

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

7

VOLUME 42 (LXIX)
PRAHA
JULY 1997
CS ISSN 0375-8427

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gesci České akademie zemědělských věd

An international journal published under the authorization by the Ministry of Agriculture and under the direction of the Czech Academy of Agricultural Sciences

Editorial Board – Redakční rada

Chairman – Předseda

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

Members – Členové

Doc. MVDr. ing. Jiří Brož, CSc., Reinfeld, Switzerland

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

Dr. Milan Fránek, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

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

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

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

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

Doc. MVDr. František Kovář, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

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

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

Prof. RNDr. Václav Suchý, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc., BIOPHARM – Research Institute of Biopharmacy and Veterinary Drugs, a. s.,

Jilové u Prahy, Czech Republic

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

Editor-in-Chief – Vedoucí redaktořka

Ing. Zdeňka Radošová

Cíl a odborná náplň: Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní vědecké práce a studie typu review ze všech oblastí veterinární medicíny v češtině, slovenštině a angličtině.

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

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

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

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

Aims and scope: The journal Veterinární medicína original publishes papers and reviews from all fields of veterinary medicine written in Czech, Slovak or English.

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

Periodicity: The journal is published monthly (12 issues per year). Volume 42 appearing in 1997.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: Ing. Zdeňka Radošová, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: fof@uzpi.cz. Applications for detailed instructions for authors should be sent to the editorial office.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 1997 is 132 USD (Europe), 138 USD (overseas).

PEPTIDIC COMPONENTS OF SHEEP AMNIOTIC FLUID REGULATE CELL PROLIFERATION OF BP-A31 CELLS

PEPTIDICKÉ LÁTKY AMNIÓNOVEJ TEKUTINY OVIEC REGULUJÚ PROLIFERÁCIU BUNIEK BP-A31

J. Blahovec¹, Z. Kostecká¹, J. Mešter², F. Cavaillé²

¹University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

²INSERM U-55, Paris, France

ABSTRACT: Cell proliferation and differentiation of developing fetus is influenced by hormones as well as insulin-like growth factors and their binding proteins contained in amniotic fluid. Our purpose was to study the actual mitogenic activity of proteins and peptides present in the sheep amniotic fluid. The cell cycle regulatory activity was estimated by using mouse fibroblasts BP-A31 as target cells. The whole amniotic fluid was inactive. However, after removal of small molecules on Sephadex G-10, the fraction eluted in the void volume ($M_r \geq 0.7$ kDa) was able to induce the cell division cycle in a significant proportion of quiescent fibroblasts (Fig. 1, fraction A; Fig. 2). By further gel chromatography of this active fraction at acidic condition on Sephadex G-50, two components with mitogenic activity were separated. One component was eluted immediately after the void volume of the column, the other one was coeluted with ¹²⁵I-IGF-I (Fig. 3). The functional characteristics of mitogenic signal of both components (sensitivity to mitogenic effectors) were similar to those of IGF-I and insulin (Fig. 4). We suppose that a component with higher molecular weight eluted in the vicinity of the void volume of Sephadex G-50 represents probably IGFBPs or other similar proteins.

amniotic fluid; IGFs; IGFBPs; cell proliferation; BP-A31 cells

ABSTRAKT: Proliferačia a diferenciacia buniek vyvíjajúceho sa plodu je ovplyvňovaná, okrem hormónov aj inzulínu podobnými rastovými faktormi a ich väzobnými proteínmi, prítomnými v amniónovej tekutine. Cieľom našej práce bolo zistiť aktuálnu mitogénnu aktivitu proteínov a peptidov izolovaných z amniónovej tekutiny oviec, na čo sme použili chemicky transformované myšie fibroblasty (bunky BP-A31). Ovčia amniónová tekutina nevykazovala žiadnu aktivitu. Avšak po oddelení malých molekúl gélovou filtráciou na Sephadex G-10, frakcia eluovaná v prázdnom objeme kolóny ($M_r \geq 0,7$ kDa) bola schopná prebudiť bunky z kľudovej fázy G₀ do G₁ a indukovať ich delenie. Ďalšou chromatografiou mitogénne aktívnej frakcie na Sephadex G-50 sa nám podarilo oddeliť dva peptidické komponenty s mitogénnou aktivitou. Jeden z nich bol eluovaný hneď za prázdny objem kolóny a elučný objem druhého sa zhodoval s polohou ¹²⁵I-IGF-I. Obe mitogénne aktívne frakcie sú podobné IGF-I a inzulínu svojím mechanizmom transdukcie mitogénneho signálu. Predpokladáme, že zložka amniónovej tekutiny s vyššou molekulovou hmotnosťou eluovaná v blízkosti prázdneho objemu kolóny pravdepodobne predstavuje IGFBPs alebo iné podobné proteíny.

amniónová tekutina; IGFs; IGFBPs; proliferácia buniek; bunky BP-A31

ÚVOD

Účasť rastových faktorov, ich receptorov a väzobných proteínov v embryonálnom a fetálnom vývoji bola pozorovaná viacerými bádateľmi (Han a Hill, 1992). Napriek značnému počtu údajov, predovšetkým o inzulín podobných rastových faktoroch (IGFs – insulin-like growth factors), sú povaha a charakter procesov, v ktorých tieto peptidy zohrávajú významnú úlohu doposiaľ nejasné. Z rastových faktorov v amniónovej tekutine ľudí boli zistené predovšetkým IGF-I a IGF-II, ako aj EGF (epidermálny rastový faktor) a NGF (nerвовý rastový faktor) – Colombo a i. (1993). Amniónová tekutina súčasne obsahuje vysoké koncentrácie

väzobných proteínov viažúcich IGFs (IGFBPs – insulin-like growth factor binding proteins) – Busby a i. (1988), Koistinen a i. (1993). Rádovo vyššie koncentrácie väzobných proteínov oproti koncentráciám IGF-I a IGF-II, ako aj vysoké afinitné konštanty spôsobujú, že oba rastové faktory sú prítomné vo forme komplexov, v ktorých mitogénna aktivita IGFs by mala byť eliminovaná. Avšak v tomto ohľade nachádzame v literatúre konfliktne údaje. V zhode s vyššie uvedeným názorom sú údaje autora Burcha a i. (1990), ktorí zistili, že väzobné proteíny s molekulovou hmotnosťou 25 kDa inhibovali rast chrupiek kuracích embryí. Podobne väzobné proteíny, označované ako IGFBP-I, inhibovali rast buniek (Liu a i., 1991) a väzbu IGF-I na

receptory s následnou elimináciou biologických účinkov (Ritvos a i., 1988). Na druhej strane iné práce uvádzajú, že v niektorých prípadoch väzobné proteíny naopak potencujú rastové účinky IGF-I. Blum a i. (1989) napríklad zistili, že biosyntéza DNA fibroblastov obličiek škrečka, indukovaná IGF-I v prítomnosti väzobných proteínov, výrazne vzrástla. Podobne bola pozorovaná aktivácia rastových účinkov IGF-I na kultúre izolovaných myšiek, ľudských a prasačích fibroblastov, kultivovaných v prítomnosti purifikovaných IGFBP-I (Elgin a i., 1987).

Predmetom našej práce bolo zistiť aktuálnu mitogénnu aktivitu proteínov a peptidov amniónovej tekutiny ovčie. Ako indikátorové bunky sme použili chemicky transformované myšie fibroblasty BP-A31. Tieto bunky bez prítomnosti exogénne pridaných rastových faktorov sa dostávajú do kludového stavu, pričom po pridaní IGF-I alebo iného mitogénu dochádza k ich úplnému deleniu. Prítomnosť EGF delenie buniek neovplyvňuje (Buchou a i., 1989). V práci dokazujeme, že ovčia amniónová tekutina obsahuje okrem rastového faktoru podobného IGF-I aj ďalší mitogén, výrazne sa líšiaci svojou molekulovou hmotnosťou.

MATERIÁL A METÓDY

Amniónovú tekutinu sme odobrali punkciou amniónového vaku po predošlej laparotómii a hysterotómii od troch ovčie v 10. týždni gravidity. Chloroformom odtučená amniónová tekutina bola podrobená gélovej chromatografii na kolóne Sephadexu G-10 (5 x 70 cm) v 0,04 mol/l roztoku NH_4HCO_3 . Dve ninhydrínpozitívne frakcie amniónovej tekutiny boli testované na mitogénnu aktivitu. Benzo- α -pyrénom transformované BALB/c 3T3 myšie fibroblasty boli pomnožené v α -minimálnom esenciálnom médiu s prídavkom 6% fetálneho telacieho séra vo vlhkom vzduchu obsahujúcom 5% CO_2 . Bunky sme rozpipetovali do 24-jamkových platničiek (40 000 na jamku) a po 24 hodinách sme im zamenili živné médium so sérom za médium so sýranom železnatým a nechali sme bunkám čas 72 hodín na vstup do kludovej fázy G_0 . Potom boli bunky inkubované s 2 μCi ^3H -tymidínu (Amersham, Les Ulis, Francúzsko) a testovanými frakciami amniónovej tekutiny a po 30 hodinách bola inkorporácia rádioaktívne značeného tymidínu do DNA buniek zastavená 1 mol/l kyselinou askorbovou. Bunky boli ďalej fixované 5% kyselinou trichlóroctovou, rozpustené v 0,1 mol/l NaOH a rádioaktivita bola stanovená počítaním impulzov v scintilačnom roztoku. Hodnoty nameranej rádioaktivity sú udávané formou priemerých hodnôt troch paralelných stanovení s udaním smerodajnej odchýlky. Štatistické hodnotenie výsledkov sa vykonalo Studentovým *t*-testom.

Lyofilizát prvej frakcie amniónovej tekutiny po gélovej chromatografii na Sephadexu G-10 bol rozpustený v 10% roztoku kyseliny octovej a nasadený na kolónu Sephadexu G-50 (3 x 90 cm) v 10% roztoku CH_3COOH . Obsah proteínov v jednotlivých frakciách

bol stanovený meraním optickej hustoty pri vlnovej dĺžke 280 nm. Všetky chromatograficky získané frakcie boli zlyofilizované a testované na mitogénnu aktivitu spôsobom uvedeným vyššie.

Na testovanie mechanizmu transdukcie mitogénneho signálu sme použili nasledovné efekторы:

- inzulín ako aktivátor receptorov tyrozínkinázy (2.10^{-7} mol/l) od firmy Boehringer (Mannheim, SRN),
- forbol-12-myristát-13-acetát (PMA) ako aktivátor proteínkinázy C (100 ng/ml),
- 3-izobutyl-1-metyl xantín (IBMX) ako inhibitor cAMP-fosfodiesterázy (5.10^{-4} mol/l), získané od Sigmuy (St. Louis, MO, USA). Pôvod ostatných použitých reagensí je z bežných komerčných zdrojov.

VÝSLEDKY

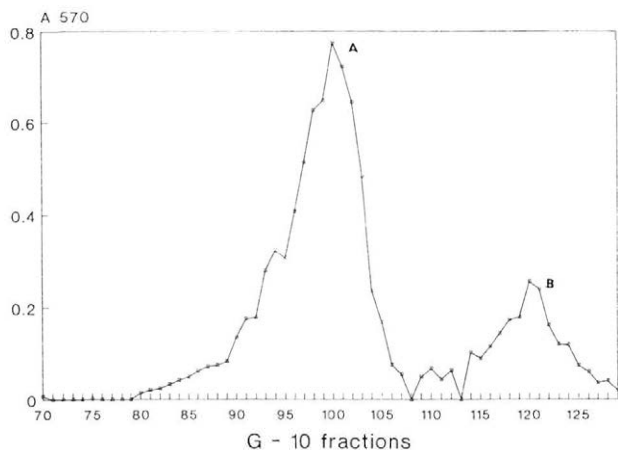
Frakcionácia delipidovanej časti amniónovej tekutiny na kolóne Sephadexu G-10 viedla k separácii dvoch ninhydrín-pozitívnych frakcií (obr. 1). Elúcia prvého píku koincidovala s prázdny objemom kolóny (A), druhý pík obsahoval peptidy a iné látky s molekulovou hmotnosťou ≤ 0.7 kDa (B). Obe frakcie boli podrobené stanoveniu mitogénnej aktivity, pričom len frakcia A ($p < 0.01$) bola schopná iniciovať delenie kultúry buniek BP-A31 v médiu neobsahujúcom fetálne sérum (obr. 2).

Gélová chromatografia aktívnych komponentov prítomných vo frakcii A na kolóne Sephadexu G-50 v 10% kyseline octovej poskytla ďalšiu separáciu do dvoch píkov s mitogénnou aktivitou (obr. 3). Elučný objem jedného z aktívnych píkov sa zhodoval s polohou ^{125}I -IGF-I, zatiaľ čo druhý aktívny pík bol eluovaný v pozícii ihneď po prázdnom objeme kolóny. Najväčšia časť materiálu s absorbanciou pri 280 nm, predstavujúca pravdepodobne oligopeptidy menšie ako 7 kDa, mitogénnu aktivitu nevykazovala.

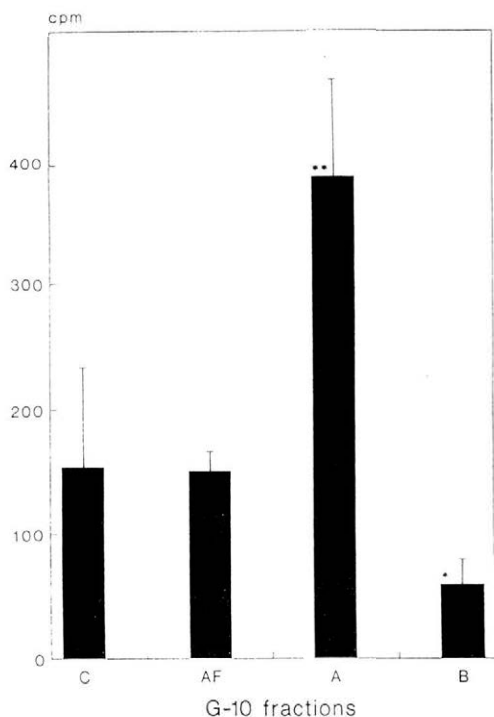
Charakter mitogénneho signálu, spôsobujúceho delenie buniek BP-A31 komponentami amniónovej tekutiny, sme zisťovali použitím forbol-12-myristát-13-acetátu (PMA), inzulínu a 3-izobutyl, 1-metyl xantínu (IBMX) – obr. 4. Obe aktívne frakcie získané separáciou na Sephadexu G-50 vykazovali aditívny efekt v prítomnosti použitého PMA ($p < 0.05$ u frakcie II a nesignifikantné zvýšenie u frakcie I), naopak zjavná inhibícia inkorporácie ^3H -tymidínu do DNA bola pozorovaná koinkubáciou BP-A31 buniek s IBMX ($p < 0.05$ u frakcie I a $p < 0.001$ u frakcie II).

