyšuje při některých onemocněních. U vitaminů rozpustných v tucích se může projevit jejich hypervitaminóza, to jsou zdravotní poruchy z nadbytku vitaminů. Vitaminy B a C jsou při nadbytku z těla vyloučeny (Dubský et al. 2003).

Živočišné organismy si vitaminy nedokáží syntetizovat, s výjimkou vitaminu C. Jsou závislé na jejich přísunu potravou v podobě „hotových“ vitaminů nebo jejich provitaminů. Vitaminy jsou obsaženy v různých druzích potravy. Jsou obsaženy v přirozené potravě, krmivech rostlinného i živočišného původu, ve vitamínových doplňcích. V procesu trávení vitaminů nedochází v důsledku jejich jednodušší stavby k jejich enzymatickému štěpení.

Vitaminy se dělí do dvou skupin na vitaminy rozpustné v tucích (A, D, E, K) a rozpustné ve vodě (vitaminy řady B, vitamin C).

Vitamin A (axeroftol, retinol) má vliv na správný růst a vývoj (ovlivňuje metabolismus bílkovin, tuků i cukrů), stav epitelových buněk sliznic, je součástí zrakového pigmentu rhodopsinu. Nedostatek se projevuje zejména vývojovými

poruchami u plůdku, snížením odolnosti vůči nemocem, snížením rychlosti růstu, zvýšeným ukládáním tuku v játrech, záněty očí. Existuje v podobě pěti izomerů (Ar až As). Je obsažen v některých krmivech živočišného původu (rybí moučky). V krmivech rostlinného původu je obsažen ve formě provitaminů, z nichž nejvýznamnější je beta-karoten.

Vitamin D (kalciferol) ovlivňuje vstřebávání vápníku a fosforu v trávicím ústrojí, a tak má úzký vztah ke správnému vývoji kostí. Nedostatek se projevuje onemocněním křivici (rachitida), u dospělých řídnutím kostí (osteomalacie) způsobuje také nedokonalý vývin skřelových víček. Největší význam mají vitaminy D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub>, které se tvoří v podkoží ozářením provitaminů ultrafialovým zářením. Jsou obsaženy v živočišných tucích.

Vitamin E ( tokoferol) má antioxidační účinky, čímž zabraňuje vzniku toxických látek (peroxidů) a chrání nenasycené mastné kyseliny před oxidací. Má i řadu dalších funkcí - ovlivňuje propustnost buněčných membrán, vztah k syntéze tuků a fosfolipidů, účastní se tkáňového dýchání, má vztah k využití vitamínu A. Nedostatek způsobuje horší oplození jiker a u plůdku zejména pstruha duhového, ceroidní degeneraci jater. Je obsažen v semenech obilovin, obilných klíčcích, krmivech živočišného původu (játrech).

Vitamin K má vztah ke srážlivosti krve. Poruchy srážlivosti krve v důsledku avitaminózy K jsou u ryb vzácné. Vitamin K je obsažen v krmivech rostlinného původu, zejména v jejich zelených částech.

Mezi vitaminy rozpustné v tucích bývá řazena také skupina esenciálních mastných kyselin (kyselina linolová, linolenová, arachidonová) pod souhrnným označením vitamin F. Uplatňují se při metabolismu tuků, činnosti pohlavních žláz a žláz s vnitřní sekrecí, ovlivňují funkci žaludeční sliznice. Nedostatek se projevuje poruchami růstu, tukovou degenerací jater a ledvin. Kyselina linolová a linolenová jsou obsaženy v rostlinných tucích, kyselina arachidonová v živočišných tucích.

Vitaminy B tvoří celou řadu vitaminů. Uplatňují se při látkové přeměně a zajišťují plynulost metabolických procesů. Úzce souvisí s činností nadledvinek, štítné žlázy, pohlavních žláz a nervové soustavy. Při nedostatku se projevují poruchy růstu, činnosti nervové soustavy, stavu kůže, snížení odolnosti.

Vitaminy B jsou: vitamin B1 (tiamin, aneurin), vitamin B2 (riboflavin, laktoflavin), vitamin B6 (pyridoxin), vitamin B12 (kobalamin), vitamin PP (niacin), vitamin H

(biotin), cholin, kyselina pantotenová, listová, nikotinová. Jejich zdrojem jsou obiloviny, otruby, kvasnice, živočišná krmiva (rybí moučky, krev, mléko) a vnitřnosti.

Vitamin C (kyselina askorbová) se účastní na látkové přeměně bílkovin a cukrů. V konečném důsledku má vliv na obranyschopnost organismu. Nedostatek vyvolává nechutenství, zastavení růstu, krvácení do jater, střeva a ledvin. Ryby si jej, podobně jako většina živočichů, dokáží syntetizovat. Zdrojem jsou krmiva rostlinného původu.

Vitamin P (citrin) je směsí třech látek, vyskytuje se společně s vitaminem C a funkčně jej doplňuje. Má vliv na pružnost a propustnost krevních vlásečnic.

### **2.3.5. Metabolismus minerálních látek**

Minerální látky jsou v organismu přítomny v roztocích v podobě molekul a iontů nebo uloženy v kostech a zubech. Do organismu se dostávají v přijaté potravě, kůži a žaberním aparátém. Plní řadu důležitých funkcí. Při nedostatku některého prvku může dojít k závažným zdravotním poruchám. V případě nadbytku jsou z těla vyloučeny močí, výkaly, přes žaberní aparát, slizem a žlučí (Dubský et al. 2003).

Minerální látky se dělí na:

- biogenní prvky (makroelementy), u nichž je třeba jejich větší přísun do organismu (vápník, fosfor, síra, dusík, draslík, sodík, chlór, hořčík, uhlík, kyslík, vodík),
- stopové prvky (mikroelementy), u nichž je třeba jejich pravidelný přísun v malých, stopových koncentracích (železo, měď, zinek, mangan, kobalt, jód, fluór, selen aj.).

Význam některých důležitých minerálních látek:

Vápník a fosfor jsou důležité pro tvorbu kostí. Vápník se dále podílí na činnosti srdce, srážení krve, vedení nervových vzruchů. Pro ukládání vápníku v těle je důležitý vitamin D. Fosfor je dále důležitý pro svalovou činnost, podílí se na metabolismu jiných látek (např. glycidů), je součástí koenzymů a nukleových kyselin. Má vliv na činnost pohlavních žláz.

Síra je součástí aminokyselin, nukleových kyselin, bílkovin, některých vitamínů a hormonů. Nachází se ve všech typech tkání, zejména chrupavkách a kůži.

Draslík a sodík jsou obsaženy v podobě iontů v tělních tekutinách. Draslík

převažuje v buňkách, sodík v tkáňových tekutinách. Mezi oběma prvky existuje důležitá iontová rovnováha, jejíž narušení je pro organismus nebezpečné. Sodík se podílí na osmotickém tlaku krevní plazmy a tělních tekutin. Jeho nadbytek podobně jako draslíku, je nežádoucí.

Flór je v organismu hlavně ve sloučeninách s draslíkem a sodíkem. Důležitý je pro tvorbu kyseliny solné vylučované žaludeční sliznicí.

Hořčík je spolu s vápníkem součástí všech buněk a tkání. Má vliv na svalovou činnost, aktivuje řadu enzymů. Pravděpodobně reguluje hladinu vápníku v těle.

Ostatní biogenní prvky uhlík, dusík, kyslík a vodík, patří mezi základní stavební prvky organických látek. Kyslík je nezbytný pro dýchání. S vodíkem vytváří molekuly vody, která tvoří 60 až 70 % hmotnosti těl živočišných organismů.

Železo je součástí hemoglobinu, myoglobinu a některých enzymů.

Měď má vliv na tvorbu hemoglobinu, je součástí některých enzymů, aktivuje hormony předního laloku hypofýzy.

Zinek je v kostech, játrech, slinivce, pohlavních orgánech a jejich produktech. Zvyšuje aktivitu hormonů hypofýzy, pankreatu a pohlavních žláz.

Mangan má vliv na růst, tvorbu krve, pohlavní dospívání.

Kobalt je součástí vitamínu B<sub>12</sub>, účastní se při tvorbě červených krvinek, pozitivně ovlivňuje růst.

Jód je součástí hormonu štítné žlázy tyroxinu, ovlivňuje celkový metabolismus.

Fluór v podobě tzv. fluóroapatitů dodává pevnost kostře a zubům.

Selen zabraňuje vzniku svalové dystrofie (Dubský et al. 2003).

U některých prvků hrozí jejich předávkování, pokud jsou přítomny ve vodě nebo přijaty s potravou ve větším množství. Výsledkem mohou být otravy končící úhynem ryb. Nebezpečné jsou z tohoto pohledu zejména měď, zinek, železo, hliník, rtuť, aktivní chlór. Nebezpečí tzv. těžkých kovů (mangan, rtuť, olovo aj.) spočívá v tom, že se kumulují v organismech ve vyšších člancích potravních řetězců a mohou být i příčinou problémů při konzumaci rybiho masa.

## ***2.4. Přirozená potrava a krmení ryb***

V přirozených ekosystémech konzumují ryby přirozenou potravu. Jde o potravní zdroje, které se vytvářejí v povrchových vodách přirozeným vývojem. Ryby jsou

pouhou součástí potravního řetězce. Nedravé ryby patří mezi konzumenty I. a II. řádu. Živí se drobnými vodními bezobratlými (zoobentosem, zooplanktonem, hmyzem, měkkýši), méně rostlinnými zbytky a detritem. Mezi typické býložravce lze zařadit tolstolobika bílého, který se živí zejména fytoplanktonem. Vysoký podíl rostlinné potravy má také amur bílý, tolstolobik pestrý, perlín ostrobřichý, ostroretka stěhovavá aj. Dravé ryby (predátoři, konzumenti II. řádu) v dospělosti přijímají drobné potravní druhy ryb a získává tak již přímo v potravě bílkoviny tělu vlastní. Raná stadia většiny ryb přijímají při přechodu na vnější výživu jemný zooplankton, který hraje v této fázi vývoje velmi důležitou, často nenahraditelnou roli. Kvalita přijímané potravy se odráží ve stavbě a enzymatické výbavě trávicího ústrojí různých skupin ryb (Dubský et al. 2003).

Význam přirozené potravy spočívá v tom, že zcela postačuje k plnohodnotnému vývoji, růstu a rozmnožování ryb. Vyznačuje se vyváženým poměrem živin a vysokým obsahem bílkovin. Ten dosahuje u drobných vodních bezobratlých v sušině 55 až 70%, u fytoplanktonu 40 až 60%. Důležitá je přítomnost esenciálních aminokyselin a to, že při trávení se uplatňují enzymy přijaté v potravě, tzv. autolytické enzymy. Přirozená potrava tedy představuje pro ryby dobře stravitelný a plnohodnotný zdroj výživy.

## **2.5. Charakteristika Tasemnic**

Tasemnice jsou výhradně parazitickými plathelmintry, jejichž nejvýraznějším znakem je absence střeva a u většiny zástupců tzv. vyšších tasemnic (Eucestoda s výjimkou řádu Caryophyllidea) přítomnost strobily, tj. těla rozčleněného na články, z nichž každý obsahuje nejčastěji jeden, někdy i dva pohlavní komplexy. Dosud bylo popsáno kolem 4000 druhů, z nichž prakticky všechny cizopasí v zažívacím traktu obratlovců. Nejvyšší počet řádů se vyskytuje u vodních obratlovců (paryby a ryby), avšak druhově je zdaleka nejpočetnějším řád Cyclophyllidea, cizopasící především u ptáků a savců. Mezi tasemnicemi nalézáme řadu velmi důležitých cizopasníků člověka (*Taenia*, *Echinococcus*, *Hymenolepis*, *Diphyllobothrium*), ale také druhů veterinárně významných (např. *Moniezia*). Unikátní morfologie tasemnic v důsledku jejich extrémního přizpůsobení (např. absence trávicí trubice, strobilární růst, asexuální množení u některých druhů) dělá z tasemnic skupinu významnou také z hlediska studia biochemie, embryologie, fyziologie a molekulární biologie (Horák and Scholz 1998).

### 2.5.1. Morfologie

Nejcharakterističtějšími morfologickými rysy tasemnic jsou přítomnost hlavičky (skolexu) s přichycovacími orgány a strobily, tj. těla složeného z jednotlivých článků (proglotid), z nichž každý obsahuje jednu, vzácně dvě sady pohlavních orgánů. Přichycovací orgány jsou u většiny tasemnic dobře vyvinuté, neboť musí zabezpečit dostatečně pevné přichycení parazita ve střevě hostitele. Existuje velmi široké spektrum různých přichycovacích orgánů, které lze rozdělit na 5 základních typů.

U primitivních skupin (řády Caryophyllidea a Spathebothriidea) nebo u tasemnic, které žijí ve střevě definitivního hostitele velmi krátkou dobu (Ligula, Schistocephalus), jsou přichycovací orgány vyvinuty slabě a jsou tvořeny mělkými zářezy nebo rýhami. Vedle mechanického přichycení u těchto zástupců hraje významnou roli přichycení pomocí sekretů četných žlázek umístěných na skolexu.

