

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta rybářství a ochrany vod
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Diplomová práce

**Vliv antiparazitálních koupelí ryb na
hematologické a biochemické ukazatele**
(Influence of antiparasitic baths of fish on
haematological and biochemical indicators)

Autor: Bc. Jozef Mecko

Vedoucí diplomové práce: MVDr. Eliška Zusková, PhD.

Konzultant diplomové práce: Ing. Jana Máchová, PhD.

Studijní program a obor: Rybářství

Forma studia: Prezenční

Ročník: 2.

České Budějovice, 2013

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že, v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské (diplomové) práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentůpráce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích 10.května 2013

.....

Podpis

Poděkování

Rád bych poděkoval své vedoucí MVDr. Elišce Zuskové, PhD. za odborné vedení, cenné rady a velkou ochotu, se kterou mi pomáhala při zpracování mé diplomové práce.

Dále své konzultantce Ing. Janě Máchové, PhD. a Ing. Olze Valentové za metodické vedení a odbornou pomoc. Děkuji také všem pracovníkům Laboratoře vodní toxikologie a ichtyopatologie FROV JU ve Vodňanech, především dr hab. Ing. Josefovi Velíškovi, PhD. za pomoc a čas, který mi poskytli při přípravě podmínek pro mou práci.

Tato práce vznikla za finanční podpory výzkumného záměru VÚRH JU č. MSM6007665809 a národního dotačního programu MZe č.2A.e.1a.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta rybářství a ochrany vod
Akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jozef MECKO**
Osobní číslo: **V11N007P**
Studijní program: **N4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Rybářství**
Název tématu: **Vliv antiparazitálních koupelí ryb na hematologické a biochemické ukazatele**
Zadávací katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

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

Cílem práce je posoudit vliv vybraných antiparazitálních koupelí na zvolené biochemické a hematologické ukazatele. Na podkladě zjištěných výsledků pak upřesnit popřípadě doplnit aplikační schéma testovaných látek a tyto úpravy náležitě zdůvodnit.

Metodický postup: Vybrané druhy ryb budou nejdříve náležitě parazitologicky vyšetřeny a následně budou vystaveny antiparazitálním koupelím o doporučené koncentraci. Po proběhlé koupeli bude rybám odebrána krev na hematologické a biochemické vyšetření. Odebrané ryby budou následně opět parazitologicky vyšetřeny. Na podkladě parazitologických vyšetření bude vyhodnoceno působení antiparazitálních koupelí na parazitální prevalenci. Dále bude dle výsledků hematologických a biochemických parametrů posuzován vliv koupele na zdravotní stav ošetřených ryb.


Rozsah grafických prací: 5 - 10 stran
Rozsah pracovní zprávy: 30 - 40 stran
Forma zpracování diplomové práce: tištěná
Seznam odborné literatury:

Treves-Brown KM. 2000: Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 310 pp
Svobodová Z. 2007: Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb. 4. vyd., Informatorium, Praha, 264 s.
Svobodová Z., Pravda D., Paláčková J. 1986: Jednotné metody hematologického vyšetřování ryb. Edice metodik, VÚRH Vodňany 22, 36 s.
Kouřil J, Svobodová Z, Vykusová B, Hamáčková J. 1984: Antiparazitární a protiplísňové koupele raného plůdku kapra, býložravých ryb a sumce. Edice metodik, VÚRH Vodňany 8 s.
Noga EJ. 1995: Fish Disease. Diagnostic and Treatment. Mosby-Year Book, St. Louis, 367 pp.
Řehulka J. 2006: Hematologická a biochemická charakteristika krve ryb při zdravotních poruchách a změnách výživy. habilitační práce (http://oldwww.upol.cz/fileadmin/user_upload/PrF-dokumenty/Vedecka_rada/Habilitace_a_profesury/Rehulka_Jiri/hab.prace-Rehulka.pdf)

Vedoucí diplomové práce: **MVDr. Eliška Zusková, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický
Konzultant diplomové práce: **Ing. Jana Máchová, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický
Datum zadání diplomové práce: **2. prosince 2011**
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2013**


prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan

L.S.


doc. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 3. února 2012

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Literární přehled	9
2.1 Léčebné koupele ryb	9
2.1.1 Aplikace léčebných látek do vodního prostředí.....	9
2.1.2 Druhy léčebných koupelí	10
2.3 Zásady při provádění léčebných koupelí ryb	13
2.3.1 Zákonná opatření	13
2.3.2 Zásady hygieny a bezpečnosti	14
2.3.3 Testy snášenlivosti koupelí	14
2.3.4 Pravidelná kontrola zdravotního stavu obsádek ryb	15
2.2.5 Ochranná lhůta u potravinových ryb	16
2.3.6 Stanovení druhu léčebné koupele	16
2.3.7 Sledování fyzikálně chemických vlastností vody	17
2.4 Stručný přehled přípravků používaných pro léčebné koupele ryb	18
2.5 Formaldehyd	22
2.5.1 Popis.....	22
2.5.2 Spektrum účinnosti	22
2.5.3 Bezpečnostní opatření	23
2.5.4 Zásady provádění koupele ve formaldehydu	23
2.5.4 Příprava koupele	24
2.6 Kyselina peroctová	25
2.6.1 Popis.....	25
2.6.2 Mechanismus účinku	25
2.6.3 Bezpečnostní opatření.....	26
2.6.2 Spektrum účinnosti	27
2.6.3 Příprava koupele	28
2.7 Hematologické vyšetření	31
2.7.1 Stanovení hematologických ukazatelů červeného krevního obrazu ryb.....	31
2.7.2 Základní hodnoty erytrocytů.....	32
2.7.3 Stanovení ukazatelů bílého krevního obrazu	32
2.7.4 Trombocyty.....	35
2.7.5 Stanovení biochemických ukazatelů v krevní plazmě ryb.....	37

3. Experimentální část.....	42
3.1 Materiál a metodika	42
3.1.1 Testy vyhodnocování vlivu KPO na plůdku kapra obecného.....	42
3.1.2 Vyšetření hematologického profilu ryb	47
4 Výsledky	48
5 Diskuze	56
6 Závěr	62
7 Přehled použité literatury	63
8 Seznam zkratk	68
9 Seznam tabulek	69
10 Přílohy.....	71
11 Souhrn.....	81

1 Úvod

Terapeutické koupele v léčivech rozpustných nebo rozptýlených ve vodě se používá v intenzivních chovech ryb stále častěji (Lucký, 1986). Vzhledem k zákazu dříve používaných léčiv, která odporovala zásadám farmakovigilance, je nutné hledat nové vyhovující a hlavně účinné přípravky vhodné k terapeutické aplikaci u ryb.

Přidávání léčivých látek do vody je zaměřeno především na tlumení ektoparazitárních, plísňových a bakteriálních onemocnění povrchu těla a žaber. Léčebné zásahy by měli být prováděny, jen v případě, kdy nemoc bezprostředně ohrožuje život nebo prosperitu ryb. Proto jsou léčebné postupy řešením nouzovým, které se volí až v případě zanedbané prevence (Kolářová a Svobodová, 2009).

V intenzivních akvakulturách, kde bývá udržována vysoká obsádka ryb, při krmení neplnohodnotnou potravou, nižší hygieně chovu a při chovu na oteplené vodě často dochází k propuknutí onemocnění, která jsou v klasickém rybničním chovu diagnostikována jen výjimečně. Včasnou identifikací původce onemocnění a vhodnou aplikací účinné preventivní koupele můžeme zabránit vzniku onemocnění nebo jej utlumit na samém počátku (Kouřil a kol., 1984).

Cílem této diplomové práce je posoudit vliv vybraných antiparazitárních koupelí na zvolené biochemické a hematologické ukazatele. Vybrané druhy ryb byly vystaveny antiparazitárním koupelím o doporučené koncentraci a následně jim byla odebrána krev na hematologické a biochemické vyšetření. Na podkladě výsledků hematologických a biochemických parametrů byl posouzen vliv testovaných látek na zdravotní stav ryb a bylo zhodnoceno aplikační schéma testovaných látek. Dále byly ryby histopatologicky vyšetřeny a výsledky vyšetření vyhodnoceny.

Experimentální část byla provedena formou laboratorních pokusů na kapru obecném (*Cyprinus carpio*) lysé a šupinaté formě. Měření jsem prováděl na Jihočeské univerzitě, Fakultě rybářství a ochrany vod ve Vodňanech, v laboratoři Vodní toxikologie a nemocí ryb. Histopatologické vyšetření bylo provedeno na Veterinární a farmaceutické univerzitě v Brně.

2 Literární přehled

2.1 Léčebné koupele ryb

2.1.1 Aplikace léčebných látek do vodního prostředí

Aplikace léčebně působících látek do vody je cílena hlavně na tlumení ektoparazitárních, plísňových a bakteriálních onemocnění žaber a povrchu těla ryb (Noga, 2000). Použitá látka působí přímo na povrchové původce chorob kůže a žaber a po vstřebání léčiva nepřímo na původce vnitřních chorob (Lucký, 1986). Při použití léčiv k tlumení vnitřních nemocí je třeba provádět koupele dlouhodobé (Svobodová a kol., 2007). Léčebné koupele se provádějí jak při akutním průběhu choroby, tak i ve formě preventivních koupelí při opakovaném vyšetření rybích obsádek (Lucký, 1986). Některé preventivní koupele se mohou používat i bez předchozího nálezu původců onemocnění. Provádí se obvykle širokospektrální druh koupele působící na nejčastěji vyskytující se onemocnění (Kouřil a kol., 1984). Koupele jsou vhodné pro rychlé ošetření většího počtu ryb a lze je dobře použít v rámci technologických postupů při odchovu ryb (Kolářová a Svobodová, 2009). Mimoto jsou na rozdíl od přípravků podávaných v krmivu dobře aplikovatelné pro nemocné ryby, které nepřijímají potravu a pro herbivorní ryby (Treves-Brown, 2000). Většina léčebných prostředků je pro ryby ve vyšších dávkách toxická, a proto je třeba dodržet přesný postup léčebné koupele (Lucký, 1986). Žábry ryb jsou permanentně v kontaktu s vodou a v ní aplikovanou chemikálií, proto jsou velmi ohrožené potenciálně zvýšenou toxicitou. Na žábrách, tak může dojít k poruše výměny plynů, dušení, nadměrné produkci hlenu a následně k narušení osmotické rovnováhy organismu (Treves-Brown, 2000). Také některé druhy ryb bez šupin (sumci, mřenky) bývají k léčebným koupelím citlivější (Noga, 2000). Použití antibakteriálních koupelí není vhodné provádět v uzavřených chovech, které používají biofiltr, protože ho degradují (Treves-Brown, 2000).

K aplikaci léčebných postupů se přistupuje až v případě, kdy stupeň nemoci bezprostředně ohrožuje život nebo užitkovost ryb. Také v případě, že se předpokládá ohrožení ryb v blízkém období. Léčebné postupy by proto měli být brány jako opatření nouzová a přistupovat by se k nim mělo až po neúčinné prevenci (Kolářová a Svobodová, 2009).

Léčebné koupele lze dle doby trvání rozdělit na (Svobodová a kol., 2007):

- Ponořovací (maximálně 5 minut)
- Krátkodobé (5 minut – 2 hodiny)
- Dlouhodobé (2 hodiny – několik dní)

2.1.2 Druhy léčebných koupelí

Ponořovací koupele

Ponořovací koupele trvají maximálně 5 min. a jsou v rybníkářství používány nejčastěji. Provádí se ve vhodných nádobách při přesazování ryb při výlovu, kdy byla na základě vyšetření doporučena léčebná koupel (Lucký, 1986). Při ponořovací koupeli se používají poměrně vysoké koncentrace účinných látek (Kolářová a Svobodová, 2009). Ryby jsou jen krátce ponořeny do koupele připravené odděleně od ostatních ryb a následně vráceny zpět. Je doporučeno používat vodu z rybníka nebo nádrže, ve které jsou ryby chovány, aby se tak minimalizoval chemický a teplotní stres. Ponořovací koupele vyžadují více pracovních sil a měl by se tak brát v potaz i jejich ekonomický aspekt (Noga, 2000).

100l léčebného roztoku je možno použít pro koupel cca 20 – 30 kg ryb. Připravený léčebný roztok musí být vždy čerstvý a je možno ho použít 5 – 10x podle stupně znečištění a zahlenění. Použitý roztok z léčebné koupele se vypouští mimo chovné prostředí. (Lucký, 1986)

Výhodou odděleně prováděných ponořovacích koupelí je možnost jejich použití u odchovů a recirkulačních systémů kde jsou použity filtry pro nitrifikaci, protože by je mohli inaktivovat. Nicméně například léčebné koncentrace formaldehydu, nemají na funkčnost biologických filtrů vliv. (Noga, 2000).

Do roztoku léčiva se ryby ponoří v podběráku nebo keseru. Dále je třeba dodržovat u jednotlivých přípravků bezpečnostní opatření a doporučení, jako např.: Koupel v chloridu sodném se nesmí provádět v pozinkovaných nádobách, protože zde vzniká pro ryby toxický chlorid zinečnatý (Lucký, 1986).

Krátkodobé koupele

Krátkodobé koupele trvají obvykle 5 minut – 2 hodiny (Kolářová a Svobodová, 2009) a je možné je provádět přímo v odchovném zařízení, kde je možno rychle obměnit vodu (Lucký, 1986). Jsou to například průtočné systémy, kde není voda recirkulována (Noga, 2000). Dále se mohou léčebné koupele provádět v akváriích, v laminátových nádržích, kádích, laminátových žlabech, v betonových nebo zemních sádkách nebo přímo v rybnících (Kolářová a Svobodová, 2009). V chovu lososovitých ryb se mohou uskutečnit krátkodobé koupele také v přístrojích pro inkubaci jiker a líhnutí plůdku, v pstruhových rybníčcích a odchovných žlabech. Krátkodobé koupele se provádějí preventivně léčebně (Lucký, 1986).

Také je možné provádět krátkodobé koupele během převozu ryb v přepravních bednách, jestliže převoz bude trvat stejnou nebo kratší dobu, než je expoziční doba léčebné lázně (Kolářová a Svobodová, 2009). Po přelovení ryb do přepravní bedny se aplikuje rozpuštěná nebo rozředěná dávka léčiva, kterou si ryby sami svým pohybem rozmíchají (Lucký, 1986).

V průtočných systémech se musí nejdříve zastavit odtok a následně se aplikuje léčivo. Po době vhodné pro působení léčebného přípravku se odtok obnoví a medikovaná voda odteče. Výsledkem je postupně klesající koncentrace léčiva, které se postupně naředí čistou přítokovou vodou a ošetřená voda se vymývá. Nicméně je těžké v průtočném systému udržet stálou koncentraci léčebné látky (Noga, 2000). V průtočných odchovech by se proto neměli používat léčiva s vysokou toxicitou, protože nejsme schopni zaručit jejich rovnoměrné dávkování (Piper a kol., 1982). Ryby obvykle z dosahu léčivé látky odplavou, a proto se doporučuje snížit, nebo jak již bylo zmíněno zastavit, po vhodné době odtok (Treves-Brown, 2000).

U rybníčních systémů se mohou kapři soustředit například do sádky s vydatným přítokem vody. Po jednodenním hladovění a aklimatizaci na nové prostředí, kdy dojde také k odplavení hlenu a výkalů ryb, se provede léčebná koupel (Lucký, 1986). Před krátkodobou koupelí se ryby nekrmí, aby se nezvyšovaly nároky na kyslík (Kolářová a Svobodová, 2009). U rybníků a nádrží s výměnou vody menší, než je obměna celkového objemu vody za jednu hodinu, mohou vznikat tzv. mrtvá místa, kde je nízká nebo žádná koncentrace léčebné látky. Tato místa je pak třeba ošetřit individuálně (Warren, 1981).

Léčebná látka se přesně odváží a rozpustí čímž se připraví aplikační roztok v menším množství vody. Po zastavení přítoku vody se hladina rovnoměrně postříká zředěným léčebným prostředkem. Je dobré mít označeny výšky hladin u nádrží, značící příslušný objem, na který byla koncentrace léčebné koupele přepočítávána (Kouřil a kol., 1984). Koupel se doporučuje provést v období, kdy voda v nádrži je dostatečně okysličená (Lucký, 1986), případně před samotnou koupelí instalovat aerační zařízení a zajistit tak dostatečné okysličení vody (Kouřil a kol., 1984). Při zahájení léčby se začne měřit čas a během koupele se ryby pozorují. V případě výrazných změn v chování ryb se léčebná lázeň ukončí v kratším čase. Nejvíce napadení jedinci obvykle uhynou i při léčebné koupeli, tyto ryby je nutné z koupele ihned odstranit (Kolářová a Svobodová, 2009).

Do lázně se dávají ryby v poměru k objemu vody 1:3 – 4 (30kg ryb na 100l vody) (Lucký, 1986). Lázeň se pak obnovuje obvykle po vykoupání 5 - 10 dávek ryb. V koupeli je tolik ryb, aby se mohly dobře pohybovat a aby byl umožněn přístup léčebného roztoku k celému povrchu těla ryb (Kolářová a Svobodová, 2009).

Před ukončením expoziční doby se do sádky zavede maximální přítok vody, který léčebnou koncentraci rychle rozředí. Po uplynutí expoziční doby by mělo být léčivo značně naředěno (Lucký, 1986). Koupel je proto vhodné provádět v menším objemu vody, než je plná kapacita odchovné nádrže (Kouřil et. al, 1984). Ošetřené ryby se přemístí do nádrže se silným přítokem čisté vody, aby se plně zotavily (Lucký, 1986).

Ihned po koupeli (nejpozději do 1 dne po provedení koupele) se provádí ověření účinnosti provedených léčebných koupelí, a to makroskopicky i mikroskopicky po propláchnutí ryb v čisté vodě (Kolářová a Svobodová, 2009).

Nejběžněji se tyto léčebné procedury využívají v chovech ryb jako antiparazitární a protiplísňové opatření (Noga, 2000).

Dlouhodobé koupele

Dlouhodobé koupele trvají 2 hodiny až několik dní (Kolářová a Svobodová, 2009) a neměli by být pro ošetřované ryby toxické (Lucký, 1986). Při uskutečnění dlouhodobých koupelí se látka aplikuje jednorázově do přítoku nebo se rovnoměrně rozptyluje na hladinu rybníka. (Kolářová a Svobodová, 2009). U kaprů se dlouhodobé koupele prosazují zvláště v intenzivních chovech, ve kterých je třeba ošetřit velké množství ryb. Koupele se provádějí většinou u kapřího plůdku před

výlovem z komory na jaře, a to 2 – 3 dny před vypouštěním komory, kdy obsahuje ½ až ⅓ vody. Dále se mohou provádět na podzim, a to 3 – 5 dní po vysazení ryb do komory, která má být také jako u předchozí aplikace napuštěna jen do poloviny. Preventivní koupel trvá 1 – 2 dny a během koupele se nepřerušuje přítok, ani odtok vody. Ošetření ryb má být provedeno při pH vyšším než 8 a při teplotě vody 12 – 15°C (Lucký, 1986).

Dlouhodobou koupel lze provést i v malé vodní nádrži bez vypouštění vody, v sádce, odchovném žlabu apod. Během koupele se voda uměle prokysličuje aerací a recirkulací vody.

Při dlouhodobých koupelích, které trvají více dní (7 – 10), se účinnost prostředku vlivem světla, chemismu vody i dna a teploty postupně snižuje. Po 1 – 2 dnech se nádrž s roztokem léčiva postupně vypustí a nahradí čerstvou vodou, do které se přidá nová dávka léčiva (Lucký, 1986). Ošetření celých chovných nádrží a rybníků léčebnými přípravky se provádí jen výjimečně, pokud je obsádka ryb bezprostředně ohrožena probíhajícím onemocněním (Kolářová a Svobodová, 2009).

Dlouhodobé koupele se provádí v chovných nádržích jen tehdy, pokud se v nich nevyskytuje větší množství přirozené rybí potravy (plankton, bentos) (Lucký, 1986). Je třeba si uvědomit, že léčebné prostředky nelikvidují jen původce onemocnění, ale i organismy potravního řetězce a snižují tak úživnost nádrže (Kolářová a Svobodová, 2009). Při dlouhodobých několikadenních koupelích se ryby přikrmují (Svobodová a kol., 2007), v chovech lososovitých ryb se přikrmuje granulovaným krmivem (Lucký, 1986).

2.3 Zásady při provádění léčebných koupelí ryb

Aby léčebné koupele byly prospěšné a nepůsobily úhyny ryb či neovlivňovaly negativně obsádku, musí být dodržovány následující zásady:

2.3.1 Zákonná opatření

Podle zákona O veterinární péči (č. 166/1999 Sb. Ve znění pozdějších předpisů) je chovatel ryb povinen sledovat zdravotní stav chovaných zvířat a v odůvodněných případech jim včas poskytnout odbornou veterinární pomoc. Ze stejného zákona vyplývá zásada o podávání léčivých přípravků. Jejich výdej je vázán na předpis

veterinárního lékaře, jejich aplikace zvířatům je pak možná jen se souhlasem veterinárního lékaře a podle jeho pokynů (Kolářová a Svobodová, 2009).

Všechny použité a naředěné roztoky z léčebných koupelí se pak likvidují mimo vodní zdroje v souladu s požadavky ochrany životního prostředí. Necháávají se například vsáknout do země tam, kde nehrozí nebezpečí znečištění a průsaku do podzemních vod nebo odtoku do recipientů (Kouřil a kol., 1984). Roztoky z léčebných koupelí se také mohou zneškodnit sorpcí na aktivní uhlí, které se pak předá firmě oprávněné k likvidaci odpadů a voda se vypustí do kanalizace (Kolářová a Svobodová, 2009). Při vypouštění použitých roztoků z léčebných koupelí mimo rybářský objekt je třeba respektovat zákonná opatření k ochraně jakosti povrchových vod (Zákon č.254/2001 Sb. O vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon), Nařízení vlády č.61/2003 Sb. O ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech).