DISKUSIA

Je všeobecne známe, že amniónová tekutina rovnako ako ďalšie telové tekutiny obsahuje okrem iných rastových faktorov aj IGF-I, ktorý je asociovaný so špecifickým väzobným proteínom, IGFBP-I (Nonoshita a i., 1994). Väzba IGF-I na väzobný proteín predlžuje jeho biologický polčas a umožňuje transport k bunkám,



1. Gélková chromatografia amniótovej tekutiny oviec na Sephadex G-10; rozmery kolóny 5 x 70 cm, elučný roztok 0,04 mol/l NH_4HCO_3 , rýchlosť elúcie 12 ml/h. Frakcie boli stanovené ninhydrínovou reakciou – Gel chromatography of ovine amniotic fluid on Sephadex G-10 column (5 x 70 cm), elution with 0.04 mol/l NH_4HCO_3 at a flow rate of 12 ml per hour. Fractions were determined by ninhydrin reaction



2. Mitogénna aktivita amniótovej tekutiny. C – samotné bunky, AF – nepurifikovaná amniótovej tekutina, A,B – frakcie po gélovej chromatografii na Sephadex G-10 – Mitogenic activity of amniotic fluid: C – only cells, AF – nonseparated amniotic fluid, A,B – fractions obtained by gel chromatography on Sephadex G-10

* = $p < 0.05$

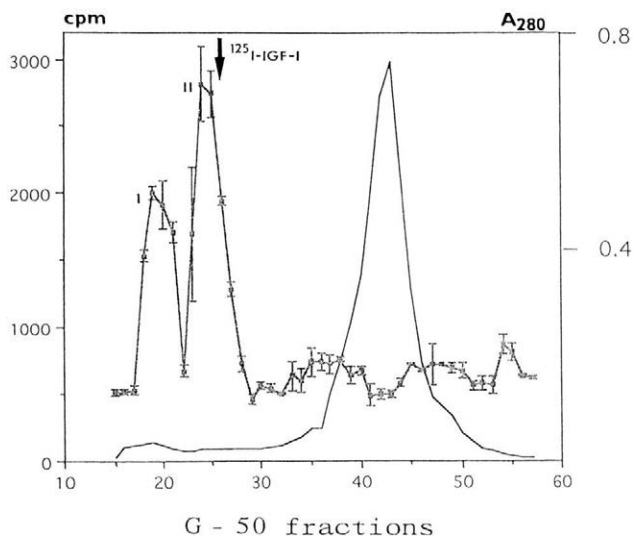
** = $p < 0.01$

avšak ak sa bunky inkubujú s IGF-I v komplexe s IGFBP-I, zvyčajne biologická aktivita IGF-I je značne znížená alebo úplne eliminovaná (Liu a i., 1991). V našom prípade nefrakcionovaná amniótovej tekutina

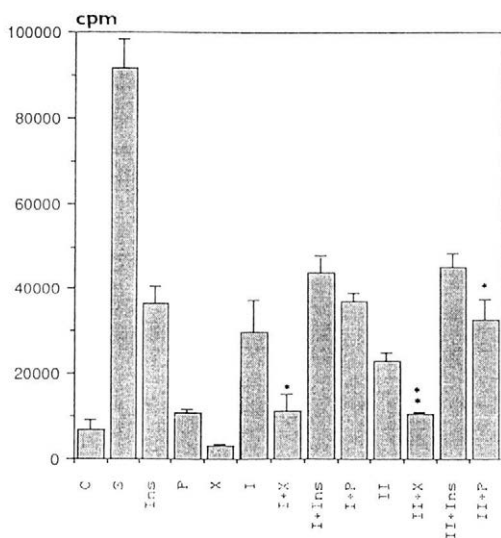
jednotlivých oviec spôsobovala malú alebo žiadnu proliferáciu buniek BP-A31. Avšak po delení na kolóne Sephadexu G-10, počas ktorého sa zo vzorky odseparovali malé molekuly, sa vo frakcii A objavila výrazná mitogénna aktivita (obr. 2).

Vysoká koncentrácia IGFBP-I v amniótovej tekutine (v porovnaní so sérom je asi 1 000-krát vyššia), jeho molárny prebytok voči IGF-I (asi 100-násobný), ako aj vysoká afinitná konštanta, sú dôvody, ktoré opravňujú predpokladať, že tento rastový faktor je prakticky úplne viazaný v komplexe s väzobným proteínom. Vystáva potom otázka, či mitogénne účinky má len IGF-I alebo aj celý komplex, prípadne samotný IGFBP-I. Za účelom odpovede na túto otázku sme podrobili frakciu A, získanú gélovou chromatografiou na Sephadex G-10, ďalšej chromatografii na kolóne Sephadexu G-50 v prostredí 10% kyseliny octovej, ktorá disociuje komplex IGFs/IGFBPs na jeho jednotlivé komponenty (Merimee a i., 1984). Ukázalo sa, že frakcia A sa za týchto podmienok separovala do dvoch aktívnych pík. Pozícia druhého píku koincidovala s elučným objemom ^{125}I -IGF-I, zatiaľčo prvý pík s mitogénnou aktivitou bol eluovaný na hranici alebo tesne za prázdny objem kolóny Sephadexu G-50 (obr. 3). Táto pozícia zodpovedá proteínu (proteínom) s vyššou molekulovou hmotnosťou ≥ 30 kDa. Je veľmi pravdepodobné, že sa jedná o väzobný proteín IGFBP-I s molekulovou hmotnosťou 30 až 40 kDa (Busby a i., 1988), ale nedá sa vylúčiť aj prítomnosť iného, dosiaľ neidentifikovaného mitogénu bielkovinovej povahy.

Mitogénne účinky tejto frakcie stanovované v prítomnosti mitogénnych efektorov, ako sú inzulín, PMA a IBMX, sú rovnaké alebo veľmi podobné účinkom získaným u druhej frakcie, ktorej elúcia koincidovala s pozíciou ^{125}I -IGF-I (obr. 4). Táto skutočnosť napovedá, že transdukcia mitogénneho signálu je v oboch prípadoch sprostredkovaná rovnakým typom receptorov, pravdepodobne autokatalytickou tyrozínkinázovou aktivitou transmembránových β -podjednotiek receptorov IGF-I.



3. Gélková chromatografia frakcie A amniónovej tekutiny na Sephadex G-50. Kolóna o veľkosti 3 x 90 cm bola eluovaná 10% kyselinou octovou prietokom 9,5 ml/h. Frakcie boli merané pri 280 nm (A) a podrobené skúške na mitogénnu aktivitu (cpm). Šípka označuje elučnú polohu ^{125}I -IGF-I – Gel chromatography of fraction A of amniotic fluid on Sephadex G-50. Column (3 x 90 cm) was eluted with 10% acetic acid at a flow rate of 9.5 ml per hour. Fractions were measured at 280 nm (A) and were tested for mitogenic activity (cpm). Arrow shows elution position of ^{125}I -IGF-I



4. Účinok aktívnych pík (I,II) na bunky BP-A31 v prítomnosti niektorých efektorov bunkovej proliferácie; C – samotné bunky, S – bunky s fetálnym sérom, Ins – bunky s inzulínom, P – bunky s forbolesterom, X – bunky s IBMX, I – bunky s frakciou I, II – bunky s frakciou II – Effect of active peaks (I,II) in BP-A31 cells in presence of some effectors of cell proliferation; C – only cells, S – cells with fetal serum, Ins – cells with insulin, P – cells with phorbol ester, X – cells with IBMX, I – cells with fraction I, II – cells with fraction II

* = $p < 0,05$

** = $p < 0,001$

Naše výsledky ukázali, že ovčia amniónová tekutina obsahuje mimo IGF-I ešte ďalšiu bielkovinu s priamym mitogénnym účinkom na bunky BP-A31. Tento proteín má výrazne vyššiu molekulovú hmotnosť, ale charakter mitogénneho signálu je podobný IGF-I. Jedná sa prav-

depodobne o IGFBP, alebo inú podobnú látku, ktorej prítomnosť v amniónovej tekutine oviec môže byť druhovo špecifická. Bližšie objasnenie povahy tohoto proteínu bude predmetom našej ďalšej práce.

LITERATÚRA

- BLUM, W. F. – JENNE, E. W. – REPPIN, F. – KIETZ-MANN, K. – RANKE, M. B. – BIERICH, J. R. (1989): Insulin-like growth factor I (IGF-I)-binding protein complex is a better mitogen than free IGF-I. *Endocrinology*, 125, 766–772.
- BUCHOU, T. – CHAROLLAIS, R. H. – FAGOT, D. – MES-TER, J. (1989): Mitogenic activity of phorbol esters and insulin-like growth factor I in chemically transformed mouse fibroblasts BP-A31: independent effects and differential sensitivity to inhibition by 3-isobutyl-1-methyl xanthine. *Exp. Cell Res.*, 182, 129–143.
- BURCH, W. M. – CORREA, J. – SHIVELY, J. E. – POWELL, D. R. (1990): The 25-kilodalton insulin-like growth factor (IGF)-binding protein inhibits both basal and IGF-I-mediated growth of chick embryo pelvic cartilage *in vitro*. *J. Clin. Endocrin. Metab.*, 70, 173–180.
- BUSBY, Jr., W. H. – KLAPPER, D. G. – CLEMMONS, D. R. (1988): Purification of a 31,000-dalton insulin-like growth factor (IGF)-binding protein from human amniotic fluid. *J. Biol. Chem.*, 263, 14203–14210.
- COLOMBO, J. A. – NAPP, M. – DEPAOLI, J. R. – PUIS-SANT, V. (1993): Trophic influences of human and rat amniotic fluid on neural tube-derived rat fetal cells. *Int. J. Devl Neuroscience*, 11, 347–355.
- ELGIN, R. G. – BUSBY, Jr., W. H. – CLEMMONS, D. R. (1987): An insulin-like growth factor (IGF) binding protein enhances the biologic response to IGF-I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 3254–3258.
- HAN, V. K. M. – HILL, D. J. (1992): The insulin-like growth factors. Structure and biological functions. In: SCHOFIELD,

P. N. (ed.): Oxford, New York, Tokyo, Oxford University Press, 178–220.

KOISTINEN, R. – ANGERVO, M. – LEINONEN, P. – HAKALA, T. – SEPPALA, M. (1993): Phosphorylation of insulin-like growth factor-binding protein-1 increases in human amniotic fluid and decidua from early to late pregnancy. *Clin. Chim. Acta*, 215, 189–199.

LIU, L. – BRINKMAN, A. – BLAT, C. – HAREL, L. (1991): IGFBP-1, an insulin-like growth factor binding protein, is a cell growth inhibitor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 174, 673–679.

MERIMEE, T. J. – GRANT, M. – TYSON, J. E. (1984): Insulin-like growth factors in amniotic fluid. *J. Clin. Endocrin. Metab.*, 59, 752–755.

NONOSHITA, L. D. – WATHEN, N. C. – DSUPIN, B. A. – CHARD, T. – GIUDICE, L. C. (1994): Insulin-like growth factors (IGFs), IGF-binding proteins (IGFBPs) and proteolyzed IGFBP-3 in embryonic cavities in early human pregnancy: Their potential relevance to maternal-embryonic and fetal interactions. *J. Clin. Endocrin. Metab.*, 79, 1249–1255.

RITVOS, O. – RANTA, T. – JALKANEN, J. – SUIKKARI, A. M. – VOUTILAINEN, R. – BOHN, H. – RUTANEN, E. M.: Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein from human decidua inhibits the binding and biological action of IGF-I in cultured choriocarcinoma cells. *Endocrinology*, 122, 2150–2157.

Received 97–03–14

Kontaktná adresa:

Prof. Ing. Ján Blahovec, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/633 47 68, fax 095/632 36 66, 095/633 47 68

9

ÚSTŘEDNÍ ZEMĚDĚLSKÁ A LESNICKÁ KNIHOVNA, PRAHA 2, SLEZSKÁ 7

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna v Praze (dále jen ÚZLK), která je jednou z největších zemědělských knihoven na světě, byla založena v roce 1926. Již od počátku šlo o knihovnu veřejnou. Knihovna v současné době obsahuje více než jeden milion svazků knih, cestovních zpráv, dizertací, literatury FAO, svázaných ročníků časopisů z oblasti zemědělství, lesnictví, veterinární medicíny, ekologie a dalších oborů. Knihovna odebírá 750 titulů domácích a zahraničních časopisů. Informační prameny získané do fondu jsou v ÚZLK zpracovávány do systému katalogů – je budován jmenný katalog a předmětový katalog jako základní katalogy knihovny a dále různé speciální katalogy a kartotéky. Počátkem roku 1994 přistoupila ÚZLK k automatizovanému zpracování knihovního fondu v systému CDS/ISIS.

Pro informaci uživatelů o nových informačních pramenech ve fondech ÚZLK zpracovává a vydává knihovna následující publikace: Přehled novinek ve fondu ÚZLK, Seznam časopisů objednaných ÚZLK, Přehled rešerší a tematických bibliografií z oboru zemědělství, lesnictví a potravinářství, AGROFIRM – zpravodaj o přírůstcích firemní literatury (je distribuován na disketách), AGROVIDEO – katalog videokazet ÚZLK.

V oblasti mezinárodní výměny publikací knihovna spolupracuje s 800 partnery ze 45 zemí světa. Knihovna je členem IAALD – mezinárodní asociace zemědělských knihovníků. Od září 1991 je členem mezinárodní sítě zemědělských knihoven AGLINET a od 1. 1. 1994 je depozitní knihovnou materiálů FAO pro Českou republiku.

Knihovna poskytuje svým uživatelům následující služby:

Výpůjční služby

Výpůjční služby jsou poskytovány všem uživatelům po zaplacení ročního registračního poplatku. Mimopražští uživatelé mohou využít možností meziknihovní výpůjční služby. Vzácné publikace a časopisy se však půjčují pouze preznaně.

Reprografické služby

Knihovna zabezpečuje pro své uživatele zhotovování kopií obsahů časopisů a následné kopie vybraných článků. Na počkání jsou zhotovovány kopie na přání uživatelů. Pro pražské a mimopražské uživatele jsou zabezpečovány tzv. individuální reproslužby.

Služby z automatizovaného systému firemní literatury

Jsou poskytovány z databáze firemní literatury, která obsahuje téměř 13 000 záznamů 1 700 firem.

Referenční služby

Knihovna poskytuje referenční služby vlastních databází knižních novinek, odebíraných časopisů, rešerší a tematických bibliografií, vědeckotechnických akcí, firemní literatury, videotéky, dále z databází převzatých – Celostátní evidence zahraničních časopisů, bibliografických databází CAB a Current Contents. Cílem je podat informace nejen o informačních pramenech ve fondech ÚZLK, ale i jiné informace zajímavé zemědělskou veřejností.

Půjčování videokazet

V AGROVIDEU ÚZLK jsou k dispozici videokazety s tematikou zemědělství, ochrany životního prostředí a příbuzných oborů. Videokazety zasílá AGROVIDEO mimopražským zájemcům poštou.

Uživatelům knihovny slouží dvě studovny – všeobecná studovna a studovna časopisů. Obě studovny jsou vybaveny příručkovou literaturou. Čtenáři zde mají volný přístup k novinkám přírůstků knihovního fondu ÚZLK.

Adresa knihovny:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna
Slezská 7
120 56 Praha 2

Výpůjční doba:

pondělí, úterý, čtvrtek:	9.00–16.30
středa	9.00–18.00
pátek	9.00–13.00

Telefonické informace:

vedoucí:	24 25 50 74, e-mail: IHOCH@uzpi.agrec.cz
referenční služby:	24 25 79 39/linka 520
časopisy:	24 25 66 10
výpůjční služby:	24 25 79 39/linka 415
meziknihovní výpůjční služby:	24 25 79 39/linka 304
Fax:	24 25 39 38
E-mail:	ÚZLK@uzpi.agrec.cz

OCCURRENCE OF CONDITIONALLY PATHOGENIC MYCOBACTERIA IN THE ENVIRONMENT AND THEIR IMPACT ON LIVING ORGANISM*

VÝSKYT PODMIENEČNE PATOGÉNNYCH MYKOBAKTÉRIÍ V PROSTREDÍ A ICH VPLYV NA ŽIVÝ ORGANIZMUS

A. Horváthová¹, J. Kazda², J. Bartl¹, I. Pavlík¹

¹*Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic*

²*University, Kiel; private address: Parkallee 39b, D-23845 Borstel, BRD*

ABSTRACT: Since 1968 when bovine tuberculosis was eliminated in the Czech Republic, the epidemiological situation of bovine tuberculosis has been stabilized. At present the incidence of the disease in men and animals caused by conditionally pathogenic mycobacteria is worldwide increasing. In human population, especially people with impaired immunity are affected. In farm animals infections caused by conditionally pathogenic mycobacteria may often result in complications in intravital and postmortal diagnosis of bovine and avian tuberculosis. Those infections are then often incorrectly diagnosed which could have a great negative impact on health, economy and breeding. Therefore the objective of the study was to summarize data from literature and our own experience concerning the occurrence of atypical mycobacteria in environment. The study is divided into 5 summarizing chapters, supplemented with 13 Tables.

conditionally pathogenic mycobacteria; environment; sanitation; prevention

ABSTRAKT: Od roku 1968, kedy bola boviná tuberkulóza eliminovaná v Českej republike, je epizootologická situácia bovinnej tuberkulózy stabilizovaná. V súčasnosti sa celosvetovo zvyšuje množstvo ochorení u ľudí a zvierat, ktoré sú vyvolané podmiennečne patogénnymi mykobaktériami. V ľudskej populácii sú postihnutí prevažne imunokompromitovaní ľudia. U hospodárskych zvierat infekcie vyvolané podmiennečne patogénnymi mykobaktériami často vedú ku komplikáciám pri intravitálnej a postmortálnej diagnostike bovinnej a aviárnej tuberkulózy. Infekcie zvierat podmiennečne patogénnymi mykobaktériami potom často vedú k diagnostickým omylom, ktoré môžu mať negatívny zdravotný, ekonomický a chovateľský dosah. Preto cieľom práce bolo zhrnúť literárnych údajov a vlastných poznatkov týkajúcich sa výskytu atypických mykobaktérií v prostredí. Článok je rozdelený do 5 zhrnúcich kapitol a doplnený 13 prehľadnými tabuľkami.

podmiennečne patogénne mykobaktérie; vonkajšie prostredie; asanácia; prevencia

Zoznam použitých skratiek: **AIDS** – acquired immunodeficiency syndrome; **MAI** – *M. avium-intracellulare* complex; **MAIS** – *M. avium-intracellulare-scrofulaceum* complex; **M. avium (2,3)** – *M. avium*, sérotyp 2 a 3; **M. intracellulare (8,9)** – *M. intracellulare*, sérotyp 8 a 9; **TU** – tuberkulinové jednotky.