Druhým typem, typickým pro tasemnice řádu Pseudophyllidea (štěrbínovky) je přítomnost přísavných rýh zvaných bothrie. Bothrie jsou párové a existuje široké spektrum typů od mělkých rýh po úzké, hluboké štěrbiny. Morfologicky podobné bothriím jsou přichycovací orgány zástupců řádů cizopasících u paryb, především Tetrphyllidea a Trypanorhyncha. Setkáváme se zde s tzv. bothridiemi, které mohou mít nejrůznější tvar od mělkých prohlubní po samostatné útvary listovitého tvaru opatřené četnými septy a přídatnými strukturami jako jsou svalnaté přísavky. Společným znakem bothridií je přítomnost dobře vyvinuté svaloviny a bazální membrány, která odděluje svalovinu bothridií od ostatní tkáně skolexu.

Čtvrtým typem, vyskytujícím se u výše zmíněného řádu Trypanorhyncha a u zástupců skupiny Haplobothriidea, jejichž systematické postavení je dosud nejasné, jsou čtyři zasunovatelné tentakule (chapidélka), opatřené četnými háčky.

Posledním typem, charakteristickým pro tasemnice řádu Proteocephalidea a především pro tzv. kruhovky, zástupce největšího řádu tasemnic, Cyclophyllidea, jsou přísavky. Přísavky jsou většinou čtyři a jsou umístěny na bocích skolexu. Někdy je přítomna pátá, apikálně umístěná přísavka, která je u zástupců řádu Cyclophyllidea nahrazena zasunovatelným chobotkem (rostellum), opatřeným většinou háčky různé velikosti, tvaru i počtu (Horák and Scholz 1998).

Strobila je u většiny tasemnic rozdělena na postupně dozrávající segmenty (proglotidy), které jsou buď kraspedotní (zadní okraje po stranách přesahují následující segment) nebo akraspedotní. Nejstarší proglotidy jsou na zadním konci těla, zatímco

nejmladší články se vyvíjejí v tzv. proliferační zóně (krčku) za hlavičkou. U některých tasemnic jsou gravidní články, tj. články s vajíčky, odškrcovány a odcházejí stolicí z hostitele ven; v tomto případě hovoříme o druzích apolytických. Pokud jsou vajíčka uvolňována z neoddělených segmentů, jedná se o tasemnice anapolytické. U tasemnic řádu Tetraphyllidea se setkáváme s články hyperapolytickými, které jsou uvolňovány z mateřského jedince jako pohlavně nedozrálé, tyto články postupně dozrávají a u některých se dokonce na předním konci vytvářejí různé trny a ostny s přichycovací funkcí; tyto segmenty tak představují autonomní jedince (Horák and Scholz 1998).

Povrch těla tasemnic je kryt tegumentem, svou stavbou obdobným tělnímu pokryvu ostatních neodermat. Výrazně se však liší přítomností mikrotrichů, tj. četných výběžků distální cytoplasmy (syncytiální vnější vrstvy), jejichž konce jsou elektrondenzní. Tvar mikrotrichů je velmi rozmanitý, od vláskovitých po čepelkovité, nesprávně považované za trny nebo háčky. Mikrotrichy se zásadní měrou podílejí na trávení, neboť výrazně zvětšují (až 30x) absorpční povrch tegumentu. Některé mikrotrichy, především na skolexu, však mají také fixační funkci. Vnější povrch tegumentu je pokryt glykokalyxem, který má schopnost vázat enzymy hostitele (kontaktní nebo membránové trávení). Tegument představuje rozhraní mezi helmintem a jeho hostitelem. Povrch tegumentu může vázat vysokomolekulární i nízkomolekulární látky jako hostitelské enzymy (např. amylázu), ionty jako aktivátory povrchových enzymů, hostitelské imunoglobuliny (Fc receptory) či antigeny hlavního histokompatibilního systému. Povrch tegumentu obsahuje i inhibitory trypsinu, chymotrypsinu a pepsinu, což umožňuje ochranu parazita před útokem hostitelských proteolytických enzymů.

Tegument je i místem příjmu živin. Obsahuje specifické systémy pro molekulární a iontový transport, a to především pro transport aminokyselin, hexóz, vitamínů, purinů, pyrimidinů, nukleotidů a lipidů (především mastných kyselin). Jedná se tedy především o transport nízkomolekulárních látek. Předpokládá se, že parazitární povrchové receptory a membránové přenašeče musejí být schopné kompetice s obdobnými strukturami hostitele. (Horák and Scholz 1998)

Pod tegumentem a vrstvou svaloviny (podélné, příčné a okružní) je parenchym, vyplňující vnitřní prostory mezi orgány. Jedná se o síťovitou strukturu, pravděpodobně syncytiální, tvořenou výběžky mesenchymových buněk. Intersticiální prostor je vyplněn parenchymovou tekutinou, často s bohatými rezervami ve formě glykogenu.

Základem nervového systému tasemnic jsou centrální složky (párové mozkové



ganglium v blízkosti skolexu spojené příčnou spojkou) a na ně navazující podélné svazky a periferní nervová vlákna. Vzhledem k absenci střeva u tasemnic probíhá příjem potravy a její trávení výhradně v tegumentu a liší se tak od ostatních skupin plathelminů (Horák and Scholz 1998).

Základem vylučovací soustavy je protonefridiální systém s plaménkovými buňkami. U většiny tasemnic jsou přítomny dva páry (někdy více) podélných exkretčních kanálů, z nichž ventrální je výrazně širší. Kanály procházejí jednotlivými články a vyúsťují na konci strobily.

S výjimkou dvou čeledí (Dioecocestidae, Dioecotaeniidae) jsou všechny tasemnice hermafrodity. Pohlavní soustava je velmi dobře vyvinutá a svou stavbou obdobná ostatním parazitickým plathelminům. Samčí pohlavní soustavu tvoří testes, vasa efferentia, vas deferens, vesicula seminalis a ductus ejaculatorius a cirrus v cirrovém vaku. Základem samičí soustavy je ovarium, z něho ústí oviduct, receptaculum seminis, žloutkové trsy (vitellaria), ootyp, kde se formují vajíčka, Mehlisovy žlázy, děloha (trubicovitá nebo vakovitá) a vagina, často vyúsťující společně s cirrovým vakem. Předpokládá se, že vagina tasemnic je homologická s vaginou monogeneí a Laurerovým kanálem u motolic (Horák and Scholz 1998).

### 2.5.2. Vývoj

S výjimkou tasemnice *Hymenolepis nana*, u které může (ale nemusí) proběhnout celý cyklus v jediném hostiteli a zástupců rodu *Archigetes* (Caryophyllidea), kteří jsou schopni dokončit celý cyklus v tělní dutině nitěnek, jsou vývoje tasemnic nepřímé. Cyklus většiny tasemnic probíhá s účastí jednoho mezihostitele (nejčastěji bezobratlý, u zástupců čeledi Taeniidae i obratlovec). Některé tasemnice (*Diphyllobothrium*) však mají mezihostitele dva (Horák and Scholz 1998).

Vajíčka tasemnic jsou většinou opatřena čtyřvrstevným obalem, u některých skupin (Pseudophyllidea) jsou vajíčka opatřena víčkem, podobně jako u většiny motolic. U všech tasemnic se ve vajíčku formuje larva, onkosféra, opatřená šesti embryonálními háčky (hexakant). U Pseudophyllidea se onkosféra vyvíjí jako volně pohyblivá larva opatřená ciliemi, tzv. koracidium. Onkosféra musí být pozřena mezihostitelem, v jeho střevě se uvolňuje z obalů vajíčka nebo ciliárního obalu (koracidium) a proniká do tělní dutiny, kde se vyvíjí v larvu (metacestod).

Terminologie larev je velmi komplikovaná a dosud nejednotná. Larvální stadia

v buchankách jsou nejčastěji nazývána procerkoid (Pseudophyllidea) nebo cysticerkoid (Cyclophyllidea - Hymenolepididae), stadia v obratlovcích cysticerkus, hydatida, alveokok nebo strobilocerkus (Taeniidae) nebo tetrathyridium (Mesocestoides). Larvální stadia zástupců Trypanorhyncha se nazývají plerocerkus, 2. larvální stadium u Pseudophyllidea (např. *Diphyllobothrium* nebo *Ligula*) plerocerkoid. Definitivní hostitel se nakazí pozřením mezihostitele, případně paratenického hostitele, kterými mohou být jak bezobratlí, tak obratlovci. Paratenický (rezervoárový) hostitel je organismus, jenž stojí mimo vývojový cyklus parazita. Parazit se v tomto hostiteli nijak nevyvíjí a v podstatě čeká na to, až se dostane do definitivního hostitele. Paratenický hostitel usnadňuje parazitu přenos do definitivního hostitele a nebo chrání parazita před nepříznivým prostředím (Horák, Scholz 1998).

### 2.5.3. *Khawia sinensis*

Tasemnici *Khawia sinensis* u kapra (*Cyprinus carpio*) z okolí Pekingu popsal poprvé Hsü roku 1935. Současně popsal i rod *Khawia*. Šíření této tasemnice začalo dovozy amurských kaprů z Dálného východu do evropské části SSSR, od té doby pokračuje její rychlé šíření na západ. V řece Amuru parazituje *K. sinensis* v kaprech, amurských sazanech (*Cyprinus carpio haematopterus*) a v bílých a černých amurech. První nálezy *K. sinensis* v Evropě popsaly Kulakovska a Krotas (1961), a to v rybářských závodech v západní Ukrajině a v Lotyšské, Litevské a Běloruské SSSR. Od té doby se *K. sinensis* objevila i v celé řadě dalších evropských zemí. Ve všech případech je její první výskyt uváděn v souvislosti s importy ryb. První zpráva o nálezu *K. sinensis* na našem území pochází z 70. let (Přibyslavský et al. 1965), kdy byla *K. sinensis* zachycena ve střevě kapra z Kníničské přehrady. Autoři se domnívají, že tasemnice *K. sinensis* je autochtonní v povodí Dunaje. Tuto domněnku potvrzuje to, že do té doby nebyli do Československa importováni žádní kapři z bývalé SSSR ani z Dálného východu. Muralová a Molnár (1975) však ve své podrobné studii tasemnic *Caryophyllaeus fimbriceps* a *Khawia sinensis* uvádějí, že tento exemplář z Kníničské přehrady se v některých morfologických detailech lišil od tasemnice *K. sinensis* a šlo tedy pravděpodobně o jiný druh, nikoli o *K. sinensis*.

První nálezy této tasemnice v rybníčních chovech kaprů v ČSSR pocházejí z roku 1976, kdy v Severomoravském kraji byla diagnostikována *K. sinensis* v poměrně vysokých intenzitách i extenzitách (Tesarčík and Prouza 1977) u kapří násady ze

soustavy rybníků Českého rybářského svazu v Karviné.

*K. sinensis* je poměrně velká tasemnice z řádu Caryophyllidea a čeledi Lytocestinae, která v pohlavní dospělosti dosahuje velikosti kolem 15 cm i více. Jako všechny tasemnice z řádu Caryophyllidea má i *K. sinensis* nečláňkované tělo s jedním pohlavním komplexem. Barva těla je porcelánově bílá. Šířka těla je nejvyšší v oblasti genitálního komplexu, kde se tělo rozšiřuje a dosahuje zde šířky až kolem 3 mm. Mohutný skolex je vějířovitě rozšířený s velmi dobře patrnými velkými laloky a je oddělen výrazným krčkem. Celkovým vzhledem se tedy *K. sinensis* podobá tasemnici *C. fimbriceps*, od které se liší určitými znaky:

- *C. fimbriceps* nikdy nedosahuje takové velikosti jako *Khawia*.
- Pohlavně zralí jedinci *C. fimbriceps* obvykle dosahují délky kolem 30 mm a maximální šířky 1,5 mm. Při nálezů nečláňkovaných tasemnic o velikosti kolem 4 cm a větších ve střevě kapra je vždy nutno vyslovit podezření na *K. sinensis*.
- *C. fimbriceps* nikdy nemá tak výrazně rozšířený skolex a vějířovité zářezy bývají podstatně menší.
- Diferenciálně diagnosticky je významná zvláště stavba přední části těla, kdy žlutkové folikuly a testes začínají u *K. sinensis* 3 – 4 mm, v našem materiálu však až 8 mm za skolexem, na rozdíl od *C. fimbriceps*, kde je jejich přední hranice bezprostředně za skolexem.
- Rozdíly najdeme i v uložení žlutkových folikulů v oblasti genitálního komplexu, neboť u *K. sinensis* jsou v oblasti od cirrhového váčku až k zadním rohům ovaria pouze jednotlivá vitellaria, kdežto u *C. fimbriceps* vytvářejí po stranách těla v této oblasti výrazný pás.
- Tasemnice *K. sinensis* je ve střevě lokalizována v naprosté většině případů v oblasti první střevní kličky. Na jiných místech střeva se nachází jen ojediněle, a to zejména pouze juvenilní kusy. Velmi typický je způsob fixace ve střevě, kdy jsou tasemnice přichyceny ve shlucích, na malé poše střevní sliznice. Ojediněle bylo nacházeno shluků několik, a to vždy jen při vysokých invazích.

## Biologie

Vývojový cyklus je obdobný jako u ostatních zástupců řádu Caryophyllidea, to znamená, že ve vývojovém cyklu je pouze jeden mezipřítel, a to vodní Oligochaeta.

Jako mezihostitelé jsou doposud známi *Tubifex tubifex*, *Limnodrilus hoffmeisteri*, *L. udekemianus* a *Ilyodrilus hammoniensis*, z nichž zejména rody *Tubifex* a *Limnodrilus* jsou v našem rybničním hospodářství velmi hojnou a běžnou složkou bentosu. Vajíčko tasemnice se vyvíjí ve vnějším prostředí a vývoj onkosféry trvá asi 40 dní. Zcela vyvinutá onkosféra zůstává živá ve vajíčku asi 3 měsíce. Stadium volně plovoucího koracidia zcela chybí.