U tržních ryb je obecným požadavkem neprovádět léčebné koupele před dodáním ryb na trh. Ochrannou lhůtu před konzumací ryb pak určí veterinární lékař (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.3.2 Zásady hygieny a bezpečnosti

Protože některé látky používané k léčebným koupelím, mohou (obzvláště v koncentrované formě, jako např. formaldehyd) poškodit pokožku nebo zrak pracovníků, je třeba používat ochranné pomůcky, jako jsou gumové rukavice, obuv, protichemické brýle či štíty z plexiskla (Kouřil a kol., 1984). Neméně důležitá je také ochrana proti výparům některých látek (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.3.3 Testy snášenlivosti koupelí

Před provedením jakéhokoliv druhu léčebné koupele je třeba vždy provést tzv. zkoušku snášenlivosti. Zkouška se provádí jako biologický pokus na několika rybách. Při testu se zjišťuje neškodnost léčebné koupele pro danou rybí obsádku za daných podmínek v dané koncentraci. Provedení zkoušky snášenlivosti se doporučuje udělat především před léčebnou koupelí u akvarijských ryb, protože citlivost jednotlivých druhů těchto ryb je k léčivům velmi rozdílná (Kolářová a Svobodová, 2009). Rovněž

u raného plůdku byla uprotiplísňových a antiparazitárních koupelí zjištěna vysoká variabilita citlivosti (Kouřil a kol., 1984). Pokud, je účinek koupele negativní nebo došlo k úhynu ryb při zkoušce snášenlivosti, je nutné kontaktovat osobu, která léčbu předepsala. Po konzultaci je pak vhodné navrhnout jinou léčbu nebo snížit koncentraci léčebné látky (Svobodová a kol., 2007). Na individuální snášenlivosti koupelí se podílí mnoho faktorů jako je velikost a stáří ryb, stupeň nakrmenosti, kondiční stav, čistota použitého přípravku, přesnost koncentrace aplikovaného přípravku, vliv fyzikálních a chemických vlastností vody (pH, tvrdosti, množství organických látek, teploty), ovlivnění kvality vody samotnou obsádkou ryb, způsob ukončení koupele (vylovení obsádky ryb nebo silné naředění) aj. (Kouřil a kol., 1984).

2.3.4 Pravidelná kontrola zdravotního stavu obsádek ryb

Základním předpokladem pro zařazení léčebných koupelí do technologických postupů je včasné provedení vyšetření zdravotního stavu ryb, a to před zahájením samotné manipulace s rybami. Na podkladě výsledků vyšetření je poté nutné provést doporučení konkrétní léčebné koupele (Kolářová a Svobodová, 2009). Zdravotní stav obsádek ryb se neustále preventivně kontroluje, aby mohla být v případě potřeby pohotově zvolena a aplikována nejúčinnější léčebná koupel (Svobodová a kol., 2007).

Nemocné ryby mohou projevoval různé změny chování, které se nazývají klinické příznaky. Z tohoto důvodu je třeba znát normální chování a reakce jednotlivých druhů ryb a dokázat je odlišit od nenormálního chování. Při vyšetřování zdravotního stavu ryb jsou posuzovány základní životní reflexy (únikový reflex, obranný reflex, oční a ocasní reflex). Mezi nejfrekventovanější nespecifické klinické příznaky onemocnění patří malá pohybová aktivita, nechutenství, dušení nebo shromažďování se u přítoku s kyslíkatější vodou. V pokročilejším stádiu může u ryb docházet k nervovým příznakům, jako jsou křeče, prudké výskoky nad hladinu nebo záškuby těla (Lucký, 1986).

Kontrola zdravotního stavu se provádí na líhních při umělém odchovu raných stádií plůdku ryb 2krát týdně. Ve vysoce produktivních intenzifikačních rybnících s průmyslovými prvky chovu, na pstruhařstvích a ve speciálních zařízeních s oteplenou vodou se kontrola ryb provádí v týdenních intervalech (Svobodová a kol.,

2007). V různých odchovných nádržích lze pozorovat chování ryb obvykle dobře v celém vodním sloupci (Lucký, 1986). Ostatní obsádky (zejména rybniční chovy) se vyšetřují jednou měsíčně (Svobodová a kol., 2007). Posuzování ryb ve větších rybnících bývá díky nižší průhlednosti a plovoucím porostům často obtížné (Lucký, 1986). Kontrola zdravotního stavu se provádí vždy přímo před výlovem, před transportem ryb nebo vysazováním obsádky ryb, tedy v období, kdy je možné nejspíše provést ošetření ryb léčebnou koupelí (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.2.5 Ochranná lhůta u potravinových ryb

U produkčních chovů, které spadají do kategorie potravinových zvířat, nelze aplikovat léčivo, u kterého nebyl stanoven maximální reziduální limit (dále jen MRL). Potravinová zvířata jsou taková, která sama nebo produkty z nich mohou být využita k výživě lidí. MRL je pak maximální množství látky, které lze v požitelné tkáni akceptovat u každého cílového druhu zvířat, pro který je daná farmakologická látka určena. Na základě MRL se stanoví ochranná lhůta (dále jen OL) jako doba, kdy nelze potravinová zvířata dodat pro lidský konzum. OL se u ryb vyjadřuje v denních stupních. Jeden denní stupeň představuje průměrnou denní teplotu 1°C po dobu 1 dne (24 hod). Pokud není ochranná lhůta stanovena výrobcem, přiřazuje se dané látce nejdelší ochranná lhůta. Pro ryby je to 500 denních stupňů (č.166/1999 Sb., O veterinární péči). U potravinových ryb je možné používat pouze léčiva registrovaná Ústavem pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv v Brně. Jednorázově lze použít i dovezený léčivý přípravek registrovaný v EU, kdy výrobce může zajistit registraci v dalším státě EU. Neregistrované přípravky je možné použít na základě výjimky, kterou v ČR uděluje Státní veterinární správa ČR (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.3.6 Stanovení druhu léčebné koupele

Podle výsledků vyšetření zdravotního stavu ryb je stanoven druh léčebné koupele. Většina léčebných přípravků je pro ryby ve vyšších koncentracích toxická, proto je třeba dodržovat přesný postup koupele. Hlavním předpokladem léčivého preparátu určeného k přípravě léčebné koupele ryb je jeho dobrá rozpustnost ve vodě a také snadná rozložitelnost ve vodním prostředí. Koncentraci přípravku pro koupel ryb je

třeba přesně vypočítat na objem vody, ve kterém se bude koupel provádět (Kolářová a Svobodová, 2009). Je vhodné dobře odhadnout množství přípravku s tolerancí +/- 10%. U větších rybníčních systémů, může být překročení této hranice značně neekonomické (Boyd, 1990). Při předávkování by zase mohlo dojít k otravě ryb (Kolářová a Svobodová, 2009). Nicméně absorpce léčebné látky se liší jak mezi přípravky, tak mezi různými druhy ryb (Treves-Brown, 2000). Kůže ryb je permeabilní pro nepolární molekuly rozpustné ve vodě (Ototake a kol., 1996). Při poddávkování by se mohla snížit účinnost léčiva, což vede nejen k neefektivní léčbě, ale také ke vzniku rezistence (odolnosti vůči léčivu) u původců onemocnění (Kolářová a Svobodová, 2009).

Pokud je koncentrace léčivého přípravku stanovena ve dvou mezních hodnotách, nižší se aplikuje u mladších nebo oslabených ryb a vyšší u ryb starších nebo ryb v dobré kondici. Léčivo se aplikuje do vody formou připraveného naředěného roztoku, který se rozstříká na hladinu. Některé látky od různých výrobců, zejména neregistrované, se různí v účinnosti a toxicitě a někdy se dokonce liší i různé šarže od stejného dodavatele. Proto se doporučuje u nových léčivých přípravků provést test toxicity na rybách. U látek používaných k dlouhodobému ošetření ryb v nádržích a v rybnících je požadován terapeutický index hodnoty 4 nebo vyšší, optimálně 10 (terapeutický index udává, kolikrát je hodnota LC dané látky pro ryby vyšší ve srovnání s LC pro původce onemocnění). Látky a přípravky, které se používají ke koupelím, by měli být vždy čerstvé a v původních obalech (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.3.7 Sledování fyzikálně chemických vlastností vody

Při přípravě koupelového roztoku je třeba používat čistou nezávadnou vodu. Fyzikálně chemické vlastnosti vody ovlivňují činnost léčebných prostředků i jejich toxicitu vůči rybám. Nejvýznamnější jsou teplota vody, pH vody, koncentrace organických látek, kyselinová neutralizační kapacita do pH 4,5 (KNK_{4,5}), suma Ca + Mg a jiné. Zvýšená teplota vody zvyšuje účinnost, ale také toxicitu všech léčebných látek. Proto se před každou léčebnou koupelí měří teplota vody. Zvýšená koncentrace organických látek snižuje účinnost a toxicitu některých látek (KmnO₄, látek a

přípravků s obsahem Cu, aj.). Účinnost a toxicitu přípravků s obsahem Cu dále ovlivňuje pH vody, $KNK_{4,5}$ a suma Ca + Mg (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.4 Stručný přehled přípravků používaných pro léčebné koupele ryb

Akriflavin (trypaflavin) je krystalický prášek rozpustný ve vodě s terapeutickým indexem okolo 5. Uplatňuje se ve formě dlouhodobých koupelí (koncentrace 10 mg.l⁻¹ po dobu 10 hodin) především v akvaristice. V produkčním rybářství se z důvodu potřeby dlouhodobé expozice a finanční náročnosti zatím významně neuplatnil. Akriflavin se používá k potlačení protozoárních parazitů a povrchových bakteriálních onemocnění ryb. (Svobodová a kol., 2007)

Amoniak se používá ve formě 26% vodného roztoku. Amoniak z vody rychle vyprchá a tak se musí k léčebné koupeli ryb vždy připravit čerstvý roztok. Amoniak se používá v kombinaci s trypaflavinem (akriflavinem) ve formě krátkodobých koupelí se spektrem účinnosti proti druhům rodu *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Diplozoon*, *Trichodina*, *Trichodinella* a *Chilodonella*. Doba koupele závisí na teplotě vody. Poslední dobou se ustupuje od používání amoniakální a trypaflavinové koupele kvůli vysoké toxicitě amoniaku pro ryby při vyšší teplotě vody a při vyšší hustotě pH. V podmínkách, kde je možno kontrolovat fyzikálně chemické vlastnosti vody je možno tuto koupel s úspěchem použít (Svobodová a kol., 2007).

Azamethiphos je účinnou látkou přípravku Salmosan plv., který je registrovaný v zemích EU a lze ho na výjimku Státní veterinární správy ČR použít u potravinových ryb. Používá se rovněž k likvidaci ektoparazita druhu *Copepoda* (Svobodová a Kolářová, 2009).

Bronopol je účinnou látkou přípravku Pyceze sol., který je registrovaný v zemích EU a lze ho na výjimku Státní veterinární správy ČR použít u jiker potravinových ryb. Je účinný při mykotických onemocněních (*Saprolegnia sp.*) jiker ryb (Svobodová a Kolářová, 2009).

Cypermethrin je účinnou látkou Excis sol., který je registrovaný v zemích EU a lze ho na výjimku Státní veterinární správy ČR použít u potravinových ryb. Používá se k likvidaci ektoparazita druhu *Copepoda* (Svobodová a Kolářová, 2009). Dříve se používal k medikaci v krmivu, ale díky toxicitě vůči rybám a obratlovcům se začal používat ve formě koupelí, které jsou bezpečné (Noga, 2000).

Diazinon patří do skupiny organofosfátů. Přípravek výrazně redukuje hrubý zooplankton a zlepšuje kyslíkové poměry v rybniční vodě. Aplikaci Diazinonu 60 EC může provádět pouze držitel výjimky ze zákona. (Svobodová a Kolářová, 2009).

FMC je oblíbeným preparátem u akvaristů (složení je 3,5 g malachitové zeleně, 3,5 g metylenové modři v 1000 ml 36-40% formaldehydu). Koupel je používána zejména při indikaci druhů rodu *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Trichodinella* a při povrchovém zaplísnění (Svobodová a Kolářová, 2009).

Chloramin T je dezinfekční přípravek používaný v rybářství. Rovněž se využívá k léčebnému antibakteriálnímu ošetření ryb (Noga, 2000). Výhodou této látky je, že nezanechává rezidua v rybách. Dříve se používal úspěšně Chloramin B na flavobakteriózu žaber lososovitých ryb, dnes je dostupný méně toxický Chloramin T (Svobodová a Kolářová, 2009).

Chlorové vápno se používá jako dezinfekční přípravek, ale také je účinný při tlumení branchiomykózy a bakteriálních infekcí u kaprů v rybničním chovu (Svobodová a Kolářová, 2009).

Kuchyňská sůl (NaCl) je snadno dostupná a není nutné u ní stanovovat MRL a lze ji použít u všech potravinových zvířat. NaCl se používá ve formě krátkodobých koupelí a zahrnuje ve svém spektru účinnosti druhy rodu *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Piscicola*, *Argulus* a povrchové zaplísnění (Kolářová a Svobodová, 2009).

Látky a přípravky s obsahem mědi se v rybářství i přes své toxické působení využívají k léčebným koupelím ryb. U solí mědi není nutné stanovovat MRL a proto je možné je použít u potravinových zvířat. **Skalice modrá (CuSO₄·5H₂O)** se dříve

využívala k léčbě plísňových, parazitárních a bakteriálních nemocí ryb. Je účinná proti parazitům rodu *Cryptobia*, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Chilodonella* a piscinoodiniózy akvarijských ryb (Svobodová a Kolářová, 2009). **Kuprikol 50** je fungicidní přípravek s obsahem nejméně 47,5% mědi ve formě oxichloridu měďnatého (Kouřil a kol., 1984).

Levamisol je léčebné terapeutikum účinné při tlumení gyrodaktylózy kůže a při léčbě anguilikolózy úhořů (Svobodová a Kolářová, 2009).

Malachitová zeleň je intenzivní zásadité barvivo, dobře rozpustné ve vodě. Její použití je v produkčním rybářství již zakázané (není stanoven MRL). Její možné uplatnění je v zájomových chovech okrasných a akvarijských ryb. Používá se především při nálezu druhů *Ichthyophthirius multifiliis*, *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Chilodonella* a při povrchovém zaplísnění (Svobodová a Kolářová, 2009). Používá se ve formě krátkodobých a dlouhodobých koupelí a v kombinaci s formaldehydem (Noga, 2000).

Manganistan draselný (KMnO₄; hypermangan) se používá ve formě krátkodobých i dlouhodobých koupelí především k protiplísňovému, antiparazitárnímu a antibakteriálnímu ošetření ryb. U potravinových ryb může použití hypermanganu doporučit veterinární lékař, protože není pro tento přípravek stanoven MRL (Svobodová a Kolářová, 2009).

Mebendazol je benzimidazolový preparát. Je účinný proti dodaktylogyróze žaber úhořů (Svobodová a kol., 2007).

Metronidazol (Humánní přípravek Entizol) se vstřebává přes žábry a využívá se k likvidaci cizopasných bičíkovců, např. rodu *Hexamita* a *Spiroucleus*. Užívá se především v chovu akvarijských ryb (Svobodová a kol., 2007).

Organofosforečné sloučeniny se také používají v rybářství a jednou z dříve používaných sloučenin byl trichlorfon, který ale degraduje na toxický dichlorvos. Aplikace trichlorfonu do vodního prostředí je zakázána. Byl využíván k likvidaci druhů rodu *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Silurodiscoides*, *Piscicola*, *Argulus*,

Ergasilus, *Bothriocephalus*, *Camallanus* a *Cappilaria*. Trichlorfon byl v přípravku Soldep využíván zejména v rybničním hospodářství k likvidaci přemnoženého zooplanktonu, dnes se používá Diazinon 60 EC (Svobodová a Kolářová, 2009).

Peroxid vodíku (H₂O₂) je účinná látka která se uvolní při aplikaci přípravku BioCareSPC. Používá se jako antimykotikum, antiparazitikum a při bakteriálních infekcích (Noga, 2000). Neohrožuje vodní prostředí, protože peroxid vodíku je nestálý a jeho koncentrace ve vodě velmi rychle klesá (Svobodová a Kolářová, 2009).

Praziquantel je širokospektré antiparazitikum. Používá se ve formě koupelí k tlumení různých monogeneóz (daktylogyróz, gyrodaktylóz aj.). Pro praziquantel se dokončují testy pro registraci a dá se předpokládat jeho využití u potravinových ryb (Svobodová a Kolářová, 2009).

Toltrazuril je doporučován především k léčbě různých monogeneóz (daktylogyróz, gyrodaktylóz) ve formě dlouhodobých koupelí (Svobodová a kol., 2007).

Jiné léčebné metody spočívají např. v přechodném zvýšení teploty vody. Toto oteplování vody se využívá k likvidaci ichtyoftiriózy a piscinoodiniózy. Při léčbě těchto dvou nemocí se také uplatnila metoda přelovování ryb, popř. držení ryb v silném průtoku (Svobodová a kol., 2007).

2.5 Formaldehyd

2.5.1 Popis

Formaldehyd (metanal) je aldehyd kyseliny mravenčí (HCHO). Formaldehyd byl poprvé popsán v roce 1854 autorem Alexandrem M. Butlerem (Walker, 1964). Je to plyn štiplavého zápachu, který je rozpustný ve vodě na 36 - 38% roztok, nazývaný také formalín nebo formol (Svobodová et. al, 2007). Dodávaný roztok je čirá tekutina štiplavého zápachu, která při styku s živými tkáněmi vyvolává ireversibilní denaturaci bílkovin. Při dlouhodobém uložení pomalu polymeruje na pevný paraformaldehyd, který vypadá jako bílá usazenina na dně (Kouřil a kol., 1984). K přeměně na paraformaldehyd přispívají také nízké skladovací teploty (pod 5°C). Paraformaldehyd (bílá sraženina) je pro ryby vysoce toxický (Francis-Floyd, 1996). Používá se v rybářství jako jednak dezinfekční prostředek tak i jako přípravek používaný k antiparazitárním léčebným koupelím ryb (Svobodová a kol., 2007).

Při dezinfekci v rybářství a chovu akvariálních ryb (akvária, nádrže, přístroje) se používá 1% formaldehyd (tj. zhruba 30 ml 36-38% formaldehydu do 1 litru vody) po dobu 2 hodin při teplotě dezinfekčního roztoku 5°C (Kolářová a Svobodová., 2009).

K antiparazitárnímu ošetření ryb se používá pouze čistý roztok bez bílých usazenin formaldehydu na dně (Kolářová a Svobodová, 2009). Roztoky formaldehydu pro použití v rybářství by měli obsahovat 10 – 15% metanolu, což inhibuje produkci paraformaldehydu, který je vysoce toxický (Francis-Floyd, 1996).

2.5.2 Spektrum účinnosti

Formaldehyd je používán ve formě koupelí proti napadení povrchovými parazity. Je vysoce účinný proti většině prvokům a stejně tak proti větším parazitům, jako jsou třeba motolice. Formalín účinně likviduje parazity na žábrách, kůži a ploutvích. Není preferovanou léčbou proti bakteriálním nebo plísňovým onemocněním. Ve vysokých koncentracích se formalín používá proti plísním na rybích jikrách. Není účinný proti interním onemocněním jakéhokoliv typu (Francis-Floyd, 1996).

Formaldehyd se aplikuje většinou ve formě krátkodobých koupelí. Aplikuje se při nálezu parazitů různých druhů a rodů *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Thaparocleidus*, *Silurodiscooides* a při povrchovém zaplísnění. Koupel může být uskutečněna na základě doporučení veterinárního lékaře, který současně určí ochrannou lhůtu (500 stupňodnů). Výsledek zkoušky snášenlivosti formaldehydové koupele je nutné posuzovat až za 24 hodin po provedení zkoušky protože formaldehydová koupel často způsobuje poškození a úhyn ryb až v delším časovém období (Kolářová a Svobodová, 2009).

2.5.3 Bezpečnostní opatření

Je velmi důležité přísně dodržovat bezpečnost pracovníků, kteří provádějí léčebnou koupel. Formaldehyd je zařazen mezi karcinogenní látky. Zvýšenou opatrnost je třeba věnovat ochraně kůže (rukou) a očí obsluhujícího personálu (Kolářová a Svobodová, 2009). Formaldehyd je škodlivý plyn a měl by být skladován v uzavřených obalech v dobře větraném prostředí. Vystavením se výparům vyvolává poranění očí a dýchacích cest. U některých lidí se díky pravidelné manipulaci s touto látkou může vytvořit jistá přecitlivělost. Tito lidé by se měli manipulaci s formaldehydem nadále vyhnout (Francis-Floyd, 1996).

2.5.4 Zásady provádění koupele ve formaldehydu

Formalín chemicky odstraňuje z vodního prostředí kyslík. Každých 5 mg·l⁻¹ eliminuje z vodního prostředí 1 mg·l⁻¹ kyslíku. To je jeden z důvodů proč se formalín nedoporučuje používat v rybníkářství. Formalín je algicid. Když je aplikován do rybníční vody likviduje řasy a tím snižuje jejich schopnost produkovat kyslík. Další pokles kyslíku pak může způsobit rozklad mrtvých řas.

Formalín by měl být skladován v optimálních podmínkách a chráněn před extrémními horky nebo chladem, aby se zabránilo jeho transformaci na toxický paraformaldehyd.

Účinnost formaldehydu se zvyšuje s teplotou vody. Pokud teplota přesáhne 21°C, měla by být snížena i použitá koncentrace.

Při léčbě parazitů u senzitivních druhů ryb by aplikovaná koncentrace formalínu neměla překročit $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Francis-Floyd, 1996).

2.5.4 Příprava koupele

Formaldehyd se může používat jak ve formě dlouhodobé koupele tak i krátkodobé. Silně nemocným rybám by měla být snížena aplikovaná koncentrace, aby léčbu vydržely. Kdykoliv ryby během koupele vykazují známky úzkosti a stresu (výskoky nad hladinu, nouzové dýchání apod.), měly by být ihned přemístěny do neošetřené čisté vody (Francis-Floyd, 1996).