CONTENTS

1. Introduction
2. Occurrence and proportion of mycobacterial species in the environment
 - 2.1. Occurrence of mycobacteria in water (A. Horváthová)
 - 2.1.1. Isolation of water samples from swimming pools, and baths
 - 2.1.2. Isolation from surface water samples
 - 2.1.3. Isolation from waste water samples
 - 2.1.4. Isolation from aerosol samples of sea and household water
 - 2.2. Occurrence of mycobacteria in forest and arable land, and grasslands (A. Horváthová)
 - 2.3. Occurrence of mycobacteria in peat sphagnum (J. Kazda)
 - 2.4. Occurrence of mycobacteria in dust (I. Pavlík)
 - 2.5. Occurrence of mycobacteria in fruit and vegetable (A. Horváthová)

* Supported by the Veterinary Research Institute in Brno (ÚÚ 134-09) and Ministry of Agriculture of the Czech Republic (EP 0960006087).

- 2.6. Occurrence of mycobacteria in cereals and their products (A. Horváthová)
- 2.7. Occurrence of mycobacteria in faeces of animals and men (A. Horváthová)
- 2.8. Occurrence of mycobacteria in samples of hay and straw (A. Horváthová)
- 2.9. Occurrence of mycobacteria in samples of grass, ensilage and haylage (A. Horváthová)
- 2.10. Occurrence of mycobacteria in samples of sawdust, wood-shavings, wood, and bark (A. Horváthová)
3. Quantity of conditionally pathogenic mycobacteria in external environment and their possible propagation (I. Pavlík, A. Horváthová)
 - 3.1. Circulation of conditionally pathogenic mycobacteria in external environment
 - 3.2. Effect of substrate on mycobacteria survival
4. Effect of environmental mycobacteria on the organism
 - 4.1. State of the host's immune system and predisposition to the infection (I. Pavlík, A. Horváthová)
- 4.2. Health alteration in men (I. Pavlík, J. Bartl)
 - 4.3. Health alteration in animals (I. Pavlík, A. Horváthová)
 - 4.3.1. Health alteration in swine (J. Bartl)
 - 4.3.2. Health alteration in other animal species (J. Bartl)
 - 4.3.3. Effect of environmental mycobacteria on tuberculous allergic reaction (J. Kazda)
5. Sanitation of environment contaminated by mycobacteria in agriculture (A. Horváthová, I. Pavlík, J. Bartl)
6. Prevention (I. Pavlík)
7. Conclusion
8. References

OBSAH

1. Úvod
2. Výskyt a druhové zastúpenie mykobaktérií v prostredí
 - 2.1. Výskyt mykobaktérií vo vode (A. Horváthová)
 - 2.1.1. Izolácia zo vzoriek vôd bazénov, kúpalísk a kúpeľov
 - 2.1.2. Izolácia zo vzoriek povrchovej vody
 - 2.1.3. Izolácia zo vzoriek odpadových vôd
 - 2.1.4. Izolácia zo vzoriek aerosolu morskej a úžitkovej vody
 - 2.2. Výskyt mykobaktérií v lesnej a ornej pôde, pôde lúk a pastvín (A. Horváthová)
 - 2.3. Výskyt mykobaktérií vo sfagnoch rašelinísk (J. Kazda)
 - 2.4. Výskyt mykobaktérií v prachu (I. Pavlík)
 - 2.5. Výskyt mykobaktérií v ovoci a zelenine (A. Horváthová)
 - 2.6. Výskyt mykobaktérií v obilí a jeho produktoch (A. Horváthová)
 - 2.7. Výskyt mykobaktérií v truse zvierat a stolici ľudí (A. Horváthová)
 - 2.8. Výskyt mykobaktérií vo vzorkách sena a slamy (A. Horváthová)
 - 2.9. Výskyt mykobaktérií vo vzorkách trávy, siláže a senáže (A. Horváthová)
 - 2.10. Výskyt mykobaktérií vo vzorkách pilín, hoblín, dreva a kôry stromov (A. Horváthová)
3. Množstvo podmienene patogénnych mykobaktérií vo vonkajšom prostredí a ich prípadné množenie (I. Pavlík, A. Horváthová)
 - 3.1. Cirkulácia podmienene patogénnych mykobaktérií vo vonkajšom prostredí
 - 3.2. Vplyv substrátu na prežívanie mykobaktérií
4. Vplyv mykobaktérií vyskytujúcich sa vo vonkajšom prostredí na organizmus
 - 4.1. Stav imunitného systému hostiteľa a predispozícia k uplatneniu sa infekcie (I. Pavlík, A. Horváthová)
 - 4.2. Zmeny zdravotného stavu ľudí (I. Pavlík, J. Bartl)
 - 4.3. Zmeny zdravotného stavu zvierat (I. Pavlík, A. Horváthová)
 - 4.3.1. Zmeny zdravotného stavu ošpaných (J. Bartl)
 - 4.3.2. Zmeny zdravotného stavu ostatných druhov zvierat (J. Bartl)
 - 4.3.3. Ovplyvnenie tuberkulózy a alergických reakcií mykobaktériami z vonkajšieho prostredia (J. Kazda)
5. Asanácia prostredia kontaminovaného mykobaktériami v poľnohospodárstve (A. Horváthová, I. Pavlík, J. Bartl)
6. Prevencia (I. Pavlík)
7. Záver
8. Literatúra

Od objavu pôvodcu tuberkulózy človeka v roku 1882 Robertom Kochom sa mykobaktérie izolovali zo vzoriek vonkajšieho prostredia ako sú pôda, lúky, rastliny, ale tiež voda (Schneiderlin, 1897; Möller, 1899; Herr, 1901 – cit. Nassal a i., 1974). Viac než sto rokov mykobakteriologického výskumu odhalilo prítomnosť mykobaktérií vo väčšine zložiek ekosystému.

Vo veterinárnej medicíne je už dlho systematická pozornosť venovaná mykobaktériám vyvolávajúcim tuberkulózu zvierat, najmä *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* a *M. avium*. Avšak zvýšenú pozornosť si tiež získavajú podmienene patogénne mykobaktérie, ktoré v chovoch hospodárskych zvierat spôsobujú značné ekonomické straty.

V súčasnosti sa venuje zvýšená pozornosť štúdiu ekológie mykobaktérií a možnosti ich prenosu na ľudí. Predpokladá sa, že výskyt a rozšírenie mykobaktérií do značnej miery súvisí so zhoršujúcimi sa podmienkami životného prostredia. V ľudskej populácii nadobúda rozšírenie mykobakteriálnych infekcií vzostupný charakter, na ktorom sa výraznou mierou podieľa pandémia syndrómu získanej imunitnej nedostatočnosti – AIDS.

Cieľom predloženej súhrnej práce je oboznámenie, predovšetkým veterinárnych pracovníkov s výskytom a zdravotným významom podmienene patogénnych mykobaktérií vo vonkajšom prostredí ako aj v prostredí stajní.

2. VÝSKYT A DRUHOVÉ ZASTÚPENIE MYKOBAKTÉRIÍ V PROSTREDÍ

Z výsledkov mnohých prác vyplýva, že v porovnaní s klasickými pôvodcami tuberkulózy ľudí (*M. tuberculosis*, *M. bovis*) sú podmienene patogénne mykobaktérie schopné využiť pre svoj metabolizmus živiny, ktoré sa vyskytujú v prirodzených materiáloch, akými sú pôda, voda, slama, listie a ďalšie (Beerwerth a Popp, 1971; Beerwerth, 1973; Kubín, 1979).

Beerwerth a Kessel (1976b) vyslovili na základe svojich dlhoročných skúseností zaujímavý názor: „Vzhľadom na veľmi častý záchyt rôznych druhov mykobaktérií vo vonkajšom prostredí sa dá predpokladať, že sa nachádzajú v poslednom stupni mineralizácie organických látok v prírode“.

2.1. Výskyt mykobaktérií vo vode

Výsledky experimentálnych prác poukazujú na skutočnosť, že voda, ako hlavný rezervoár niektorých druhov mykobaktérií (tab. I), má významnú úlohu v epidemiológii mykobakteriálnych infekcií ľudí a zvierat (Eilertsen, 1969). Tiež zastúpenie mykobakteriálnych druhov vo vyšetrovaných vzorkách vody môže byť pre mnohých veľkým prekvapením (tab. II).

Ako uvádzajú Šlosárek a Janota (1990) vo svojej práci, bolo z 56 známych druhov mykobaktérií izolovaných 20 druhov z rôznych zdrojov vody. Okrem jedincov výhradne saprofytických, u ktorých bola súvislosť s ochorením človeka potvrdená len výnimočne (*M. gastri*, *M. gordonae*, *M. flavescens*, *M. nonchromogenicum*, *M. terrae*, *M. triviale*), boli z vody často izolované aj potenciálne patogénne mykobaktérie, ktoré môžu za určitých, doposiaľ nie celkom objasnených podmienok, infikovať človeka a vyvolať u neho patologicko-morfologické zmeny. K takýmto mykobaktériám patria napríklad *M. kansasii*, *M. xenopi*, *MAI complex*, *M. fortuitum* a *M. chelonae* (Sneath, 1986).

Podmienene patogénne mykobaktérie, izolované z vody môžu významnou mierou ovplyvniť a komplikovať intravitálnu diagnostiku aj iných ochorení, ako je to zrejme z práce Graham a i. (1988). V tejto práci sa autori zamerali na vyšetrenie vody používanej k príprave roztoku fenolovej červene pre kultivačné vyšetrenie vzoriek moča. Vyšetrením tejto vody zistili, že bola zdrojom mykobaktérií komplexu *MAI*. Použitím takto kontaminovanej vody dochádzalo pri mikroskopickom vyšetrení vzoriek moča k falošne pozitívnym výsledkom. Na odstránenie tohto nedostatku citovaní autori odporučili nahradiť autoklávanie vodovodnej vody jej filtráciou.

Podmienene patogénne mykobaktérie sa izolovali aj v chovoch hospodárskych zvierat, predovšetkým z vyrovnávacích nádrží napájacieho systému umiestnených v maštálnom prostredí. Toto viedlo ku kontaminácii vody a následnému výskytu nešpecifických reakcií v chovoch hospodárskych zvierat, prípadne zvierat chovaných v zoologických záhradách (Pavlas a i., 1991).

Šlosárek a Janota (1990) overovali účinnosť vodárenského čistenia pitnej vody formou modelových pokusov. K pokusom použili *M. fortuitum*, *M. gordonae*, *M. kansasii* a *M. xenopi*, ktoré sa v pitnej vode najčastejšie vyskytujú. Zistili, že po čírení vody chlórdom železitým a síranom hlinitým, sedimentácií a následnom prietoku vody cez pieskový filter ostali všetky vzorky bez mykobaktérií. Na základe týchto výsledkov sa autori domnievajú, že častý výskyt rôznych druhov mykobaktérií v pitnej vode je spôsobený pravdepodobne kolonizáciou vodovodných rozvodov.

Aj napriek veterinárnym predpisom na napájanie hospodárskych zvierat pitnou vodou, sa často v praxi stretávame s používaním povrchovej vody na tento účel. Taktiež aj na mnohých novovznikajúcich pastvinách majú zvieratá voľný prístup k rôznym zdrojom povrchovej vody (potoky, kanály, kaluže a ďalšie). S ohľadom na častý výskyt podmienene patogénnych mykobaktérií v týchto vodných zdrojoch je možné očakávať ich zvýšený negatívny vplyv na zdravotný stav zvierat.

Za ďalšie významné zdroje podmienene patogénnych mykobaktérií je možné považovať nielen povrchovú neupravenú vodu používanú pre napájacie účely zvierat, ale tiež vodu používanú k príprave krmiva (Pavlas a i., 1991).

Autori – Authors	Druh vodného zdroja	Types of water source
Calle a i. (1988)	pitná voda	drinking water
Carson a i. (1978)	destilovaná voda	distilled water
Du Moulin a i. (1988)	nemocničná pitná voda	hospital drinking water
Eilertsen (1969)	voda kúpalísk	water from beaches
Engel a i. (1980)	vodovodná voda: kuchynský drez, pieskový filter rezervoára, hlavný rozvod	tap water: kitchen sink, sand filter of reservoir, main distribution of water
Gangadharam a i. (1979)	vodovodná voda	tap water
George a i. (1980)	voda pláží, riek, oceánov, rybníkov a jazier	water of beaches, rivers, oceans, ponds and lakes
Goslee a Wolinsky (1976)	voda z domácností, z laboratórií; pitná voda z verejných vodovodov, prameňov, studní, rezervoárov; voda z fontán, jazier, riek, rybníkov, pláží, akvárií, zoologických záhrad, výrobníkov ľadu, kúpalísk a snehu	water of households, laboratories; drinking water from public water pipings, springs, wells, reservoirs; water from fountains, lakes, rivers, ponds, beaches, aquaria, zoological gardens, icemaking machine, swimming pools and snow
Graham a i. (1988)	deionizovaná vodovodná voda, vodovodná voda zo štyroch nemocničných oddelení	deionized tap water, tap water from four hospital wards
Haas a Fattal (1990)	rybníčná, zavlažovacia a pitná voda	pond, irrigation, drinking water
Hanzlíková a Vilimek (1992)	voda na napájanie zvierat	feed water
Havelaar a i. (1985)	vodovodná voda; voda bazénov v hoteloch, rekreačných parkoch, kempingoch, saunách a fitness kluboch	tap water; water of swimming pools in hotels, holiday resort parks, campings, sauna and fitness clubs
Horák a i. (1986)	vodovodná voda	tap water
Ichijama a i. (1988)	riečna voda	river water
Kaustová a i. (1981)	vodné zásobovacie systémy uhoľných baní, mestské vodovodné rozvody	water supplying systems of coal mines, city water pipings
Kubín (1975 a 1979)	zdroje užítrovej vody v Karvinej	source of utility water at Karviná
Leite a i. (1988)	voda kúpalísk	water of swimming pools
Masaki a i. (1981)	odpadová voda z chovov prasiat	waste water from pig rearings
McSwiggan a Collins (1974)	nemocničný vodovodný systém	hospital water piping system
Pattyn a i. (1971)	voda akvárií a vodných nádrží	water of aquaria and water reservoirs
Pavlas a i. (1991)	voda na napájanie zvierat (potrubie)	feed water (piping) of livestock
Pavlik (1992)	voda na napájanie dobytky, oviec a antilop	feed water for cattle, sheep and antilopa
Pelletier a i. (1988)	mestské vodovodné zásobovanie	city water supply
Reznikov a i. (1971)	odpadová voda (chov prasiat-podstielka)	wastewater (pig rearing-litter)
Saito a Tsukamura (1976)	verejné kúpele	public baths
Scarlata a i. (1985)	vodovodná voda	tap water
Showalter a Wolinsky (1974)	mestské vodovodné zásobovanie, studne, nádrže, fontány s pitnou vodou, výrobnik ľadu, rezervoár, jazero Erie, malé jezerá a riek, kúpaliská, sneh, akvária a rybníky v ZOO	city water supply, wells, tanks, fountains with drinking water, iceproducing machine, reservoir, lake Erie, small lakes and rivers, swimming pools, aquaria, and ponds in ZOO
Singer a Rodda (1965)	voda kúpalísk, zátok a pláží, blato, voda nádrží na dažďovú vodu, verejné vodovodné zásobovanie	water of swimming pools, bays, and beaches, mud, water of tanks for rainwater, city water supply
Stejskal a Burjanová (1986)	pitná voda	drinking water
Stine (1987)	deionizovaná vodovodná voda	deionized tap water
Šlosárek a i. (1987)	odpadová voda z mechanicko-biologickej čistiarne odpadových vôd	wastewater from mechanico-biological treatment plant
Švorcová a Šlosárek (1984)	teplé a studené kúpeľné bazény s upravovanou vodou	warm and cold bathing pools with treated water
Tuffley a Holbeche (1980)	dažďová voda, voda riečnych nádrží	rainwater, water of river reservoirs
Wells a i. (1990)	bazén na predvádzanie tuleňov	tank for showing of seals
Wendt a i. (1980)	riečna, dažďová a pitná voda, aerosól	river, rain and drinking water, aerosol