Bylo prokázáno, že vývoj onkosféry ve vajíčku nemusí probíhat pouze ve vnějším prostředí, ale také v zažívacím traktu mezihostitele (Kulakovskaja 1962). Po pozření zralého vajíčka mezihostitelem se ve střevě *Oligochaeta* uvolňuje onkosféra z vaječných obalů a proniká stěnou střevní do dutiny tělní. Další vývoj probíhá obvykle v přední části těla mezihostitele v oblasti pohlavních segmentů. Vývoj procerkoidu probíhá pouze do vytvoření cerkomeru a trvá asi 2 – 3 měsíce, kdy invazní zárodek dosahuje velikosti cca 2 mm. Na rozdíl od procerkoidu *C. fimbriceps* nemá *K. sinensis* vytvořeny ani základy pohlavních orgánů. Jejich vývoj probíhá až v definitivním hostiteli po pozření invadovaného mezihostitele, kde dokončuje svůj vývoj do pohlavní zralosti během 4- 6 měsíců. Doba života dospělých červů, kteří přezimovali, je 6,5 až 7,5 měsíce. Přezimovat může *K. sinensis* jak v mezihostiteli, tak i v hostiteli definitivním. Celý vývojový cyklus trvá v závislosti na teplotě 6- 12 měsíců.

Je znám i výrazný antagonismus mezi *K. sinensis* a *C. fimbriceps*. nemohou totiž parazitovat společně, a to nejen v téže rybě, ale dokonce ani na téže lokalitě. Bylo již několikrát potvrzeno, že agresivní *K. sinensis* postupně vytěsňuje tasemnici *C. fimbriceps* parazitující ve střevech kapra, takže v takové lokalitě *C. fimbriceps* mizí během 2-3 let.

Obecně platí, že hostitel, parazit a prostředí tvoří rovnovážný systém, ve kterém je parazit závislý na svém hostiteli, ať již permanentně nebo jen temporárně. Narušení tohoto systému může vést jak k eliminaci parazitů na jedné straně, tak i ke vzniku onemocnění na straně druhé. Patogenita je proto výrazná zejména u oslabených obsádek. Masivní invaze tasemnic vede ke zúžení zažívacího traktu, zejména u mladých ryb. Často bylo pozorováno úplné ucpání lumenu střeva, které u mladších věkových kategorií končí smrtí (Ščerban 1965). V místě fixace, díky již výše popsané kumulaci mnoha jedinců na malou plochu sliznice, dochází k těžkému poškození sliznice střeva s rozsáhlými krváčeninami a zánětlivými změnami v okolí místa uchycení. Tasemnice žije ve střevě přichycená v hlubších vrstvách mukózy, do submukózy neproniká, přestože v místě fixace dochází k jejímu výraznému zesílení a k fibrotickým změnám.

O důsledcích, které s sebou přináší přítomnost endoparazitů, víme dosud poměrně málo a případné souvislosti jsou mnohdy nejasné. Navíc většina znalostí z fyziologie parazitů byla získána na parazitech teplokrevných živočichů. Velmi často se hovoří o zmenšení tempa růstu a nižší váze ryb napadených tesemnicemi jako důsledek odnímání živin. Tasemnice, jako fakultativní anaerobové vytvářejí z odebraných uhlohydrátů energeticky dosti bohaté organické kyseliny, které mohou být ale ještě zužitkovány hostitelem, přičemž celková bilance nemusí být pro hostitele ani zdaleka nepříznivá. Poněkud jinak však bude nutno nahlížet na odběr esenciálních aminokyselin a stopových prvků významných pro růst ryb.

Při invazích *K. sinensis* dochází k výraznému snížení počtu erytrocytů, obsahu hemoglobinu, albuminů a alfa a beta globulinů. V téže době stoupá obsah gama globulinů (Sapožnikov 1973; Ščerban 1965). Při khawióze byla popsána anémie žaber, která je vykládána jako důsledek poklesu hemoglobinu ke konci vegetační periody. Patogenní vlivy khawíí se mohou uplatnit zejména u zanedbaných obsádek a u ryb v nepříliš dobré kondici.

#### **2.5.4. *Atractolytocestus huronensis***

Tasemnice *Atractolytocestus huronensis* (Anthony, 1958), která byla prvotně popsána u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) v Severní Americe, byla nedávno introdukována do Evropy (UK, Maďarsko). V současných studiích bylo popsáno rozšíření této tasemnice v dalších zemích centrální Evropy (Slovensko a Česká republika), včetně jejího prvního pozorování u kapra obecného (*Cyprinus carpio carpio*) v řece Tise na jihovýchodním Slovensku. Kvůli hraničnímu umístění této řeky, je zde možnost rychlé distribuce tohoto parazita do dalších regionů povodí Dunaje. Tento parazit byl také nalezen u kulturních forem kapra v rybnících jižních Čech, odkud je dovážen do mnoha evropských zemí. Rychlé rozšíření této tasemnice v Evropě signalizuje její schopnost k osídlení nových regionů a reprezentuje další příklad antropogenní introdukce potencionálního patogenu kapra a dalších ryb. Morfologie nalezených vzorků *Atractolytocestus huronensis* je identická se vzorky tasemnic z Maďarska a ze Severní Ameriky.

Dospělí parazité dosahují délky 5 – 18 mm a šířky 0,9 - 2 mm. Tělo je dorzo-ventrálně zploštělé, v příčném řezu oválné. Název *Atractolytocestus* je odvozen od šípovitého tvaru hlavičky tasemnice.

Počet varlat je velmi proměnlivý, pohybuje se od 6 do 18 kusů. Toto je velmi neobvyklé, neboť ostatní zástupci tohoto rodu mají několik set varlat. Většina varlat je mírně eliptického tvaru. Vaječníky mají podobný tvar jako varlata, ale jsou menší. Poměrně složitě se někdy identifikuje pohlaví, bez použití diferenciálního barvení (Anthony 1958).

## **2.6. Praziquantel**

Praziquantel byl vyvinut ve výzkumných laboratořích Bayer AG v Německu v sedmdesátých letech dvacátého století. Světovou zdravotnickou organizací byl zařazen do seznamu základních léčiv.

Praziquantel je derivátem pyrazinisoquinolonu. V chemickém názvosloví 2 - (cyclohexanecarbonyl) -3,6,7,11b -tetrahydro -1H -pyrazino[6,1-a]isoquinolin -4 -one, zkráceně C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Je to jediné antihelmentikum používané proti různým druhům tasemnic jak u zvířat, tak i u člověka. Princip jeho působení je založen na kontrakci svalů a poškození tegumentu parazita. Praziquantel zvyšuje přísun bivalentních vápenatých iontů a tím způsobuje křečovou paralýzu. Následkem toho je přerušeno přichycení parazita k epitelu střeva (Andrews 1985). Zvyšuje propustnost buněčné membrány a vakuol pro kationty, a tím rozrušuje tegument (Mehlhorn et al. 1983; Rim 1986; Fallon et al. 1992). Tato svalová paralýza a rozpad tegumentu pomůže vyloučit tasemnici nebo umožní průnik buňkám obranného mechanismu hostitele do poškozeného tegumentu a tím tasemnici zabít.

Ojedinele se může vyskytnout rezistence vůči tomuto léku vzhledem k síle tegumentu a nebo z důvodů nepřístupnosti lokality, ve které se nachází parazit uvnitř hostitele. Nicméně, kompletního nebo částečného odstranění těchto parazitů může být dosaženo zvýšením koncentrace léku nebo prodloužením doby expozice (Andrews et al. 1983; Conlon and Ellis 1985; Mahmoud 1987).

Jelikož je u lidí praziquantel po požití velmi rychle vyloučen, je doporučeno léčbu opakovat. Praziquantel je většinou z těla vyloučen přes ledviny, zbytek je metabolizován žlučí (hydroxylace, sulfinizace) a vylučován stolicí (Andrews et al. 1983).

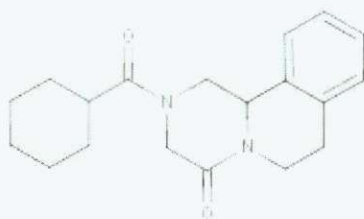
Schopnost udržet praziquantel po určitý čas a v dostatečné koncentraci ve žluči je významným aspektem jeho antihelmentické aktivity. Adekvátního účinku je

dosaženo aplikací 3 dávek v množství  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  opakovaná po 4-5 hodinách (Rim et al. 1981; Seo et al. 1983). Aplikace praziquantelu má i řadu vedlejších účinků, které vychází z imunitní reakce hostitele vůči cizopasníkovi. Vzhledem k vysokému zatížení organismu hostitele jsou tyto vedlejší účinky normální.

Plumb a Rodgers (1990) zkoušeli koupel s obsahem praziquantalu u populace sumečka skvrnitého, ve které bylo mnoho jedinců napadeno motolicí oční. Koupelí v koncentraci 2 ppm v časovém rozmezí 2 respektive 4 hodin došlo k rychlému úhynu značného množství motolic. V dalších třech týdnech účinek praziquantalu přetrvával a současně postupně klesal.

Při experimentální aplikaci praziquantalu proti parazitu *Gyrodactylus aculeatus* u koljušky tříostné bylo dokázáno, že pro efektivní působení je důležitější doba expozice než koncentrace praziquantalu (Buchmann 1987).

Lorio (1989) testoval injekční aplikaci praziquantalu a koupel v trichlorfonu proti *Clinostomum marginatum* u sumečka skvrnitého. Trichlorfon byl bez účinku, zatímco praziquantel účinkoval alespoň částečně, ale ne na 100 %.



#### Preparáty s obsahem praziquantelu

- Biltricide® (Bayer) 600mg (pouze humánní medicína)
- Cesol®
- Cysticide®
- Profender® (Bayer) pouze veterinární užití
- Droncit® (Bayer) pouze veterinární užití
- D-Worm™ (Farnum) pouze veterinární užití
- Tape Worm Tabs™ pouze veterinární užití
- Cestoved® (Vedco) pouze veterinární užití
- PraziPro™ (Hikari®)

## 2.7. *Taenifugin carp*

Jedná se o již zakázaný antihelmentický medikovaný granulát pro ryby. V minulosti byl tento preparát hojně užíván v rybářské praxi. Jeho nejčastější složení bylo následující:

- piperazinová sůl niclosamidu 7 g
- pomocné a zhutňující látky 46,25 g
- mletý vápenec 100 g
- pšeničná mouka do 1000 g

Účinná látka piperazinová sůl niclosamidu ničila parazita v trávicím ústrojí přímým působením, a to již za několik hodin po jejím požití. Přípravek byl stabilizován, granule byly soudržné více než 12 hodin a současně byly měkké, takže je mohl přijímat i plůdek kapra.

*Taenifugin carp* se podával v kterémkoli ročním období, když byly ryby schopny přijímat potravu. Předkládal se na obvyklá krmná místa, a to buď jednorázově, nebo opakovaně v průběhu 48 hodin, aby byl zaručen příjem granulátu co největším počtem ryb. Podával se v dávce 1-2 % hmotnosti obsádky (Žitňan et al. 1981). Účinnost zásahu bylo zapotřebí zkontrolovat parazitologickým vyšetřením střev 2 až 4 dny po aplikaci. V případě nálezů živých tasemnic se aplikace opakovala. Přípravek mohl být podáván několikrát během vegetačního období. Ochranná lhůta byla 36 hodin (Dubský et al. 2003).

Při sledování účinnosti *Taenifuginu carp* na botricefalózu kapra bylo po opakovaném přeléčení ryb v poměrně krátkém období (19 dní) dosaženo 100 % léčebné efektivity (Žitňan et al. 1981).

Preparát byl přijímán i při nízkých teplotách vody (10,2<sup>0</sup> – 11,8<sup>0</sup>C).



### 3. Metodika

#### *3.1. Testování účinnosti orálně aplikovaného praziquantelu u kapra obecného přirozeně infikovaného tasemnicemi*

Testy byly prováděny od října do prosince 2007. Testované ryby pocházely z rybničního chovu.

Jednoletí kapři ( $K_{1+}$ ) vážící  $272 \pm 50$  g přirozeně infikovaní tasemnicemi pocházeli z faremního chovu Dvůr Lnáře v Tchořovicích. Vyšetřením 15 ryb byla ověřena přítomnost tasemnic ve střevech a v každé rybě bylo spočítáno druhové zastoupení přichycených jedinců. Výsledky z tohoto prvotního vyšetření byly využity jako počáteční referenční hodnoty pro konečné vyhodnocení. Celkem 102 kaprů určených k testu bylo rozděleno do 6 skupin, které byly složeny ze 17 kaprů. Ryby z každé skupiny byly rozděleny do 2 nádrží a byly aklimatizovány při teplotě  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ . Dva dny před testem a v průběhu pokusu nebyly ryby krmeny. Objem každé zkušební nádrže byl 250 l a voda v každé nádrži byla denně měněna. Všechny tyto nádrže byly provzdušňovány vzduchovou pumpou napojenou na provzdušňovací kameny. Saturace kyslíkem a pH vody bylo měřeno každý den. Saturace vody kyslíkem byla okolo 70% (v rozsahu od 60% do 82%) a pH v rozsahu od 6,28 do 7,30.