Při přípravě formaldehydové lázně je velmi důležité přihlídnout k teplotě vody. Při teplotě vody do 10°C se používá 36 až 38% vodný roztok formaldehydu (formalín) v koncentraci $0,25 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$, při teplotě 10 až 15°C $0,20 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$ a při teplotě nad 15°C $0,17 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$. Doba působení je 30 až 60 minut. Pro ošetření raných stadií plůdku kaprovitých ryb a sumce se doporučuje koncentrace $0,25 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$ a délka koupele 30 minut při teplotě vody 25°C (Kolářová a Svobodová, 2009). Při koncentracích formalínu 25 a $50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ nebyl zjištěn negativní účinek, pokud ryby nejsou vystaveny kontinuální expozici déle jak 4 týdny. Vyšší koncentrace $75 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ trvajících déle než 2 týdny mírně ovlivňují růst kapra (Supranee a kol., 1988). Pro ošetření plůdku tolstolobika bílého a tolstolobika pestrého se doporučuje rovněž koncentrace $0,25 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$ a délka koupele 30 minut při teplotě vody 25°C . Pro ošetření plůdku amura bílého se doporučuje koncentrace $0,1 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$ a délka koupele 1 hodina při teplotě $20 - 25^\circ\text{C}$ (Kouřil a kol., 1984). Formaldehydové dlouhodobé koupele se používají ve stejném případě jako dlouhodobé solné koupele, a to ve formě 36 až 38% vodného roztoku formaldehydu (formalín) v koncentraci $0,025$ až $0,30 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$. Aplikace se provádí jednorázově do přítoku, délka lázně není časově omezena (Svobodová a kol., 2007). Probíhá-li aplikace léčebné látky v nádržích, měla by být voda dostatečně silně provzdušňována (Francis-Floyd, 1996).

2.6 Kyselina peroctová

2.6.1 Popis

Kyselina peroctová (dále KPO) se pro své antimikrobiální a germicidní účinky používá posledních několik let k desinfekčním účelům. V nízkých koncentracích, lze však KPO použít i k profylaktickým a terapeutickým koupelím u ryb. Kyselina peroctová nezanechává rezidua v rybách a z vody se postupně uvolňuje a tak nezatěžuje vodní prostředí. V současnosti může použití profylaktických metod přispět k omezení aplikace terapeuticky nebezpečnějších látek, jako jsou například antibiotika nebo antiparazitika (Zusková a kol., 2011).

Kyselina peroctová je chemická sloučenina ze skupiny organických peroxidů, jejíž sumární vzorec je $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$. Její systematický název je kyselina peroxyethanová – PAA. Je to čirá bezbarvá kapalina s charakteristickým ostrým octovým zápachem a $\text{pH} < 2$ (ECOTEC, 2001). Kyselina peroctová se dobře mísí s vodou, snadno se z vody odbourává a nezanechává rezidua. Má silný oxidační potenciál a je silnou žiravinou. Pro své baktericidní a fungicidní účinky se běžně uplatňuje ve zdravotnictví, veterinárním lékařství, zemědělství, potravinářství, úpravách vody a v poslední době také v rybářství.

Kyselina peroctová je součástí řady komerčně prodávaných registrovaných přípravků, kde se vyskytuje nejčastěji v kombinaci s peroxidem vodíku, kyselinou octovou a různými stabilizátory. V České republice jsou nejdostupnějšími produkty, které obsahují kyselinu peroctovou, Persteril (vyráběný v ČR) a Wofasteril (vyráběný v Německu). Persteril se vyrábí ve 3 koncentracích – 4%, 15% a 36% roztok v baleních od 1 do 200 kg (Zusková a kol., 2011).

2.6.2 Mechanismus účinku

Kyselina peroctová dokáže ničit mikroorganismy dvěma způsoby:

1. Oxidace a následný rozpad buněčných membrán

Mechanismus oxidace spočívá v přenosu radikálů (OH) přes membránu a následné inaktivaci nebo smrti mikroorganismu. Protože je difúze pomalejší než poločas života radikálu, reaguje s jakoukoli oxidovatelnou sloučeninou ve své blízkosti. Může poškodit

téměř všechny typy makromolekul spojené s mikroorganismy, a to sacharidy, nukleové kyseliny, lipidy a aminokyseliny. To ve finální fázi to vede k lýze buňky a smrti mikroorganismu (Zusková a kol., 2011).

2. Denaturace a inaktivace mikrobiálních enzymů.

Kyselina peroctová má díky tomu sporocidní a ovicidní vlastnosti. Velkou předností kyseliny peroctové je schopnost inaktivace katalázy. Kataláza je enzym, který neutralizuje volné hydroxylové radikály (Block, 2001).

Ve vodním prostředí se kyselina peroctová rozkládá 3 způsoby:

- spontánním rozkladem,
- hydrolýzou
- a rozkladem katalyzovanými kovy.

Při optimálním pH v rozmezí 5,5 – 8,2 se jedná především o spontánní rozklad. Hydrolýzou vzniklé rozkladné produkty jsou biologicky odbouratelné a nepředstavují nebezpečí pro vodní prostředí (Zusková a kol., 2011).

Aktivita kyseliny peroctové je závislá na pH a teplotě vody. Kyselina peroctová je účinnější při pH 7 než při pH 8 nebo vyšším (Kitis, 2004). V kyselém prostředí trvá rozklad kyseliny peroctové okolo 7-12 dní, ale v neutrálním či alkalickém prostředí se kyselina peroctová rozloží už během jednoho dne. Při teplotě vody 35 °C je kyselina peroctová 5x účinnější než při nižší teplotě 15°C. Organické látky ve vodě jen mírně ovlivňují účinnost kys. peroctové (Pedersen a kol., 2009).

2.6.3 Bezpečnostní opatření

Podle směrnice 1999/45/ES je kyselina peroctová klasifikována jako nebezpečná, proto je nutné používat osobní ochranné prostředky, dodržovat zásady osobní hygieny a je třeba zabránit dlouhodobé nebo opakované expozici. Přípravek je zdraví škodlivý při požití, při styku s kůží a při vdechování. Je tedy nutno zabránit přímému kontaktu s látkou a nevdechovat její výpary. Nejbezpečnější je s danou látkou pracovat v digestoři. Je vysoce toxická pro vodní organismy a způsobuje těžké poleptání (Dychdala, 1988).

Při manipulaci s kys. peroctovou musíme dávat pozor aby nepřišla do styku s kovy, proto veškerá manipulace musí být prováděna v plastových nebo skleněných nádobách (Zusková a kol., 2011). Čistý hliník, chirurgická ocel a pocínované železo jsou vůči kys. peroctové rezistentní, ale samotná ocel, galvanizované železo, měď, bronz nebo mosaz s kys. peroctovou reagují a podléhají korozi. Kys. peroctová může také reagovat s některými přírodními nebo syntetickými gumami. (Fraser a kol., 1984).

Dalším rizikem je nebezpečí výbuchu, které vzniká následkem vnitřního přetlaku, ke kterému dochází v uzavřených nádobách a zkumavkách při rozkladu. Látka podporuje hoření a je třeba ji skladovat odděleně od ostatních chemikálií při teplotě 15°C až 25°C v těsně uzavřených obalech na suchém, chladném, dobře větraném místě, chráněném před světlem, mimo dosah hořlavin a tepelných zdrojů. Výpary jsou těžší než vzduch a při zvýšené teplotě mohou se vzduchem vznikat výbušné směsi. Při termickém rozkladu mohou také vznikat nebezpečné hořlavé plyny nebo výpary. Při hašení látky je vhodné použít pěnu, prášek nebo vodu (Zusková a kol., 2011). Skvrny a mírné rozlití kyseliny peroctové by mělo být neutralizováno slabými činidly, např. thiosíranem sodným (Kitis, 2004).

2.6.2 Spektrum účinnosti

Kyselina peroctová má při koncentraci 0,001 % baktericidní, při koncentraci 0,003 % fungicidní a při koncentraci 0,3 % sporocidní účinky. Nejcitlivější vůči kyselině peroctové z mikroorganismů jsou bakterie, pak viry, následují bakteriální spory a nakonec protozoální cysty (Kitis, 2004).

Lze předpokládat že kys. peroctová bude působit i na další jednobuněčné parazity, kteří mají jednoduchý vývojový cyklus (bez tvorby vajíček a cyst). Je nutné počítat s tím, že vývojová stadia jako vajíčka a cysty u vícebuněčných organismů jsou vůči vnějším podnětům mnohonásobně méně citlivé a koupel v kys. peroctové nebude mít žádoucí účinnost.

Kys. peroctová je také vhodná k redukci ektoparazitů rodu *Caligus spinosus*, *Fugus rubriques* nebo *Lepeophtheirus salmonis* v chovech lososovitých ryb (Devos a kol., 2000).

Na rybích líhních se pak nejčastěji můžeme setkat při umělé inkubaci rybích jiker s plísněmi rodu *Saprolegnia* a *Achlya*. V takovém případě se neobejdeme bez antimykotických preparátů, které tyto plísně dokážou utlumit (Zusková a kol., 2011).

Přípravky obsahující kyselinu peroctovou se v posledních letech používají také především proti kožovci *Ichthyophthirius multifiliis* (Straus a Meinelt, 2009). *Ichthyophthirius multifiliis* ale prokázal u encystovaných stádií při použití terapeutických koncentrací značnou rezistenci (Meinelt, 2009).

Z dalších infekcí citlivých na KPO jsou to druhy rodů *Gyrodactylus sp.*, *Chilodonella sp.*, *Trichodina sp.*, *Epistylis sp.*, *Piscinoodinium pillulare* a *Ichthyobodo necator* (Zusková a kol., 2011).

2.6.3 Příprava koupele

Krátkodobé koupele jiker

Při zajištění dostatečně kvalitní vody (např. podzemní voda) samozřejmě můžeme antimykotické preparáty do určité míry omezit. Úprava vody může být také ošetřena mechanickými filtry a UV zářičem. Potom není zapotřebí tolik používat antimykotické přípravky. V úvahu při inkubaci jiker musíme brát i to, že kromě oplozených vyvíjejících se jiker jsou do přístrojů nasazovány i jikry neoplozené, které odumírají. Právě tyto odumírající jikry jsou vhodným substrátem pro rozvoj plísní a mohou tak ohrozit zdravé jikry. Proto je použití antimykotických přípravků nezbytné ve všech případech, ale v různé intenzitě (Zusková a kol., 2011).

Aplikace kys. peroctové se provádí přímo do inkubačních láhví, při omezeném až zastaveném přítoku vody (cca na 2 min, podle citlivosti jiker na kyslíkový deficit). Připravený roztok kyseliny se ihned aplikuje v dávce podle teploty vody. Roztok kyseliny se připraví nejlépe v litrové láhvi, do které se převede KPO (v takovém množství abychom dosáhli potřebné koncentrace v inkubační láhvi) spolu s vodou (provozní nebo vodovodní) a roztok se důkladně promíchá. KPO se pak po přidání do inkubátorů lépe promíchá. Takto naředěný přípravek přidáváme za stálého míchání do inkubačních lahví. V případě, že jsou jikry náchylné na manipulaci, obsah láhve nepromícháváme (Zusková a kol., 2011).

Po době kdy již jikry nebudou ohroženy kyslíkovým deficitem, obnovíme průtok vody do inkubační láhve. V případě že jsou jikry vůči kyslíkovému defektu odolnější můžeme dobu koupele prodloužit. Toxický vliv kys. peroctové v průběhu koupele

samovolně klesá a není tak potřeba mít obavy z jejího toxického vlivu (Zusková a kol., 2011).

Koupele juvenilních a dospělých ryb v kys. peroctové

V kontrolovaném prostředí jako jsou nádrže nebo žlaby se zvyšuje riziko onemocnění obsádek raných stádií plůdku. Při propuknutí invazivního onemocnění dochází v koncentrovaných obsádkách k rychlému rozšíření patogenního činitele. Toto nebezpečí je závažné a může vést až k úhynu celé chované obsádky. Je proto důležité stanovit při tomto typu odchovu nejkritičtější období, která se stávají vhodná pro propuknutí chorob. Mezi kritické období lze zařadit manipulaci (např. třídění, přesazování) s rybami, přechod ryb na vnější výživu nebo období zvýšených teplot, kdy se vytváří ideální podmínky pro rozvoj parazitárních onemocnění. Jako prevenci rozšíření patogenních agens v těchto kritických obdobích se doporučuje aplikovat KPO v dávce 1 mg.l⁻¹. V průtočných systémech je vhodné pozastavit přítok vody a opatrně dávkovat do vody KPO. Doba koupele závisí na odolnosti ryb vůči kyslíkovému deficitu a hustotě obsádky. Z toxického vlivu kys. peroctové nemusíme mít obavy, protože v průběhu koupele samovolně klesá.

Před samotnou aplikací se doporučuje minimálně 6 hodin předem provést test snášenlivosti na malé izolované skupině ryb, kvůli rozdílné citlivosti jednotlivých druhů ryb vůči kys. peroctové. Pokud ani po 6 hodinách po koupeli nejsou sledovány úhyny a změny v chování ryb a ryby koupel dobře snášejí, pak je možno provést koupel na cílové skupině ryb (Zusková a kol., 2011).

Terapeutické koupele ryb

Pro úspěšnou terapii je důležité nejdříve provést včasné vyšetření zdravotního stavu ryb a následně posoudit vhodnost použití kys. peroctové proti zjištěným patogennům.

Terapeutické koupele se aplikují 2x denně v dávce 1 mg.l⁻¹. Podle teploty, pH vody a citlivosti daného druhu ryb lze koncentraci podle situace mírně zvýšit. KPO se ve vodě poměrně rychle rozkládá, tím ztrácí i účinnost a tak není nutno pro další aplikaci vodu v chovné nádrži měnit.

Jako samotná aplikace se nejlépe zdá podání několikanásobně zředěného roztoku KPO do přítoku tak, aby došlo k přijatelnému promíchání obsahu chovné nádrže nebo

žlabu. Dalším způsobem aplikace je rozstřík naředěné KPO na hladinu, v takovém případě je nutné dávat pozor, aby se aplikovaný roztok nedostal do přímého styku s rybami.

V recirkulačních systémech s biologickými filtry je provádění léčebných nebo preventivních koupelí komplikované a je lepší jim předcházet udržováním vysoké zoohygieny. Pokud je nezbytná aplikace koupele, je potřeba zajistit, aby nedošlo k narušení biofiltrů. Proto je nutné do systému nasazovat jen ryby zdravé, bez parazitologického nálezu a zajistit kvalitní zdroj vody.

Během koupele je třeba sledovat chování ryb a zajistit dostatečné nasycení kyslíkem ve vodě přítokem nebo aerací.

Kys. peroctová tak může být dostupnou alternativou drahých léčebných preparátů, má široké uplatnění při léčení a prevenci protozoálních a mykotických onemocnění u ryb a jiker (Zusková a kol., 2011).

2.7 Hematologické vyšetření

Analýza krve ryb je používána při sledování vlivu toxických látek na ryby, odolnosti jednotlivých plemen a linií ryb, generačních ryb, k posouzení vhodnosti krmiv, vlivu stresových situací nebo léčiv (Svobodová a kol., 1991).

2.7.1 Stanovení hematologických ukazatelů červeného krevního obrazu ryb

Počet erytrocytů (Ery, RBC)

Pro stanovení počtu erytrocytů se využívá počítací metoda v Bürkerově komůrce, kam se převede heparinizovaná krev naředěna Hayemovým roztokem. Také lze použít rychlejší a jednodušší kolorimetrickou metodu stanovení počtu erytrocytů podle Pawinského. Tato metoda má ale omezené použití v ichtyotoxikologii, kdy se sleduje účinek látek vyvolávajících zvětšení středního objemu erytrocytu. Zvětšený objem erytrocytů totiž způsobuje při měření větší extinkci a tím dochází k mylnému stanovení většího počtu erytrocytů a k zastření patologického účinku cizorodé látky.

Počet erytrocytů u zdravého kapra obecného se pohybuje v rozmezí $1,1 - 1,8 \text{ T}\cdot\text{l}^{-1}$, u pstruha duhového v rozmezí $0,80 - 1,50 \text{ T}\cdot\text{l}^{-1}$ krve (Svobodová a kol., 1991).

Množství hemoglobinu (Hb)

Hemoglobin v krvi ryby se stanovuje za pomoci fotometrické metody. Metoda se provádí uvolněním hemoglobinu z erytrocytů za pomoci transformačního roztoku a jeho převedení na stálý kyanohemoglobin. Poté se fotometricky změří extinkce vzorku a jeho množství se určí z kalibrační křivky.

Obsah hemoglobinu v krvi ryb se udává v $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a u zdravých kaprů a pstruhů duhových se pohybuje v rozmezí $60 - 100 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ (Svobodová a kol., 1991).

Hematokritová hodnota (Hk, PCV)

Hematokritová hodnota určuje celkový objem erytrocytů k celkovému objemu krve. Pro její stanovení je třeba ze vzorku krve oddělit erytrocyty od plazmy, aby bylo možno stanovit jejich skutečný objem. Erytrocyty se oddělí dokonalým odstředěním ve speciálních heparinizovaných kapilárách na hematokritové odstředivce. Po odstředění se

procenta hematokritu zjistí na hematokritovém měřítku. Zjištěná hodnota v % se vynásobí koeficientem 0,01. Výsledná hodnota je PCV v $l \cdot l^{-1}$. Hematokritové hodnoty se pohybují u kaprů v rozmezí 0,28 – 0,40 $l \cdot l^{-1}$, u pstruhů duhových v rozmezí 0,30 - 0,45 $l \cdot l^{-1}$. Stanovení hematokritové hodnoty je jedním ze základních vyšetření červené složky krve u ryb, zejména pro svou jednoduchost a přesnost (Svobodová a kol., 1991).

2.7.2 Základní hodnoty erytrocytů

Střední objem erytrocytu (MCV)

Hodnota středního erytrocytu se udává ve fentolitrech (fl) a pohybuje se u zdravých kaprů v rozmezí 200 – 300 fl, u zdravých pstruhů duhových v rozmezí 350 – 400 fl (Svobodová a kol., 1991).

Hemoglobin erytrocytu (MCH)

Hodnota hemoglobinu erytrocytu se pohybuje u zdravých kaprů v rozmezí 50 – 60 pg, u zdravých pstruhů duhových v rozmezí 65 - 75 pg (Svobodová a kol., 1991).

Střední barevná koncentrace (MCHC)

Hodnota střední barevné koncentrace se pohybuje u zdravých kaprů v rozmezí 0,20 – 0,26 $l \cdot l^{-1}$, u zdravých pstruhů duhových v rozmezí 0,17 – 0,20 $l \cdot l^{-1}$ (Svobodová a kol., 1991).

2.7.3 Stanovení ukazatelů bílého krevního obrazu

Počet leukocytů (Leuko)

Počet leukocytů je jedním z důležitých ukazatelů zdravotního stavu ryb (Dubský a kol., 2003). Pro stanovení počtu leukocytů u ryb se využívá počítací metoda v Bürkerově komůrce, kam se převede heparinizovaná krev naředěná podle Procházky a Škrobáka.

Počet leukocytů u ryb je důležitý diagnostický ukazatel především při infekčních onemocněních. Variační rozpětí hodnot u ryb je velmi široké. U Kapra se hodnoty pohybují v rozmezí 10 – 80 $G \cdot l^{-1}$ a u pstruha duhového v rozmezí 10 - 60 $G l^{-1}$ (Svobodová a kol., 1991).

Leukokritová hodnota (Lk, BC)

Leukokritovou hodnotou se vyjadřuje objem leukocytů k celkovému objemu krve. Stanovení leukokritové hodnoty se provádí zároveň se stanovením hematokritu v heparinizovaných kapilárkách. Hodnota leukokritu se stanovuje jako podíl šedobílé vrstvy leukocytů z celého krevního sloupce. Výška vrstvy leukocytů je měřena pod mikroskopem. U kaprů nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi leukokritovou hodnotou a počtem leukocytů. Hodnoty leukokritu se u kaprů pohybují v rozmezí 0,002 – 0,01 l·l⁻¹. Metoda stanovení leukokritové hodnoty je vhodná pro sériová vyšetření, protože je rychlá, jednoduchá a není zatížena subjektivní chybou. Leukokritovou hodnotu je vhodné doplnit diferenciálním rozpočtem leukocytů, tzv. leukogramem (Svobodová a kol., 1991).

Diferenciální rozpočet leukocytů (Leukogram)

Leukocyty lze rozdělit na granulocyty a agranulocyty, které rozlišujeme na základě přítomnosti nebo absence různě se barvících granul v cytoplazmě těchto buněk. Mezi granulocyty patří leukocyty, v jejichž cytoplazmě se vyskytuje velké množství jemných nebo i hrubších granul. Ty se vzájemně rozlišují barvitelností (tj. schopností přijímat buď kyselá, bazická nebo obě barviva). Podle barvitelnosti se pak granulocyty rozlišují na eozinofilní, bazofilní nebo neutrofilní. Do agranulocytů patří monocyty a lymfocyty, jejichž plazma neobsahuje žádnou granulaci, kromě ojedinělých azurových zrn, která se mohou u těchto leukocytů vyskytovat (Svobodová a kol., 1991).

Dalším diferenciacním znakem je jádro těchto buněk. Rozlišovacími znaky jsou tvar jádra, jeho velikost a vnitřní struktura. Velká a celistvá jádra se vyskytují u agranulocytů, jádra granulocytů bývají menší, mívají protáhlý tvar a jsou členěny na úseky. Na základě vnitřní struktury jsou lymfocyty hutnější se silným bazickým odstínem. Naopak jádra granulocytů mají slabší bazický odstín (Svobodová a kol., 1991).

Podle zmíněných diferenciacních znaků můžeme charakterizovat leukocyty u ryb následovně (Svobodová a kol., 1991):

Lymfocyty mají malé, kulové, bazofilní jádro s modrou cytoplazmou bez granulí jen s ojedinělými zrny. Lymfocyty dělíme na malé a velké. Prekurzory lymfocytů jsou lymfoblasty. Velikost lymfocytů kolísá mezi 7 až 9 μ . Počet lymfocytů se pohybuje u

kapra mezi 76 až 97,5 % ze všech leukocytů. Z celkového počtu lymfocytů bylo u plůdku kapra zjištěno v průměru 86 % malých lymfocytů a 6% velkých lymfocytů (Svobodová a kol., 1991). Rybí krev je na lymfocyty bohatá, z celkového počtu jich bývá přes 85% a u okouna říčního až 99% (Dubský a kol., 2003)

Lymfocytární vývojová řada se sestává z kmenových buněk lymfoblastů. Lymfoblasty jsou velké lymfocyty o průměru 10 - 15 μ s bazofilní cytoplazmou bez jakýchkoliv zrn. Prolymfocyty mají už jádérka, která jsou v optickém mikroskopu viditelná (Svobodová a kol., 1991).