II. Pomerné zastúpenie mykobaktériálnych druhov izolovaných z vody – Species and proportional representation of mycobacterial species isolated from water

Autori – Authors	Druh mykobaktérií – Mycobacterial species	Pomerné zastúpenie druhu (%) – Proportional representation of species (%)
Dimov a Gonzales (1986)	<i>M. fortuitum</i>	18,2
	<i>M. gordonae</i>	66,6
	<i>Mycobacterium</i> spp.	6,1
	<i>M. triviale</i>	6,1
	neurčené ¹	3,0
Goslee a Wolinsky (1976)	<i>M. fortuitum</i> 1	18,3
	<i>M. fortuitum</i> 2	6,9
	<i>M. gordonae</i>	39,6
	MAIS	23,3
	<i>M. gastri</i>	1,5
	<i>M. terrae</i> complex ²	6,9
	neurčené ¹	3,5
Havelaar a i. (1985)	<i>M. kansasii</i>	0,8
	<i>M. gordonae</i>	52,1
	skupina II podľa Runyona	5,1
	<i>M. avium</i>	4,2
	skupina III podľa Runyona	12,9
	<i>M. fortuitum</i> komplex	4,8
Leite a i. (1988)	skupina IV podľa Runyona	20,1
	<i>M. gordonae</i>	37,5
	<i>M. chelonae</i>	20,8
	<i>M. marinum</i>	4,2
	<i>Mycobacterium</i> spp.	4,2
	MAI	4,2
Medek a i. (1979)	neurčené ¹	29,1
	<i>M. kansasii</i>	7,0
	skupina II podľa Runyona ³	48,3
	skupina III podľa Runyona ⁴	14,1
	skupina IV podľa Runyona ⁵	27,1
Pavlas a i. (1991)	neurčené ¹	3,5
	<i>M. intracellulare</i>	28,9
	<i>M. terrae</i>	4,4
	<i>M. kansasii</i>	4,4
	<i>M. gordonae</i>	2,3
Scarlatá a i. (1985)	neurčené ¹	60,0
	<i>M. gordonae</i>	72,7
	<i>Mycobacterium</i> spp.	16,3
	MAIS	5,4
	<i>M. fortuitum</i>	3,6
Showalter a Wolinsky (1974)	neurčené ¹	2,0
	<i>M. fortuitum</i>	62,7
	<i>M. terrae-triviale</i>	2,8
	<i>M. gastri</i>	0,7
	MAI	2,8
	<i>Mycobacterium</i> spp.	4,9
Singer a Rodda (1965)	<i>M. gordonae</i>	26,1
	<i>M. fortuitum</i>	10,7
	<i>M. intracellulare</i>	12,5
	skupina IV podľa Runyona ⁵	8,9
	pomaly rastúce <i>Mycobacterium</i> spp.	67,9

Autori – Authors	Druh mykobaktérií – Mycobacterial species	Pomerne zastúpenie druhu (%) – Proportional representation of species (%)
Švorcová a Šlosárek (1984)	<i>M. fortuitum</i>	24,5
	<i>M. chelonae</i>	6,6
	MAIS	8,8
	<i>M. flavescens</i>	5,1
	<i>M. gordonae</i>	7,3
	<i>M. smegmatis</i>	2,8
	<i>M. terrae</i>	0,6
	neurčené ¹	44,3

¹undetermined, ²*M. terrae* complex, ³group II after Runyon, ⁴group III after Runyon, ⁵group IV after Runyon, ⁶slowly growing *Mycobacterium* spp.

2.1.1. Izolácia zo vzoriek vôd bazénov, kúpalísk a kúpeľov

Zvýšený výskyt mykobaktérií vo vodách kúpeľných a rehabilitačných bazénov bol zaznamenaný nielen v poslednom období. Mykobaktérie sa izolovali aj z upravovaných vôd s obsahom voľného chlóru 0,5 mg/l (Švorcová a Šlosárek, 1984).

K závažným záverom dospel Eilertsen (1969), ktorý zistil, že ani normálne chlórovanie kúpalísk nezabraňuje infekciám ľudí, pretože mykobaktérie sú voči chlóru značne rezistentné.

2.1.2. Izolácia zo vzoriek povrchovej vody

Voda je prirodzeným zdrojom mykobaktérií. Z vôd rašelinísk sa opakovane izolovalo *M. intracellulare* sérotypu 8 (Kazda, 1973a, b). Tiež sú známe izolácie z iných povrchových zdrojov vody ako je uvedené v tab. I. Pravdepodobne povrchová voda hrá v cirkulácii mykobaktérií vo vonkajšom prostredí najvýznamnejšiu úlohu, pretože mykobaktérie boli izolované z rôznych druhov a typov povrchových vôd vyšetrených v rôznych laboratóriách sveta.

2.1.3. Izolácia zo vzoriek odpadových vôd

Mykobaktérie sa opakovane izolovali tiež zo sedimentu odpadových vôd, ktorý je vzhľadom na obsah veľkého množstva živín vhodným substrátom pre ich prežívanie a množenie (Beerwerth a Kessel, 1976b; Brooks a i., 1984a, b). Tito autori odhadujú, že počty zárodkov v 1 g sedimentu sa pohybujú v rozmedzí 10×10^2 až 10×10^5 mykobakteriálnych buniek. Všeobecne sa predpokladá, že mykobaktérie sú prirodzenou súčasťou ekosystému a podieľajú sa na mineralizácii biologických odpadov.

2.1.4. Izolácia zo vzoriek aerosólu morskej a úžitkovej vody

Wendt a i. (1980) vykonali v USA rozsiahlu epidemiologickú štúdiu v ľudskej populácii pomocou aler-

gického vyšetrenia. Touto štúdiou sledovali závislosť medzi vdychovaním aerosólu obsahujúceho mykobaktérie a možnosťou výskytu tuberkulínových alergických reakcií u ľudí v oblastiach vzdialených niekoľko kilometrov od pobrežia oceánu. Štatisticky potvrdili, že u ľudí žijúcich práve v týchto prímorských oblastiach bolo viac tuberkulínových alergických reakcií. Modelové pokusy na myšiach, morčatách a pod. neskôr potvrdili možnosť prenosu mykobaktérií aerosólom.

Na základe opakovaných izolácií *M. kansasii* zo zdrojov úžitkovej vody používanej na pracoviskách s výskytom manifestných ochorení vyvolaných týmto druhom sa predpokladá prenos infekcie inhaláciou infekčného aerosólu (Pelikán a i., 1973; Symon a i., 1975; Kubín, 1979).

2.2. Výskyt mykobaktérií v lesnej a ornej pôde, pôde lúk a pastvín

Zloženie živín obsiahnutých v pôde má rozhodujúci vplyv na zastúpenie jednotlivých druhov mykobaktérií v tomto rastovom substráte (tab. III). Podľa Beerwertha a Kessela (1976b) prevládali v ornej pôde druhy *M. terrae*, *M. nonchromogenicum* a *M. tri-viale*. Naproti tomu v pôde lúk, pastvín a lesov zaznamenali vyššie uvedení autori predovšetkým výskyt *M. gordonae*, *M. scrofulaceum* a ďalšie.

V biologicky aktívnej vrstve pôdy sa mykobaktérie často zisťujú už pri mikroskopickom vyšetrení. Beerwerth a Kessel (1976b) odhadujú množstvo mykobakteriálnych buniek v 1 g pôdy v rozpätí 10×10^2 až 10×10^5 .

Pôda, podobne ako odpadové vody sa môže kontaminovať vysoko špecializovanými patogénnymi mykobakteriálnymi druhmi (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. paratuberculosis*) prostredníctvom výkalov zvierat a stolice ľudí. Autori Beerwerth a Kessel (1976b) vo svojej práci vyslovili zaujímavý názor, že aj napriek tomu, že tieto druhy mykobaktérií vyžadujú pre svoj rast a množenie teplotu okolo 37 °C, nie je ich dôkaz v pôde alebo sedimentoch odpadových vôd dôležitý z epidemiologického a epizootologického hľadiska. Je to spôsobené tým, že v týchto substrátoch oby-

Autori – Authors	Výšetrená pôda	Tested soil	Druh mykobaktérií – Mycobacterial species
Beerwerth a Schürmann (1969)	pôda lesná	forest soil	II až IV skupina podľa Runyona ¹
	pôda lúk a pastvín	soil of meadows and pastures	II až IV skupina podľa Runyona ¹
	pôda orná	arable land	II až IV skupina podľa Runyona ¹
	pôda zavlažovaná	irrigated soil	II až IV skupina podľa Runyona ¹
Beerwerth a Kessel (1976b)	pôda lesná	forest soil	II až IV skupina podľa Runyona ¹
	pôda lúk a pastvín	soil of meadows and pastures	II až IV skupina podľa Runyona ¹
	pôda orná	arable land	II až IV skupina podľa Runyona ¹
Brooks a i. (1984a, b)	okolie riek	surroundings of rivers	MAIS
Costallat a i. (1977)	výbehy pre prasce	pig-runs	MAIS (21 izolátov) <i>M. terrae</i> ²
	okolné priestory	ambient areas	MAIS (14 izolátov) <i>M. terrae</i> ²
Dimov a Gonzales (1986)	pôda pastvín	grassland soil	<i>M. terrae</i> , <i>M. fortuitum</i> , <i>M. phlei</i> , <i>M. goodii</i>
Hanzlíková a Vilímek (1992)	zemina	earth	atypické mykobaktérie ³
Ichijima a i. (1988)	pôda, blato, odpady	soil, mud, wastes	MAIS
Masaki a i. (1981 a 1989)	pôda v okolí chovov prasiat	soil nearby pig rearings	<i>M. intracellulare</i> (4,6,8)
Pavlas a i. (1991)	hlina z výbehov prasiat	earth from pig-runs	neurčené ⁴
Pavlik (1992)	pôda z výbehov pre dobytok	soil from cattle-runs	<i>M. triviale</i>
	pôda z výbehov oviec	soil from sheep-runs	<i>M. terrae</i>
Prosser (1989)	farma jeleňov	deer-farm	MAIS
Reznikov a Dawson (1980)	pôda	soil	<i>M. intracellulare</i> (7,12,14,18,19), <i>M. scrofulaceum</i> (43)
Reznikov a i. (1971)	pôda v okolí chovov ošipáných	soil nearby pig-rearings	<i>M. intracellulare</i> (6)
Wolinsky a Rynearson (1968)	pôda orná, blato, il	arable land, mud, clay	MAIS, <i>M. kansasii</i> , <i>M. fortuitum</i> , <i>M. smegmatis</i> skupina II a III podľa Runyona ⁵

¹groups II to IV after Runyon, ²MAIS (21 isolates) *M. terrae*, (14 isolates) *M. terrae*, ³atypical mycobacteria, ⁴undetermined, ⁵groups II and III after Runyon

čajne teplota nedosahuje 37 °C. S týmto názorom však nesúhlasí celý rad autorov pracujúcich v humánnej alebo veterinárnej mykobakteriológii (Chiodini a i., 1984; Chiodini, 1989), ktorí považujú cirkuláciu napr. *M. paratuberculosis* vo vonkajšom prostredí za epizootologicky a epidemiologicky zásadnú.

Vzhľadom na značne dlhý čas prežívania mykobaktérií v pôde je potrebné pre ošipané odporučiť spevnené, ľahko čistiteľné výbehy s vylúčením pilín a nevhodné skladovanej slamy ako steliva (Pavlas a i., 1991).

2.3. Výskyt mykobaktérií vo sfagnoch rašelinísk

Sfagny rašelinísk sú jedným z najvhodnejších biotopov pre rast mykobaktérií. Ide o tzv. extrémne biotopy, ktoré sú považované za chudobné na živiny. Trvalo preto dlhšie, než mikrobiológovia akceptovali možnosť pomnožovania mykobaktérií v tomto zdanlivo nepriaznivom prostredí. Mykobaktérie sú považované za veľmi náročné mikroorganizmy, pričom pri detailnej analýze sa ukázalo, že práve tieto špeciálne podmienky vo sfagnoch sú veľmi priaznivé pre ich množenie.

Pri pokusoch so vzorkami rôznych druhov vôd bolo zistené, že voda pochádzajúca z rašelinísk vykazovala pomnoženie *M. intracellulare* sérotyp 8 a *M. avium* sérotyp 2. Pritom sa pôvodná koncentrácia ostatných baktérií znížila (Kazda, 1973a, b). Z vegetácie rašelinísk, ktorú tvoria prevažne sfagny, sa potom podarilo po prvýkrát v roku 1977 izolovať mykobaktérie a objasniť podmienky umožňujúce ich rast (Kazda, 1977).

Na rozdiel od ostatných rastlín sfagnom chýbajú vnútorné kapilárne priestory, ktoré sú potrebné pre cirkuláciu živín. Rastová aktívna povrchová vrstva sfagovej vegetácie je zásobovaná živinami, ktoré prúdia po stenách stonky. Pri raste sa tvorí každý rok nová povrchová vrstva, tzv. „zelená vrstva“. Pod povrchom tak vzniká z nedostatku chlorofylovej syntézy tzv. „šedá vrstva“, kde začína tvorba rašeliný. Činnosťou plesní, predovšetkým plesní z rodu *Penicillium*, dochádza k rozkladu sfagna a k uvoľňovaniu aminokyselín a uhľohydrátov. Medzi nimi sa nachádzajú asparagín, glutamín a glukóza, zlúčeniny, ktoré sú známe ako zdroje dusíka a uhlíka v syntetických pôdach pre kultiváciu mykobaktérií (Black a i., 1955; Kazda, 1983).

Krajina pôvodu ¹	Počet vyšetrených ²		Izolácia mykobaktérií ⁵ (%)
	biotopov ³	vzoriek ⁴	
Nemecko – Germany	9	217	45,2
Švédsko – Sweden	2	310	31,9
Nórsko – Norway	15	192	34,4
Francúzsko – France	2	30	66,6
Veľká Británia – Great Britain	4	32	34,4
USA	6	29	34,5
Kolumbia – Columbia	2	32	40,6
Nový Zéland – New Zealand	32	54	77,8
Madagaskar – Madagascar	5	18	55,5
Írska republika – Irish Republic	3	19	79,0
Česká republika – Czech Republic	6	18	55,5
Celkom – Total	86	951	41,2

¹country of origin, ²number of tested, ³biotops, ⁴samples, ⁵isolation of mycobacteria

V bunkách sfagna sa nachádza tiež menič iónov, ktorý okysľuje prostredie. V zelenej vrstve dosahujú hodnoty pH 2,0 až 2,5, čím sa zabráni kolonizácii ako vyšších rastlín, tak aj väčšiny mikroorganizmov. V šedej vrstve, nachádzajúcej sa niekoľko cm pod povrchom, je však okyslenie nižšie, dosahujúce hodnoty pH 4,5 až 5,0. Väčšina mykobaktérií je schopná rásť za týchto podmienok, zatiaľ čo rast ďalších baktérií je obmedzovaný. Akumulácia slnečného žiarenia zvyšuje teplotu šedej vrstvy o 15 až 20 °C v porovnaní s okolitou teplotou (Rudolph, 1964). Mykobaktérie využívajú živiny, prúdiace na povrchu šedej vrstvy sfagna. Akumulované slnečné teplo vytvára podmienky prirodzeného inkubátora pre mezofilné mykobaktérie, ktoré tu dosahujú koncentráciu 10^6 až 10^7 na 1 g hmoty sfagna. V dôsledku priameho styku sfagrovej vegetácie rašelinísk s vodou, prechádzajú mykobaktérie vo veľkom množstve do povrchových vôd a sú prenášané na veľké vzdialenosti (Kazda, 1977; Müller a i., 1980; Irgens a i., 1981).

Doposiaľ bolo vyšetrených 86 sfagnových rašelinísk na štyroch kontinentoch, pričom mykobaktérie boli zistené vo všetkých týchto biotopoch. Z 951 odobratých vzoriek bolo v priemere 41,2 % pozitívnych (tab. IV). Najvyšší výskyt bol zaznamenaný v Írsku (79,0 %) a na Novom Zélande (77,8 %). Ale aj v Šumavskom národnom parku boli mykobaktérie prítomné v 55,5 % odobratých vzoriek (Kazda a i., 1989; Kazda, 1997). Doposiaľ bolo zo sfagna izolovaných 26 druhov mykobaktérií vrátane piatich nových druhov, čo je viac ako jedna tretina všetkých doposiaľ popísaných druhov rodu *Mycobacterium* (tab. V).