Rybám ze tří skupin byl přímo do jícnu aplikován praziquantel (2-cyclohexylcarbonyl-4-oxo-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4H-pyrazino [2,1-a] isoquinoline) smíchaný s tepelně ošetřeným škrobovým vehikulem v dávce 50 mg praziquantelu .kg-1 tělesné hmotnosti. Ve 3 kontrolních skupinách bylo rybám podáno pouze škrobové vehikulum. Ryby byly následně pozorovány v ozdravovací nádrži kvůli příznakům regurgitace antihelmintik. Ryby byly usmrceny a byla provedena pitva střev a zjišťována přítomnost tasemnic, a to 2, 4 a 6 den po podání. Efektivita léčby pro oba druhy byla potvrzena srovnáním množství parazitů s kontrolní skupinou, která byla testována současně. Byla zaznamenávána intenzita, prevalence a poloha jednotlivých druhů tasemnic ve střevě.

### **3.2. Efekt perorálně aplikovaného praziquantelu na hematologické a biochemické ukazatele krve kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.)**

K pokusu byli použiti přirozeně infikovaní kapři ( $K_3$ ), průměrné hmotnosti  $1305 \pm 187$ g, odlovení z pokusného rybníka VURH Vodňany. Ryby byly po dobu 1 týdne aklimatizovány v akváriích VURH Vodňany. Po dobu aklimatizace byly ryby krmeny komerčním peletovaným krmivem. Krmení ryb bylo přerušeno 1 den před aplikací praziquantelu, z důvodů pročištění zažívacího traktu před podáním léčiva. Před aplikací praziquantelu bylo vyšetřeno 10 kaprů a byl posouzen jejich zdravotní stav a provedena pitva střev na zjištění výskytu tasemnic.

Celkem 60 dalších aklimatizovaných ryb bylo rozděleno do 6 ti skupin po 10 ti rybách a ryby z každé skupiny dále rozděleny do dvou akvárií. Objem pokusných akvárií byl 250 l a výměna vody se prováděla denně. Voda byla provzdušňována a denně byl monitorován obsah kyslíku a pH. Obsah kyslíku byl průměrně 85% (v rozmezí od 80-90%) a pH se pohybovalo mezi 6.3 až 7.3.

Teplota vody byla měřena a zaznamenávána 6 krát denně pomocí teplotních záznamníků RT –F52 (Qi Analytical, Czech republic). průměrná denní teplota vody byla  $20^\circ\text{C}$  ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) ve všech akváriích.

Praziquantel se rozpustil v polotekutém škrobovém gelu, který se připravil povařením 60 g potravinářského škrobu Solamylu v 1 l vody. Aplikace se prováděla pomocí silnostěnné elastické hadičky z plastu a injekční stříkačky. Hadička se zavedla podél střední podélné osy horního patra mezi požerákové zuby a drticí ploténku tak, aby ústila do jícnu a následně se provedla aplikace. U dvou pokusných skupin E1 a E3 bylo aplikováno  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  praziquantelu a u dalších dvou pokusných skupin E2 a E4  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Zbylé 2 skupiny byly kontrolní C1 a C2 a aplikovalo se jim stejné množství škrobového vehikula bez přídavku praziquantelu, vše v množství  $5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Ryby byly v akváriích kontrolovány a sledovalo se, zda u některé ryby nedošlo k regurgitaci aplikovaného přípravku.

Po 24 hodinách byla kaprům ze skupin E1, E2 a C1 odebrána krev. U skupin E3, E4 a C2 byla krev odebrána po 96 hodinách. Odběr krve byl prováděn z kaudální ocasní žíly a odebraná krev byla stabilizována heparinem v dávce  $50 \text{ IU ml}^{-1}$  krve. Po odběru byly ryby usmrceny úderem do hlavy a vyšetřovány na přítomnost tasemnic. V

krvi byly vyhodnocovány tyto parametry: množství erytrocytů (RBC), hematokrit (PCV), koncentrace hemoglobinu (Hb), množství bílých krvinek (WBC), střední objem erytrocytu (MCV), hemoglobin erytrocytu (MCH) a střední barevná koncentrace (MCHC). Vše bylo stanovováno podle jednotných metod hematologického vyšetřování (Svobodová et al. 1991). Plasma byla centrifugací oddělena od buněk (10 min/12.000 x g, 4°C). V plasmě byly stanovovány tyto biochemické ukazatele: Glukóza (Glu), celkový protein (TP), celkové globuliny (Glob) a aktivity alaninaminotransferázy (ALT) a aspartátaminotransferázy (AST). Vzorke byly analyzovány přístrojem VETTEST 8008 Analyser (IDEXX Laboratories, westbrook, ME, USA).

Výsledky byly vyhodnoceny a porovnány statistickým programem STATISTICA (verze 8.0 pro Windows, StatSoft) za použití dvoucestného ANOVA a byly zde vyhodnoceny statisticky významné rozdíly na hranici významnosti ( $P < 0.05$  a  $P < 0.01$ )

## 4. Výsledky

### 4.1. Testování účinnosti orálně aplikovaného praziquantelu u kapra obecného přirozeně infikovaného tasemnicemi

Ve střevě zkoumaného kapra byly současně nalezeny dva druhy tasemnic, *Atractolytocestus huronensis* a *Khawia sinensis* (viz příloha č.1 a 2). Tasemnice *A. huronensis* se nacházela již v jícnové části střev a *K. sinensis* ihned před první střevní kličkou.

48 hodin po testu byl zjištěn výrazně nižší výskyt obou parazitů. Invaze *A. huronensis* byla plně eliminována u všech ryb po 96 hodinách, zatímco jedinci *K. sinensis* stále přetrvávali ve střevě několika ryb. Plná eliminace obou parazitů byla pozorována 6 dní po podání léčiva. Naše výsledky ukazují, že eliminace *K. sinensis* trvá déle než eliminace *A. huronensis*. Orálně aplikovaný praziquantel v dávce  $50 \text{ mg.kg}^{-1}$  je dostačující k eliminaci infekce *A. huronensis* a *K. sinensis*. Podstatného snížení počtu parazitů bylo také dosaženo jednorázovou orální aplikací velkých soust a ponechání nekrmené ryby v čisté vodě.

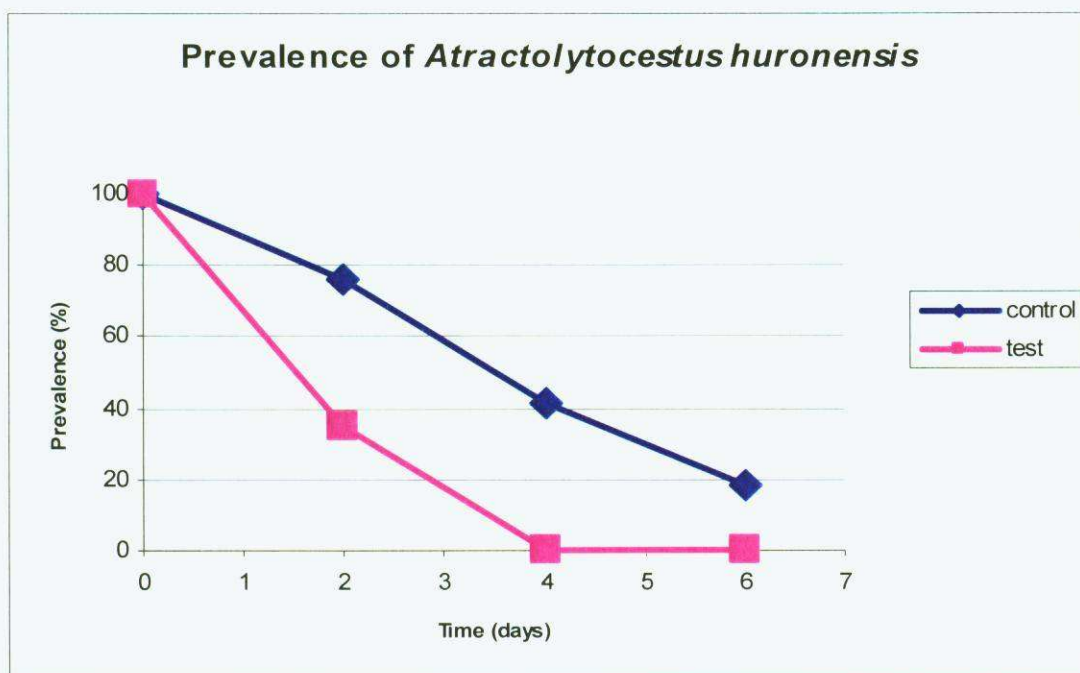
Orální podání praziquantelu mělo za následek významnou redukci nebo kompletní vyhubení *K. sinensis* i *A. huronensis*. Prevalence ( graf č.1 a č.2) a intenzita infekce *A. huronensis* a *K. sinensis* u kapra léčeného praziquantelem je uvedena v tabulce č.1 a č.2.

2 dny po ošetření: počet obou druhů tasemnic se snížil. Nicméně početnost *A. huronensis* se snížila rychleji než početnost *K. sinensis*.

4 dny po ošetření: u ošetřovaného kapra nebyly nalezeny ve střevě žádné tasemnice *A. huronensis*. Snížování počtu *K. sinensis* neustále pokračovalo.

6 dní po léčbě: tasemnice z ošetřených ryb byly zřejmě mrtvé a často měly oranžové zbarvení (viz příloha č.3 a 4).

Graf č.1: Prevalence *Atractolytocestus huronensis*



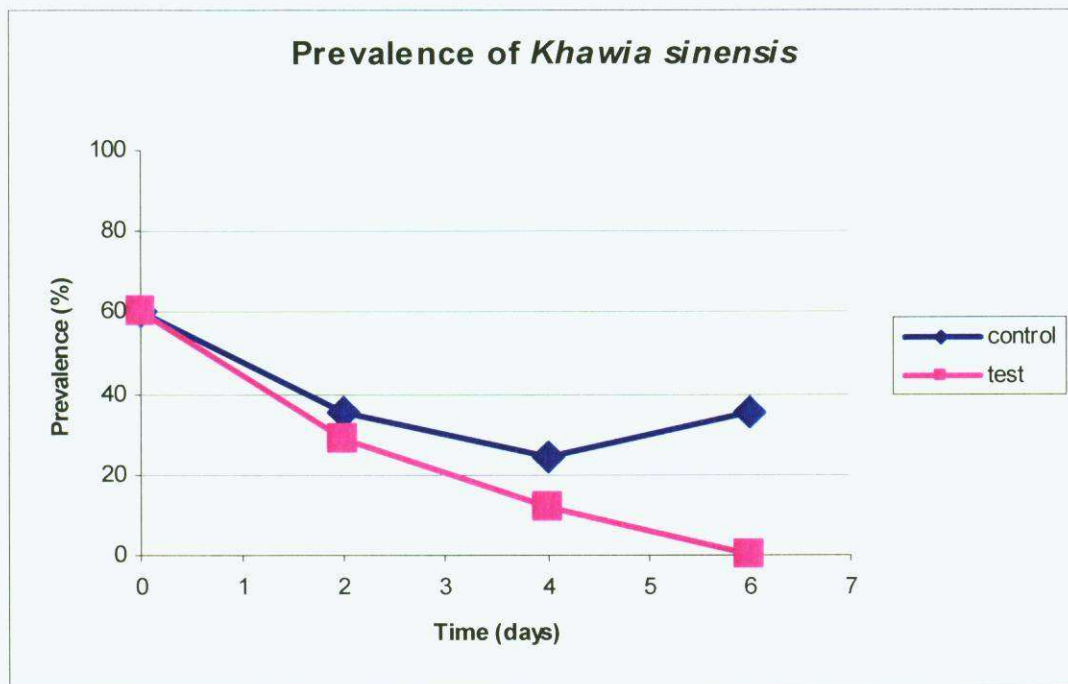
Zdroj: vlastní výzkum

Tabulka č.1: Intenzita infekce *Atractolytocestus huronensis*

Pokus	Ryby léčené praziquantelem		Kontrolní ryby	
	Intenzita infekce	Prevalence výskytu (%)	Intenzita infekce	Prevalence výskytu (%)
Před aplikací	53±64	100	53±64	100
2 dny po aplikaci	1±1	35	7±9	76
4 dny po aplikaci	0	0	8±20	41
6 dnů po aplikaci	0	0	1±3	18

Zdroj: vlastní výzkum

Graf č.2: Prevalence *Khawia sinensis*



Zdroj: vlastní výzkum

Tabulka č.2: Intenzita infekce *Khawia sinensis*

Pokus	Ryby léčené praziquantelem		Kontrolní ryby	
	Intenzita infekce	Prevalence výskytu (%)	Intenzita infekce	Prevalence výskytu (%)
Před aplikací	3±5	60	3±5	60
2 dny po aplikaci	0	29	1±3	35
4 dny po aplikaci	0	12	1±2	24
6 dnů po aplikaci	0	0	1±2	35

Zdroj: vlastní výzkum

## **4.2. Efekt perorálně aplikovaného praziquantelu na hematologické a biochemické ukazatele krve kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.)**

### Účinnost praziquantelu

Při aplikaci v dávkách 30 a 50 mg.kg<sup>-1</sup> nebyly pozorovány žádné klinické abnormality u infikovaných ryb. Praziquantel a tepelně upravený škrobový gel byl rybou dobře tolerován a v průběhu experimentu nedošlo k žádnému úmrtí.