Monocyty se, se svojí velikostí 15 až 18 μ a někdy i více, řadí mezi největší buněčné elementy v krvi ryb. Jsou oválného tvaru. Mají jádro s řidší chromatinovou strukturou než u lymfocytů, které je umístěno excentricky. Cytoplazma je šedé barvy s nepravidelnými okraji a její množství je vyšší než u lymfocytů. V plazmě se vyskytují, rozptýlená po buňce, jemná azurofilní zrna. V leukogramu kapra se monocyty pohybují mezi 3 až 5 %. Ač jsou tyto buňky značně tvarově variabilní, jsou lehce rozpoznatelné. Schopností monocytů je pohlcovat přestárlé nebo alterované erythrocyty a rozkládat jejich uvolněný hemoglobin na bilirubin. Významně se také podílejí na syntéze proteinů, lipidů a tvorbě protilátek. Objevil se i názor, že funkci monocytů v krvi zastupují buňky retikulární (Svobodová a kol., 1991).

Monocytární vývojová řada se skládá z mateřských monoblastů o velikosti 14 až 18 μ s jádrem s vláknitou strukturou a s výrazně bazofilní cytoplazmou. Zráním myoblastu vzniká promocyt., který je už větší (kolem 20 μ). Jádro nabývá ledvinovitého tvaru s vláknitou strukturou a cytoplazma má nepravidelné, neostré obrysy jako většina monocytů (Svobodová a kol., 1991).

Neutrofilní granulocyty zahrnují celou řadu vývojových stádií těchto buněk. Obsahují různé množství granul, které vyplňují úplně nebo z části cytoplazmu okolo jádra.

Neutrofilní granulocyty s okrouhlým jádrem se označují jako neutrofilní myelocyty, s ledvinovitým jádrem jako neutrofilní metamyelocyty, s jádrem pentlicovitého tvaru jako neutrofilní granulocyty, s tyčkovitým jádrem jako neutrofilní tyčky a s jádrem

členěným do dvou a více segmentů jako neutrofilní granulocyty se segmentovým jádrem.

Velikost neutrofilních granulocytů se pohybuje mezi 5 – 10 μ a jejich procentické zastoupení se pohybuje u ryb od 2 do 10 %. Zvýšení jejich počtu je reakce krvetvorby ryb na různé patogeny (Svobodová a kol., 1991).

Eozinofilní granulocyty

Jsou okrouhlého tvaru s řídkým bazofilním jádrem. Jejich velikost se pohybuje od 8 do 12 μ . Obsahují velké množství červeně se barvících granul, které jsou charakteristickým a snadno rozlišitelným znakem těchto buněk. Množství eozinofilních granulocytů se pohybuje v krvi od 0 do 1 %. Plní v krvi významnou detoxikační funkci, protože obsahují histamin, což se projevuje jeho zvýšenou tvorbou při alergických reakcích (Svobodová a kol., 1991)

Bazofilní granulocyty

Jsou okrouhlého tvaru o velikosti kolem 10 μ . Jádro i cytoplazma jsou zčásti nebo zcela překryty granuly purpurové barvy. V krvi ryb jejich množství kolísá od 0 do 5%. Obsahují rovněž histamin (Svobodová a kol., 1991).

Granulocytární řada

Vzniká z kmenových buněk myeloblastů. Většinu buňky tvoří jádro s jemnou síťovitou strukturou, cytoplazma je bazofilní a tvoří úzký lem kolem jádra. Velikost se pohybuje od 8 do 14 μ . Následující vývojový stupeň je promyelocyt a myelocyt, který se liší především velikostí (25 - 28 μ) a především přítomností granul. Zráním myelocytů postupně vznikají metamyelocyty, "tyčky" a "segmenty" (Svobodová a kol., 1991).

2.7.4 Trombocyty

Trombocyty neboli krevní destičky jsou bezjaderné krevní elementy, které mají nezastupitelnou úlohu při zástavě krvácení. Jsou to buňky vřetenovitého tvaru a jejich počet se pohybuje v rozmezí 25-83 $G \cdot l^{-1}$ (Dubský a kol., 2003). Morfologicky lze rozlišit několik forem trombocytů (forma špičatá, vřetenovitá, zakulacená a nahojaderná). Nejpočetnější jsou v krvi první dvě formy.(Doubek a kol., 2003). Proces srážení krve je stejný jako u jiných obratlovců. Když dojde ke styku krve s vnějším prostředím, začne se srážet rozpustná bílkovina fibrinogen na nerozpustný fibrin za

účasti enzymu trombinu. K syntéze trombinu je potřeba přísun vitamínu K. Rybí krev se sráží velmi rychle. Žaberní krev se sráží do půl minuty, krev z aorty okolo 1 minuty (Dubský a kol., 2003).

2.7.5 Stanovení biochemických ukazatelů v krevní plazmě ryb

Biochemie je obor, který studuje chemické složení organismů, přeměny, které v nich probíhají, jejich regulace a vzájemné vztahy. Za změnami ve složení a probíhajícími přeměnami ve složení často stojí onemocnění (Racek a kol., 1999). Z biochemického profilu krve je možné získat důležité informace o změnách, které se dějí uvnitř organismu (Masopust, 2000). Při stanovení biochemických ukazatelů z krevní plazmy ryb je třeba dodržovat některé zásady. Především je nutno z odebrané krve co nejdříve separovat krevní plazmu a následně separovanou krevní plazmu co nejdříve analyzovat. Krevní plazmu je možné krátkodobě (24 hod.) uchovávat při 4°C nebo případně zmrazenou v mikrokumavkách typu Eppendorf. Hodnoty biochemických ukazatelů, které uvádí rozliční autoři, se v plazmě u ryb dost různí. To může být způsobeno, jak různými metodami stanovení, tak i různým fyziologickým stavem ryb nebo exogenními a endogenními vlivy. Všechny tyto faktory způsobují vysokou variabilitu některých biochemických ukazatelů (Svobodová a kol., 1991).

Jak uvádí internetový server Cymedica (2011) ukazatele v krevní plazmě lze stanovit biochemickým analyzátozem krve typu VETTEST. Analyzátor využívá principu suché chemické technologie a kolorimetrické reakce, využívající 6 zdrojů světla o různé vlnové délce. Celkem lze tedy stanovit až 21 biochemických parametrů krve u 27 druhů zvířat. Zároveň lze stanovit 1 - 12 biochemických parametrů za 9 minut.

Internetový server Idexx (2013) sděluje, že cílem použití chemického analyzátoru by mělo být získání přesných a spolehlivých výsledků. Využívá vyvinutou technologii dry-slide, která zachovává základní přesnost biochemického analyzátoru a je dostupná jak pro podmínky referenčních laboratoří, tak pro použití na klinice. Pro analýzu je třeba jen velmi malé množství krevní plazmy. Vzorek je aplikován shora na rozlévací vrstvu, která zajistí jeho rovnoměrnou distribuci. Než vzorek dosáhne reakční vrstvy je ve filtrační vrstvě odstraněna většina interferujících substancí, jako jsou lipidy, bilirubin a hemoglobin. Poté, co vzorek dosáhne indikátorové vrstvy, jsou výsledky zespodu odečteny pomocí optického zařízení.

Biochemické ukazatele v krvi u ryb a jejich fyziologické koncentrace u kapra obecného

Celkové bílkoviny (TP)

Ukazatel kondice na jaře bývá nižší a na podzim vyšší (Dubský a kol., 2003). Koncentrace celkových bílkovin v plazmě kapra kolísá v rozsahu 20 – 40 g.l⁻¹ (Svobodová a kol., 1991). Poměr (A/G) **albuminů (ALB)** a **globulinů (GLOB)** je nižší než u vyšších obratlovců a dosahuje hodnoty 0,40. Ryby, které se živí pouze přirozenou potravou, mají v krevní plazmě vyšší obsah proteinů a více globulinů (Vítek, 2010).

Obsah **celkových lipidů (TL)** v krevní plazmě ryb je také významným ukazatelem jejich kondičního stavu. V krevní plazmě kapra obecného dosahuje koncentrace 2-8 g.l⁻¹. V těchto lipidech jsou nejvíce zastoupeny **triacylglyceroly** (Vítek, 2010). Jejich celkový obsah v krevní plazmě kapra kolísá mezi 1 a 4 mmol. l⁻¹. Koncentrace **cholesterolu** se v krevní plazmě kapra pohybuje v rozsahu 1,5-12 mmol.l⁻¹ (Svobodová a kol., 1991).

Albumin (ALB)

Výrazný pokles albuminu může vypovídat o akutních a chronických zánětech, při němž zvýšení alfa frakcí kompenzuje pokles osmotického tlaku při hypoalbuminémii, jak je známo u teplokrevných (Racek a kol., 1999).

Koncentrace albuminů v krevní plazmě ryb se podle Folmara (1993) pohybuje v rozsahu 0,1 – 10 g.l⁻¹.

Globulin (GLOB)

Koncentrace celkových globulinů v krevní plazmě ryb se pohybuje v rozsahu 20 – 35 g.l⁻¹.

Vápník (Ca)

Vápník se v krevní plazmě vyskytuje ve třech formách jako nedifuzibilní, ve formě komplexních sloučenin a ionizovaný (Ca²⁺). Pokles vápníků může způsobovat vzestup pH jeho pokles pak snížená koncentrace bílkovin nebo anorganického fosforu.

Fyziologicky aktivní je pouze ionizovaná vápník (Ca^{2+}), který v organismu snižuje nervosvalovou dráždivost Racek a kol., 1999).

Koncentrace vápníku v krevní plazmě kapra se pohybuje v rozsahu 2,0 – 16,1 mmol.l.

Hořčík (Mg)

Hořčík je nebytným stavebním prvkem každého živého organismu. Je kofaktorem více než 300 enzymů, které využívají pro svou činnost ATP. Příčinou hypomagnezémie může být snížený příjem hořčíku v potravě nebo při ztráty ledvinami. Hypermagnezémii může způsobit selhání ledvin a acidémie (porucha distribuce – hořčík opouští buňky)

Koncentrace hořčíku v krevní plazmě pro kapra obecného se v dostupné literatuře nepodařilo dohledat (Schneiderka, 2004).

Anorganický fosfát (PHOS)

Fosfor je jedním z důležitých biogenních prvků a vyskytuje se ve všech buňkách (především v kostech). Fosfáty jsou nezbytné pro vytváření energie, pro nervovou a svalovou funkci a pro růst kostí. Také jsou důležité pro zachování acidobazické rovnováhy, protože slouží jako pufrý (látky tlumící výkyvy acidobazické rovnováhy). Snížené hodnoty může způsobovat hladovění, nedostatek vitamínu D, acidóza nebo poruchy ledvin (Masopust, 2000).

Koncentrace anorganického fosfátu v krevní plazmě kapra se pohybuje v rozsahu 1,01 - 2,51 mmol.l⁻¹ (Svobodová a kol., 1991).

Glukóza (GLU)

Glukóza je ukazatelem stresu. Po prodělané zátěži její obsah několikanásobně prudce stoupá, až 3,5krát (Dubský a kol., 2003). Koncentrace glukózy v krevní plazmě kapra se pohybuje v rozsahu 2 - 5 mmol.l⁻¹.

Alanin aminotransferáza (ALT)

ALT je čistě cytoplazmatický enzym, jeho nejvyšší aktivita je v hepatocytech (jaterní buňky) (Racek a kol., 1999).

Aktivita alanin aminotransferázy v krevní plazmě kapra se pohybuje v rozsahu 0,05 - 0,32 $\mu\text{kat.l}^{-1}$.

Aspartát aminotransferáza (AST)

AST se vyskytuje především v játrech. Její zvýšení v krvi je způsobeno při poškození hepatocytů a nekróze jater. Sníženou hladinu aminotransferáz v séru může být

zapříčiněn nedostatkem vitamínu B₆, jehože derivát – pyroxidoxalfosfát je koenzymem aminotransferáz (Racek a kol., 1999).

Aktivita aspartát aminotransferázy se pohybuje v krevní plazmě u kapra v rozsahu 0,25 - 3,50 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ (Svobodová a kol., 1991).

Kreatin kináza (CK)

Katalyzuje vratnou fosforylaci kreatinu. Má velký význam pro energetický metabolismus svalů. Příčinou zvýšení může být onemocnění kosterních svalů (svalová dystrofie). Může také stoupat při zvýšeném svalovém výkonu nebo křečích (Racek a kol., 1999).

Aktivita kreatin kinázy v krevní plazmě kapra se pohybuje v rozsahu 9,8 – 60,2 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ (Svobodová a kol., 1991).

Laktát dehydrogenáza (LDH)

Katalyzuje reverzibilní změnu pyruvátu na laktát. Izoenzymy LDH jsou obsaženy prakticky ve všech tkáních. Laktát dehydrogenáza stoupá při onemocnění jaterního parenchymu, onemocnění svalů ale i u dalších chorob (Racek a kol., 1999).

Aktivita laktát dehydrogenázy v krevní plazmě kapra se pohybuje v rozsahu 2,25 - 4,50 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ (Svobodová a kol., 1991).

Glutamátdehydrogenáza (GDH)

Katalyzuje oxidativní deaminaci kyseliny glutamové. Je obsažena v mitochondriích jaterních buněk. Výrazněji se projevuje při nekróze jater (Racek a kol., 1999).

Aktivita glutamátdehydrogenázy v krevní plazmě kapra kolísá v rozsahu 0,35 - 0,75 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ (Svobodová a kol., 1991).

Močovina

Močovina je konečný metabolit dusíku bílkovin (aminokyselin). Vzniká v játrech v Krebsově malém cyklu. Příčinou jejího zvýšení může být nadměrná tvorba nebo porucha ledvin. Zvýšenou tvorbu močoviny může způsobovat nadměrný příjem bílkovin v potravě nebo zvýšený katabolismus (seps - reakce organismu na infekci, zhoubné novotvary, ap.)

Snížení močoviny může být zapříčiněno nízkým obsahem bílkovin v krmivu nebo onemocněním jater (Racek a kol., 1999).

Koncentrace močoviny v plazmě kapra kolísá v rozsahu od 1 – 3 mmol.l⁻¹ (Svobodová a kol., 1991).

Amoniak

V krevní plazmě je hladina amoniaku velmi variabilní, protože je silně ovlivněna působením exogenních a endogenních faktorů. U ryb dochází navíc k rychlému postmortálnímu uvolňování amoniaku z krve, v důsledku vysoké aktivity proteolytických enzymů (Svobodová a kol., 1991). Hladina amoniaku se zvyšuje podle intenzity metabolismu. Asi 5 hodin po nakrmení dosahuje nejvyšších hodnot. Koncentrace amoniaku v plazmě kapra se pohybuje v rozsahu 200 – 800 μmol.l⁻¹ a v zimě kolísá od 50 až 100 800 μmol.l⁻¹ (Dubský a kol., 2003).

Kyselina mléčná (laktát)

Sůl kyseliny mléčné se nazývá laktát. Laktát vzniká při anaerobní glykolýze přeměnou pyruvátu za pomoci laktátdehydrogenázy (LD). Hladina laktátu v krvi je závislá na jeho tvorbě a jeho odbourávání (glukoneogenezi) v játrech. Jeho koncentrace stoupá při svalové zátěži, tkáňové hypoxii nebo laktátovou acidózou (ta může být způsobena šokem, poruchami transportu kyslíku, při intoxikaci, sepsi ap.)

Laktát se odbourává v játrech kde je oxidován na pyruvát, který je zpětně převáděn na glukózu (Schneiderka, 2004).

Koncentrace laktátu v krevní plazmě u kapra kolísá v rozsahu 0,7 – 2,2 mmol.l⁻¹ (Svobodová a kol., 1991).

Methemoglobin (MetHB)

Obsah methemoglobinu v krvi ryb závisí především na koncentraci dusitanů ve vodě. Při vyšších koncentracích dusitanů ve vodě může docházet ke zvýšení obsahu methemoglobinu až na 80% z celkového obsahu hemoglobinu (Svobodová a kol., 1991).

3. Experimentální část

3.1 Materiál a metodika

3.1.1 Testy vyhodnocování vlivu KPO na plůdku kapra obecného

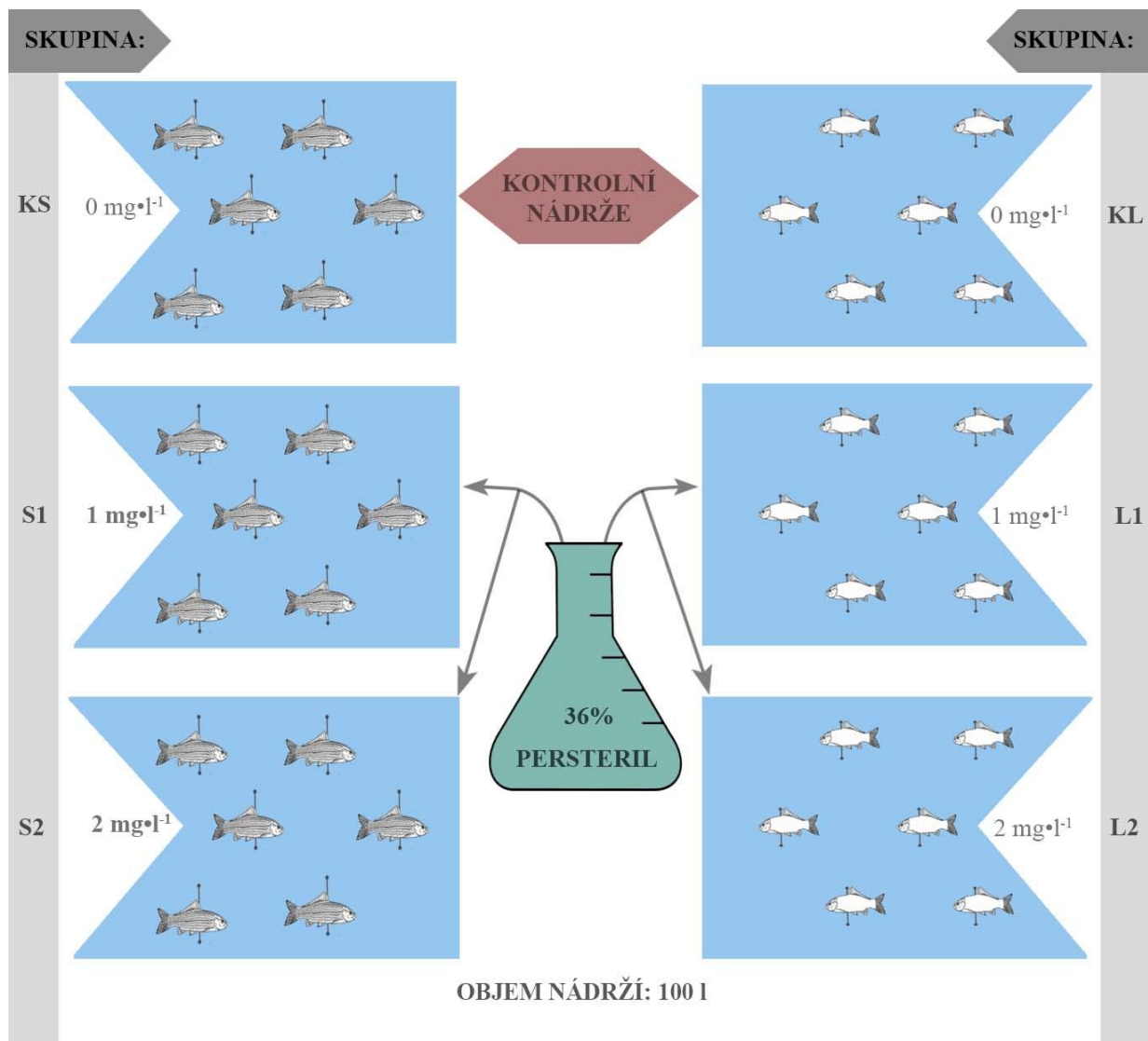
Testy vyhodnocování vlivu KPO na plůdku kapra obecného (šupinaté a lysé formy) pomocí hematologických a biochemických ukazatelů a na podkladě histopatologického vyšetření kůže.

Materiál a pomůcky

- **Testovací organismus:** Kapr obecný (*Cyprinus carpio*) - 18 šupináčů (průměrná hmotnost - 244±58g) a 18 lysců (průměrná hmotnost - 114±29g)
- **Aplikovaná látka:** kyselina peroctová (ve formě 36% Persterilu)
- **Voda:** odstátá vodovodní voda
- **Nádrže:** akvária o objemu 100 litrů
- **Přístroje a zařízení:** analytické a laboratorní váhy, přístroj VETTEST 8008, analytické váhy, laboratorní váhy, přístroj WTW Multiline P4 na měření teploty, pH a nasycení vody kyslíkem
- **Laboratorní pomůcky:** baňky, pipety
- **Ostatní pomůcky:** síťky, hadry, nádoby a další prostředky pro manipulaci s rybami

Podmínky testu

- **objem akvárií:** 100 l
- **teplota vody:** 18,7 – 22,4 °C
- **nasycení vody kyslíkem:** 70-80%
- **provzdušňování:** kontinuální, pomocí vzduchovacích kamínků
- **počet ryb v jedné nádrži:** 6 kusů ryb v jedné koncentraci
- **počet testů:** do 3 akvárií byli nasazeni lysci a do 3 akvárií šupináči
- **výměna vody:** po 24 hodinách se měnila polovina objemu vody
- **osvětlení:** bez umělého osvětlení
- **délka expozice:** 72 hodin
- **ostatní podmínky:** ryby nebyly krmeny



Obr. 1 Obrazové schéma s nasazením ryb do jednotlivých nádrží s koncentracemi KPO.

Pracovní postup

Test byl proveden v toxikologické laboratoři VÚRH Vodňany. Celkem 18 šupináčů (průměrná hmotnost - 244 ± 58 g) a 18 lysců (průměrná hmotnost - 114 ± 29 g) bylo rozděleno do šesti skupin po 6ti rybách a umístěno do 100 l akvárií (3 akvária lysci a 3 akvária šupináči). Ryby byly jeden den ponechány na čisté vodě, v průběhu dalších třech dnů byla vždy bezprostředně po výměně poloviny objemu vody do pokusných akvárií (skupiny S1,S2,L1,L2) aplikována kyselina peroctová (ve formě 36% Persterilu).