Veďľa saprofytických druhov, ako je napr. *M. sphagnum*, ktoré je pokladané za stáloho obyvateľa sfagrovej vegetácie, bola izolovaná celá rada podmienčne patogénnych druhov mykobaktérií (Müller a Kazda, 1987). V poslednom čase sa podarilo zo sfagrovej vegetácie na Madagaskare izolovať patogénne druhy

M. simiae a *M. avium* (Schröder a i., 1992). Ako bolo uvedené v kapitole o nešpecifických tuberkulínových alergických reakciách, môžu obsahovať nielen sfagny rašelinísk ale aj ostatné machy (bryofytá) mykobaktérie, ktoré môžu spôsobovať tieto reakcie (Kazda a Cook, 1988; Cooney a i., 1997).

2.4. Výskyt mykobaktérií v prachu

Rôzne druhy mykobaktérií boli izolované tiež z prachu domácností (Dawson, 1971; Reznikov a Dawson, 1971; Reznikov a i., 1971; Tsukamura a i., 1974, 1984, 1988; Ichijima a i., 1988). Aj napriek tomu, že toto prostredie nevytvára ideálne podmienky pre ich množenie, v tab. VI je uvedené ako ich druhové zloženie, tak aj percentuálne zastúpenie. Z hľadiska epidemiologického je závažná predovšetkým izolácia mykobakteriálnych druhov, ktoré sa môžu uplatniť ako etiologický agens pri ochore-

V. Druhy mykobaktérií izolované zo sfagrovej vegetácie – Mycobacterial species isolated from sphagnum vegetation

1.	<i>M. sphagnum</i>	14.	<i>M. gadium</i>
2.	<i>M. fortuitum</i>	15.	<i>M. neoaurum</i>
3.	<i>M. komossense</i>	16.	<i>M. smegmatis</i>
4.	<i>M. flavescens</i>	17.	<i>M. diernhoferi</i>
5.	<i>M. chelonae</i>	18.	<i>M. cookii</i>
6.	<i>M. gordoniae</i>	19.	<i>M. avium</i>
7.	<i>M. thermoresistibile</i>	20.	<i>M. scrofulaceum</i>
8.	<i>M. gilvum</i>	21.	<i>M. gastri</i>
9.	<i>M. obuense</i>	22.	<i>M. aurum</i>
10.	<i>M. aichiense</i>	23.	<i>M. madagascariense</i>
11.	<i>M. xenopi</i>	24.	<i>M. simiae</i>
12.	<i>M. vaccae</i>	25.	<i>M. chubuense</i>
13.	<i>M. szulgai</i>	26.	<i>M. hiberniae</i>

Autori – Authors	Druh mykobaktérií – Mycobacterial species	Počet kmeňov – Number of strains	Zastúpenie (%) – Representation (%)
Ichiyama a i. (1988)	<i>MAI</i>	119	68,0
	<i>M. scrofulaceum</i>	19	11,0
	neurčené ¹	37	21,0
Tsukamura a i. (1974)	<i>M. scrofulaceum</i>	1	0,5
	<i>M. intracellulare</i>	1	0,5
	<i>M. goodii</i>	32	16,7
	<i>M. nonchromogenicum</i>	45	23,5
	<i>M. flavescens</i>	1	0,5
	<i>M. fortuitum</i>	76	39,6
	<i>M. aurum</i>	7	3,6
	<i>M. parafortuitum</i>	5	2,6
	<i>M. chelonae</i>	2	1,0
	<i>M. agri</i>	1	0,5
	<i>M. terrae</i>	2	1,6
	ostatné ²	19	9,4
Tsukamura a i. (1984)	<i>MAI</i>	3	2,8
	<i>M. nonchromogenicum</i>	2	1,9
	<i>M. terrae</i>	1	0,9
	<i>M. goodii</i>	2	1,9
	<i>M. flavescens</i>	4	3,7
	<i>M. thermoresistibile</i>	44	41,1
	<i>M. pulveris</i>	20	18,7
	neurčené ¹	31	29,0

¹undetermined, ²others

niach ľudí. Údaje sú významné aj z pohľadu súčasného imunologického profilu populácie ľudí. Podľa posledných údajov viac ako 50 % pacientov s AIDS umiera na mykobakteriálne infekcie, ktorých zdroj sa nedá vo väčšine prípadov odhaliť (Falkinham III, 1996).

V dostupnej literatúre nie sú zmienky o podobnej štúdii v chovoch zvierat. Analogicky sa dá predpokladať, že u zvierat prach, predovšetkým z maštálneho prostredia, môže byť zdrojom infekcie spôsobujúcej ochorenie. Mykobaktérie prítomné v prachu môžu byť tiež príčinou nešpecifických tuberkulínových alergických reakcií pri intravitálnej diagnostike.

2.5. Výskyt mykobaktérií v ovoci a zelenine

Podľa názoru niektorých odborníkov (Reinwald, 1972 a ďalší) sa mykobaktérie z pôdy do rastlín transportujú osmotickým tlakom cez koreňový systém rastlín. K tomuto názoru sa na základe svojich zistení prikláňajú aj Nassal a i. (1974), keď dokázali prítomnosť mykobaktérií v dužnine zemiakov a reďkoviek. Experimentálne tieto predpoklady potvrdili svojimi pokusmi na žihľave (*Urtica colous*) autori Kauker a Rheinwald (1972), ktorí overovali prenikanie mykobaktérií kapilárnou sieťou do zmienennej rastliny.

Na základe vyššie uvedených pozorovaní sa autori Nassal a i. (1974) zamerali na sledovanie výskytu

mykobaktérií v ovoci a zelenine a na význam umývania potravín pred požitím. Z výsledkov vyplynulo, že pri všetkých paralelne vyšetrených vzorkách ovocia a zeleniny pred a po umytí sa zistila zhodná pozitivita. Avšak po umytí sa izoloval výrazne menší počet kolónií. Z toho vyplýva, že povrchová kontaminácia ovocia a zeleniny môže vzniknúť usadzovaním kontaminovaného prachu, prípadne striekajúcou vodou pri polievaní rastlín alebo dažď.

2.6 Výskyt mykobaktérií v obilí a jeho produktoch

Prehľadne sú výsledky kultivačného vyšetrenia vzoriek obilia a jeho produktov spracované v tab. VII a VIII.

Autori Nassal a i. (1974) vyšetrovali produkty vyrábané z obilia, nakúpené v rôznych pekárstvách mesta Heidelberg (ovsené vločky, šrot, múka a ďalšie). V žiadnej zo 40 vyšetrených vzoriek nezistili prítomnosť mykobaktérií. Beerwerth a Schürmann (1969) izolovali mykobaktérie v 3,6 % zo 111 vzoriek vyšetreného nezrelého obilia a v 3,3 % zo 400 vzoriek jadrového krmiva predávaného farmárom. Tento relatívne nízky záchyt je vyššie uvedenými autormi vysvetľovaný vzdialenosťou klasu od pôdy, ktorá je vo väčšine prípadov viac ako 1 meter. Tým sa zároveň zamedzí kontaminácii povrchu obilných klasov časticami pôdy s obsahom mykobaktérií. Preto sa mykobaktérie v ďaleko

VII. Izolácia mykobaktérií z krmív – Isolation of mycobacteria from feedstuffs

Autori – Authors	Druh krmiva	Type of feedstuff	Druh mykobaktérií – Mycobacterial species
Dimov a Gonzales (1986)	koncentrované krmivo	concentrated feed	<i>M. fortuitum</i> , <i>M. vaccae</i> , <i>M. triviale</i> , <i>M. gordonae</i> , <i>M. smegmatis</i>
Fodstad (1977)	odpady z kapusty	wastes from cabbage	skupina IV podľa Runyona ¹
Hanzlíková a Vilímek (1992)	krmná zmes, seno	feed mixture, hay	atypické mykobaktérie ²
Hejliček a i. (1982)	granule pod zásobníkom, siláž z vnútra a z povrchu silážnej jamy	granules under container, ensilage from inside and surface of ensilage pit	<i>M. terrae</i>
Pavlas a i. (1991)	seno a zelené úsušky krmná zmes a jej komponenty krmivo z potrubia pre ošpané siláž a senáž	hay and green dried feedstuffs feed mixture and its components feed from piping for pigs ensilage and haylage	<i>M. avium</i> , <i>M. terrae</i> <i>M. terrae</i> a neklasifikované mykobaktérie ³ <i>M. intracellulare</i> <i>M. terrae</i>
Pavlas a Patloková (1985)	seno slama	hay straw	<i>M. terrae</i> , <i>M. gordonae</i> <i>M. terrae</i> , <i>M. gordonae</i> , <i>M. triviale</i> , <i>M. flavescens</i>
Pavlik (1992)	siláž slama	ensilage straw	<i>M. terrae</i> , skupina III podľa Runyona ⁴ , neurčené ⁵ <i>M. avium</i> (1)
Prosser (1989)	siláž pre jelene	ensilage for deer	<i>M. chelonae</i>

¹group IV after Runyon, ²atypical mycobacteria, ³non-classified mycobacteria, ⁴group III after Runyon, ⁵undetermined

VIII. Záchytnosť mykobaktérií z krmiva – Trapping ratio of mycobacteria from feed

Autori – Authors	Druh vyšetreného materiálu	Type of tested material	Počet vyšetrených vzoriek – Number of tested samples	Izolácie – Isolation (%)
Beerwerth a Kessel (1976b)	jadrové krmivo	concentrate	511	3,3
	zelené (objemové) krmivo	green (bulk) feed	221	30,3
	surové mlieko	fresh, raw milk	1 764	7,9
Beerwerth a Schürmann (1969)	zelené krmivo	green feed	221	30,3
	nezrelé obilie	unripened corn	111	3,6
	jadrové zmesi	concentrate mixtures	400	3,3
	zelené krmivo z pastvín	green feed from pastures	120	40,0
	zelené krmivo z lúk	green feed from meadows	55	12,7
	okopaniny	row crops	46	26,1
Dimov a Gonzales (1986)	zelené krmivo	row crops	94	42,5
	jadrové krmivo	green feed	94	9,6
Hanzlíková a Vilímek (1992)	krmná zmes	concentrate	27	3,7
	seno	feed mixture	16	12,5
	slama	hay	12	25,0
Hejliček a i. (1982)	siláž	straw	6	33,3
	senáž	ensilage	6	0,0
	granule pod zásobníkom	granules under container	3	33,3
Pavlas a i. (1991)	krmivové potrubie pre ošpané	feed piping for pigs	14	14,2
	seno, zelené úsušky	hay, green dried feedstuffs	10	0,0
	krmná zmes, komponenty	feed mixture, components	48	6,3
	slama	straw	5	40,0
Sanchez a Rosell (1983)	byliny a rastliny	herbs and plants	28	61,0

väčšej miere zisťujú v zelenom krmive, ktoré sa kosi v bezprostrednej blízkosti pôdy.

Výskytu mykobaktérií v komponentoch používaných pre prípravu kŕmnych zmesí pre ošipané sa venovali Pavlas a i. (1991), ako je zrejmé z tab. VII a VIII. Autori v tejto práci upozorňujú na skutočnosť, že množstvo mykobaktérií v kŕmnych zmesiach môže byť veľmi nízke a z hľadiska možnosti vzniku patologicko-morfologických zmien v mezenterálnych lymfatických uzlinách ošipáných je podprahové. K uvedenej situácii dochádza najmä pri nevhodnej manipulácii a uskladnení krmiva, ako je napríklad kontinuálne dopĺňovanie kŕmnych zmesí do zásobníkov krmiva. Obzvlášť kritickým v tomto smere je obdobie letných mesiacov, kedy v dôsledku zvýšenej vlhkosti môže dôjsť k pomnoženiu mykobaktérií s následným negatívnym vplyvom na zdravotný stav zvierat, predovšetkým ošipáných. Na druhej strane však nesmieme zabúdať na možnosť kontaminácie kŕmnych zmesí mykobaktériami obsiahnutými v truse voľne žijúcich vtákov, v maštalnom prachu a v prípravovniach krmiva, prípadne inými kontaminovanými súčasťami používanými na prípravu krmiva pre zvieratá.

2.7. Výskyt mykobaktérií v truse zvierat a stolici ľudí

Je všeobecne známe, že zvieratá prijímajú malé množstvá mykobaktérií rôznymi cestami (kŕmenie, napájanie, vdychovanie prachu a pod.). V niektorých prípadoch bývajú mykobaktérie izolované z trusu vo veľkom množstve, preto sa nevylučuje možnosť ich pomnožovania priamo v črevnom trakte (tab. IX a X).

U ľudí na rozdiel od zvierat (predovšetkým od prežúvavcov) sa zisťuje prítomnosť mykobaktérií v stolici celkom ojedinele (Damsker a Bottone, 1985). Werner-Schieck (1970), Nassal a Werner-Schieck (1970) nezistili v 520 vyšetrených vzorkách stolice ľudí žiadne mykobaktérie. Vysvetlenie treba hľadať predovšetkým v rozdielnom zložení potravy. Hlavné rozdiely sú v pomernom zastúpení surovej potravy rastlinného pôvodu a tiež v tom, že človek pri-

jíma túto rastlinnú potravu výhradne umytú. Zvieratá naopak prijímajú nepomerne väčšie množstvo rastlinnej potravy, ktorá je vo väčšine prípadov kontaminovaná zeminou (Nassal a i., 1974).

Autori Beerwerth a Kessel (1976a) sa v rozsiahlej štúdii venovali sledovaniu výskytu mykobaktérií v truse vtákov. Na základe systematického vyšetrenia niekoľko sto vzoriek zistili, že aj klinicky zdraví vtáci bez patologicko-morfologických zmien v orgánoch môžu byť šíriteľmi nielen kmeňov *M. avium* (sérotyp 2 a 3), *M. intracellulare*, ale aj iných druhov mykobaktérií (tab. IX a X). Preto je nutné chrániť chovy zvierat pred kontamináciou trusom voľne žijúcich a domácich vtákov (Pavlas a i., 1991).

2.8. Výskyt mykobaktérií vo vzorkách sena a slamy

Aj napriek poznatkom o priaznivom účinku snečného žiarenia na ničenie mykobaktérií, nie je ojedinelá ich izolácia zo vzoriek sena, prípadne slamy (tab. VII a VIII). Pavlas a Patloková (1985) izolovali zo vzoriek sena a slamy druhy *M. terrae*, *M. gordonae*, *M. triviale*, *M. flavescentis* a *M. intracellulare*. Príčin môže byť niekoľko. V prvom rade je to kontaminácia zmieneného materiálu pôdou a čiastočkami prachu v priebehu zberu. K dodatočnej kontaminácii sena a slamy dochádza pri transporte, uskladnení a ďalšej manipulácii. Ako vidieť z tab. VIII pri nevhodnom uskladnení sena a slamy môže byť zachytnosť mykobaktérií až u 40 % vyšetrených vzoriek.