### Parazitologické nálezy:

Počet tasemnic ve střevech neléčených a pokusných ryb byl spočten v průběhu jejich pitvy a byly stanoveny druhy nalezených tasemnic *Atractolytocestus huronensis* a *Khawia sinensis*. Kvůli velmi mírné intenzitě nákazy byla zhodnocena jen prevalence výskytu tasemnic, která činila 30% u ryb před aplikací léčiva. Ve skupině E1, E3 a E4 byla zjištěna 0% prevalence a ve skupině E2 10% prevalence. U kontrolních skupin C1 a C2 se prevalence také snížila (30% a 10%), nicméně, to nebyl tak rychlý pokles ve srovnání s experimentálními skupinami. Ve střevech ryb z experimentální a kontrolní skupiny byly sporadicky nalezeny žlutě zbarvené zbytky tasemnic lokalizovaných v kaudálních částech střeva. Bylo potvrzeno, že praziquantel měl antihelmintickou účinnost, která byla zřejmá u obou aplikovaných koncentrací praziquantelu. Toto nebylo statisticky vyhodnoceno kvůli nízké počáteční prevalenci.

### Hematologický profil

Nejvýznamnější změny v hematologických ukazatelích byly pozorovány 24 hodin po podání praziquantelu. U kaprů ve skupině E1 a E2, bylo pozorováno významné snížení ( $P < 0.01$ ) RBC a koncentrace hemoglobinu ( viz příloha č. 6 a 8). V krvi vyšetřené 96 hodin po podání praziquantelu (skupina E3 a E4), byly hodnoty RBC a hemoglobinu stejné jako u kontrolní skupiny. Hodnoty hematokritu se významně snížili ve skupině E1 a E2 (viz příloha č.7) a vrátili se k normálu ve skupině E3 a E4 v porovnání s kontrolními skupinami. Odezva WBC vůči praziquantelu byla méně výrazná. V průběhu experimentu zůstalo WBC prakticky nezměněno. V průběhu experimentu nevykázaly základní hodnoty erytrocytů - MCV, MCH a MCHC významné změny (tabulka 1 a 2).

Tabulka 1: Efekt orálně aplikovaného praziquantelu (krev odebraná 24 hodin po aplikaci) na hematologické ukazatele krve kapra obecného. Poznámka: skupiny s rozdílnými písmeny se liší na hladině statistické významnosti  $P < 0.05$  nebo  $P < 0.01$

Indices	C1 $x \pm SD$ (n = 10)	E1 (30 mg.kg <sup>-1</sup> ) $x \pm SD$ (n = 10)	E2 (50 mg.kg <sup>-1</sup> ) $x \pm SD$ (n = 10)
RBC (T·l <sup>-1</sup> )	1.87 ± 0.27 <sup>a</sup>	1.42 ± 0.34 <sup>b</sup>	1.45 ± 0.20 <sup>b</sup>
Hb (g·l <sup>-1</sup> )	107.50 ± 12.62 <sup>a</sup>	81.20 ± 20.36 <sup>b</sup>	81.70 ± 10.84 <sup>b</sup>
PCV (l·l <sup>-1</sup> )	0.35 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.30 ± 0.04 <sup>a</sup>
WBC (G·l <sup>-1</sup> )	58.2 ± 19.92 <sup>a</sup>	60.65 ± 20.43 <sup>a</sup>	49.50 ± 15.20 <sup>a</sup>
MCV (fl)	190.04 ± 27.63 <sup>a</sup>	166.42 ± 24.83 <sup>a</sup>	216.61 ± 53.97 <sup>a</sup>
MCH (pg)	57.93 ± 3.92 <sup>a</sup>	57.03 ± 4.11 <sup>a</sup>	56.34 ± 3.32 <sup>a</sup>
MCHC (l l <sup>-1</sup> )	0.31 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.27 ± 0.05 <sup>a</sup>

*Zdroj: vlastní výzkum*

Tabulka 2: Efekt orálně aplikovaného praziquantelu (krev odebraná 96 hodin po aplikaci) na hematologické ukazatele krve kapra obecného. Poznámka: skupiny s rozdílnými písmeny se liší na hladině statistické významnosti  $P < 0.05$  nebo  $P < 0.01$

Indices	C2 $x \pm SD$ (n = 10)	E3 (30 mg.kg <sup>-1</sup> ) $x \pm SD$ (n = 10)	E4 (50 mg.kg <sup>-1</sup> ) $x \pm SD$ (n = 10)
RBC (T·l <sup>-1</sup> )	1.64 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.69 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.62 ± 0.20 <sup>a</sup>
Hb (g·l <sup>-1</sup> )	86.30 ± 7.60 <sup>a</sup>	90.40 ± 7.99 <sup>a</sup>	86.70 ± 11.28 <sup>a</sup>
PCV (l·l <sup>-1</sup> )	0.29 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.04 <sup>a</sup>
WBC (G·l <sup>-1</sup> )	73.95 ± 28.32 <sup>a</sup>	67.45 ± 11.72 <sup>a</sup>	60.20 ± 20.97 <sup>a</sup>
MCV (fl)	180.29 ± 15.30 <sup>a</sup>	183.87 ± 11.51 <sup>a</sup>	177.57 ± 12.91 <sup>a</sup>
MCH (pg)	52.94 ± 4.66 <sup>a</sup>	53.57 ± 2.55 <sup>a</sup>	53.83 ± 4.13 <sup>a</sup>
MCHC (l l <sup>-1</sup> )	0.29 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.03 <sup>a</sup>

*Zdroj: vlastní výzkum*

#### Biochemický profil krevní plazmy

U krevních enzymů došlo k výraznému zvýšení hodnot ALT ( $P < 0.05$  po 96 hodinách), zatímco AST se v průběhu experimentu nezměnilo. Ve skupině E1 a E2 došlo k výraznému snížení u hodnoty Glu ( $P < 0.05$  po 48 hodinách) ve srovnání s C1. V krvi vyšetřené 96 hodin po aplikaci již žádné změny u hodnot Glu nebyly. Hodnoty TP a Glob (viz příloha č.5) byly po 24 hodinách významně sníženy ( $P < 0.05$ ). Žádné změny hodnot TP a Glob nebyly zřejmé mezi skupinami C2, E3 a E4. Rozdíly mezi jednotlivými hodnotami biochemických ukazatelů jsou uvedeny v tabulkách 3 a 4.



Tabulka 3: Efekt orálně aplikovaného praziquantelu (krev odebraná 48 hodin po aplikaci) na biochemické ukazatele plasmy kapra obecného. Poznámka: skupiny s rozdílnými písmeny se liší na hladině statistické významnosti  $P < 0.05$  nebo  $P < 0.01$

Indices	C1 $x \pm SD$ (n = 10)	E1 (30 mg.kg <sup>-1</sup> ) $x \pm SD$ (n = 10)	E2 (50 mg.kg <sup>-1</sup> ) $x \pm SD$ (n = 10)
AST (U·l <sup>-1</sup> )	64.2 ± 48.80 <sup>a</sup>	61.2 ± 24.81 <sup>a</sup>	57.9 ± 16.06 <sup>a</sup>
ALT (U·l <sup>-1</sup> )	6.2 ± 6.03 <sup>a</sup>	13.4 ± 8.99 <sup>a</sup>	13.1 ± 9.84 <sup>a</sup>
Glu (mmol·l <sup>-1</sup> )	7.85 ± 1.698 <sup>a</sup>	5.75 ± 1.412 <sup>b</sup>	5.96 ± 1.547 <sup>b</sup>
TP (g·l <sup>-1</sup> )	37.3 ± 5.68 <sup>a</sup>	27.9 ± 5.52 <sup>b</sup>	33.4 ± 3.67 <sup>ab</sup>
Glob (g·l <sup>-1</sup> )	32.5 ± 5.27 <sup>a</sup>	25.8 ± 3.12 <sup>b</sup>	28.6 ± 2.62 <sup>ab</sup>

*Zdroj: vlastní výzkum*

Tabulka 4: Efekt orálně aplikovaného praziquantelu (krev odebraná 96 hodin po aplikaci) na biochemické ukazatele plasmy kapra obecného. Poznámka: skupiny s rozdílnými písmeny se liší na hladině statistické významnosti  $P < 0.05$  nebo  $P < 0.01$

Indices	C2 $x \pm SD$ (n = 10)	E3 (30 mg.kg <sup>-1</sup> ) $x \pm SD$ (n = 10)	E4 (50 mg.kg <sup>-1</sup> ) $x \pm SD$ (n = 10)
AST (U·l <sup>-1</sup> )	51.7 ± 17.02 <sup>a</sup>	45.8 ± 10.44 <sup>a</sup>	41.2 ± 7.01 <sup>a</sup>
ALT (U·l <sup>-1</sup> )	13.6 ± 5.23 <sup>b</sup>	21.4 ± 6.99 <sup>a</sup>	20.5 ± 5.48 <sup>a</sup>
Glu (mmol·l <sup>-1</sup> )	4.94 ± 0.678 <sup>a</sup>	4.47 ± 0.931 <sup>a</sup>	4.3 ± 0.58 <sup>a</sup>
TP (g·l <sup>-1</sup> )	34.1 ± 1.51 <sup>a</sup>	34.0 ± 1.95 <sup>a</sup>	32.3 ± 3.00 <sup>a</sup>
Glob (g·l <sup>-1</sup> )	29.6 ± 0.66 <sup>a</sup>	28.9 ± 1.22 <sup>a</sup>	28.5 ± 1.86 <sup>a</sup>

*Zdroj: vlastní výzkum*

## 5. Diskuze

Tasemnice ryb se vyskytují v celém hlavním vodním hospodářství v Evropě a demonstrují vysoký stupeň hostitelských specifík. Často jsou nalézány ve střevě kapra hlavně dva druhy tasemnic z řádu Caryophyllidea. Déle známým druhem je *Khawia sinensis* Hsü, 1935. Poměrně novým druhem je *Atractolytocestus huronensis* Anthony, 1958.

Na trhu v České republice momentálně není dostupné žádné léčivo, jehož účinek na tasemnice u ryb by byl dostatečně ověřen. Mnoho veterinárních lékařů zkouší používat chemikálie s možným účinkem na tasemnice u ryb, ale málokdo přesně ví jak budou skutečně účinkovat. Různé chemikálie včetně praziquantelu, benzamidů a niklosamidů jsou doporučovány k aplikaci proti tasemnicím ryb (Trewes-Brown 2000), nicméně není určen reziduální limit těchto substancí v rybách, což představuje maximální hladinu chemikálií, která může být přítomná v potravinách pro člověka, vyjádřená v miligramech na kilogram potravin (mg.kg<sup>-1</sup>). Z tohoto důvodu je i praziquantel povolen pouze pro použití u okrasných a nepotravinových druhů ryb. Pro ryby určené ke konzumu je aplikace praziquantelu stále předmětem experimentálního výzkumu. Nicméně procedura vymýcení tasemnic je nezbytná pro kontinuální mezistátní transport neinfikovaných ryb (Mitchell 2004).

V této práci jsem se zabýval dvěma cíli. Prvním z nich je stanovení efektu praziquantelu na výše uvedené druhy tasemnic u kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Druhým cílem je vyhodnocení biochemických a hematologických ukazatelů a na základě výsledků určit ty, které nejcitlivěji odrážejí změny spojené s aplikací.

48 hodin po aplikaci praziquantelu jsem zjistil výrazně nižší výskyt obou parazitů. Invaze *A. huronensis* byla plně eliminována u všech ryb po 96 hodinách, zatímco někteří jedinci *K. sinensis* stále přetrvávali ve střevě několika ryb. Plná eliminace obou parazitů byla pozorována 6 dní po podání léčiva. Výsledky ukazují, že eliminace *K. sinensis* trvá déle než eliminace *A. huronensis*. Orálně aplikovaný praziquantel v dávce 50 mg kg<sup>-1</sup> je dostačující k eliminaci infekce *A. huronensis* a *K. sinensis*. Podstatného snížení počtu parazitů bylo také dosaženo jednorázovou orální aplikací velkých soust a ponechání nekrmené ryby v čisté vodě.

Orální podání praziquantelu mělo za následek významnou redukci nebo kompletní vyhubení tasemnic.

Vyhodnocení hematologických a biochemických charakteristik u ryb se stalo důležitou součástí jak porozumět normálním a patologickým procesům a

toxikologickým dopadům na živočišné organismy. Různé hematologické ukazatele podléhají změně v závislosti na způsobu podání léčiva, stresu a různých dalších enviromentálních faktorech (Goel et al. 1981; Hlavova 1993). U savců bylo realizováno mnohem více biochemicko-toxikologických výzkumů než u ryb. Nieméně mnohé biochemické cykly si jsou u skupiny obratlovců velmi podobné (Mommsen 1995).

Hlavní hematologickou reakcí při podání praziquantelu bylo významné snížení koncentrace hemoglobinu, hodnoty hematokritu a počtu erytrocytů. 24 hodin po aplikaci léčiva byl indikován pokles stavu červených krvinek a jejich rozpad. Důsledkem snížení těchto parametrů může být špatná mobilizace červených krvinek ze sleziny a dalších krvetvorných orgánů (Scott and Rogers 1981). Podobné výsledky byly pozorovány i u jiných ryb, které byly vystaveny účinkům pesticidů (Varandaraj et al. 1993; John 2007). Buckley et al. (1976) udává, že dlouhodobé snížení obsahu hemoglobinu snižuje v krvi transportní kapacitu kyslíku. Některá poškození krve a degenerace červených krvinek mohou být připisována patologickým vlivům toxických látek, kterým jsou ryby vystavovány. V našem testu byly veškeré změny vratné a po 96 hodinách se srovnaly na normální hodnoty.