Pro terapeutickou aplikaci se připravily naředěné zásobní roztoky, které se pak dávaly podle potřeby. KPO nesmí přijít do styku s kovy, proto se k manipulaci používalo výhradně plastových či skleněných nádob. Zásobní roztok Persterilu 36 se připravil tak, že se 2,85 ml Persterilu 36 doplnilo do 1000 ml vodou (Zusková a kol., 2011). Koupele byly připraveny dle následujícího schématu:

- skupina KS (kontrola šupináč): $0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ KPO
- skupina S1 (šupináč): $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ KPO ve formě 10 ml ZR
- skupina S2 (šupináč): $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ve formě 20 ml ZR
- skupina KL (kontrola lysec): $0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ KPO
- skupina L1 (lysec): $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ KPO ve formě 10 ml ZR
- skupina L2 (lysec): $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ KPO ve formě 10 ml ZR

V průběhu testu byla denně (před výměnou vody) odebrána voda z akvárií pro stanovení vybraných hydrochemických ukazatelů kvality vody (CHSK_{Mn} , pH a NH_4^+).

CHSK_{Mn} se stanovila manganistanem Kubelovou metodou.

Koncentrace celkového amoniaku byla stanovena kolorimetricky: k 50 ml odebraného vzorku vody bylo přidáno 0,5 ml Seignettovy soli a 0,5 ml Nesslerova činidla. Po 10 minutách byla stanovena intenzita vzniklého zabarvení fotometricky pomocí spektrofotometru Helios Epsilon při vlnové délce 412 nm proti slepému vzorku. Výše koncentrace byla odečtena z kalibrační přímky.

Po 3 dnech aplikace byla rybám z ocasní cévy (*vena caudalis*) odebrána krev a ryby byly následně usmrceny. Jednotlivé vzorky krve byly stabilizovány za pomoci 40 IU heparinu sodného na 1 ml krve. Dále byl vždy třem rybám z každé skupiny odebrán kus

kůže se svalovinou, který byl bezprostředně po odběru fixován ve formalínu a odeslán na histopatologické vyšetření na VFU Brno. Odebraná krev byla heparinizována a dále použita na stanovení vybraných biochemických a hematologických ukazatelů. Stanovení hematologických parametrů krve bylo prováděno podle Jednotných metod hematologického vyšetřování ryb (Svobodová a kol., 1991).

Biochemický profil krve byl stanoven z krevní plazmy získané odstředěním krve. Pro stanovení biochemického profilu byla krev odstředěna a separovaná plazma byla uložena v mrazícím boxu při teplotě -85°C .

Biochemické indikátory byly stanoveny na biochemickém analyzátoru VETTEST 8008 (IDEXX Laboratories Inc. U.S.A.) firmy Medisoft. Přístroj pracuje na principu suché chemické a kolorimetrické analýzy. Vyhodnocení probíhá na selektivních testovacích discích (Multi – layer film slides, Kodak), laserovým čtením bar kódů. Stanoveny byly následující parametry: glukóza (GLU), celkové bílkoviny (TP), albuminy (ALB), celkové globuliny (GLOB), alanin aminotransferáza (ALT), kreatinkináza (CK), laktát dehydrogenáza (LDH), vápník (Ca_2^+), hořčík (Mg_2^+), anorganický fosfát (PHOS).

3.1.2 Vyšetření hematologického profilu ryb

Hematologické rozbory – počet erytrocytů (RBC), koncentrace hemoglobinu (Hb), hematokrit (PCV), střední barevná koncentrace (MCHC), hemoglobin erytrocytu (MCH) a střední objem erytrocytu (MCV) - byly prováděny podle Jednotných metod hematologického vyšetřování ryb (Svobodová a kol., 1991).

4 Výsledky

Po aplikaci KPO u šupinaté formy kapra obecného došlo ve skupině S2 k statisticky významnému poklesu hematokritu ($P < 0,05$). Další měřené hematologické a biochemické parametry se u šupinaté formy kapra nelišily.

U kapra lysce došlo ke změnám pouze u některých biochemických ukazatelů. Po aplikaci KPO se snížila aktivita laktátdehydrogenázy a lehce se změnilo množství celkových bílkovin a hladiny iontů vápníku a hořčíku v plazmě. Změnu aktivity LDH lze přičítat spíše menšímu množství naměřených jedinců, kde se ve skupině KL a L1 podařilo naměřit jen 4 plazmy ze 6-ti. Hydrochemické ukazatele vody se u žádné z testovaných skupin statisticky významně nelišily. Histologickým vyšetřením byla po aplikaci obou koncentrací KPO u lysé i šupinaté formy zjištěna myodystrofie (strukturální přestavba sval. tkáně – nahrazení vazivem a tukem) v individuálně různém rozsahu a zmnožení pohárkových buněk v kůži. Zjištěné patologické změny jsou mírné a dá se předpokládat, že po ukončení léčby se změněné struktury navrátí do fyziologického stavu.

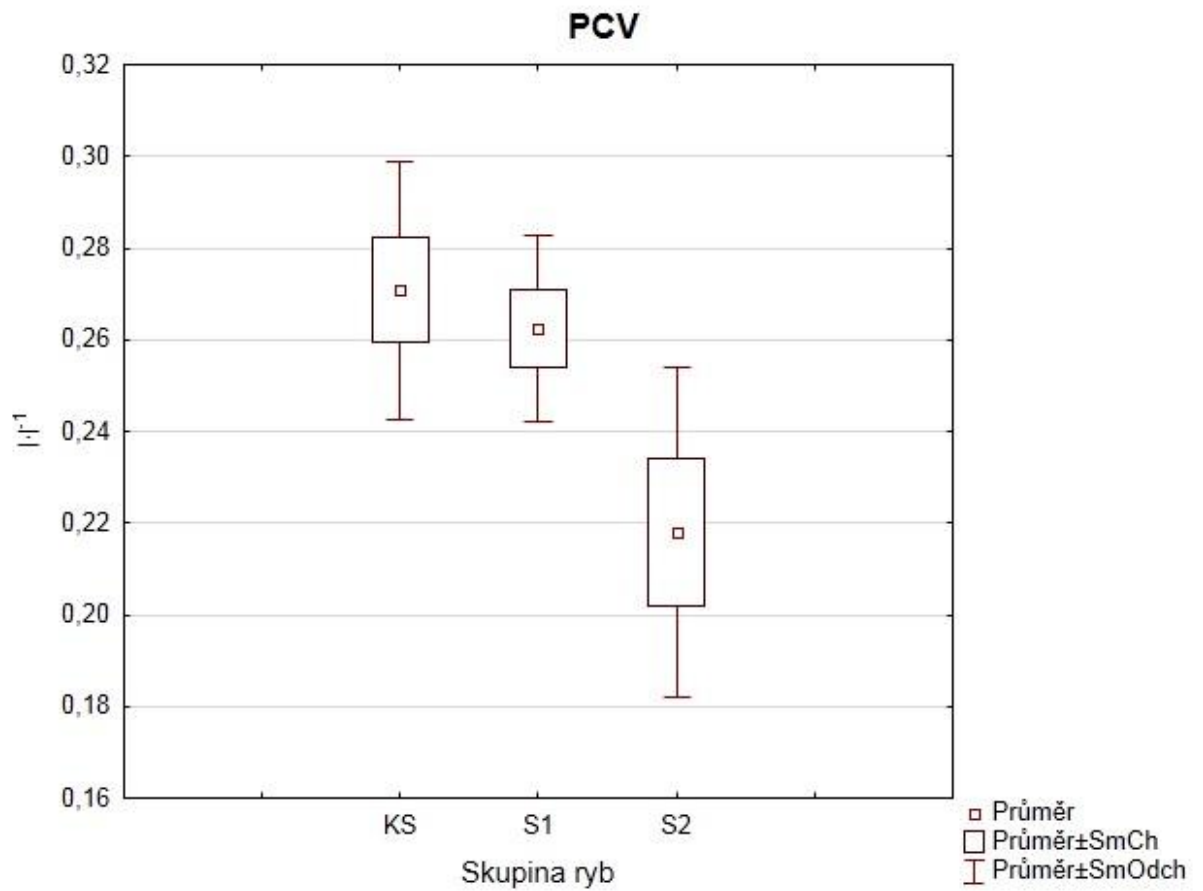
Tab. 1 Výsledková tabulka s rozsahem naměřených hodnot biochemických a hematologických ukazatelů u šupinaté formy kapra. V tabulce jsou znázorněny kontrolní skupina ryb KS bez koncentrace kyseliny peroctové, skupina ryb S1 s koncentrací 1 mg·l⁻¹ KPO a skupina ryb S2 s koncentrací 2 mg·l⁻¹ KPO. Ukazatel je vyjádřen hodnotou průměru v dané skupině ± směrodatná odchylka. Indexy a,b charakterizují shodu nebo rozdílnost hodnot mezi skupinami (ANOVA statistická významnost p<0,05).

Hematologický ukazatel	Jednotky	Skupina ryb KS	Skupina ryb S1	Skupina ryb S2	Statistická významnost
PCV	l·l ⁻¹	0,27 ± 0,03 ^a	0,26 ± 0,02 ^{ab}	0,22 ± 0,04 ^b	<i>P < 0,05</i>
Hb	g·l ⁻¹	62,96 ± 8,20 ^a	61,35 ± 6,95 ^a	52,82 ± 6,13 ^a	
Ery	T·l ⁻¹	1,27 ± 0,38 ^a	1,34 ± 0,15 ^a	1,09 ± 0,16 ^a	
MCV	fl	225,35 ± 48,35 ^a	198,26 ± 20,99 ^a	199,86 ± 33,42 ^a	
MCH	pg	52,08 ± 10,44 ^a	46,26 ± 5,46 ^a	49,39 ± 9,44 ^a	
MCHC	l·l ⁻¹	0,23 ± 0,02 ^a	0,23 ± 0,01 ^a	0,25 ± 0,04 ^a	
Biochemický ukazatel	Jednotky	Skupina ryb KS	Skupina ryb S1	Skupina ryb S2	Statistická významnost
TP	g·l ⁻¹	23,33 ± 3,61 ^a	23,33 ± 2,34 ^a	25,33 ± 5,05 ^a	
ALB	g·l ⁻¹	1,00 ± 1,10 ^a	1,33 ± 1,03 ^a	2,33 ± 2,34 ^a	
GLOB	g·l ⁻¹	22,17 ± 2,48 ^a	22,00 ± 1,41 ^a	23,00 ± 2,76 ^a	
Ca	mmol·l ⁻¹	2,20 ± 0,13 ^a	2,16 ± 0,11 ^a	2,32 ± 0,18 ^a	
PHOS	mmol·l ⁻¹	1,69 ± 0,27 ^a	1,64 ± 0,11 ^a	1,52 ± 0,21 ^a	
Mg	mmol·l ⁻¹	0,88 ± 0,29 ^a	0,84 ± 0,04 ^a	0,90 ± 0,07 ^a	
GLU	mmol·l ⁻¹	4,95 ± 1,26 ^a	6,84 ± 1,33 ^a	5,90 ± 1,53 ^a	
ALT	μkat·l ⁻¹	0,21 ± 0,1 ^a	0,19 ± 0,11 ^a	0,29 ± 0,49 ^a	
CK	μkat·l ⁻¹	27,93 ± 5,84 ^a	25,27 ± 3,31 ^a	28,02 ± 1,81 ^a	
LDH	μkat·l ⁻¹	7,42 ± 2,55 ^a	8,01 ± 5,38 ^a	5,67 ± 4,15 ^a	

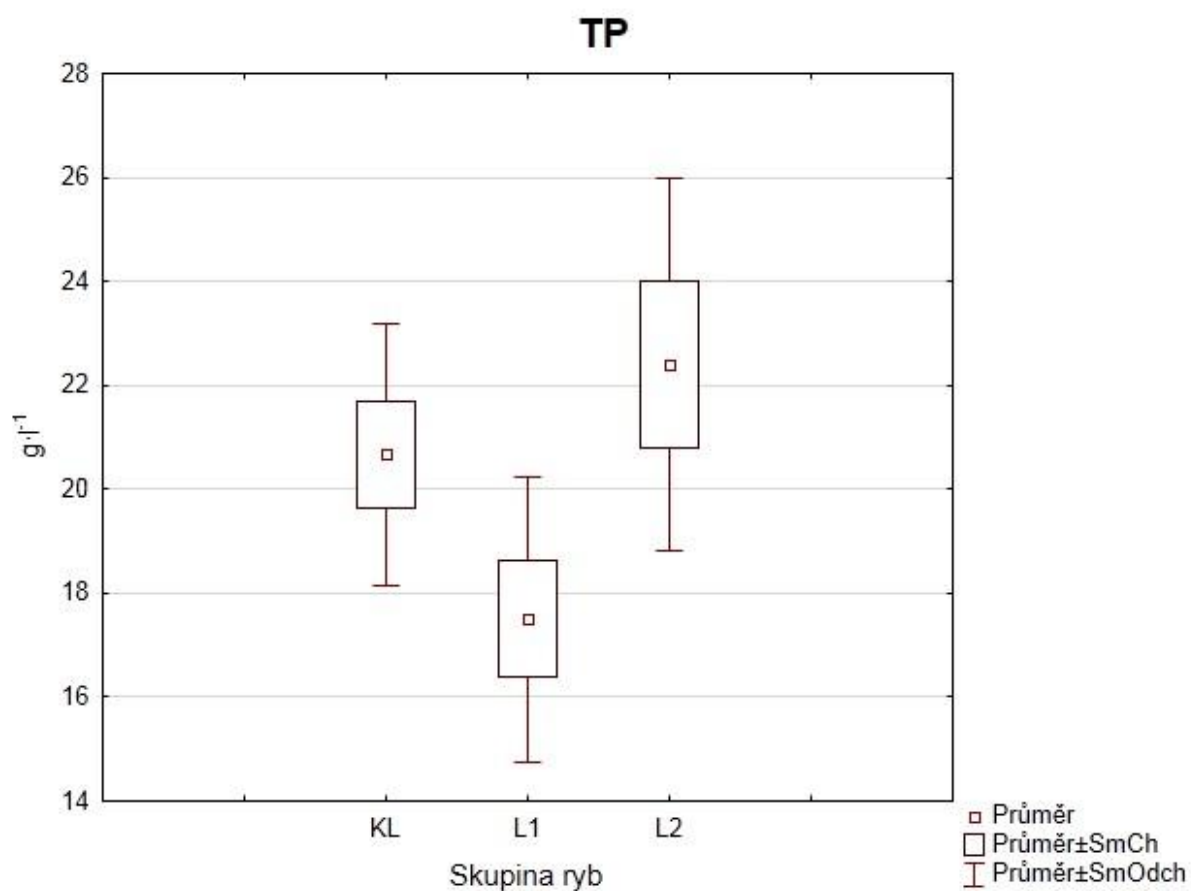
Tab. 2 Výsledková tabulka s rozsahem naměřených hodnot biochemických a hematologických ukazatelů u lysé formy kapra. V tabulce jsou znázorněny kontrolní skupina ryb KL bez koncentrace kyseliny peroctové, skupina ryb L1 s koncentrací 1 mg·l⁻¹ KPO a skupina ryb L2 s koncentrací 2 mg·l⁻¹ KPO. Ukazatel je vyjádřen hodnotou průměru v dané skupině ± směrodatná odchylka. Indexy a,b charakterizují shodu nebo rozdílnost hodnot mezi skupinami (ANOVA statistická významnost p<0,05).

Hematologický ukazatel	Jednotky	Skupina ryb KL	Skupina ryb L1	Skupina ryb L2	Statistická významnost
PCV	l·l ⁻¹	0,29 ± 0,03 ^a	0,29 ± 0,02 ^a	0,30 ± 0,05 ^a	
Hb	g·l ⁻¹	67,26 ± 8,80 ^a	66,07 ± 6,28 ^a	69,47 ± 8,42 ^a	
Ery	T·l ⁻¹	1,22 ± 0,36 ^a	1,31 ± 0,35 ^a	1,22 ± 0,20 ^a	
MCV	fl	266,68 ± 106,72 ^a	231,74 ± 54,21 ^a	242,33 ± 44,79 ^a	
MCH	pg	58,69 ± 15,37 ^a	52,41 ± 10,27 ^a	58,20 ± 6,88 ^a	
MCHC	l·l ⁻¹	0,23 ± 0,03 ^a	0,23 ± 0,01 ^a	0,23 ± 0,02 ^a	
Biochemický ukazatel	Jednotky	Skupina ryb KL	Skupina ryb L1	Skupina ryb L2	Statistická významnost
TP	g·l ⁻¹	20,67 ± 2,50 ^{ab}	17,50 ± 2,74 ^a	22,40 ± 3,58 ^b	<i>P</i> < 0,05
ALB	g·l ⁻¹	0,33 ± 1,52 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	1,40 ± 1,52 ^a	
GLOB	g·l ⁻¹	20,33 ± 2,16 ^a	17,50 ± 2,74 ^a	21,00 ± 2,12 ^a	
Ca	mmol·l ⁻¹	2,18 ± 0,16 ^{ab}	2,00 ± 0,04 ^a	2,32 ± 0,29 ^b	<i>P</i> < 0,05
PHOS	mmol·l ⁻¹	1,81 ± 0,33 ^a	1,66 ± 0,16 ^a	2,21 ± 0,82 ^a	
Mg	mmol·l ⁻¹	0,93 ± 0,09 ^a	0,79 ± 0,05 ^b	0,93 ± 0,12 ^a	<i>P</i> < 0,05
GLU	mmol·l ⁻¹	5,99 ± 1,51 ^a	5,20 ± 1,26 ^a	5,65 ± 0,54 ^a	
ALT	μkat·l ⁻¹	0,35 ± 0,33 ^a	0,99 ± 1,96 ^a	1,11 ± 2,17 ^a	
CK	μkat·l ⁻¹	27,69 ± 4,04 ^a	27,50 ± 2,83 ^a	25,00 ± 2,12 ^a	
LDH	μkat·l ⁻¹	15,67 ± 5,74 ^a	12,41 ± 6,75 ^b	6,62 ± 2,66 ^{ab}	<i>P</i> < 0,05

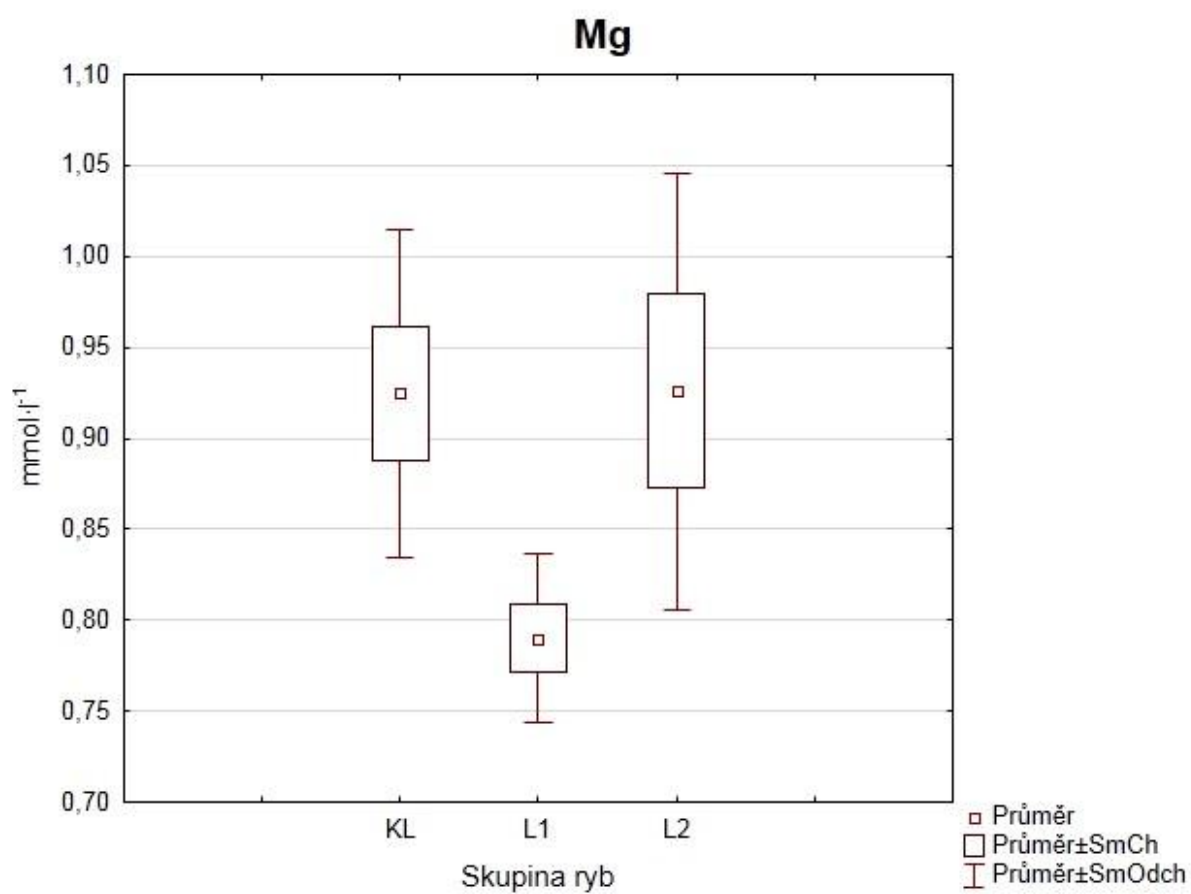
Grafické zpracování nejvýznamnějších změn hematologických a biochemických ukazatelů



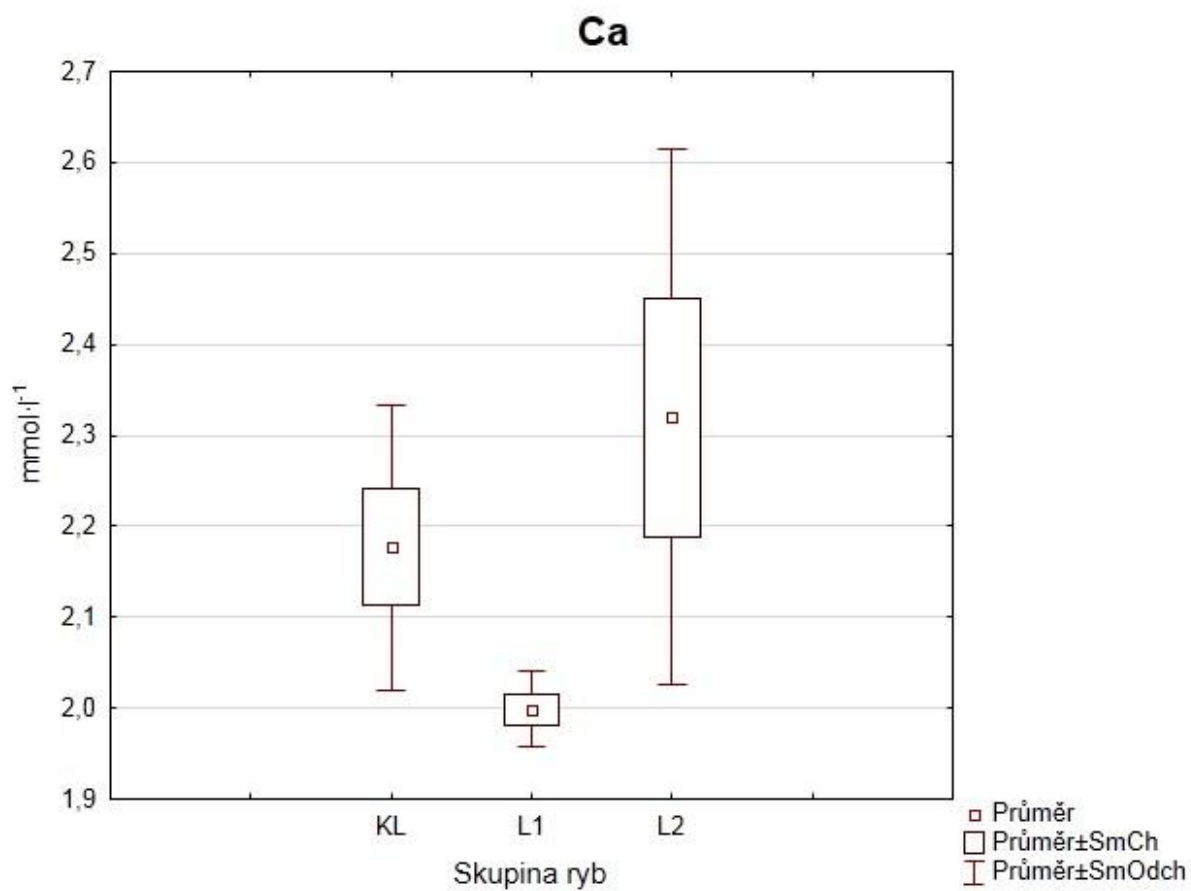
Graf 1 Krabicový graf znázorňující hematokritovou hodnotu (PCV) v krvi u testovaných skupin formy šupinatého kapra. Znáznorněna KS kontrolní skupina a testovací skupina S1 (konc. KPO 1 mg·l⁻¹) a S2 (konc. KPO 2 mg·l⁻¹). Za použití dvoucestného ANOVA testu byly vyhodnoceny statisticky významné rozdíly na hranici významnosti ($p < 0,05$).