2.9. Výskyt mykobaktérií vo vzorkách trávy, siláže a senáže

Na základe predošlých faktov o výskyte mykobaktérií v pôde nie je prekvapujúca ani izolácia podmienene patogénnych mykobaktérií z pokosených zelených objemových kŕmív (tab. VII a VIII). Z uvedených výsledkov je zrejmé, že kvasné procesy pri fermentácii zelenej hmoty nevlývajú na vitalitu mykobaktérií. Tento fakt je pravdepodobne spôsobený acidoalkoholo-

IX. Izolácia mykobaktérií z trusu zvierat a vtákov (prip. z črevných obsahov) – Isolation of mycobacteria from faeces of animals and birds (eventually from intestinal content)

Autori – Authors	Druh zvierata	Kind of animal	Mykobaktérie – Mycobacteria
Beerwerth a Kessel (1976a)	voľne žijúce vtáctvo	free-living birds	<i>M. avium</i> (2,3), <i>M. gordonae</i> , <i>M. terrae</i> , <i>M. novum</i> , <i>M. triviale</i> , <i>M. phlei</i> , <i>M. fortuitum</i> , <i>M. diernhoferi</i> , <i>Mycobacterium</i> sp.
	vtáci zo ZOO (črevné obsahy pitvaných vtákov)	birds from ZOO (intestinal content of dissected animals)	<i>M. avium</i> (2,3), <i>M. gordonae</i>
Pavlas a i. (1991)	vtáci	birds	<i>M. avium</i> , <i>M. terrae</i> , neurčené ¹
	hlodavci	rodents	<i>M. intracellulare</i> , <i>M. terrae</i> , neurčené ¹
	ošipané	pigs	<i>M. intracellulare</i> , neurčené ¹
Pavlík (1992)	dobytok	cattle	<i>M. avium</i> (2), <i>M. intracellulare</i> (8), skupina III podľa Runyona ² , neurčené ¹
	ovce	sheep	<i>M. intracellulare</i> (8)

¹undetermined, ²group III after Runyon

Autori – Authors	Druh vyšetreného materiálu	Type of tested material	Počet vyšetrených vzoriek – Number of tested samples	Pozitívne vzorky (%) – Positive samples (%)
Beerwerth a Kessel (1976a)	voľne žijúce vtáctvo (spevavé a vodné) v lete	free-living birds (warblers and water birds) in summer	207	30,0
	voľne žijúce vtáctvo (spevavé a vodné) v zime	free-living birds (warblers and water birds) in winter	60	80,2
	obsahy čriev pitvaných vtákov zo ZOO	intestinal content of dissected birds from ZOO	108	39,8
	obsahy čriev pasúcich sa zvierat	intestinal content of grazing animals	1 022	60,6
	trus vodných vtákov	droppings of water birds	61	29,5
Beerwerth a Schürmann (1969)	trus ošipáných	faeces of pigs	512	8,0
	trus hydiny (veľkochovy)	droppings of poultry (big-scale rearings)	410	14,1
	trus hydiny (malochovy)	droppings of poultry (small-scale rearings)	419	41,5
	trus dobytky, oviec a koní	faeces of cattle, sheep and horses	603	70,5
Hejliček a i. (1982)	trus vtákov	droppings of birds	6	0,0
	obsahy žalúdkov a čriev dobytky	stomachal and intestinal content of cattle	10	20,0
Pavlas a i. (1991)	hnojovica, trus ošipáných	liquid manure, faeces of pigs	28	10,7
Sanchez a Rosell (1983)	trus dobytky	faeces of cattle	635	88,0
Tremel (1990)	orgány a obsahy čriev hydiny z veľkochovov	organs and intestinal content of poultry from big-scale rearings	550	0,0
	trus teliat z veľkokapacitných tefatníkov	faeces of calves from large-capacity calf-houses	2 226	0,2

rezistentnou povahou mykobaktériálnej steny (Meisner a Schmiedel, 1970).

2.10. Výskyt mykobaktérií vo vzorkách pilín, hoblín, dreva a kóry stromov

Pavlas a i. (1991) pri porovnávaní výsledkov získaných vyšetrením vzoriek vonkajšieho prostredia a prostredia maštali v dvoch časových úsekoch 1978 až 1981 a 1988 až 1991 zistili, že piliny a voda z povrchových zdrojov sú najzávažnejšími zdrojmi podmienene patogénnych mykobaktérií.

V poslednom období sa v chovoch ošipáných zmenila epizootologická situácia. Táto zmena súvisí s použitím novej technológie pri ich ustajnení, a to technológie hlbkej podstielky. Tá so sebou priniesla aj značné problémy. Napriek skutočnosti, že táto technológia je z ekologického hľadiska šetrnejšia, ekonomicky výhodnejšia a pre ošipané prirodzenejšia, ekonomické straty pri predaji zvierat na bitúnkoch sú príliš vysoké. Pri zistení zmien v črevných lymfatických uzlinách (kazeózne ložiská rôznej veľkosti) je mäso posúdené ako podmienene požívateľné po tepelnej úprave s následným finančným dosahom na chovateľa, čo predstavuje zníženie výkupnej ceny mäsa ošipáných (Pavlas a i., 1991; Pavlík a i., 1995). Ako ďalej uvádzajú autori Zórawski a i. (1983) a Pavlas

a i. (1991), stelivový systém s použitím pilín pri nevhodnom uskladnení umožňuje častejší výskyt podmienene patogénnych mykobaktérií v nadprahových hodnotách, ktoré ovplyvňujú zdravotný stav zvierat, predovšetkým ošipáných.

Sledovaním prežívania podmienene patogénnych mykobaktérií a ich spontánnej devitalizácie v stelive sa dospelo k tomuto záveru: piliny vopred uložené počas štyroch mesiacov vo vhodnom prostredí chránenom pred dažďom a kontamináciou voľne žijúcimi zvieratami sú vhodnejším stelivom v chovoch ošipáných v porovnaní s takto neošetrenými pilinami (Pavlas a i., 1991).

3. MNOŽSTVO PODMIENEČNE PATOGENNÝCH MYKOBAKTÉRIÍ VO VONKAJŠOM PROSTREDÍ A ICH PRÍPADNÉ MNOŽENIE

Záchytnosť mykobaktérií z vonkajšieho prostredia je prehľadne zhrnutá v tab. XI. Vonkajšie prostredie sa však za určitých podmienok môže stať vhodným pre množenie podmienene patogénnych mykobaktérií, kedy im plne postačujú teploty nad 18 až 20 °C. Len veľmi malá skupina podmienene patogénnych mykobaktérií vyžaduje pre svoj rast teploty v relatívne úzkom rozmedzí 30 až 35 °C (Beerwerth a Kessel, 1976b).

Autori – Authors	Vyšetrený materiál	Tested material	Druh mykobaktérií – Mycobacterial species
Beerwerth a Popp (1971)	piliny	sawdust	<i>M. intracellulare</i> (4,6,8,9)
Falkinham (1989)	piliny a hoblíny	sawdust and wood-shavings	<i>M. avium-intracellulare</i>
Fodstad (1977)	piliny	sawdust	skupina IV podľa Runyona ¹
Hanzlíková a Vilimek (1992)	piliny	sawdust	<i>M. avium</i> , atypické mykobaktérie ²
Pavlas a Patloková (1985)	piliny a hoblíny	sawdust and wood-shavings	<i>MAIS</i> , <i>M. terrae</i> , <i>M. fortuitum</i>
Pavlas a i. (1991)	piliny, hoblíny	sawdust, wood-shavings	<i>MAIS</i> , <i>M. terrae</i> , neurčené ³
Reznikov a i. (1971)	hlboká podstielka prasiat	deep litter of pigs	<i>M. avium-intracellulare</i> (6)
	čerstvé piliny	fresh sawdust	<i>M. avium-intracellulare</i>
Saitanu a Holmgaard (1977)	piliny a prach	sawdust and dust	<i>M. intracellulare</i> (8)
Songer a i. (1980)	piliny a slama	sawdust and straw	<i>M. avium</i>
Uhlemann a i. (1975)	piliny a hoblíny	sawdust and wood-shavings	<i>M. intracellulare</i>
Zórawski a i. (1983)	piliny	sawdust	<i>M. intracellulare</i>

¹group IV after Runyon, ²atypical mycobacteria, ³undetermined

3.1. Cirkulácia podmienne patogénnych mykobaktérií vo vonkajšom prostredí

Mykobaktérie sa vyskytujú buď ako prirodzená súčasť ekosystému, ako už bolo uvedené v predošlej časti, alebo sa do prostredia dostávajú vplyvom ľudskej činnosti (Costallat a i., 1977; Masaki a i., 1989; Pavlas a i., 1991; Pavlík, 1992). Zdrojom podmienne patogénnych mykobaktérií sú predovšetkým exkrementy zvierat, okolie zdrojov odpadových vôd predovšetkým vo veľkých mestských aglomeráciách, odpadové vody v okolí drevárskych závodov, sedimenty v riečnych tokoch v okolí mliekárni, cukrovarov a ďalších (Beerwerth a Schürmann, 1969; Reznikov a i., 1971; Beerwerth, 1973; Goslee a Wolinsky, 1976; George a i., 1980; Masaki a i., 1981; Šlosárek a i., 1987).

Z vôd v okolí drevospracujúcich podnikov sa izolovalo *M. intracellulare* (sérotyp 8), ktoré sa najčastejšie zisťuje pri vyšetrení pilín. Takto kontaminovaná riečna voda s obsahom mykobaktérií po vypití zvieratami môže vyvolať vznik rozsiahlych patologicko-morfologických zmien v lymfatických uzlinách, ktoré sú spravidla tuberkulínovou alergickou reakciou.

Naopak, z odpadových vôd z nemocníc sa častejšie izolovalo *M. tuberculosis*. Pravdepodobným zdrojom týchto mykobaktérií bolo podľa autorov Beerwertha a Kessela (1976b) spútum, stolica a moč chorých pacientov.

Podobne aj nevhodne ošetrovaná podstielka (hoblíny, piliny) sa môže stať zdrojom podmienne patogénnych mykobaktérií (Pavlas a i., 1991).

O ďalšej cirkulácii mykobaktérií v prostredí a ich pôsobení na živé organizmy svedčia napríklad patologicko-morfologické zmeny v lymfatických uzlinách ošipovaných. Podmienne patogénne mykobaktérie sa uplatnia negatívne v tomto procese cirkulácie bez toho, aby bolo v silách chovateľa alebo pracovníkov veteri-

nárnej služby odhaliť zdroj nákazy a účinne zabrániť ich negatívnemu pôsobeniu (tab. XII a XIII).

3.2. Vplyv substrátu na prežívanie mykobaktérií

Z hľadiska výskytu mykobaktérií vo vonkajšom prostredí sa javí vplyv substrátu na ich prežívanie dominantným. Vo väčšine prípadov je prvotné množstvo mykobaktérií kontaminujúcich substrát veľmi nízke. Ich ďalší osud vo vonkajšom prostredí potom závisí od vhodných podmienok. Buď len na ich prežitie v prípade, že substrát predstavuje len transportné médium alebo pre ich pomnoženie. Toto je zásadné v okamihu, kedy substrát predstavuje hlavný zdroj pre makroorganizmus, teda hostiteľa.

Nasleduje časť zameraná predovšetkým na výskyt a prežívanie druhu *M. avium*, ktorému bola venovaná značná pozornosť. Pavlas a i. (1991) počas 18 mesiacov sledovali prežívanie aviárnych kmeňov v prostredí hliny, v truse a pilinách v natívnom stave a tiež po sterilizácii. Zistili, že najvhodnejším prostredím pre zachovanie životaschopnosti *M. avium* bola natívna alebo sterilizovaná hlina. Všetky kmene *M. avium* v hline prežili počas 12 mesiacov a 75 % kmeňov si udržalo rastovú schopnosť aj po 18 mesiacoch. Na rozdiel od hliny, v pilinách a truse väčšina kmeňov *M. avium* prežila len dva mesiace. Z výsledkov vyplývalo, že trus a piliny nie sú vhodným prostredím pre prežívanie *M. avium* predovšetkým v letnom období.

4. VPLYV MYKOBAKTÉRIÍ VYSKYTUJÚCICH SA VO VONKAJŠOM PROSTREDÍ NA ORGANIZMUS

Mykobaktérie vyskytujúce sa vo vonkajšom prostredí majú veľký význam hlavne pri infekčných ochoreniach ľudí a diferenciálnej diagnostike mykobaktériál-

Autori – Authors	Vyšetrený materiál	Tested material	Druh mykobaktérii – Mycobacterial species
Beerwerth a Kesel (1976a)	pôda vo voliérach vtákov (kŕmidlá)	soil in aviaries of birds (bird tables)	<i>M. avium</i> (2), <i>M. goodii</i> , <i>M. terrae</i> , <i>M. novum</i> , <i>M. triviale</i> , <i>M. phlei</i> , <i>M. fortuitum</i> , <i>Mycobacterium</i> sp.
Hanzlíková a Vilímek (1992)	podstielka, slama, zemina	litter, straw, earth	atypické mykobaktérie ¹
Hejliček a i. (1982)	zoškraby z maštali	smears from stables	<i>M. terrae</i>
Masaki a i. (1981)	podstielka pre ošpané	litter for pigs	<i>M. intracellulare</i> (4,6,8)
Pavlas a i. (1991)	stery z maštali	smears from stables	<i>M. intracellulare</i> , <i>M. fortuitum</i> , <i>M. terrae</i> , <i>M. kansasii</i> , neurčené ²
	hlina z výbehov	earth from runs	<i>M. intracellulare</i> , neurčené ²
	slama	straw	<i>M. intracellulare</i> , <i>M. terrae</i> , neurčené ²
Pavlik (1992)	ster zo zásobníka krmiva	smear from feed container	neurčené ²
	stelivo pre dobytok	litter for cattle	<i>M. avium</i> (1,2,3), skupina III podľa Runyona ³ , neurčené ²
	stelivo pre ovce	litter for sheep	skupina III podľa Runyona ³ , neurčené ²

¹atypical mycobacteria, ²undetermined, ³group III after Runyon

nych ochorení zvierat. U ľudí majú mykobaktérie význam ako pri kontakte s poškodeným povrchom tela, teda pokožkou, tak pri ich prijímaní cestou aerogénnou alebo perorálnou.

Izolácia niektorých druhov mykobaktérií, napr. z vody bazénov, potvrdzuje skutočnosť, že zdrojom častých kožných zmien mykobaktériálneho pôvodu bola práve táto voda (Eilertsen, 1969; Havelaar a i., 1985; Leite a i., 1988). Aerogénnym zdrojom mykobaktérií, napr. druhu *M. xenopi*, je pravdepodobne aerosol vznikajúci pri sprchovaní teplou vodou pretekajúcou teplovodným potrubím (Švorcová a Šlosárek, 1984). Podobne aj ďalší autori sa domnievajú, že rezervoárom mnohých infekcií vyvolaných potenciálne patogénnymi mykobaktériami je životné prostredie (Beerwerth a Kessel, 1976a).

U zvierat sú mykobaktérie vo väčšine prípadov prijímané perorálnou cestou (najčastejšie vodou, objemovým krmivom), pričom po prechode zažívacím traktom sa môžu detekovať v truse (Nassal a i., 1974). Ani aerogénna cesta infekcie sa nevylučuje, aj keď o tomto spôsobe infekcie sa autori zmieňujú len okrajovo (Wendt a i., 1980; Pavlas a i., 1991).

Pritom u zvierat, s výnimkou ošpaných, je výskyt podmienený patogénnymi mykobaktériami v prostredí významný predovšetkým z hľadiska komplikácií, pri intravitálnej diagnostike (alergický test, sérológia, bakteriológia a ďalšie). Okrem druhu *M. avium* sa pri patologicko-morfologických zmenách predovšetkým u ošpaných uplatňujú niektoré serovary *M. intracellulare* a ďalšie druhy podmienené patogénnymi mykobaktériami, ktorých rezervoárom je vo väčšine prípadov vonkajšie prostredie (Pavlas a i., 1991).

4.1. Stav imunitného systému hostiteľa a predispozícia k uplatneniu sa infekcie

Každý živý organizmus, človeka nevynímajúc, je v neustálom kontakte s mykobaktériami. Preto nie je výnimočné dočasné (prechodné) alebo trvalé (permanentné) osídlenie respiračného alebo tráviaceho traktu mykobaktériami (Portaels, 1988). Pritom k zásadnej zmene v pohľade na zdravotný význam podmienené patogénnymi mykobaktériami došlo v posledných rokoch v súvislosti s výskytom a šírením ochorení imunitného systému predovšetkým u ľudí (AIDS).

Nassal a i. (1974) na základe svojich poznatkov nepovažovali niektoré druhy mykobaktérií v ovoci a zelenine za nebezpečné pre človeka. V súčasnosti však príjem týchto mykobaktérií z povrchu neumytej koreňovej zeleniny, prípadne ovocia, zrejúceho v blízkosti pôdy (jahody, borievky a ďalšie), môže byť pre človeka chorého na AIDS fatálny.

Výsledky mnohých laboratórií sveta získané dlhodobým sledovaním potvrdili skutočnosť, že 40 až 60 % klinicky chorých pacientov na AIDS zomiera na mykobaktériálne ochorenia. Títo pacienti sa najčastejšie infikujú druhmi komplexu *M. avium-intracellulare* (Murray a i., 1995). V ojedinelých prípadoch sa diagnostikuje aj infekcia *M. tuberculosis*.