Játra jsou důležitým orgánem detoxikace a probíhá v nich řada metabolických procesů. Pokud jsou játra vystavena působení různých chemikálií, může to vést k hromadění toxicky působících škodlivin v tkáni a dále narušovat jaterní funkce a způsobit patologické změny na játrech (Braunbeck 1994). Navíc poranění jaterních buněk vede k uvolnění specifických tkáňových enzymů do krevního řečiště. Prvním signálem metabolických změn u jater může být snížená hodnota glukózy a následkem toho snížená schopnost jater zajistit normální hladinu cukru. Vysoké hodnoty ALT mohou signalizovat zánět jaterních buněk nebo jejich odumření (and Mommsen 1995). Každá forma poškození jaterních buněk má za následek zvýšení hodnot ALT, jakožto nejcitlivějšího ukazatele poškození těchto buněk. Aplikace praziquantelu výrazně zvýšila hodnotu ALT u ryb, což poukazuje na poškození plazmatické membrány, přesto toto poškození asi nemohlo být tak vážné, protože konstantní aktivita AST odráží integritu vnitrobuněčné mitochondriální membrány. Zvýšení ALT bylo postupné a stalo se statisticky významným 96 hodin po aplikaci léčiva. Také všechny formy aplikace microcistinu způsobily zvýšení aktivity ALT (Gupta and Guha 2006). Vutukuru et al. popisuje výrazné zvýšení aktivity ALT a AST u kapra, poté co byl vystaven účinku chromu a arsenu. U králíků byl studován účinek orální aplikace praziquantelu, v různém dávkování, na aktivitu metabolizování jaterních enzymů. Kheir et al. (1995),

uvádí, že mnohem vyšší dávky praziquantelu (1600 mg kg<sup>-1</sup>) způsobí zvýšení aktivity transaminasy. Toto je ve shodě s výsledky publikovanými Bjorklundem a Bylundem (1987), kteří srovnávali farmakokinetické procesy u saveců a ryb. Uvedli, že farmakokinetické procesy jsou u ryb pomalejší, a proto jsou parazité vystaveni účinkům praziquantelu po delší dobu než u saveců.

Další zmíněné změny byly v hodnotách TP. Veškeré biologické aktivity jsou regulované enzymy a hormony, které jsou zároveň i proteiny. Odhad obsahu bílkovin může být považován za diagnostický nástroj k určení fyziologického statusu buněk (Manoj and Raghothaman 1999). Mírný pokles hodnoty TP mohl souviset se zvýšením ALT, jakožto počáteční signál částečné degradace proteinu, buněčného poškození a poškození jater (Vutukuru et al. 2007). Neznáme čas potřebný pro stabilizaci aktivity ALT. Míru jaterního poškození by měly objasnit další studie zaměřené na ultrastrukturu a histologii jater po aplikaci různých koncentrací praziquantelu.

## 6. Závěr

V diplomové práci "Testování léčiv perspektivních pro využití v rybářské praxi" jsem se v literárním přehledu pokusil setřídít poznatky o tasemnicích *Atractolytocestus huronensis* a *Khawia sinensis* u kapra, praziquantelu jakožto léčiva a současně lépe osvětlit určité pojmy.

Při vlastní experimentální práci jsem dospěl k těmto závěrům: Byla prokazatelně ověřena antihelmentická účinnost praziquantelu proti *Atractolytocestus huronensis* a *Khawia sinensis* u kapra. Dávka  $50 \text{ mg.kg}^{-1}$  orálně aplikovaného praziquantelu je plně dostačující k eliminaci infekce *A. huronensis* a *K. sinensis*. Plné eliminace obou parazitů je dosaženo po 6 dnech od aplikace léčiva.

Z hlediska působení praziquantelu na hematologické a biochemické ukazatele jsem došel k těmto závěrům: Hlavní hematologickou reakcí při podání praziquantelu bylo významné snížení koncentrace hemoglobinu, hodnoty hematokritu a počtu erytrocytů. 24 hodin po aplikaci léčiva byl indikován pokles stavu červených krvinek a jejich rozpad u *Cyprinus carpio*. Hlavní biochemickou reakcí při podání praziquantelu bylo výrazné zvýšení hodnot ALT, což poukazuje na poškození plazmatické membrány jaterních buněk. Toto poškození ale nebylo tak markantní vzhledem k tomu, že hodnota AST zůstala konstantní vůči kontrole. Zatím bohužel neznáme čas potřebný pro stabilizaci aktivity ALT, což je předmětem další možné studie. Výsledky testu ukazují, že praziquantel ovlivňuje fyziologickou funkci některých orgánů, zejména jater. Na toto poukazují naměřené rozdílné aktivity transamináz a změny v hematologickém profilu ryb po aplikaci praziquantelu. Zjištěné rozdíly nejsou vzhledem ke kontrole tak vysoké a na podkladě výsledků lze předpokládat, že se změřené parametry relativně rychle vrací na své fyziologické hladiny. Nejistili jsme žádné významné rozdíly hematologických a biochemických ukazatelů mezi jednotlivými testovanými koncentracemi praziquantelu. Míru jaterního poškození by měly objasnit další studie zaměřené na ultrastrukturu a histologii jater po aplikaci různých koncentrací praziquantelu.

Znalost těchto poznatků umožní registraci praziquantelu jakožto léčiva pro potravinové ryby. Dále je to dostatečné pochopení ozdravných procesů v rybníčních chovech ryb. Domnívám se, že registrace tohoto léčiva v rámci legislativy České republiky je nezbytná k tomu, aby rybářské podniky v České republice mohli lépe prokazovat neinfekčnost exportovaných ryb a tím si udržet nebo zvýšit ekonomický zisk z prodeje této komodity.

## 7. Seznam použité literatury

- Andrews P (1985) Praziquantel: mechanisms of anti-schistosomale activity. *Pharmacol Ther* 29: 129–156.
- Andrews P, Thomas H, Pohlke R, Seubert J (1983) Praziquantel. *Med Res Rev* 3: 147-200.
- Anthony JD (1958) *Atractolytocestus huronensis* n. gen., n. sp. (Cestoda: Lytocestidae) with notes on its morphology. *Transactions of the American Microscopical Society* 77: 383-390.
- Baruš V, Oliva O a kol. (1995) *Mihulovci a ryby* (1). Nakladatelství Akademie věd České republiky Praha.
- Bjorklund H, Bylund G (1987) Absorption, distribution and excretion of the anthelmintic praziquantel (Droncit) in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Parasitol Res* 73 (3): 240-244.
- Braunbeck T (1994) Detection of environmentally relevant concentrations of toxic organic compounds using histological and cytological parameters: substance-specificity in the reaction of rainbow trout liver? In: Müller, R., Lloyd, R. (eds.) *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. Blackwell, Oxford, pp. 15-29.
- Buckley JA, Whitmore CM, Matsuda RI (1976) Changes in blood chemistry and blood cell morphology in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* following exposure to sublethal levels of total residual chlorine in municipal wastewater. *J Fish Res Board Canada*. 33: 776-782.
- Buchmann K (1987) The effect of praziquantel on the monogenean gill parasite *Pseudodactylogyryrus bini*. *Acta Vet Scand* 28: 447-450.
- Conlon CP, Ellis CJ (1985) Praziquantel. *J Antimicrob Chemother* 15: 1–2.
- Čítek J, Svobodová Z, Tesarčík J (1998) *Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb*. Informatorium Praha, 169-182.
- Demshin NI, Dvoriadkin VA (1980) [Biology of *Khawia sinensis* Hsü, 1935 (Caryophyllidea, Cestoda) – a parasite of Amur carp.] *Gidrobiol Zh* 16: 77-82. (In Russian.)

- Dubský K, Kouřil J, Šrámek V (2003) *Obecné rybářství*. Informatorium Praha.
- Fallon PG, Cooper RO, Probert AJ, Doenhoff MJ (1992) Immunedependent chemotherapy of schistosomiasis. *Parasitology* 105 [Suppl]: S41–S48.
- Goel KA, Awasthi AK, Tyagi SK (1981) Haematology of heteropneustes fossilis under chemico azo stress of Bismark brown. *Curr Sci* 50(19): 875–876.
- Gupta US, Guha S. (2006) Microcystin toxicity in a freshwater fish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Curr Sci India* 91 (9): 1261-1271.
- Hlavova V (1993) Reference values of the haematological indices in grayling (*Thymallus thymallus* linnaeus). *Comp Biochem Physiol* 105A: 525–532.
- Hochachka PW, Mommsen TP (1995) Biochemistry and molecular biology of fishes. In: *Metabolic biochemistry*. Elsevier, Amsterdam, 515 pp.
- Horák P, Scholz T (1998) *Biologie helmintů*. Karolinum-nakladatelství Univerzity Karlovy.
- Hofman J, Novák J (1996) *Akvaristika*. Nakladatelství X-egem, Nova, Knižní klub Praha.
- Chubb JC, Kirk R, Wellby I (1996) Caryophyllaeid tapeworm *Atractolytocestus huronensis* Anthony, 1958 (= *Markevitschia sagittata* Kulakovskaya & Akhmerov, 1965) in carp *Cyprinus carpio* L. in British Isles . another translocation. Abstract of the British Society for Parasitology Spring Meeting, 1–3 April, University of Wales, Bangor, 66.
- John PJ (2007) Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to Metasystox and Sevin. *Fish Physiol Biochem* 33: 15-20.
- Kappe A, Seifert T, El-nobi G, Brauer G (2006) Occurrence of *Atractolytocestus huronensis* (Cestoda, Caryophyllaeidae) in German pond-farmed common carp *Cyprinus carpio*. *Dis Aquat Organ* 70 (3): 255-259.
- Kheir WM, Elsheikh HA, Hapke HJ, DTW (1995) The effect of praziquantel on the activities of some drug-metabolizing hepatic enzymes in rabbits. *Deut Tierarztl Woch* 102(2): 84-86.

- Kim KH, Lee EH, Kwon SR, Cho JB (2001) Treatment of *Microcotyle sebastis* infestation in cultured rockfish *Sebastes schlegeli* by oral administration of praziquantel in combination with cimetidine. *Dis Aquat Org* 44: 133–136.
- Kulakovskaya OP (1962) Development of caryophyllids (Caryophyllaeidae, Cestoda) in the intermediate host. *Zool zh* 41: 986-992.
- Kulakovskaya OP (1963) [On the biology and distribution of the tapeworm *Khavia* [sic] *sinensis* Hsü, 1935.] *Problemy Parazitologii* 2: 200-205. (In Russian.)
- Kulakovskaya OP (1963) On the biology and distribution of *Khawia sinensis* Hsü, 1935. *Probl Parazitologii* 2 : 200-205.
- Lorio W (1989) Experimental control of metacercariae of the yellow grub *Clinostomum marginatum* in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 1: 269-271.
- Mahmoud AA (1987) Praziquantel for the treatment of helminthic infections. *Adv Intern Med* 32: 193–206.
- Majoros G, Csaba G, Molnár K (2003) Occurrence of *Atractolytocestus huronensis* Anthony, 1958 (Cestoda: Caryophyllaeidae), in Hungarian pond-farmed common carp. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 23: 167-175.
- Manoj K, Raghothaman G (1999) Mercury, copper and cadmium induced changes in the total protein level muscle tissue of an edible estuarine fish *Boleophthalmus boddarti*. *Cuv J Envi Biol* 20 (3): 231-234.
- Mehlhorn H, Kojima S, Rim HJ, Ruenwongsa P, Andrews P, Thomas H, Bunnag B (1983) Ultrastructural investigations on the effects of praziquantel on human trematodes from Asia: *Clonorchis sinensis*, *Metagonimus yokogawai*, *Opisthorchis viverrini*, *Paragonimus westermani* and *Schistosoma japonicum*. *Arzneimittelforschung* 33: 91–98.
- Mitchell AJ (1995) Importance of treatment duration for praziquantel used against larval digenetic trematodes in sunshine bass. *J Aquat Anim Health* 7: 327-330.
- Mitchell AJ (2004) Effectiveness of praziquantel bath treatments against *Bothriocephalus acheilognathi* in grass carp. *J Aquat Anim Health* 16 (3): 130-136.
- Molnár K, Majoros G, Csaba GY, Székely CS (2003) Pathology of *Atractolytocestus huronensis* Anthony, 1958 (Cestoda: Caryophyllaeidae) in Hungarian pond-farmed common carp. *Acta Parasitol* 48: 222-228.