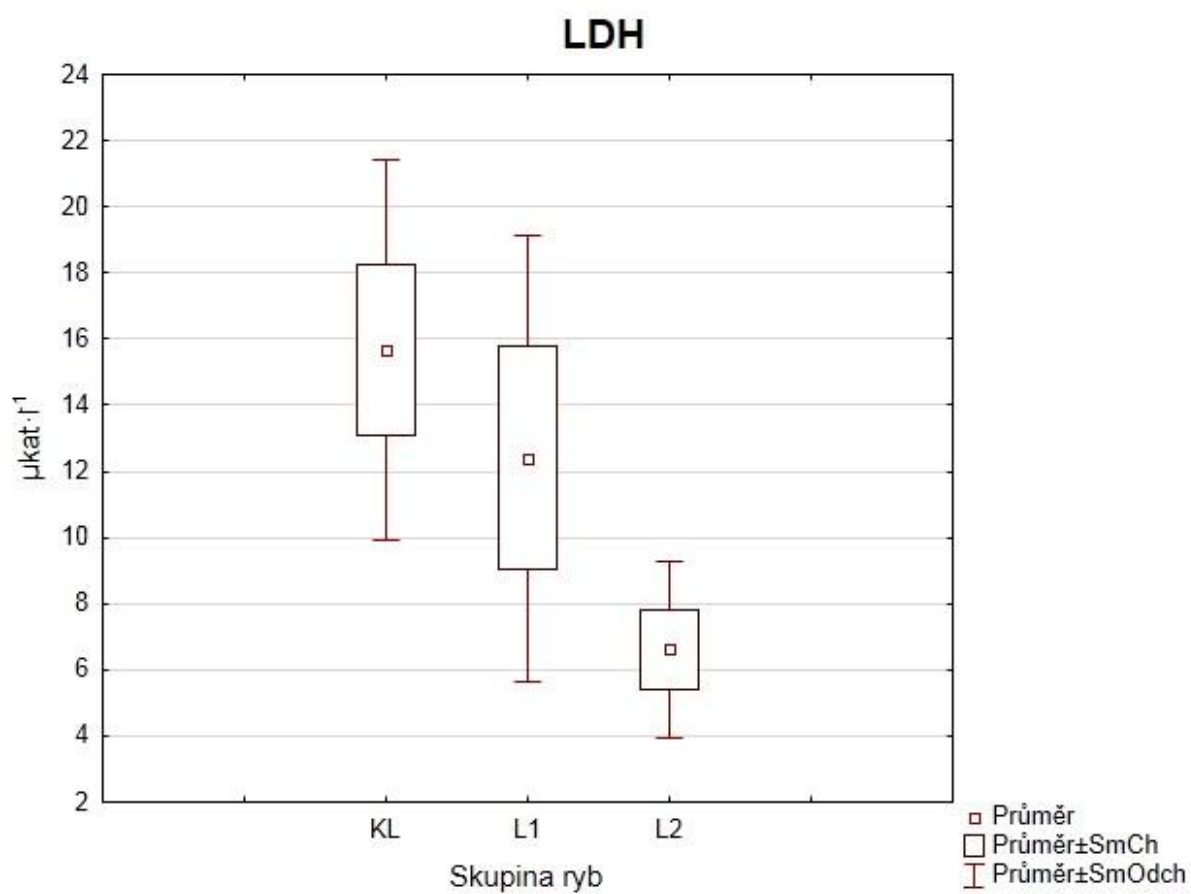
Graf 2 Krabicový graf znázorňující celkové bílkoviny (TP) v krevní plazmě u testovaných skupin formy lysého kapra. Znázorněna KL kontrolní skupina a testovací skupina L1 (konc. KPO 1 mg·l⁻¹) a L2 (konc. KPO 2 mg·l⁻¹). Za použití dvoucestného ANOVA testu byly vyhodnoceny statisticky významné rozdíly na hranici významnosti ($p < 0,05$).



Graf 3 Krabicový graf znázorňující obsah hořčíku (Mg) v krevní plazmě u testovaných skupin formy lysého kapra. Znázorněna KL kontrolní skupina a testovací skupina L1 (konc. KPO 1 mg·l⁻¹) a L2 (konc. KPO 2 mg·l⁻¹). Za použití dvoucestného ANOVA testu byly vyhodnoceny statisticky významné rozdíly na hranici významnosti ($p < 0,05$).



Graf 4 Krabicový graf znázorňující obsah vápníku (Ca) v krevní plazmě u testovaných skupin formy lysého kapra. Znázorněna KL kontrolní skupina a testovací skupina L1 (konc. KPO 1 mg·l⁻¹) a L2 (konc. KPO 2 mg·l⁻¹). Za použití dvoucestného ANOVA testu byly vyhodnoceny statisticky významné rozdíly na hranici významnosti ($p < 0,05$).



Graf 5 Krabicový graf znázorňující obsah laktát dehydrogenázy (LDH) v krevní plazmě u testovaných skupin formy lysého kapra. Znáznorněna KL kontrolní skupina a testovací skupina L1 (konc. KPO 1 mg·l⁻¹) a L2 (konc. KPO 2 mg·l⁻¹). Za použití dvoucestného ANOVA testu byly vyhodnoceny statisticky významné rozdíly na hranici významnosti ($p < 0,05$).

5 Diskuze

V testu terapeutické koupele s přípravkem obsahující kyselinu peroctovou nedošlo k úhynu žádného z testovacích organismů a ani neproběhly závažné negativní fyziologické změny, které by mohly ohrozit zdraví ryb. Při pokusu byly do skupin ryb S1,L1 resp. S2, L2 dávkovány koncentrace 1 mg·l⁻¹ resp. 2 mg·l⁻¹ KPO. To jsou hodnoty, které odpovídají doporučeným koncentracím, které uvádí Zusková a kol. (2011).

Použité koncentrace nezpůsobily žádné závažné změny u testovacích organismů za dobu 72 hodin expozice. Podobné koncentrace byly použity v testech autorů Strause a kol. (2012), kde byla koncentrace bez pozorovaného účinku (NOEC) 2,2 mg·l⁻¹ KPO pro váčkový plůdek sumečka skvrnitého (*Ictalurus punctatus*) při 24 hodinové expozici a 1,3 mg·l⁻¹ KPO pro rozplavaný plůdek sumečka. Váčkový plůdek prokázal větší rezistenci k testované látce. Rozplavaný plůdek byl oslaben, protože spotřeboval žloutkový váček a neměl k dispozici další zdroj živin, a tudíž byl pravděpodobně náchylnější k toxickým látkám. Tato zjištění jsou v souladu s předchozí prací stejného autora Straus a kol. (2008). Podmínky testu provedené Strausem a kol. (2012) byli velmi podobné s našimi. Ve zmíněné studii bylo nasycení vody kyslíkem okolo 70% a teplotní rozsah 21,7 – 23,5°C, v námi provedeném testu se nasycení pohybovalo od 70 do 80% a teplotní rozsah kolísal mezi 18,7 – 22,4 °C. V námi uskutečněné práci jsem si mohl dovolit tolerovat větší teplotní rozdíl, protože kaprovité ryby jsou vůči změnám teplot přizpůsobivější, než například ryby lososovité, které snáší výkyvy teplot hůře, jak také shodně uvádí Svobodová, a kol. (2003).

Z histopatologického vyšetření v práci Strause a kol. (2012) byly vyšetřeny celé ryby. Byl zjištěn degenerativní nález na žábrech při vystavení koncentraci o 2,2 mg·l⁻¹ KPO (1 hodinová expozice) u rozplavaného plůdku. Při koncentraci 1,7 mg·l⁻¹ KPO po dobu 48 hodin byla zjištěná mírná degenerace epitelu ledvin. Autor v práci uvádí také zkušenost při aplikaci KPO u kapra, u kterého po aplikaci docházelo ke zvýšené sekreci hlenu. V diplomové práci u testovaných ryb bylo provedeno histopatologické vyšetření kůže a svaloviny, ze kterého bylo patrné zmnožení pohárkových buněk.

V další studii autorů Meinelt a kol. (2007) zabývající se toxicitou KPO na rybách byl podobně jako v námi provedené práci použity juvenilní stádia ryb. Zde byl juvenilní candát podroben koncentrační řadě KPO v rozmezí 0,5 - 1,7 mg·l⁻¹. Úhyn ryb začal již

při koncentraci $0,9 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ KPO a při koncentraci $1,7 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ KPO byla mortalita ryb 100%. Na podkladě testů byla stanovena hodnota 24hLC50 pro juvenilního candáta na $1,14 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ KPO. Porovnáním naší práce s těmito výsledky můžeme konstatovat, že juvenilní stádia kapra jsou vůči KPO rezistentnější.

Ve výzkumu, který se nepodařilo v dostupné literatuře dohledat, na pstruhu duhovém (*Oncorhynchus mykiss*), prokázal Pedersen, jehož osobní sdělení cituje ve své práci Straus a kol. (2012), přežití ryb v 1-hodinovém testu toxicity při koncentracích KPO $1,3$ a $2,6 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Po expozici ryb koncentraci $3,9 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ KPO po dobu 24 hodin byla však již pozorována 18% mortalita ryb. Bohužel ve sdělení není uvedeno, jak staré ryby byly testovány, proto nelze srovnávat rezistenci s námi testovaným plůdkem kapra obecného.

Jak můžeme vidět z daných studií se akutní toxicita u různých druhů ryb a věkových stádií nepatrně liší, což může být příčinou, jak podmínkami experimentálních testů, tak i různou citlivostí testovaných druhů ryb. Jak uvádí studie od autorů Marchand a kol. (2013) toxicitu kyseliny peroctové může ovlivňovat také tvrdost vody. Při nízké tvrdosti vody ($25 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ CaCO}_3$) byla stanovena 24hLC50 pro embryo dánia pruhovaného při koncentraci $2,24 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ KPO. Při vysoké tvrdosti vody ($2500 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ CaCO}_3$) byla stanovena 24hLC50 pro emryo dánia až při koncentraci $7,14 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ KPO. Se zvyšující se koncentrací KPO ale také klesalo pH vody, proto by se v akvakulturních chovech při aplikaci KPO mělo dávat pozor, aby nedocházelo k acidóze.

V technické zprávě Technologie chovu lososovitých druhů ryb s využitím nových preventivních a terapeutických postupů od Sudové (2010) byly stanoveny testy toxicity na třech druzích ryb. Při testu akutní toxicity provedeném na pavím očku (*Poecilia reticulata*) bylo zjištěno 96hLC50 při koncentraci Persterilu (36%) $7 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, u pstruha duhového bylo zjištěno 96hLC50 při koncentraci Persterilu (36%) $6 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a u sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*) rovněž $6 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Jak uvádí Sudová (2010) Persteril má nízký terapeutický index vyjadřující měřítko bezpečnosti léčiva. Terapeutický index je poměr dávky léčebného činidla, která vyvolává léčebný účinek, k dávce způsobující úhyn. Proto je výhodné mít u léčiva co nejvyšší terapeutický index, aby se minimalizovaly negativní účinky náhodného předávkování. Proto je třeba dbát na zvýšenou opatrnost při práci s tímto léčivem.

V technické zprávě vypracované Sudovou (2010) byl vyhodnocen vliv KPO na hematologické ukazatele pstruha duhového. Pstruh duhový byl vystaven koncentraci $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ KPO. Po 4 dnech byly u ryb stanoveny hematologické ukazatele. Výsledky vyšetření velmi dobře korespondují s výsledky v mé práci. Došlo zde ke statisticky

významnému snížení hematokritu (PCV) u 3 skupiny kde byl aplikován persteril dvakrát denně. Stejně tak v mé práci došlo k statisticky významnému poklesu hematokritu ve skupině S2 u šupinaté formy kapra, kde byla aplikována KPO v koncentraci $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. U lysé formy kapra v mém testu došlo ke změnám u některých biochemických ukazatelů. Po aplikaci KPO se snížila aktivita laktátdehydrogenázy (LDH) což lze spíše přičítat menšímu počtu měřených jedinců, ve studii technické zprávy od Sudové (2010) se naopak LDH zvýšila u skupiny 2, kde byl persteril aplikován jednou denně. Stejně jako ve zmíněné studii i v mém testu se u lysé formy kapra lišili biochemické hladiny iontů vápníku (Ca^{2+}) a hořčíku (Mg) v plazmě. Výsledný závěr studie velmi dobře koreluje s mým, kdy bylo Sudovou (2010) konstatováno, že použité aplikační schéma nemá negativní dopad na zdraví ryb a veškeré změny se pohybují ve fyziologickém rozmezí. Z diskuze a mých výsledků můžeme usoudit, že pstruh duhový a kapr obecný lysá forma jsou k aplikaci KPO citlivější než šupinatá forma kapra.

Lze konstatovat, že pro aplikaci KPO v chovech ryb je vždy výhodnější volit větší objemy s nižší koncentrací účinné látky, protože může dojít k náhlému střetu ryb s koncentrovanou toxickou látkou. To je nevýhoda blízké terapeutické a toxické koncentrace této látky. Lze tomu ale předejít obezřetnou manipulací, správným proškolením pracujících personálu rybochovných zařízení a snížit tyto negativní aspekty na minimum (Sudová, 2010).

V práci autorů Svobodová a kol. (2003) bylo provedeno hematologické vyšetření červeného a bílého krevního obrazu u kapra obecného (K_{1-2}) o hmotnostech $165 \pm 49.8 \text{ g}$ a v kontrolní skupině o hmotnostech $183 \pm 42.0 \text{ g}$. To jsou hmotnostně srovnatelné ryby s rybami, které jsme použily v naší práci. Podobné jsou i podmínky testu, teplota vody se v práci Svobodové a kol. (2003) pohybovala mezi $19 - 21 \text{ }^\circ\text{C}$ a nasycení kyslíkem kolísalo mezi $70 - 100 \%$. V testu byla použita insekticidní látka Deltamethrin, patřící do skupiny pyrethroidů, ve formě přípravku Decis flow 2.5 (obsahujícího $25 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ účinné látky deltamethrinu). Testované ryby byly vystaveny koncentraci $0,13 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ přípravku Decis flow 2.5 po dobu 96 hodin. U pokusné skupiny byly v porovnání s kontrolní skupinou zjištěny signifikantně nižší hodnoty počtu erytrocytů (RBC, Ery), obsahu hemoglobinu (Hb), hematokritu (PCV) a celkových bílkovin v krevní plazmě (TP). V Naší práci byl signifikantní rozdíl PCV mezi kontrolní skupinou a pokusnými skupinami pouze u šupinaté formy kapra. V porovnání s prací Svobodové a kol. (2003) v naší práci byly naměřeny průměrně nižší koncentrace PCV jak v kontrolní tak

pokusné skupině u obou forem kapra obecného. Rovněž průměrné hodnoty obsahu Hb a počtu erytrocytů byly v naší práci naměřeny nižší. Velmi dobře spolu ale korelují průměrné hodnoty TP s našimi hodnotami v testu s lysou formou kapra. U první pokusné skupiny podobně jako v práci Svobodové a kol. (2003) došlo k poklesu TP, ale v druhé vyšší koncentraci v našem testu bylo TP naměřené ještě vyšší než v kontrolní skupině. Na základě našich hodnot z krevního obrazu, který se pohyboval stále ve fyziologickém rozmezí nelze vyvozovat možnost poruchy krvetvorby jako v práci Svobodové a kol. (2003).

V habilitační práci Řehulky (2005) zabývající se případem z roku 1999 bylo provedeno hematologické vyšetření a biochemické vyšetření krve sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*) o hmotnosti 113 ± 19 g napadeného infekčním onemocněním saprolegnie. U nemocných ryb došlo k významným rozdílům v červeném krevním obraze a v plazmatických bílkovinách. Signifikantní snížení počtu erytrocytů (z $0,98$ na $0,62 \text{ T} \cdot \text{l}^{-1}$) a hemoglobinu (z $87,4$ na $67,2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$). V naší práci u erytrocytů a hemoglobinu k významnému rozdílu mezi pokusnou a kontrolní skupinou nedošlo. U lysé formy kapra ale došlo k významnému rozdílu u TP a Ca podobně jako u Řehulky (2005), s tím rozdílem, že ač v naší první pokusné skupině došlo k poklesu hodnoty, u druhé skupiny už byla hodnota v průměru vyšší než kontrolní skupina. LDH v práci Řehulky a kol. byla velmi zvýšená, v naší práci se naopak významně snížila, což ale mohlo být zapříčiněno menším počtem změřitelných krevních vzorků.

V práci provedené Velíškem a kol. (2007) byl hematologicky vyšetřen sumec velký (*Silurus glanis*), na kterém bylo testováno anestetikum 2-phenoxyethanol po dobu 10 minut při koncentraci $0,30 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$. Test byl proveden na rybách o hmotnosti $94,90 \pm 55,23$ g. I zde byl naměřen významný rozdíl u PCV. Zde bylo, ale narozdíl od našeho testu došlo k významnému zvýšení PCV. V práci Velíška a kol. (2007) došlo ihned po aplikaci anestetika také k významnému zvýšení MCV, glukózy (GLU) a albuminů (ALB). Tyto hodnoty nevykazovaly v naší provedených testech v porovnání s kontrolní skupinou významný rozdíl. Z histopatologického vyšetření v práci Velíška a kol. (2007) bylo po aplikaci anestetika u testovaných ryb zjištěno kapilární rozšíření žaberních vláken. Po 24 hodinách už toto ale nebylo pozorováno. Lze tedy konstatovat, že stejně jako v našem testu, testovaná látka je pro ryby v dané koncentraci a po určenou dobu expozice bezpečná a nevyvolá ireverzibilní změny u rybiho organismu.

V práci od GholipourKanani a Ahadizadeh (2013) byl hematologicky vyšetřen karas stříbrný (*Carassius auratus*). V práci byl proveden test anestetika propofol v porovnání

s kontrolní skupinou a skupinou na které byla provedena anestezie hřebíčkovým olejem. Signifikantní pokles byl zaznamenán u hodnoty MCHC mezi skupinou, u které byl aplikován propofol a skupinou, u které byl aplikován hřebíčkový olej. Druhý signifikantní pokles byl změřen u množství hemoglobinu (Hb) mezi testovanou skupinou a skupinou, které byl aplikován hřebíčkový olej. V našem testu tyto hodnoty nevykazovaly signifikantní rozdíly ani u jedné z forem kapra.

Jednou z dalších prací zabývajících se toxicitou pyrethroidů na ryby je práce od Akinrotimi a kol. (2012). Jako testovací organismus zde byl použit juvenilní sumeček skvrnitý (*Clarias gariepinus*). Ryby vážily 276.443 ± 81.91 g a byly vystaveny koncentrační řadě 0,05 – 0,25 mg·l⁻¹ cypermethrinu po dobu 10 dní a následně byli vyhodnoceny hematologické parametry. Z výsledků vyšetření byl signifikantní pokles u testované koncentrace 0,25 mg·l⁻¹, a to u hodnot PCV, počtu erytrocytů (RBC, Ery), množství hemoglobinu (Hb), MCHC, MCH a MCV. Použitá látka tak vyvolala změnu téměř u všech krevních parametrů a lze tak usuzovat její vysokou toxicitu vůči rybám. V našem testu také došlo k signifikantnímu poklesu PCV, ale pouze u skupiny s šupinatou formou kapra a tato hodnota byla stále ve fyziologickém rozmezí. Lze se domnívat, že ryby v našem testu v první skupině zřejmě byly vystaveny většímu stresu, protože stejně jako v práci autorů Svobodová a kol. (2003) i v práci autorů od Akinrotimi a kol. (2012) došlo při použití pyrethroidní látky k poklesu PCV, Hb a Ery a testovaná látka byla vyhodnocena jako látka zvyšující stres u ryb. V našem testu byla testována sice jiná látka, ale signifikantní změny v krevních parametrech byly především u lysé formy kapra, která byla také vyhodnocena jako citlivější a u které nedošlo k signifikantnímu poklesu PCV. Nelze tedy jednoznačně tvrdit, že pokles PCV způsobila námi testovaná látka, tedy KPO, ale zvýšení PCV mohl zapříčinit i jiný vnější faktor.