4.2. Zmeny zdravotného stavu ľudí

O mykobaktériách je známe, že patria k typickým intracelulárnym parazitom s dlhou generačnou dobou. Z toho vyplývajú aj najčastejšie patologicko-morfologické zmeny, ktoré sa charakterizujú buď difúznou proliferáciou špecifického granulačného tkaniva alebo čas-

XIII. Záchytnosť mykobaktérií zo vzoriek pilín, pôdy, vonkajšieho prostredia a vody – Trapping ratio of mycobacteria from samples of sawdust, wood-shavings, and external environment

Autori – Authors	Druh vyšetreného materiálu	Type of tested material	Počet vyšetrených vzoriek – Number of tested samples	Pozitívne vzorky (%) – Positive samples (%)
	piliny – sawdust			
Beerwerth a Kessel (1976b)	piliny (stelivo)	sawdust (litter)	375	60,8
	piliny (sterilne získané)	sawdust (sterilily acquired)	110	0,0
	kôra stromov	tree bark	208	31,2
Hanzlíková a Vilímek (1992)	piliny	sawdust	9	88,9
Pavlas a i. (1991)	piliny, hobliny	sawdust, wood-shavings	29	37,9
pôda – soil				
Beerwerth a Kessel (1976b)	pôda lesná	forest soil	631	29,8
	pôda lúk a pastvín	soil of meadows and pastures	658	78,7
	pôda orná	arable land	585	92,9
Beerwerth a Schürmann (1969)	pôda lesná	forest soil	200	39,0
	pôda lúk a pastvín	soil of meadows and pastures	176	69,9
	pôda orná	arable land	159	86,8
	pôda zavlažovaná	irrigated soil	100	99,0
Costallat a i. (1977)	pôda výbehov pre ošipané	soil of pig-runs	100	83,0
Dimov a Gonzales (1986)	pôda pastvín	soil of pastures	40	37,5
Hanzlíková a Vilímek (1992)	zemina	earth	1	100,0
Pavlas a i. (1991)	pôda z výbehov pre ošipané	soil from pig-runs	7	57,1
Reznikov a Dawson (1980)	pôda predmestí Adelaide	soil from Adelaide suburbs	52	31,0
Sanchez a Rosell (1983)	pôda a podstielka	soil and litter	22	86,0
Wolinsky a Rynearson (1968)	pôda orná, blato, il	arable land, mud, clay	72	86,0
vonkajšie prostredie – environment				
Hanzlíková a Vilímek (1992)	podstielka	litter	32	21,9
Hejliček a i. (1982)	zoškraby z maštali	smears from stables	48	18,6
Ichiyama a i. (1988)	prach domácností	dust from households	22	77,3
Pavlas a i. (1991)	stery z maštali	smears from stables	26	23,0
	stery zo zásobníkov krmiva pre ošipané	smears from feed containers for pigs	7	14,2
Tremblé (1990)	vonkajšie prostredie veľkochovov	external environment of large-scale rearings	760	4,8
	vonkajšie prostredie malochovov	external environment of small-scale rearings	421	7,3
voda – water				
Beerwerth a Kessel (1976b)	napájacia voda	feed water	646	40,7
	odpadová voda a bahno	wastewater and mud	419	84,7
Beerwerth a Schürmann (1969)	odpadová voda	wastewater	100	93,0
Dimov a Gonzales (1986)	napájacia voda	feed water	94	35,0
Hanzlíková a Vilímek (1992)	napájacia voda	feed water	71	5,6
Hejliček a i. (1982)	voda-rezervoár	water-reservoir	6	0,0
	voda-napájačky	water-feeder	6	0,0
Pavlas a i. (1991)	zdroj a potrubie	source and piping	147	28,6
Sanchez a Rosell (1983)	pitná voda	drinking water	72	39,0

tejšie vznikom granulómov s typickou histologickou skladbou. Postihnutie rôznych orgánov súvisí so spôsobom kontaktu mykobaktérií s hosťiteľom.

Pri kontakte s poškodeným povrchom tela sú to u ľudí neinfikovaných vírusom HIV predovšetkým kožné lézie na končatinách. Sú však známe aj mykobaktériálne infekcie kože na iných častiach tela, kde ich výskyt je menej častý (Jünger a Witzani, 1981; Kubica a Wayne, 1984). Pri preniknutí mykobaktérií do organizmu človeka, ktorý nie je žiadnym spôsobom (infekčným či neinfekčným) imunokompromitovaný, nedochádza vo väčšine prípadov k vzniku infekčného procesu.

Niektoré druhy podmienene patogénnych mykobaktérií zistené v spúte sa preto považujú u zdravých ľudí len za sekundárnu kontamináciu, ale napríklad pri súčasnom narušení pľúc iným ochorením (pneumoniou, rakovina a ďalšie) dochádza k narušeniu „prirodzenej odolnosti“ tkaniva, čím sa zvyšuje jeho vnímavosť ku „kolonizácii“ podmienene patogénnymi mykobaktériami. Tie sa môžu v ojedinelých prípadoch stať pôvodcami infekčného procesu.

4.3. Zmeny zdravotného stavu zvierat

V populácii zvierat je situácia čiastočne odlišná. Väčšina domácich zvierat je imunitne dobre vybavená a je schopná zabrániť vzniku infekcie.

Podobne ako u ľudí, nie je odolnosť hospodárskych zvierat voči podmienene patogénnym mykobaktériám absolútna. V celkom výnimočných prípadoch je možné stretnúť sa s prelomením imunitnej obrany organizmu a následnou mykobaktériou, prípadne infekciou určitého orgánu (pečeň, slezina, obličky a ďalšie).

Na obranyschopnosť organizmu proti infekčnému tlaku mykobaktérií má tiež vplyv frekvencia opakovania infekcie a veľkosť infekčnej dávky. Kontakt s podmienene patogénnymi mykobaktériami sa potom prejavuje senzibilizáciou k vtáčíemu, prípadne bovinnému tuberkulózu alebo aj iným senzitiu (Pavlas a i., 1991). Podiel týchto mykobaktérií na senzibilizácii zvierat k vtáčíemu alebo bovinnému tuberkulózu sa nedá jednoznačne objektívne vyjadriť, pretože nie vždy sa podarí kultivačne úspešne dokázať mykobaktérie.

4.3.1. Zmeny zdravotného stavu ošipaných

Výskyt tuberkulózných zmien pri jatočnej prehliadke zvierat je po eliminácii bovinnej tuberkulózy v roku 1968 zisťovaný z jatočných zvierat, prevažne u ošipaných. Na základe výsledkov uvádzaných v práci Pavlasa (1995) bol zistený približne rovnaký podiel kmeňov MAC a kmeňov mykobaktérií druhu *M. xenopi*, *M. gordonae*, *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum* a iné.

Počet reagujúcich ošipaných na aviárny tuberkulín pri intradermálnej tuberkulinácii sa dokonca v posledných rokoch v Českej republike zvyšuje. Pritom je často zisťovaný negatívny výsledok mykobakteriologického vyšetrenia pitevného materiálu týchto reagentov.

Tieto výsledky viedli mnohých autorov k záveru, že ošipané sú často senzibilizované podmienene patogénnymi mykobaktériami. Podľa mnohých autorov môžu vyvolávať patologicko-anatomicke zmeny u ošipaných mykobaktérie druhu *M. intracellulare* (Bauman a i., 1956; Černovský a Kubín, 1969), *M. gordonae* (Krucký, 1972), *M. xenopi* (Hanzlíková a Vilímek, 1992) a ďalšie druhy. Na základe dlhodobých skúseností a experimentálnych prác je dokonca ošipaná považovaná za najvýmavejší druh domáceho zvierata k mykobaktériálnej infekcii. Podmienenne patogénne mykobaktérie vyvolávajú po kontakte v ich organizme patologicko-morfologické zmeny, ktoré sú potom zisťované pri jatočnej prehliadke (Berthelsen, 1974; Thoen a Himes, 1976; Thoen a Johnson, 1976; Thoen a i., 1976; Brown a Neuman, 1979; Songer a i., 1980; Popluhár a i., 1986; Pavlas a i., 1991). Experimentálne bolo dokonca potvrdené, že po perorálnej infekcii kmeňom *M. intracellulare* (serotyp 3) dochádza v črevnom trakte k zápalu s následným aktívnym vylučovaním mykobaktérií počas niekoľkých týždňov (Pavlas a i., 1991).

4.3.2. Zmeny zdravotného stavu ostatných druhov zvierat

Pri sledovaní podielu mykobaktérií na patologicko-morfologických zmenách u dobytky a hydiny, sa zistilo, že vysoký výskyt týchto mykobaktérií vo vzorkách vonkajšieho prostredia (kultivačná pozitivita 50 a viac percent) významne vplyva na zdravotný stav týchto zvierat. V ojedinelých prípadoch sa zistili u dobytky špecifické tuberkulózne zmeny v zahŕňaných, mezenterických, ako aj podčelustných lymfatických uzlinách (Pavlas a i., 1991).

4.3.3. Ovplyvnenie tuberkulínovej alergickej reakcie mykobaktériami z vonkajšieho prostredia

Možnosť ovplyvnenia tuberkulínovej alergickej reakcie u dobytky a hydiny bola popísaná rôznymi autorami. Hejliček (1962) a Pavlas (1965) študovali vplyv *M. smegmatis* a *M. phlei* na vznik tuberkulínovej alergickej reakcie u dobytky a ošipaných. Zistili, že obidva druhy mykobaktérií môžu spôsobiť nešpecifické alergické reakcie na použité tuberkulíny. Tieto druhy sa však vo vonkajšom prostredí vyskytujú výnimočne. Význam však nadobúdajú mykobaktérie, ktoré sa vo veľkej miere vo vonkajšom prostredí vyskytujú.

Touto problematikou sa zaoberali Karlson (1962), Worthington (1967) a v poslednom období Monaghan a i. (1994). Za zdroje nešpecifických tuberkulínových alergických reakcií u dobytky označujú paratuberkulózu, infekcie vyvolané *M. avium* a ďalšie. Ďalšou príčinou nešpecifických alergických tuberkulínových reakcií sú mykobaktérie z vonkajšieho prostredia. V krajinách, kde je dobytok chovaný predovšetkým na pastvinách, vo Veľkej Británii, Írsku

a na Novom Zélande, sú nešpecifické tuberkulínové alergické reakcie častejšie a dosahujú 8 až 12 % (M o n a g h a n a i., 1994).

Novšie poznatky z ekológie mykobaktérií prispeli k izolácii a popísaniu týchto mykobaktériálnych druhov, k vysvetleniu mechanizmu ich množenia v prostredí a spôsobu predovšetkým orálnej infekcie zvierat. Pri tom je nutné rozlišovať, či ide o nešpecifické reakcie na aviárny tuberkulín u hydiny, alebo na cicavčí tuberkulín u dobytky. Všeobecne môžu byť nešpecifické alergické reakcie u hydiny častejšie, pretože mykobaktérie príbuzné *M. avium* sa vyskytujú v prírode. U dobytky potom môžu prichádzať do úvahy nové, dosiaľ nepopísané druhy mykobaktérií.

Jedna z prvých ekologicky zameraných publikácií bola uverejnená v roku 1965 vo Veterinárstve (K a z d a a D v o ř á k., 1965). Na jednej hydinských farme s 10 tisíc kusmi mladej hydiny ich reagovalo pozitívne viac ako 80 % na aviárny tuberkulín bez toho, aby bola zistená tuberkulóza. Z nezmenených parenchymatóznych orgánov sa podarilo izolovať mykobaktérie, neskôr diagnostikované ako *M. intracellulare* serotyp 8, vyvolávajúce senzibilizáciu na aviárny tuberkulín. V letných mesiacoch bola studničná voda používaná k napájaniu zvierat z dôvodu nedostatku nahradená vodou z rybníka, ktorý bol obklopený rašeliniskami. Voda privádzaná v cisternách a rozvádzaná do napájačiek bola vystavená slnečnému žiareniu. Teplota tu presahovala 30 °C, čo umožnilo pomnoženie mykobaktérií. Vysoká koncentrácia *M. intracellulare* serotypu 8 vyvolala nešpecifické alergické reakcie na aviárny tuberkulín. Po opätovnom používaní studničnej vody k napájaniu poklesli pozitívne tuberkulínové alergické reakcie na 1,9 % (K a z d a., 1966).

Kmene druhu *M. intracellulare* serotypu 8 boli tiež príčinou nešpecifických tuberkulínových alergických reakcií u dobytky. Tieto reakcie nie sú však také časté, a nie je možné ich vo väčšine prípadov rozlíšiť simultánnou tuberkulínáciou (M o h a g a n a i., 1994). Ovšem väčší význam majú nešpecifické alergické reakcie vyvolané ďalšími mykobaktériami z prostredia. Na Novom Zélande sa podarilo izolovať nový druh mykobaktérií, *M. cookii*, ktorý bol pôvodcom týchto reakcií (K a z d a a i., 1990). Jeho výskyt bol najskôr zistený vo sfagnoch, odkiaľ bola infikovaná voda, ktorá bola používaná k napájaniu dobytky. Vzhľadom na vyššie teploty, predovšetkým na severnom ostrove (južnej pologule), dochádzalo k silnému pomnoženiu týchto zárodkov a k vyvolaniu nešpecifických reakcií na cicavčí tuberkulín.

Ako je uvedené vyššie, nie je možné tieto reakcie rozlíšiť simultánnou tuberkulínáciou. K odlišeniu od tuberkulózy bolo možné použiť špecifický senzitiv, pripravený z *M. cookii*. Na Novom Zélande sa sporadicky vyskytuje bovinná tuberkulóza. Rezervoárom je voľne žijúci bylinožravec vačice (*Opossum*), ktorý prenáša tuberkulózu na dobytok (K a z d a a C o o k., 1988).

Podobná situácia, kedy je alergendiagnostika komplikovaná prítomnosťou mykobaktérií na pastvinách, je v Írskej republike. V južnej a severozápadnej časti krajiny sa u pastevne chovaného dobytky (v niektorých oblastiach celoročne), vyskytujú pozitívne reakcie na cicavčí tuberkulín pravidelne, pričom tieto reakcie sú vyvolané infekciou *M. bovis*. Nosiťelmi bovinnej tuberkulózy v tejto oblasti sú jazvece, ktoré prichádzajú do styku s týmto pastevne chovaným dobytkom. Z tohto dôvodu je nutné robiť pravidelné tuberkulínácie, pričom v niektorých oblastiach sa vyskytujú aj nešpecifické tuberkulínové alergické reakcie. Straty, spôsobované vyraďovaním zvierat, mylne považovaných za infikované tuberkulózou, sa v posledných niekoľkých rokoch pohybovali v priemere okolo 10 tisíc kusov dobytky ročne.

V rámci medzinárodnej spolupráce bolo urobené rozsiahle vyšetrenie prostredia zmienených fariem. Vyšetrením sa zistilo, že mykobaktérie sa pomnožujú v rôznych druhoch machov, ktoré na pastvinách tvoria malé kopcovité vyvýšiny. Tu dochádza k akumulácii slnečného tepla pod povrchom. Už skoro na jar presahuje teplota 30 °C (C o n n e y a i., 1997). V tomto čase nie je ešte tráva dostatočne vysoká, takže dobytok spása spoločne s nízkou trávou aj značné množstvo machu. Touto cestou sa senzibilizuje mykobaktériami. Podstatnú úlohu tu hrá nový mykobaktériálny druh *M. hiberniae* (K a z d a a i., 1993).

Oproti sfagmom, ktoré sú viazané na podmienky rašelinísk, sú machy rodu *Hylocomium*, *Thuidium* a *Bretulia* globálne rozšírené, pričom sa často vyskytujú aj na pastvinách (K a z d a a i., 1997). Nie je preto vylúčené, že sa s týmito alebo podobnými druhmi mykobaktérií, vyvolávajúcimi nešpecifické tuberkulínové alergické reakcie, stretneme aj v strednej Európe.

Vzhľadom na rozšírenie mykobaktérií v prostredí je nutné podotknúť, že ich interakcia so zvieratami je pomerne častá bez toho, aby vyvolala reakcie tuberkulínového typu. Iba izolácia týchto mikroorganizmov z prostredia ešte neznamená, že sú pôvodcami nešpecifických reakcií na tuberkulín. Až ich masívne pomnoženie a dlhšie trvajúca ingescia je schopná vyvolať senzibilizáciu zvierat.

V minulosti (do roku 1985) sa pri tuberkulínácii prasiat používal v Českej republike aviárny tuberkulín s obsahom 8 000 TU/ml čisteného tuberkuloproteínu. Výsledky výskumu autorov P a v l a s a a P a t l o k o v e j (1981) viedli k zavedeniu riedeného tuberkulínu s obsahom 1 000 TU/ml čisteného tuberkuloproteínu. Tento tuberkulín sa používal až do roku 1992, kedy bola koncentrácia TU upravená podľa Prílohy smernice 64 432/EHS na 14 000 TU/ml.

Zavedením tohto tuberkulínu so zvýšeným počtom TU sa zvýšil počet reagentov na aviárny tuberkulín bez nasledného preukazu *M. avium* v orgánoch porazených reagentov.