- Oros M, Hanzelová V, Scholz T (2004) The cestode *Atractolytocestus huronensis* (Caryophyllidea) continues to spread in Europe: new data on the helminth parasite of the common carp. *Diseases of aquatic organisms* Vol 62: 115-119.
- Plumb JA, Rogers WA (1990) Effect of droncit ( praziquantel) on yellow grubs *Clinostomum marginatum* and eye flukes *Diplostomum spathaceum* in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 2: 204-206.
- Reich MR, Govindaraj R (1998) Dilemmas in drug development for tropical diseases: experiences with praziquantel. *Health Policy* 44: 1-18.
- Rim HJ (1986) The current pathobiology and chemotherapy of clonorchiasis. *Korean J Parasitol* 28 [Suppl]: 5-141.
- Rim HJ, Lyu KS, Lee JS, Joo KH (1981) Clinical evaluation of the therapeutic efficacy of praziquantel (Embay 8440) against *Clonorchis sinensis* infection in man. *Ann Trop Med Parasitol* 75: 27-33.
- Roos TC, Alam M, Roos S, Merk HF, Bickers DR (2001) Pharmacotherapy of ectoparasitic infections. *Drugs* 61 (8): 1067-1088.
- Scott AL, Rogers WA (1981) Hematological effects of prolonged sublethal hypoxia on channel catfish *Ictalurus punctatus* (rafinesque). *J Fish Biol* 18: 591-601.
- Seo BS, Lee SH, Chai JY, Hong ST (1983) Praziquantel (Distocide) in treatment of *Clonorchis sinensis* infection. *Korean J Parasitol* 21: 241-245.
- Sharp NJ, Diggles BK, Poortenaar CW, Willis TJ (2004) Efficacy of Aquil-S, formalin and praziquantel against the monogeneans, *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae*, infecting yellowtail kingfish *Seriola lalandi lalandi* in New Zealand. *Aquaculture* 236: 67-83.
- Schlatterer B, Belz S (1993) Consumer safety and environmental-effects of therapeutic products on aquatic ecosystems using niclosamide as an example. *Tieraerztl Umschau* 48 (6): 371-379.
- Scholz T (1988) Cestodes of Diech in Czechoslovakia and biology of some species. Ph. D. thesis, Institute of Parazitolog., Ceske Budejovice, 172 pp.
- Scholz T (1991) Early development of *Khawia sinensis* Hsü, 1935 (Cestoda: Caryophyllidea). *Folia Parasitol* 38:

- Scholz T, Shimazu T, Olson PD, Nagasawa K (2001) Caryophyllidean tapeworms (Platyhelminthes: Eucestoda) from freshwater fishes in Japan. *Folia Parasitol* 48: 275-288.
- Spratt DM (1997) Endoparasite control strategies: Implications for biodiversity of native fauna. *Int J Parasitol* 27 (2): 173-180.
- Svobodová Z, Pravda D, Paláčková J (1991) Unified methods of haematological examination of fish. Methods No. 20, Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodňany, Czech Republic, 31pp.
- Taylor PW, Roberts SD (1999) Clove oil: An alternative anaesthetic for aquaculture. *North Am J Aquacult* 61: 150-155.
- Thomas H, Andrews P, Mehlhorn H (1982) New results on the effect of praziquantel in experimental cysticercosis. *Am J Trop Med Hyg* 31: 803 – 810.
- Treves-Brown KM (2000) *Applied Fish Pharmacology*. Kluwer Academic Publishers. London, 309 pp.
- Varadaraj G, Subramaniam MA, Nagrajan B (1993) The effect of sublethal concentration of paper and pulp mill effluent on the hematological parameter of *Oreochromis mossambicus*. *J Environ Biol* 14(4): 321–325.
- Vutukuru SS, Prabhath NA, Raghavender M, Yerramilli A (2007) Effect of arsenic and chromium on the serum amino-transferases activity in indian major carp, *Labeo rohita*. *Int J Environ Res Public Health* 4(3): 224-227.
- Wegner DH (1981) Trial designs for multicentre clinical studies of investigational phases I b to III with Praziquantel. *Arzneimittel-Forsch* 31(3a): 566-567.
- Yeomans WE, Chubb JC, Swetting RA (1997) *Khawia sinensis* (Cestoda: Caryophyllidea) - an indicator of legislative failure to protect freshwater habitats in the British Isles. *J Fish Biol* 51 (5): 880-885.
- Zar JH (1996) *Biostatistical Analysis*, 3rd ed., Prentice-Hall, New Jersey, 718 pp.
- Žitňan R, Hanzelová V, Příhoda J, Košťan B (1981) Overenie účinnosti Taenifuginu carp pri liečení botriocefalózy kaprov pri nízkej teplote vody. *Veterinářství (Praha)* 17(23): 5

Internetové zdroje:

Anonym. *Pubchem* [online]. Dostupné z:

<<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=4891>>.

Anonym. *Redpoll pharmacy* [online]. Dostupné z:

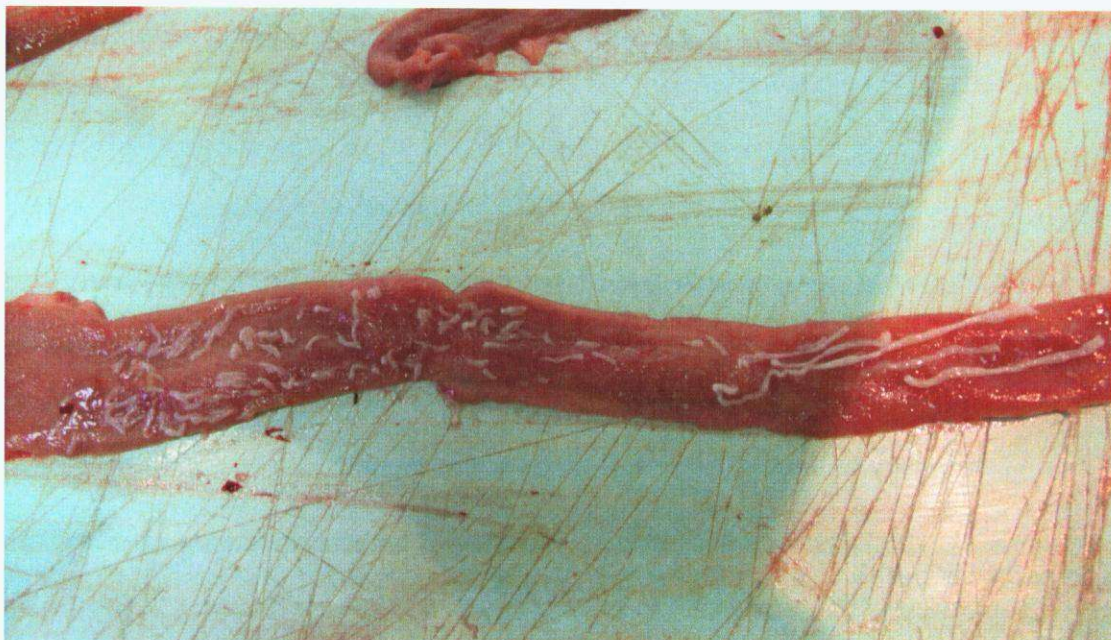
<<http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/drugbank/cgibin/getCard.cgi?CARD=EXPT02728>>.

Anonym. *Wikipedia* [online]. Dostupné z:

<<http://en.wikipedia.org/wiki/Praziquantel>>.

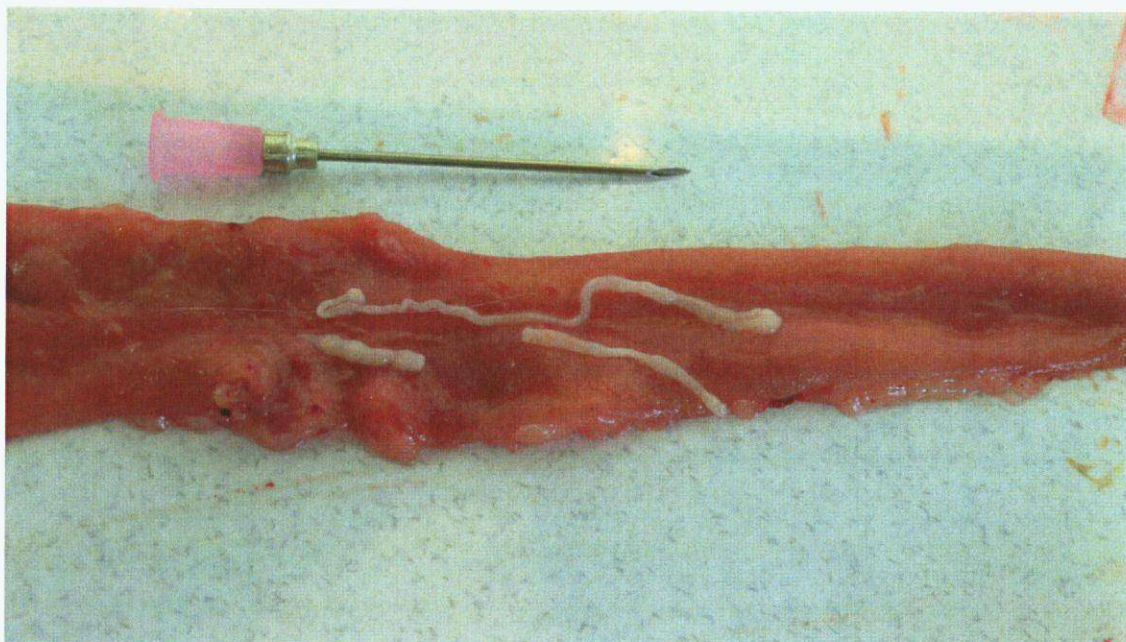
## 8. Přílohy

Příloha č.1: Nález *Atractolytocestus huronensis* a *Khawia sinensis* ve střevě kapra obecného (*Cyprinus carpio* Linnaeus) před aplikací praziquantelu



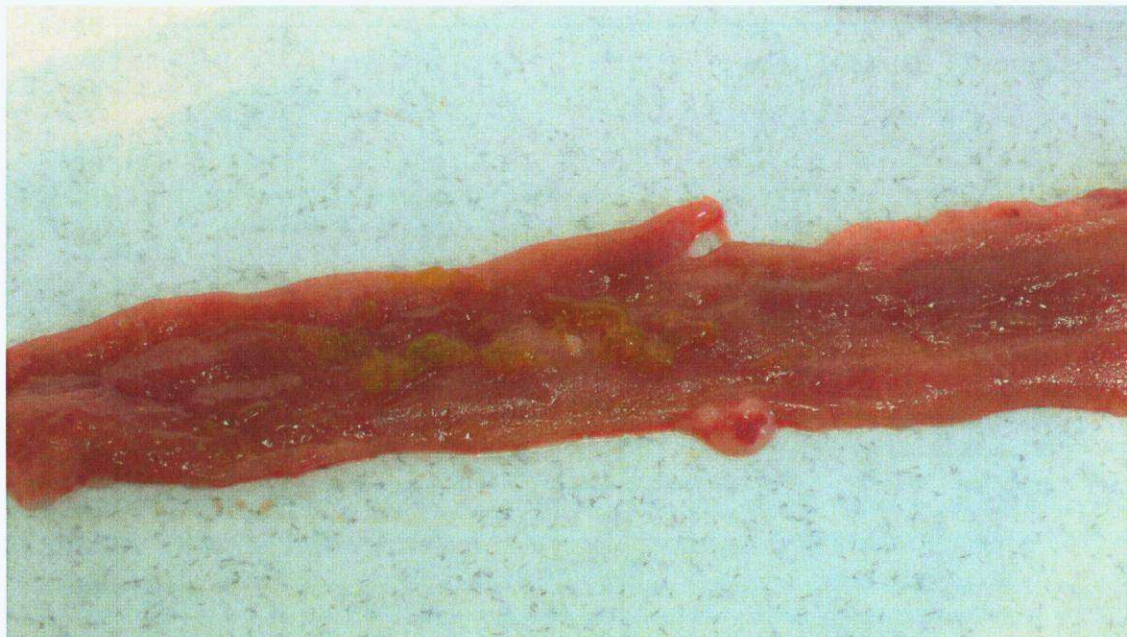
*Zdroj: vlastní výzkum*

Příloha č.2: Nález *Khawia sinensis* ve střevě kapra obecného (*Cyprinus carpio* Linnaeus) před aplikací praziquantelu



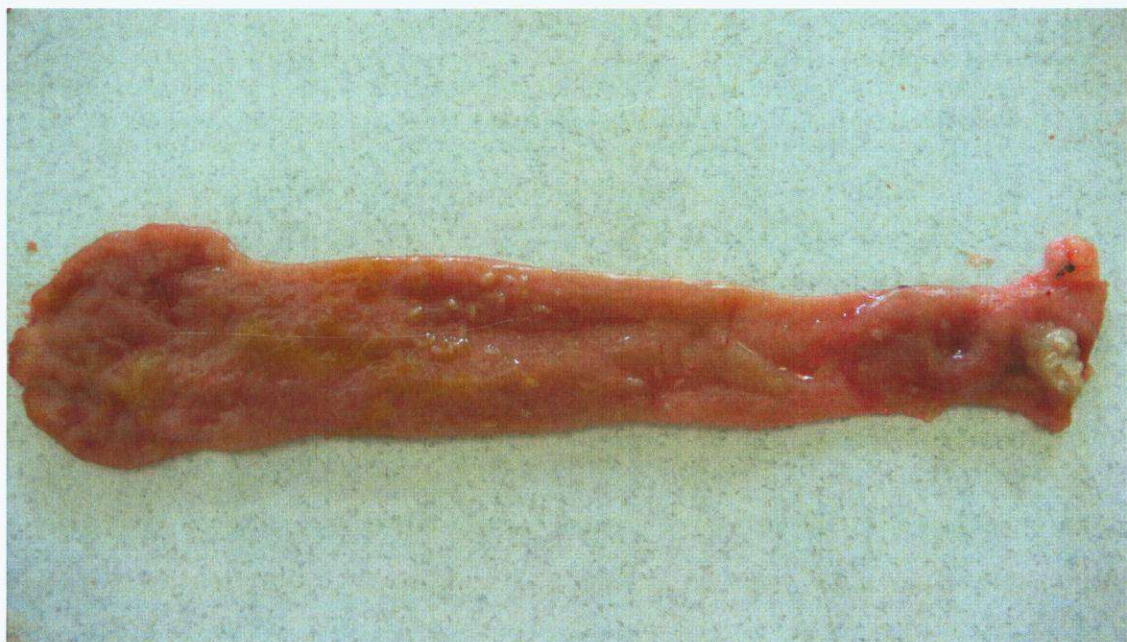
*Zdroj: vlastní výzkum*

Příloha č.3: Nález *Atractolytocestus huronensis* a *Khawia sinensis* ve střevě kapra obecného (*Cyprinus carpio* Linnaeus) 96 hodin po aplikaci praziquantelu