Jak už bylo zmíněno, vysokou výhodou KPO je její velmi malý dopad na životní prostředí a její rychlý rozklad na neškodná rezidua. Toto je aktuální téma, protože v některých zemích se nedávno vyskytly obavy o možném negativním vlivu formaldehydu na životní prostředí při jeho nadměrného vypouštění. Stejně tak otázka bezpečnosti práce s ním, vedla k záměru postupného upouštění od používání formaldehydu jako terapeutického prostředku v akvakultuře (Pedersen a kol., 2009).

Malachitová zeleň je jedním z dalších léčebných přípravků, který je od r. 1998 zakázán Evropským koncilem pro svůj možný toxický dopad na konzumenty ryb (Rintamäki-Kinnunen a kol., 2005).

Kyselina peroctová je poměrně novou sloučeninou, která ale při správném použití a aplikaci může být velmi dobrou alternativou jiným terapeutickým preparátům a látkám, které mnohdy nemusejí být tou správnou volbou pro ošetření akvakulturních chovů ryb a která si určitě zaslouhuje další výzkum týkající se jejího použití v akvakultuře jako léčiva.

6 Závěr

Cílem této práce bylo zhodnotit vliv antiparazitárních koupelí na vybrané biochemické a hematologické ukazatele v krvi ryb. Test terapeutické látky byl proveden ve formě koupelí na dvou formách plůdku kapra obecného.

Na základě histopatologického vyšetření se lysá forma kapra obecného jeví k aplikaci KPO citlivější. Veškeré zjištěné změny hematologických a biochemických ukazatelů se však stále pohybovaly ve fyziologickém rozmezí. Testem léčebné koupele s KPO bylo prokázáno, že testované aplikační schéma nemá výraznější negativní vliv na zdravotní stav ani jedné z testovaných forem kapra obecného.

Na základě zjištěných hodnot lze usoudit, že aplikační schéma dané testované látky, v tomto případě kyseliny peroctové, je vyhovující a nevyžaduje další úpravy.

Kyselinu peroctovou tak lze v daných koncentracích doporučit pro terapeutické použití v chovech kapra obecného, protože nijak neohrozí fyziologické funkce ani zdraví ryb.

7 Přehled použité literatury

- Akinrotimi, O.A., Gabriel, U.U., Ariweriokuma, S.V., 2012. Haematotoxicity of Cypermethrin to African Catfish *Clarias Gariepinus* under Laboratory Conditions. *Journal of Environmental Engineering and Technology*. 1, 20-25.
- Anonymus, 2011. Biochemie analyzátoru VetTest [online]. Cymedica spol. s.r.o. [cit. 2013-4-15]. Dostupné na WWW: <http://www.cymedica.com/www/cz/biochemicky-analyzator-idexx-vetest/biochemie/>.
- Block, S.S., 2001. Disinfection, sterilization and preservation. 5th ed. Lippincott William & Wilkins, Philadelphia, pp. 1481
- Boyd, C.E., 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama., pp 482.
- Cohle, P., McAllister, W.A., 1983. Acute toxicity of Oxonia Active to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Unpublished report 30723, Analytical Bio-Chemistry Laboratories, Columbia, Missouri.
- Doubek, J., Bouda, J., Doubek, M., Furl, M., Knotková, Z., Pejřilová, Z., Pravda, D., Scheer, P., Svobodová, Z., Vodička, R., 2003. Veterinární hematologie, Noviko, Brno, s. 464
- Douglas, M.T., Pell, I.B., 1986. The acute toxicity of Proxitane 1507 to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Unpublished report LPT43/851643. Huntingdon Research Centre Huntingdon. Cambridgeshire, United Kingdom.
- Dubský, K., Kouřil, J., Šrámek, V., 2003. Obecné rybářství, Praha, 299 s.
- Dychdala G.R., 1988. New hydrogen peroxide–peroxyacetic acid disinfectant. In: Proceedings of the 4th Conference on Progresses in Chemical Disinfection, Binghamton, New York, 1988, pp. 315–42.
- European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECOTEC), 2001. Peracetic Acid (CAS No. 79-21-0) and its Equilibrium Solutions. [online] Joint Assessment of Commodity Chemicals (JACC) report No. 40. Brussels, Belgium [cit. 2013-4-15]. Dostupné z WWW: http://www.ecetoc.org/index.php?mact=MCSOap,cntnt01,details,0&cntnt01by_category=3&cntnt01order_by=Reference%20Desc&cntnt01template=display_list_

v2&cntnt01display_template=display_details_v2&cntnt01document_id=110&cntnt01returnid=91>

- Folmar, L.C., 1993. Effects of chemical contaminants on blood chemistry of teleost fish: a bibliography and synopsis of selected effects. *Environmental Toxicology and Chemistry* 12: 337-375.
- Francis-Floyd, R., 1996. Use of Formalin to control fish parasites. In: *College of Veterinary Medicine, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida*. pp. 1-3.
- Fraser J.A.L, Godfree A.F, Jones F., 1984. Use of peracetic acid in operational sewage sludge disposal to pasture. *Water Science and Technology*, 17, 451–66.
- Gardner, C., Bucksath, J.D., 1996. Static acute toxicity of 5% peracetic acid (Vigor Ox) to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Final unpublished report 42348, ABC Laboratories, Columbia, Missouri.
- GholipourKanani H., Ahadizadeh, S., 2013. Use of propofol as an anesthetic and its efficacy on some hematological values of ornamental fish *Carassius auratus*. *SpringerPlus*. 2, 76 s.
- Kitis, M., 2004. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environmental International*, 30, 47-50.
- Kolářová, J., Svobodová, Z., 2009. Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb. *Edice metodik, VÚRH JU Vodňany*, 30 s.
- Kouřil, J.; Svobodová, Z.; Vykusová, B.; Hamáčková, J., 1984. Antiparazitární a protiplísňové koupele raného plůdku kapra, býložravých ryb a sumce. *Metodika č. 15. VÚRH JU Vodňany*, 1984, 8 s.
- Lucký, Z., 1986. Péče o zdraví a prevence chorob ryb. *Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR ve spolupráci s ÚV ČRS, Praha*, 188 s.
- Marchand P-A., Straus, D.L., Wienke, A., Pedersen L-F., Meinelt, T., 2013. Effect of water hardness on peracetic acid toxicity to zebrafish, *Danio rerio*, embryos. *Aquaculture International*. 21, 679-686.
- Masopust, J., 2000. *Clinical biochemistry*. Karolinum, Praha, pp 832.
- McAllister, W.A., Cohle, P., 1983. Acute toxicity of Oxonia Active to bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). Unpublished report 30722, Analytical Bio-Chemistry Laboratories, Columbia, Missouri.

- Meinelt, T., Sudová, E., Straus, S., 2009. Dynamic peracetic acid (PAA) exposure, a treatment strategy against ectoparasites. In: EAAP 14th International Conference, Prague, Czech republic, pp. 423
- Noga, E. J., 2000. Fish Disease. Diagnostic and Treatment. Mosby St. Louis, 367 pp.
- Ototake, M., Iwama, G.K., Nakanishi, T., 1996. The uptake of bovine serum albumin by the skin of bath-immunized rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 6, 321-333.
- Pedersen L-F., 2012. In: Straus, D.L., Meinelt, T., Farmer, B.D., Mitchell, A.J., 2012. Peracetic acid is effective for controlling fungus on channel catfish eggs. *Journal of Fish Diseases*. 35, 505-511.
- Pedersen, L.F., Pedersen, P.B., Nielsen, J.L., Nielsen, P.H., 2009. Peracetic acid degradation and effects on nitrification in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 296, 246-254.
- Piper, R.G., McCraren, J.P., 1982. Fish hatchery management. Fishing News Books., Washington DC, 517 pp.
- Racek, J., 1999. *Klinická biochemie*, Galén, Praha, s. 329.
- Rebar, A.H., Christian, J.A., 2013. Advanced Diagnostics, Přístup k výsledkům referenční laboratoře s pomocí klinického biochemického analyzátoru. [online]. Czmedica spol. s.r.p. [cit. 2013-4-15]. Dostupné na WWW: <<http://cms2.netnews.cz/files/attachments/67030/22771-Biochemicke-analyzatory-vliv-interferujicich-substanci.pdf>>.
- Rintamäki-Kinnunen, P., Rahkonen, M., Mannermaa-Keränen, A.L., Suomalainen, L.R., Mykrä, H., Valtonen, E.T., 2005. Treatment of ichthyophthiriasis after malachite green. I. Concrete tanks at salmonid farms. *Diseases of Aquatic Organisms* 64, 69–76.
- Řehulka, J., 2006. Hematologická a biochemická charakteristika krve ryb při zdravotních poruchách a změnách výživy. habilitační práce. [online]. Slezské zemské muzeum v Opavě oddělení přírodních věd pracoviště zoologie, Opava [cit. 2013-4-15]. Dostupné z WWW: <http://oldwww.upol.cz/fileadmin/user_upload/PrF-dokumenty/Vedecka_rada/Habilitace_a_profesury/Rehulka_Jiri/hab.prace-Rehulka.pdf>.
- Schneiderka, P., 2004. Kapitoly z klinické biochemie. 2. vydání. Praha : Karolinum. s. 366.

- Straus, D.L., 2008. Copper sulfate toxicity to channel catfish fry: yolk sac versus swim-up fry. *North American Journal of Aquaculture*. 70, 323–327.
- Straus, D.L., Meinelt, T., 2009. Acute toxicity of peracetic acid (PAA) formulations to *Ichthyophthirius multifiliis* theronts. *Parasitol Research*, 104, 1237–1241.
- Straus, D.L., Meinelt, T., Farmer, B.D., Mitchell, A.J., 2012. Peracetic acid is effective for controlling fungus on channel catfish eggs. *Journal of Fish Diseases*. 35, 505–511.
- Sudová, E., 2010. Technická zpráva pilotního projektu. Technologie chovu lososovitých druhů ryb s využitím nových preventivních a terapeutických postupů. Ministerstvo zemědělství České republiky. 23 s.
- Supranee Ch., Chalor L., Kamonporn T., Temdoung P., 1988. Toxic and sublethal effect of formalin on freshwater fishes. [online]. FAO Corporate document repository [cit. 2013-4-15]. Dostupné na WWW: <<http://www.fao.org/docrep/field/003/AC278E/AC278E00.htm>>
- Svobodová Z., Lusková, V., Drastichová, J., Svoboda, M., Žlábek, V., 2003. Effect of Deltamethrin on Haematological Indices of Common Carp (*Cyprinus carpio L.*), *Acta Vet., Brno*. 72, 79-85.
- Svobodová, Z., 2007. Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb. 4. vyd., Informatorium, Praha, 264 s.
- Svobodová, Z., Máchová, J., Veselý, V., Modrá, H., Svoboda, M., 2003. Veterinární toxikologie. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 179 s.
- Svobodová, Z., Pravda, D., Paláčeková, J., 1991. Unified methods of haematological examination of fish. Methods No. 20, Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, Vodnany, Czech Republic, 31 p.
- Terrell, Y., 1987. Acute toxicity bioassay of Divosan Forte on rainbow trout and bluegill sunfish. Unpublished report, project 86-719/720 American Standards Biosciences Corporation, Reading, Pennsylvania.
- Treves-Brown, K.M., 2000. Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 310 pp.
- Velíšek J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodová, Z., Novotný, L., 2007. Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis L.*). *Veterinari Medicina*, Praha. 52, 103-110.
- Vítek, T., 2010. Soustava krevního oběhu. [online]. Agronomická fakulta, oddělení rybářství a hydrobiologie, Mendelova univerzita, Brno. [cit. 2013-4-15]. Dostupné

z WWW: <<http://www.rybarstvi.eu/dok%20rybari/ichtyologie/SOUSTAVA%20KREVNIHO%20OBEHU.pdf>>.

Walker, J.F., 1964. Formaldehyde. Am. Chem. Soc. monograph series, 3rd ed.
Rainhold Publishing Corp, New York, pp. 408

Warren, J.W., 1981. Diseases of hatchery fish. US Fish and Wildlife Service, Ft.
Snelling, Twin Cities, Minnesota, pp 91.

Zákon o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon). In: Sbíрка zákonů ČR.
2001. Dostupné z: <http://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-254>

8 Seznam zkratek

24hLC50	-koncentrace testovaného vzorku, která vyvolá úhyn 50% testovaných organismů za 24 hodin
48hLC50	- koncentrace testovaného vzorku, která vyvolá úhyn 50% testovaných organismů za 48 hodin
96hLC50	- koncentrace testovaného vzorku, která vyvolá úhyn 50% testovaných organismů za 96
ECOTEC	- organizace European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals
KNK _{4,5}	-kyselinová neutralizační kapacita
KPO	-kyselina peroctová
LOEC	- (lowest observed effect concentration) nejnižší koncentrace testovaného vzorku, při které jsou pozorovány účinky na testovaný organismus
MRL	-maximální reziduální limit
NOEC	- (noobserved effect concentration) nejvyšší koncentrace testovaného vzorku, při které nejsou pozorovány účinky na testovaný organismus
OL	-ochranná lhůta

9 Seznam tabulek

- Tab. 1 Výsledková tabulka s rozsahem naměřených hodnot biochemických a hematologických ukazatelů u šupinaté formy kapra. Str. 48
- Tab. 2 Výsledková tabulka s rozsahem naměřených hodnot biochemických a hematologických ukazatelů u šupinaté formy kapra. Str. 49
- Tab. 3 Hematologické vyšetření jednotlivých ryb. Str. 69
- Tab. 4 Biochemické hodnoty u jednotlivých druhů ryb. str. 70
- Tab. 5 Biochemické hodnoty u jednotlivých ryb. Str. 71
- Tab. 6 Vybrané hydrochemické parametry měřené během testu po 24 hodinách. Str. 72

Seznam obrázků a grafů

- Obr. 1 Obrazové schéma s nasazením ryb do jednotlivých nádrží s konc.KPO. Str. 44
- Obr. 2 Původní zpráva z histopatologického vyšetření z Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně. Str. 80
- Graf 1 Krabicový graf znázorňující hematokritovou hodnotu (PCV) v krvi u testovaných skupin formy šupinatého kapra. Str. 51
- Graf 2 Krabicový graf znázorňující celkové bílkoviny (TP) v krevní plazmě u testovaných skupin formy lysého kapra. Str. 52
- Graf 3 Krabicový graf znázorňující obsah hořčíku (Mg) v krevní plazmě u testovaných skupin formy lysého kapra. Str. 53
- Graf 4 Krabicový graf znázorňující obsah vápníku (Ca) v krevní plazmě u testovaných skupin formy lysého kapra. Str. 54
- Graf 5 Krabicový graf znázorňující obsah laktát dehydrogenázy (LDH) v krevní plazmě u testovaných skupin formy lysého kapra. Str. 55
- Graf 6 Hematokritová hodnota (PCV) u testovacích skupin formy šupinatého kapra. Str. 75
- Graf 7 Celkové bílkoviny (TP) u testovacích skupin formy lysého kapra. Str. 76

- Graf 8 Obsah hořčíku (Mg) v krvi u testovacích skupin formy lysého kapra. Str. 77
- Graf 9 Obsah vápníku (Ca) v krvi u testovacích skupin formy lysého kapra. Str. 78
- Graf 10 Obsah laktát dehydrogenázy (LDH) v krvi u testovacích skupin formy lysého kapra. Str. 79

10 Přílohy

Tab. 3 Hematologické vyšetření jednotlivých ryb.

Číslo ryby	PCV [l·l ⁻¹]	Hb [g·l ⁻¹]	RBC [T·l ⁻¹]	MCV [fl]	MCH [pg]	MCHC [l·l ⁻¹]
KS	0,29	75,56	1,81	157,46	41,74	0,27
KS	0,24	54,79	1,08	222,22	50,73	0,23
KS	0,26	57,29	1,10	236,36	52,09	0,22
KS	0,32	67,68	1,67	188,62	40,53	0,21
KS	0,25	56,22	0,83	295,18	67,74	0,23
KS	0,28	66,25	1,11	252,25	59,68	0,24
S1	0,25	61,95	1,24	201,61	49,96	0,25
S1	0,27	66,60	1,41	191,49	47,24	0,25
S1	0,29	70,90	1,35	214,81	52,52	0,24
S1	0,25	56,22	1,51	162,25	37,23	0,23
S1	0,24	51,56	1,08	222,22	47,75	0,21
S1	0,28	60,88	1,42	197,18	42,87	0,22
S2	0,23	51,56	0,98	234,69	52,62	0,22
S2	0,28	60,88	-*	-*	-*	0,22
S2	0,20	44,40	-*	-*	-*	0,22
S2	0,20	55,86	1,19	168,07	46,94	0,28
S2	-*	47,63	1,26	-*	37,80	-*
S2	0,19	56,58	0,94	196,81	60,19	0,31
KL	0,26	66,96	-*	-*	-*	0,26
KL	0,33	78,78	1,19	277,31	66,20	0,24
KL	0,31	69,83	1,46	212,33	47,83	0,23
KL	0,26	68,40	1,54	168,83	44,41	0,26
KL	0,28	51,56	0,63	444,44	81,85	0,18
KL	0,30	68,04	1,28	230,47	53,15	0,23
L1	0,29	68,75	1,37	211,68	50,18	0,24
L1	0,33	76,27	1,90	173,68	40,14	0,23
L1	0,28	62,31	1,05	266,67	59,34	0,22
L1	0,27	59,80	1,26	210,32	47,46	0,23
L1	0,29	68,40	1,42	204,23	48,17	0,24
L1	0,29	60,88	0,88	323,86	69,18	0,21
L2	0,25	58,73	1,05	233,33	55,93	0,24
L2	0,31	65,53	-*	-*	-*	0,21
L2	0,26	65,17	1,29	197,67	50,52	0,26
L2	0,34	73,77	1,10	304,55	67,06	0,22
L2	0,36	83,08	1,54	233,77	53,95	0,23
L2	-*	70,54	1,11	-*	63,55	-*

*- Hodnotu se nepodařilo změřit, protože krevní vzorek nebyl pro analýzu dostatečně kvalitní

Tab. 4 Biochemické hodnoty u jednotlivých druhů ryb.

Číslo ryby	TP (g.l ⁻¹)	ALT (μkat.l ⁻¹)	Ca (mmol.l ⁻¹)	PHOS (mmol.l ⁻¹)	Mg (mmol.l ⁻¹)
KS	24	0,317	2,33	1,35	1,01
KS	20	0,084	2,17	1,65	0,9
KS	19	0,284	2,05	1,62	0,37
KS	29	0,167	2,38	2,17	1,24
KS	23	0,117	2,12	1,58	0,81
KS	25	0,267	2,15	1,77	0,94
S1	21	0,184	2,14	1,51	0,87
S1	20	0,117	2,08	1,75	0,82
S1	25	0,384	2,13	1,51	0,83
S1	24	0,084	2,25	1,72	0,78
S1	26	0,100	2,03	1,65	0,85
S1	24	0,251	2,32	1,71	0,91
S2	22	0,084	2,41	1,58	0,89
S2	35	1,286	2,64	1,3	1,03
S2	25	0,084	2,17	1,4	0,84
S2	22	0,100	2,21	1,42	0,9
S2	26	0,084	2,21	1,49	0,83
S2	22	0,084	2,27	1,91	0,88
KL	22	0,868	2,17	1,66	0,84
KL	24	0,635	2,11	2,16	0,97
KL	22	0,267	2,46	2,22	1,03
KL	19	0,084	1,98	1,35	0,82
KL	20	0,167	2,18	1,83	1,01
KL	17	0,084	2,16	1,64	0,88
L1	16	0,167	2	1,49	0,83
L1	17	0,084	2,03	1,74	0,75
L1	17	0,200	1,94	1,5	0,77
L1	14	5	1,96	1,92	0,84
L1	19	0,267	2,01	1,69	0,73
L1	22	0,234	2,05	1,62	0,82
L2	18	0,217	1,99	1,49	0,76
L2	-*	-*	-*	-*	-*
L2	22	0,117	2,19	1,45	0,84
L2	26	5	2,18	1,99	0,99
L2	20	0,100	2,52	3,26	1
L2	26	0,117	2,72	2,87	1,04

*- Hodnotu se nepodařilo změřit, protože vzorek krevní plazmy nebyl pro analýzu dostatečně kvalitní

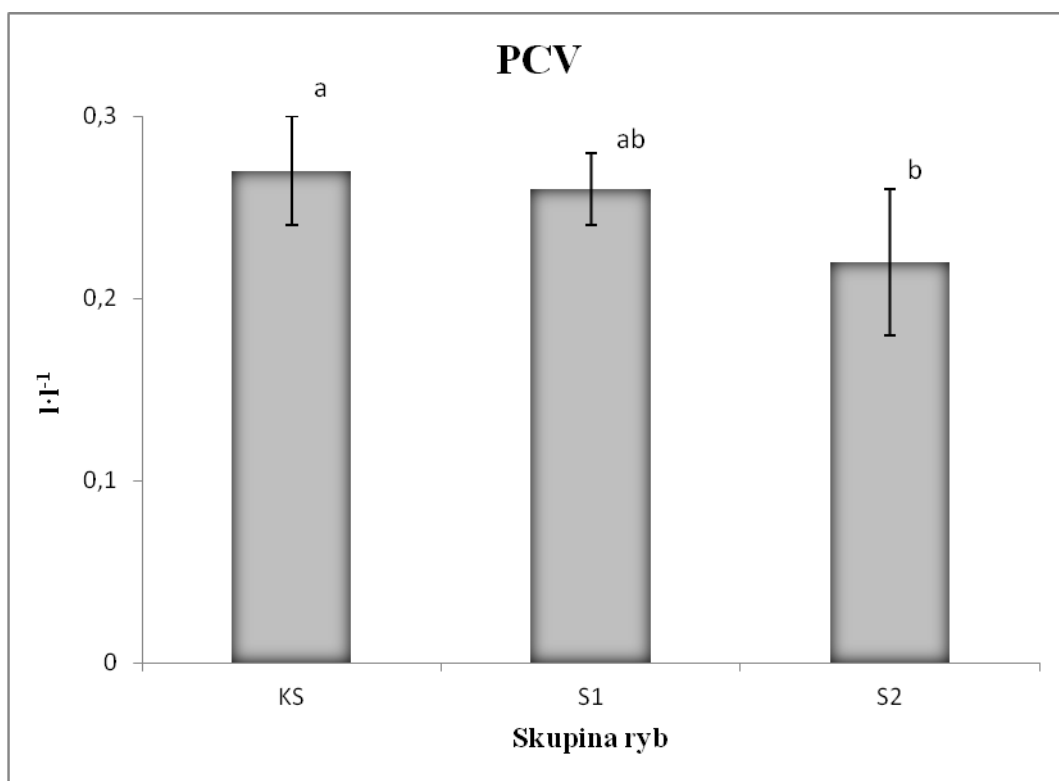
Tab. 5 Biochemické hodnoty u jednotlivých ryb.

Číslo ryby	ALB (g.l ⁻¹)	GLU (mmol.l ⁻¹)	CK (μkat.l ⁻¹)	LDH (μkat.l ⁻¹)	GLOB (g.l ⁻¹)
KS	1	4,76	28,056	3,791	23
KS	0	3,75	16,800	9,168	20
KS	0	4,73	33,400	4,526	19
KS	3	7,38	28,991	9,486	26
KS	1	4,87	28,524	8,935	22
KS	1	4,23	31,830	8,634	23
S1	0	8,9	25,184	8,784	21
S1	0	5,05	19,589	6,413	20
S1	2	7,27	23,814	2,906	23
S1	2	7,14	26,419	6,830	22
S1	2	6,84	28,908	4,910	24
S1	2	5,81	27,689	18,236	22
S2	1	5,19	30,394	10,404	21
S2	7	8,18	29,025	-*	28
S2	2	3,68	25,969	-*	23
S2	1	6,69	28,891	3,991	21
S2	2	5,37	28,023	2,622	24
S2	1	6,27	25,818	-*	21
KL	1	6,98	21,760	-*	22
KL	0	5,63	32,198	18,236	23
KL	1	4,46	27,522	5,411	21
KL	0	7,32	25,551	18,236	19
KL	0	4,02	26,820	18,236	20
KL	0	7,52	32,264	18,236	17
L1	0	5,42	29,192	-*	16
L1	0	3,56	26,687	7,231	17
L1	0	4,71	22,378	5,945	17
L1	0	7,43	27,455	-*	14
L1	0	5,02	28,891	18,236	19
L1	0	5,07	30,394	18,236	22
L2	0	6,11	22,411	7,599	18
L2	-*	-*	-*	-*	-*
L2	1	4,98	25,818	8,534	21
L2	3	6,03	23,413	9,369	23
L2	0	6	27,789	4,092	20
L2	3	5,14	25,551	3,490	23

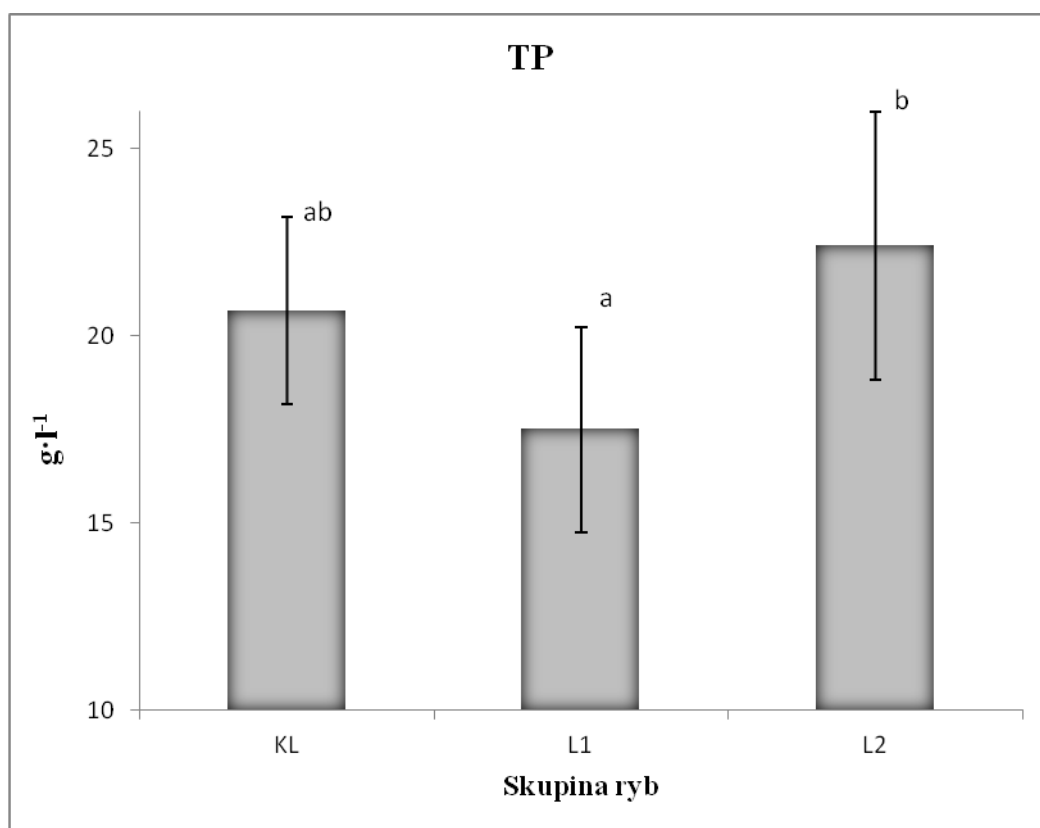
*- Hodnotu se nepodařilo změřit, protože vzorek krevní plazmy nebyl pro analýzu dostatečně kvalitní

Tab. 6 Vybrané hydrochemické parametry měřené během testu po 24 hodinách (Měření 1-3.).

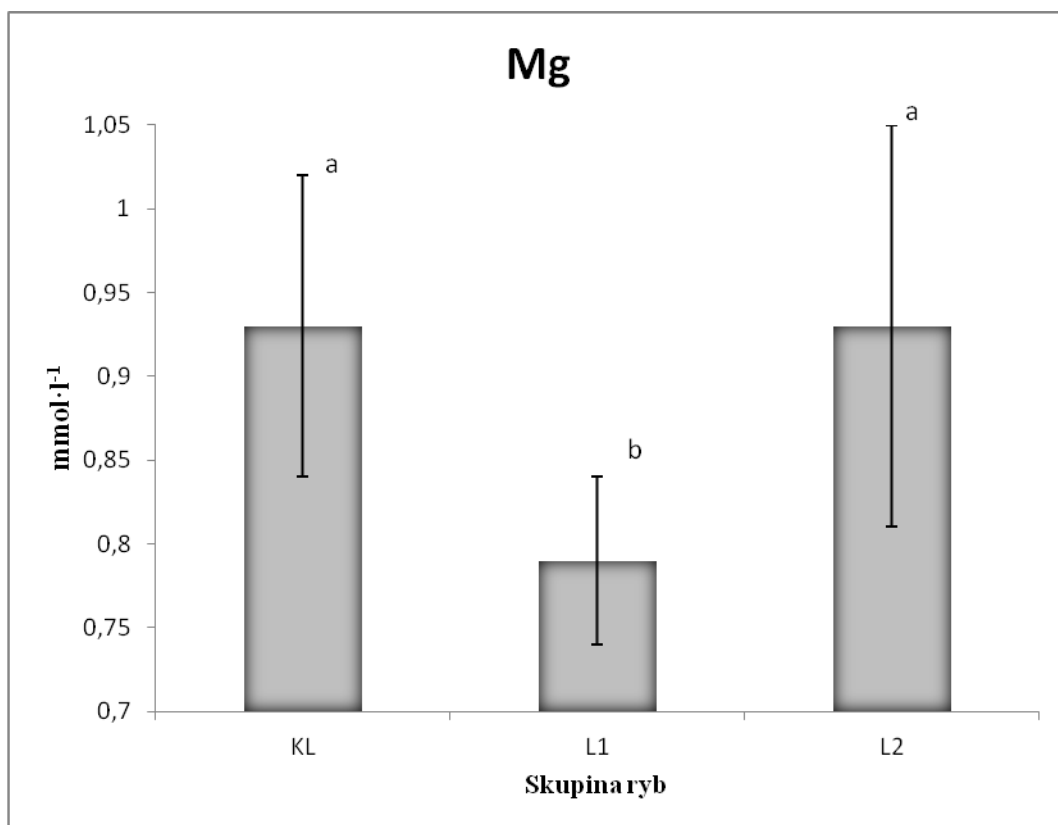
NH₄-N [mg.l⁻¹]			
Měření	1.	2.	3.
KS	2,28	3,06	3,28
KL	3,60	4,84	4,05
S1	3,00	4,00	4,15
S2	3,12	3,76	3,23
L1	3,64	4,30	4,27
L2	3,88	4,76	4,83
NO₂-N [mg.l⁻¹]			
Měření	1.	2.	3.
KS	0,047	0,075	0,024
KL	0,018	0,030	0,036
S1	0,021	0,024	0,030
S2	0,012	0,018	0,018
L1	0,013	0,018	0,021
L2	0,017	0,024	0,075
CHSKMn [mg.l⁻¹]			
Měření	1.	2.	3.
KS	10,9	12,5	11,8
KL	10,9	12,5	12,9
S1	12,8	16,0	14,8
S2	13,4	15,4	16,4
L1	12,2	15,4	16,2
L2	11,2	14,4	15,2
pH			
Měření	1.	2.	3.
KS	7,3	7,1	7,4
KL	7,6	7,4	7,5
S1	8,0	7,4	7,8
S2	7,5	7,6	7,9
L1	7,2	7,1	7,3
L2	8,1	7,9	7,7



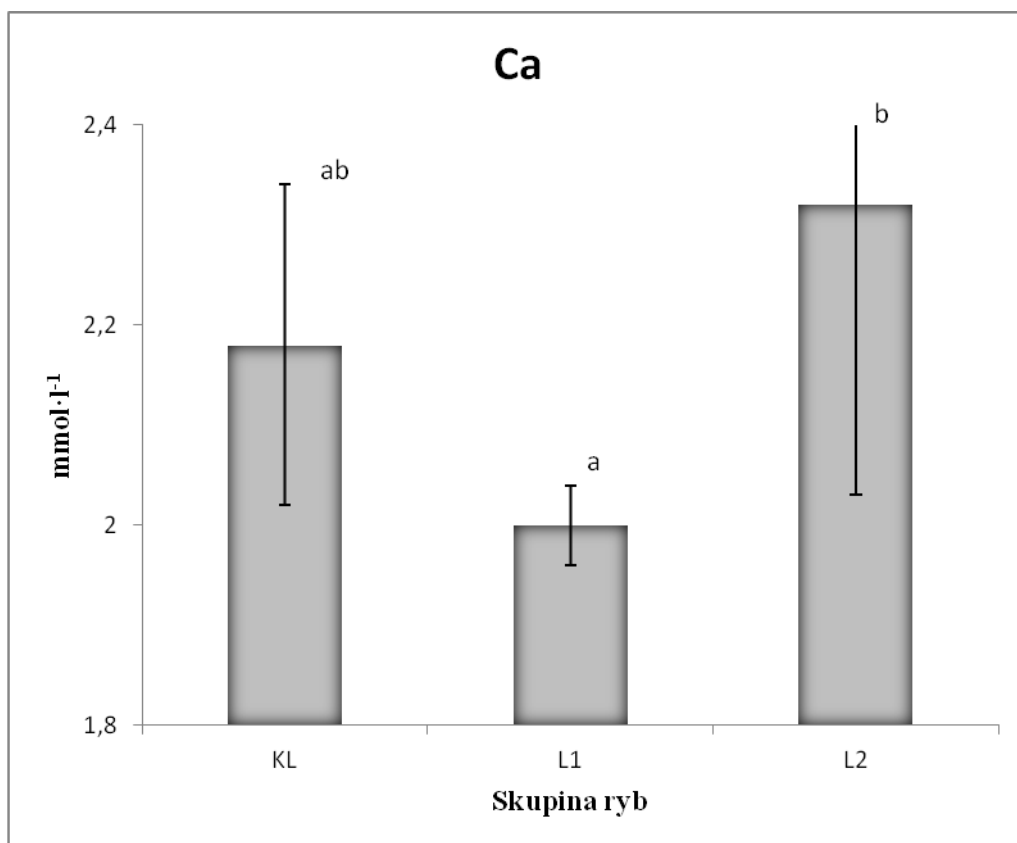
Graf 6 Hematokritová hodnota (PCV) u testovacích skupin formy šupinatého kapra. Znárodněna KS kontrolní skupina a testovací skupiny S1 (konc. KPO 1 mg·l⁻¹) a S2 (konc. KPO 2 mg·l⁻¹). Indexy a,b charakterizují shodu nebo rozdílnost hodnot mezi skupinami (ANOVA statistická významnost p<0,05).



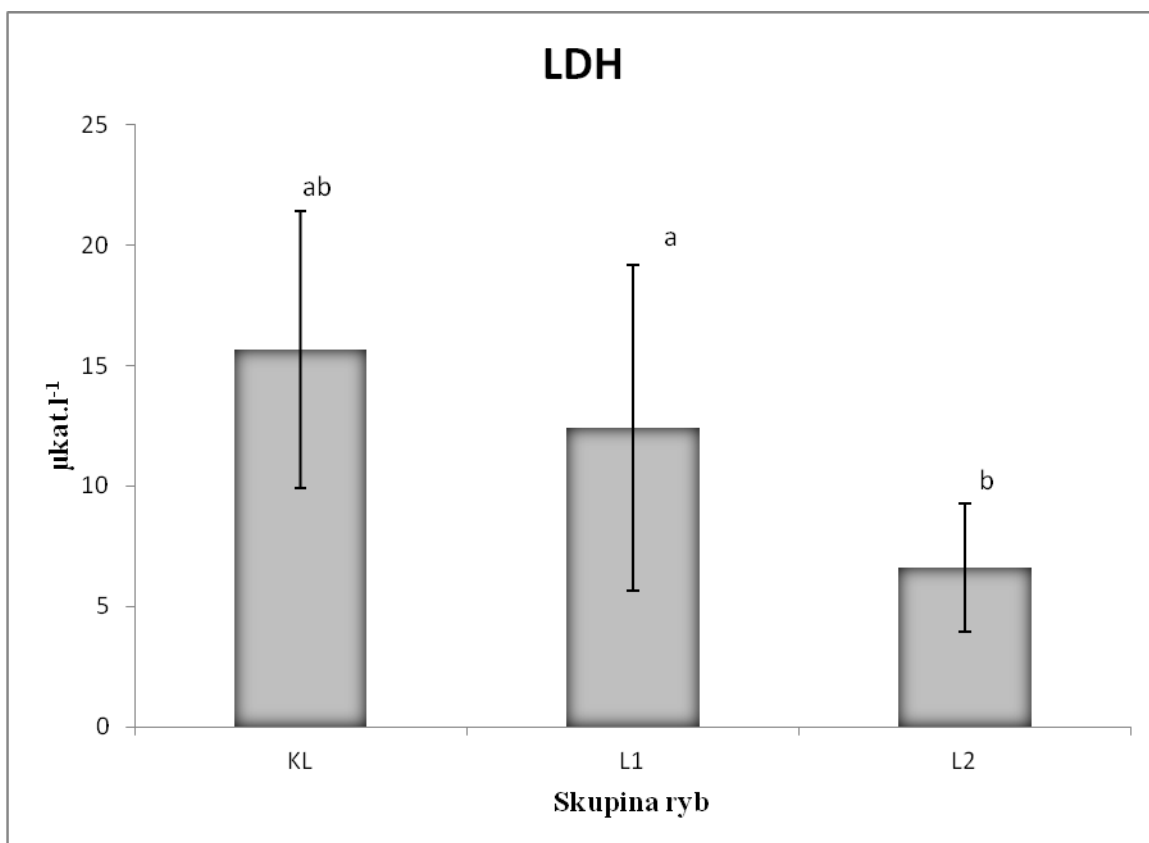
Graf 7 Celkové bílkoviny (TP) u testovacích skupin formy lysého kapra. Znáznorněna KL kontrolní skupina a testovací skupiny L1 (konc. KPO 1 mg·l⁻¹) a L2 (konc. KPO 2 mg·l⁻¹). Indexy a,b charakterizují shodu nebo rozdílnost hodnot mezi skupinami (ANOVA statistická významnost p<0,05).



Graf 8 Obsah hořčíku (Mg) v krvi u testovacích skupin formy lysého kapra. Znázorněna KL kontrolní skupina a testovací skupiny L1 (konc. KPO 1 mg·l⁻¹) a L2 (konc. KPO 2 mg·l⁻¹). Indexy a,b charakterizují shodu nebo rozdílnost hodnot mezi skupinami (ANOVA statistická významnost p<0,05).



Graf 9 Obsah vápníku (Ca) v krvi u testovacích skupin formy lysého kapra. Znáznorněna KL kontrolní skupina a testovací skupiny L1 (konc. KPO 1 mg·l⁻¹) a L2 (konc. KPO 2 mg·l⁻¹). Indexy a,b charakterizují shodu nebo rozdílnost hodnot mezi skupinami (ANOVA statistická významnost p<0,05).



Graf 10 Obsah laktát dehydrogenázy (LDH) v krvi u testovacích skupin formy lysého kapra. Znázorněna KL kontrolní skupina a testovací skupiny L1 (konc. KPO 1 mg·l⁻¹) a L2 (konc. KPO 2 mg·l⁻¹). Indexy a,b charakterizují shodu nebo rozdílnost hodnot mezi skupinami (ANOVA statistická významnost p<0,05).

Histologické vyšetření kůže a svaloviny kapra (Persteril)

1) Materiál a metodika

K histopatologickému vyšetření byly dodány tři soubory vzorků.

Soubory byly označeny jako „LK, L1 a L2“. Každý soubor obsahoval tři vzorky kůže a svaloviny kapra s označením „a), b) a c)“. Celkem bylo tedy vyšetřeno 9 vzorků.

Odběr a fixace materiálu byly realizovány zadavatelem.

Dodaný materiál byl opětovně fixován neutrálním formolem 1,33 mol/l a zpracován běžnou metodou pro účely světelné mikroskopie. Zhotovené histologické řezy byly barveny přehledným barvením hematoxylin-eosinem.

Odečítané a hodnocené preparáty byly prohlíženy a fotografovány na fotomikroskopu Olympus BX 51. Ze souboru histologických řezů byla pořízena kolekce barevné fotodokumentace v digitalizované podobě.

2) Výsledky histologického vyšetření

1) LK

H812 – 8 113 – a,b,c (obr. L-K8 113 - 1,2,3,4,5)

- a) Kůže - intaktní, s množstvím pohárkových buněk, drobné eroze epidermálního povrchu (arteficiální), pigmentace subepidermální vrstvy koria, obdobná pigmentace i pod hlubokou vrstvou škáry. Intraepidermálně početná senzoričná zakončení. Svalovina – mírný edém perimyzia, svalové snopce oddělené výraznými myosepty, rhabdomyocyty intaktní, striatura pravidelná. Všechny strukturální defekty zapříčiněny mechanicky při zpracování materiálu.
- b) viz a)
- c) viz a)

2) L1

H812 – 9 113 – a,b,c (obr. L1 9-113 - 6,7,8,9)

- a) Kůže – početné eroze epidermálního povrchu s okrsky hlenovité substance, místy fragmentace pokožky, místy separace rozsáhlých kožních úseků, edém subepidermální žlázové vrstvy s alterací pigmentových buněk a intercelulární distribuci pigmentových granul. Svalovina – edém perimyzia, okrsky myodystrofie s absencí Cohnheimových políček, lymfocytární infiltrát v myoseptech.
- b) viz a).
- c) viz a).

3) L2.

H812 – 10 113 – a,b,c (obr. L2 10 – 113 - 10,11,12,13,14)

- a) Kůže – ložiskově eroze epidermálního povrchu, bez fragmentace a separace pokožky, edém subepidermální vrstvy koria s množstvím adipocytů, adipocyty i pod hlubokou vrstvou škáry.

Obr. 2 Původní zpráva z histopatologického vyšetření z Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně.

11 Souhrn

Cílem diplomové práce bylo posoudit vliv vybraných antiparazitálních koupelí na zvolené biochemické a hematologické ukazatele v krvi u ryb. Na podkladě zjištěných výsledků pak upřesnit popřípadě doplnit aplikační schéma testovaných látek a tyto úpravy zdůvodnit.

Byl proveden test vyhodnocení vlivu kyseliny peroctové (KPO) na plůdek kapra obecného (šupinaté a lysé formy) pomocí hematologických a biochemických ukazatelů a na podkladě histopatologického vyšetření kůže.

Kapr obecný byl vystaven koncentracím $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ KPO. Po 3 dnech aplikace byla rybám odebrána krev a byly stanoveny hematologické a biochemické ukazatele. Dále byl rybám odebrán vzorek kůže se svalovinou a odeslán na histopatologické vyšetření na VFU Brno.

Na základě dosažených výsledků byla zjištěna vyšší citlivost lysé formy kapra k aplikaci KPO. Veškeré zjištěné změny hematologických a biochemických ukazatelů se však stále pohybovaly ve fyziologickém rozmezí a lze tedy konstatovat, že testované aplikační schéma KPO nemá výraznější negativní vliv na zdravotní stav ryb.

Klíčová slova: kapr obecný, krevní plazma, persteril, kyselina peroctová, histopatologické vyšetření

Abstract

The aim of the diploma thesis was to evaluate the influence of antiparasitic baths on selected biochemical and haematological parameters in the blood samples of fish. According to the results the application schema will be specified or amended such alterations will be substantiated.

A test was performed on the fry of carp (naked and scaly form) to evaluate the influence of the peractetic acid with the help of biochemical and haematological parameters and with the histopathological examination.

The common carp was exposed to the concentration $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ and $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ of PAA. Three days after application was taken the blood samples from fish and the biochemical and haematological parameters were determined. Than was taken a sample of skin with the musculature from fish to be sent for the histopathological examination in University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno.

Based on the results the naked form of the carp has been declared to be more sensitive to the application of PAA. All the observed changes in haematological and biochemical parameters were within physiological range, so it can be stated, that the application schema of PAA has not a signifiant negative influence on the health of the tested fish.

Key words: common carp, blood plasma, persteril, peracetic acid, histopathological examination