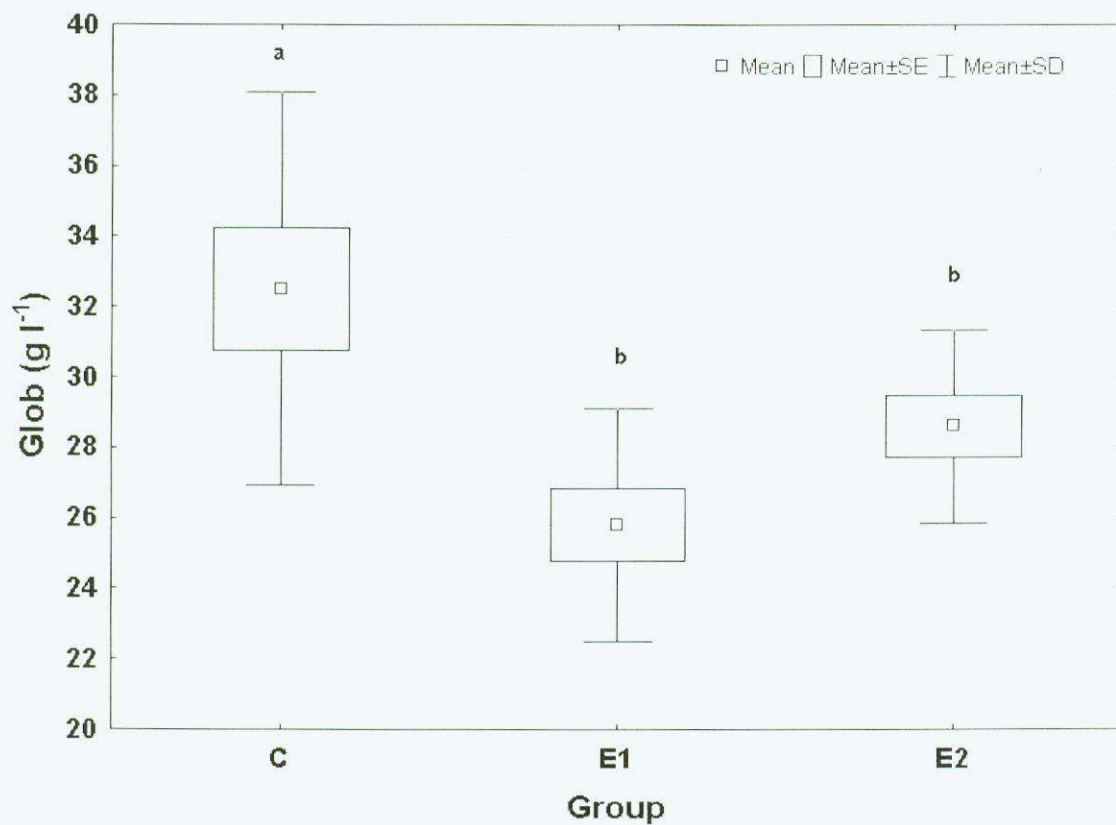
Zdroj: vlastní výzkum

Příloha č.4: Nález *Atractolytocestus huronensis* a *Khawia sinensis* ve střevě kapra obecného (*Cyprinus carpio* Linnaeus) 96 hodin po aplikaci praziquantelu



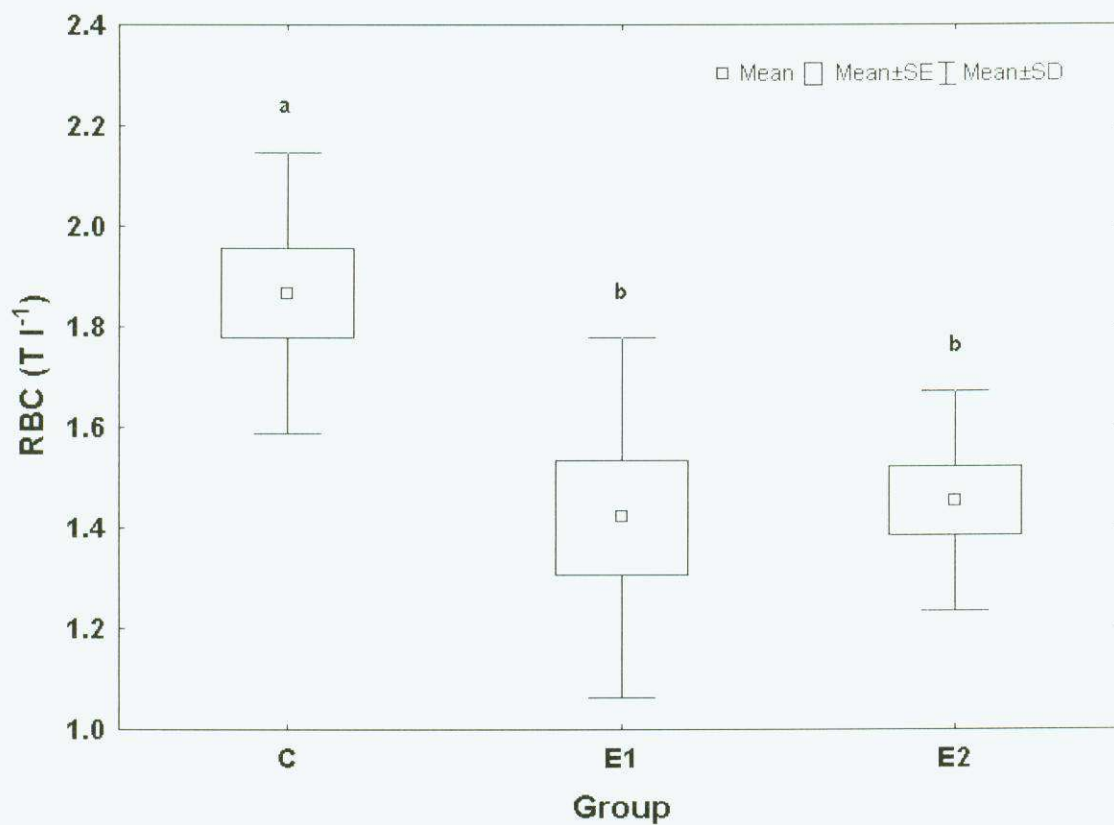
Zdroj: vlastní výzkum

Priloha č.5: Změny celkových globulinů (Glob) 24 hodin po aplikaci praziquantelu (skupiny s rozdílnými písmeny se liší na hladině statistické významnosti  $P < 0.05$  nebo  $P < 0.01$ .)



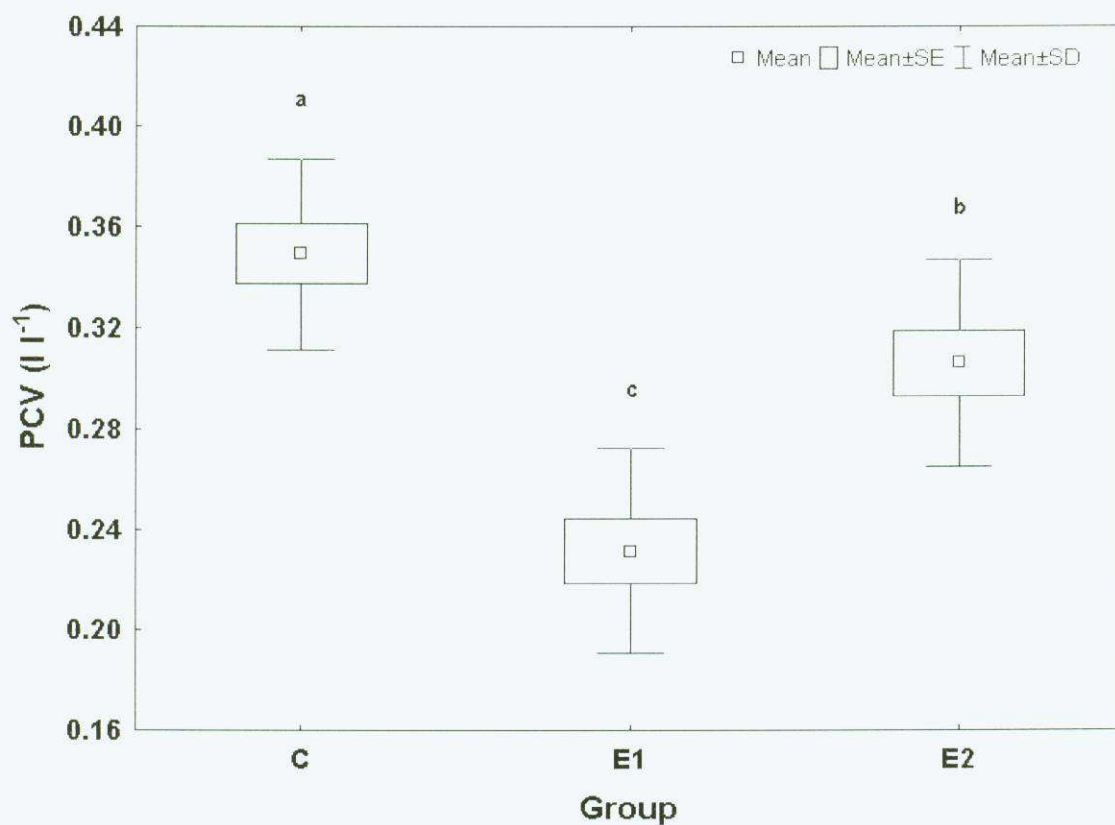
*Zdroj: vlastní výzkum*

Příloha č.6: Změny množství erytrocytů (RBC) 24 hodin po aplikaci praziquantelu (skupiny s rozdílnými písmeny se liší na hladině statistické významnosti  $P<0.05$  nebo  $P<0.01$ .)



*Zdroj: vlastní výzkum*

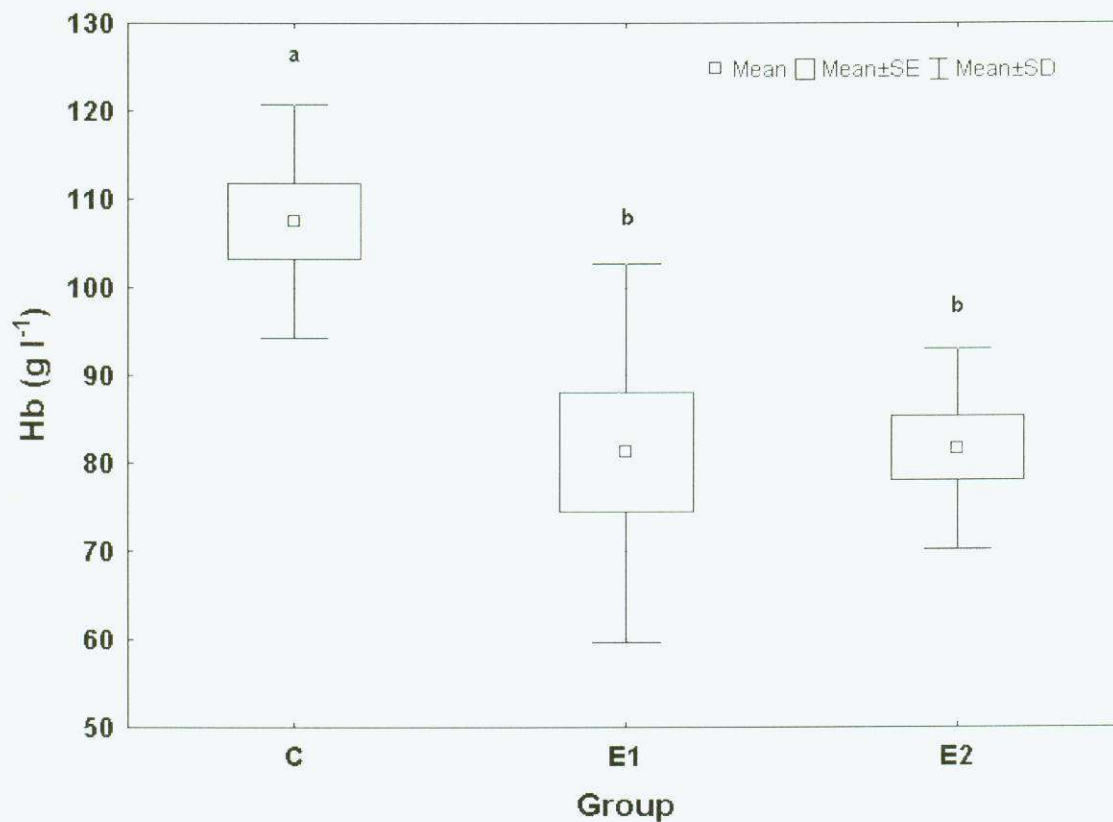
Příloha č.7: Změny hematokritu (PCV) 24 hodin po aplikaci praziquantelu (skupiny s rozdílnými písmeny se liší na hladině statistické významnosti  $P < 0.05$  nebo  $P < 0.01$ .)



*Zdroj: vlastní výzkum*



Příloha č.8: Změny koncentrace hemoglobinu (Hb) 24 hodin po aplikaci praziquantelu (skupiny s rozdílnými písmeny se liší na hladině statistické významnosti  $P<0.05$  nebo  $P<0.01$ .)



Zdroj: vlastní výzkum