5. ASANÁCIA PROSTREDIA KONTAMINOVANÉHO MYKO-BAKTÉRIAMI V POĽNOHOSPODÁRSTVE

Sledovaním vplyvu chlórámínu B na devitalizáciu mykobaktérií vo vode sa zistila jeho relatívne nízka účinnosť. V destilovanej vode s obsahom 8 % chlórámínu B (320 mg Cl_2/l vody) sa nedeitalizovali kmene *M. avium*, *M. intracellulare* a *M. paratuberculosis* do 24 hodín. Expozícia 48 h preživalo *M. paratuberculosis*. Pri 48 hodinovej expozícii sa účinne použil pri devitalizácii *M. intracellulare* 4% roztok chlórámínu B. Rovnaký dezinfekčný prípravok devitalizoval *M. avium* v 8% koncentrácii. *M. paratuberculosis* sa devitalizovalo až po 14 dňoch vo vode s obsahom 1 % chlórámínu B (Pavlas a i., 1991).

Autori Šlosár a Janota (1990) na základe svojich experimentov potvrdili, že mykobaktérie sú odolné voči chlorácii, ktorá je v súčasnosti najčastejšie používaným spôsobom dezinfekcie vodovodnej vody, a k podobným záverom dospeli aj ďalší autori (Carson a i., 1978; Collins a i., 1984; Pelletier a i., 1988).

Pavlas (1961) sa zamerával na potencovanie dezinfekčného účinku chlórámínu B cestou jeho aktivácie amónnymi soľami v dávke 174 mg $\text{NH}_4\text{NO}_3/\text{l}$ vody. Vplyv aktivácie chlórú amónnymi soľami sa prejavil skrátením času a koncentrácie chlórámínu B potrebného na devitalizáciu všetkých troch uvedených druhov mykobaktérií. Pri šesťhodinovej expozícii stačila na devitalizáciu *M. avium* 0,25% koncentrácia a na devitalizáciu *M. intracellulare* 4% koncentrácia chlórámínu B. Predĺžením expozície na 48 h sa znížila účinná koncentrácia chlórámínu B na 0,25 % pri devitalizačnom účinku na *M. intracellulare* a *M. paratuberculosis* (Pavlas a i., 1991).

Pre prevádzky, v ktorých technológia ustajnenia neumožňuje bezstelivový systém, sa vypracovala pre asanáciu pilín metóda pre devitalizáciu *M. avium* a *M. intracellulare*. Na ošetrovanie pilín bolo odporúčané používať 5% formalín v množstve 10 l/m^3 steliva, kedy sa piliny rovnomerne navlhčili dezinfekčným roztokom a ponechali sa pred použitím minimálne jeden deň prikrýté igelitovou fóliou (Pavlas a i., 1991).

6. PREVENCIA

Na základe výsledkov prezentovaných v dostupnej literatúre je možné ochranu chovov pred negatívnym vplyvom podmienene patogénnych mykobaktérií zhrnúť do niekoľkých bodov.

1. Napájanie zvierat. Optimálnym sa zatiaľ javí pretlakový systém priamo z vodovodného potrubia. Za úplne nevyhovujúce treba považovať napájanie povrchovou vodou, prípadne vodou z prírodných zdrojov povrchovej vody riek, potokov, rybníkov. Pri použití vodných rezervoárov je účelné opakované mechanické čistenie od kalov niekoľkokrát ročne.

2. Ustajnenie zvierat. Optimálnym je ustajnenie zvierat na spevnenej betónovej podlahe maštali a výbehov. Najväčšie nebezpečenstvo predstavujú hlinené výbehy, ktoré sú značne kontaminované trusom a močom zvierat a sú celoročne rozbaňené. Tiež hnijúce časti drevených ohrád ohryzávané zvieratami môžu slúžiť ako zdroj podmienene patogénnych mykobaktérií.
3. Pastva zvierat. Ideálnymi sú pastviny s trávnatým porastom, kde počas daždivého obdobia nevznikajú kaluže. Na pastvinách je dobré, ak sa zabráni prístupu zvierat k prírodným vodným zdrojom, ktoré môžu byť práve v letných mesiacoch nebezpečným zdrojom pomnožených podmienene patogénnych mykobaktérií.
4. Podstielka. Najideálnejším sa javí používanie suchej, správne uskladnenej slamy. Za rizikové možno považovať používanie vlhkej slamy predovšetkým zo spodných častí stohov kontaminovaných trusom a močom drobných hlodavcov. Ako nevyhovujúce je používanie pilín, hoblín a iných drevených produktov. Aj napriek ich sterilizácii teplom alebo chemickým ošetrením môže dôjsť k ich následnej kontaminácii podmienene patogénnymi mykobaktériami trusom vtákov, hlodavcov a vodou.
5. Divá zver a vtáci. Priestory maštali, vrátane prípravkov krmív a skladov je vhodné zabezpečiť pred prenikaním voľne žijúcich vtákov. Ich trus môže byť zdrojom mikroorganizmov vyvolávajúcich aviárnu tuberkulózu (*M. avium*), tak aj zdrojom iných podmienene patogénnych mykobaktérií.
6. Sklady krmiva. Najvhodnejšie na udržiavanie krmných zmesí sú suché a uzavreté zásobné kontajnery a nádrže, ktoré znižujú možnú kontamináciu podmienene patogénnymi mykobaktériami.
7. Objemové krmivá. Pri spracovaní zelenej hmoty je potrebné vylúčiť dlhodobé pôsobenie slnečného žiarenia, ktorého tepelný účinok môže spôsobiť pomnoženie podmienene patogénnych mykobaktérií.
8. Tekuté krmivá. Bezprostredne pred prípravou tekutého krmiva je vhodnejšie použiť postupne ohriatu studenú pitnú vodu. Voda z teplovodného potrubia môže byť kontaminovaná značným množstvom „termofilných“ mykobaktérií, predovšetkým *M. xenopi*. Platí to ako pre prípravu mliečnych krmných zmesí pre prasiatka, tak aj pre prípravu tekutých krmných zmesí pre ošípané.

ZÁVER

Vzhľadom na to, že prostredie maštali a vonkajšie prostredie je značne kontaminované podmienene patogénnymi mykobaktériami, je organizmus hospodárskych zvierat vystavený značnému infekčnému tlaku. Z pohľadu veterinárnej medicíny je preto vhodné čo najviac obmedziť prístup zvierat k týmto zdrojom potenciálne patogénnych mykobaktérií. Preto by sa chovatelia hospodárskych zvierat mali vyvarovať pred

všetkými uvedenými kritickými zložkami krmiva, napájania a ustajnenia, ktoré ovplyvňujú zdravotný a imunitný stav zvierat.

Podakovanie

Dovoľujeme si poďakovať za cenné rady a pripomienky doc. MVDr. B. Kapitančíkovi, CSc., RNDr. I. Rychlíkovi, MVDr. O. Fischerovi ako aj ďalším spolupracovníkom. Za technickú spoluprácu ďakujeme pánovi J. Hykyšovi a pracovníkom knižnice Výskumného ústavu veterinárneho lekárstva v Brne, menovite p. Z. Gregorovej, A. Mašlaňovej a L. Mutyabovej.

LITERATÚRA

BAUMANN, R. – KRENN, E. – LIEBISCH, H. (1956): Über die käsig Lymphknotenentzündung der Schweine. Wien Tierärztl. Wschr., 43, 341–345.

BEERWERTH, W. (1973): Mykobakterien in Viehränken und Oberflächengewässern. Dtsch. Tierärztl. Wschr., 80, 398–401.

BEERWERTH, W. – KESSEL, U. (1976a): Aviäre Mykobakterien im Kot von Wild- und Zoovögeln. Prax. Pneumol., 30, 374–377.

BEERWERTH, W. – KESSEL, U. (1976b): Mykobakterien in der Umwelt von Mensch und Tier. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig., A. 235, 177–183.

BEERWERTH, W. – POPP, K. (1971): Zur epizootologischen Bedeutung der Sägemehlstreu für das Auftreten der Schweinetuberkulose. Zbl. Vet. Med. B, 18, 634–645.

BEERWERTH, W. – SCHÜRMANN, J. (1969): Zür Ökologie der Mykobakterien. Erste Abt. Orig. Bd., 211, 58–69.

BERTHELSEN, J. D. (1974): Economics of the avian tuberculous problem in swine. J. Am. Vet. Med. Assoc., 164, 307–308.

BLACK, W. – CORNHILL, W. – WOODWARD, F. (1955): A preliminary investigation on the chemical composition of Sphagnum moss and peat. J. Appl. Chem., 5, 484–492.

BROOKS, R. W. – GEORGE, K. L. – PARKER, B. C. – FALKINHAM, III J. O. (1984a): Recovery and survival of nontuberculous mycobacteria under various growth and decontamination conditions. Can. J. Microbiol., 30, 1112–1117.

BROOKS, R. W. – PARKER, B. C. – GRUFT, H. – FALKINHAM, III J. O. (1984b): Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. V. Numbers in Eastern United States soils and correlation with soil characteristics. Am. Rev. Resp. Dis., 130, 630–633.

BROWN, J. – NEUMAN, M. A. (1979): Lesions of swine lymph nodes as a diagnostic test to determine mycobacterial infection. Appl. Envir. Microbiol., 37, 740–743.

CALLE, P. P. – ROSKOP, M. – THOEN, C. (1988): Tuberculin reactions in captive orangutans from which mycobacteria other than *Tuberculi bacilli* were isolated. In: Proc. Joint Conference of the Amer. Assoc. Zoo Vet. and Amer. Ass. Wild. Vet., Toronto, Ontario.

CARSON, L. A. – PETERSEN, N. J. – FAVERO, M. S. – AGUERO, S. M. (1978): Growth characteristics of atypical

mycobacteria in water and their comparative resistance to disinfectants. Appl. Envir. Microbiol., 36, 839–846.

CHIODINI, R. J. (1989): Crohn's disease and the Mycobacteriosis: a review and comparison of two disease entities. Clin. Microbiol. Rev., 2, 90–117.

CHIODINI, R. J. – VAN KRUININGEN, H. J. – MERKAL, R. S. (1984): Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects. Cornell Vet., 74, 218–262.

COLLINS, C. H. – GRANCE, J. M. – YATES, M. D. (1984): A review. Mycobacteria in water. J. Appl. Bact., 57, 193–211.

COONEY, R. – KAZDA, J. – QUINN, J. – COOK, B. – MÜLLER, K. – MONAGHAN, J. (1997): Environmental mycobacteria in Ireland as a source of non-specific sensitization to tuberculin. Irish Vet. J., v tlači.

COSTALLAT, L. F. – DE CASTRO, A. F. P. – RODRIGUES, A. C. – RODRIGUES, F. M. (1977): Examination of soils in the Campinas rural area for microorganisms of the *Mycobacterium avium-intracellulare-scrofulaceum* complex. Aust. Vet. J., 53, 349–350.

ČERNOVSKÝ, J. – KUBÍN, M. (1969): Outbreak of infection of pigs with nonchromogenic mycobacteria. Vet. Med. (Praha), 14, 89–94.

DAMSKER, B. – BOTTONE, E. J. (1985): *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* from the intestinal tracts of patients with the acquired immunodeficiency syndrome: concepts regarding acquisition and pathogenesis. J. Infect. Dis., 151, 179–181.

DAWSON, D. J. (1971): Potential pathogens among strains of mycobacteria isolated from house dust. Med. J. Aust., 1, 679–681.

DIMOV, I. – GONZALES, E. (1986): Sources of infection of cattle with atypical mycobacteria in Cuba, and their occurrence in healthy slaughter cattle. Vet. Med. Nauki (Sofia), 23, 47–52.

Du MOULIN, G. C. – STOTTMEIER, K. D. – PELLETIER, P. A. – TSANG, A. Y. – HEDLEY-WHITE, J. (1988): Concentration of *Mycobacterium avium* by hospital hot water systems. J. Am. Med. Assoc., 260, 1599–1601.

EILERTSEN, E. (1969): Atypical mycobacteria and reservoir in water. Scand. J. Resp. Dis., 50, Suppl., 69, 85–88.

ENGEL, H. W. B. – BERWALD, L. G. – HAVELAAR, A. H. (1980): The occurrence of *Mycobacterium kansasii* in tap water. Tubercle, 61, 21–26.

FALKINHAM, J. O. (1989): Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. VIII. Absence of mycobacteria in chicken litter. Am. Rev. Resp. Dis., 139, 1347–1350.

FALKINHAM, III, J. O. (1996): Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. Clin. Microbiol. Rev., 9, 177–215.

FODSTAD, F. H. (1977): Tuberculin reactions in bulls and boars sensitized with atypical mycobacteria from sawdust. Acta Vet. Scand., 18, 374–383.

GANGADHARAM, P. R. J. – LOCKHART, J. A. – AWE, R. J. – JENKINS, D. E. (1979): Mycobacterial contamination through tap water. Am. Rev. Resp. Dis., 113, 894.

GEORGE, K. L. – PARKER, B. C. – GRUFT, H. – FALKINHAM, III, J. O. (1980): Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. II. Growth and survival in natural waters. Am. Rev. Resp. Dis., 122, 89–94.

- GOSLEE, S. – WOLINSKY, E. (1976): Water as a source of potentially pathogenic mycobacteria. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 113, 287–292.
- GRAHAM, L. Jr. – WARREN, N. G. – TSANG, A. Y. – DALTON, H. P. (1988): *Mycobacterium avium* complex pseudobacteriuria from hospital water supply. *J. Clin. Microbiol.*, 26, 1034–1036.
- HAAS, H. – FATTAL, B. (1990): Distribution of mycobacteria in different types of water in Israel. *Wat. Res.*, 24, 1233–1235.
- HANZLÍKOVÁ, M. – VILÍMEK, L. (1992): Výskyt mykobaktérií vo vyšetovaných vzorkách v Slovenskej republike v rokoch 1985–1989. *Veterinářství*, 42, 339–342.
- HAVELAAR, A. H. – BERWALD, L. G. – GROOTHUIS, D. G. – BAAS, J. G. (1985): *Mycobacteria* in semi-public swimming pools and whirlpools. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B180*, 505–514.
- HEJLIČEK, K. (1962): Studium alergie a tvorby protilátek po experimentální infekci prasat saprofytickými mykobakteriemi. *Vet. Med. (Praha)*, 7, 59–64.
- HERR, W. (1901): Ein Beitrag zur Verbreitung der säurefesten Bazillen. *Z. Hyg.*, 38, 201. (From: NASSAL et al., 1974)
- HORÁK, Z. – POLÁKOVÁ, H. – KRÁLOVÁ, M. (1986): Water-borne *Mycobacterium xenopi* a possible cause of pulmonary mycobacteriosis in man. *J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immunol.*, 30, 405–409.
- ICHIYAMA, S. – SHIMOKATA, K. – TSUKAMURA, M. (1988): The isolation of *Mycobacterium avium* complex from soil, water, and dusts. *Microbiol. Immunol.*, 32, 733–739.
- IRGENS, L. M. – KAZDA, J. – MÜLLER, K. – EIDE, G. E. (1981): Conditions relevant to the occurrence of acid-fast bacilli in sphagnum vegetation. *Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect. B.*, 89, 41–47.
- JÜNGER, H. – WITZANI, R. (1981): „Schwimmbadgranulom“ – Eine Hautinfektion mit *Mycobacterium marinum*. *Z. Hautkr.*, 56, 16–18.
- KARLSON, A. G. (1962): Non-specific or cross sensitivity reactions to tuberculin in cattle. *Adv. Vet. Sci.*, 7, 147–181.
- KAUKER, E. – RHEINWALD, W. (1972): Untersuchungen über das Vorkommen atypischer Mykobakterien der Gruppe 3 nach Runyon in Eistreu (Sägemehl) und Futter von Schweinen in Nordhessen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 20, 384–387.
- KAUSTOVÁ, J. – OLŠOVSKÝ, Ž. – KUBÍN, M. – ZATLOUKAL, O. – PELIKÁN, M. – HRADIL, V. (1981): Endemic occurrence of *Mycobacterium kansasii* in water supply systems. *J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immunol.*, 25, 24–30.
- KAZDA, J. (1966): Isolierung und Beschreibung einer *Mycobacterium* species, des Erregers einer Paraallergie gegenüber Tuberkulin beim Geflügel. *Zbl. Bakt. Parasitkd. Hyg.*, 199, 529–532.
- KAZDA, J. (1973a): Die Bedeutung von Wasser für die Verbreitung von potentiell pathogenen Mykobakterien I. Möglichkeiten für eine Vermehrung von Mykobakterien. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt., Orig. B.*, 158, 161–169.
- KAZDA, J. (1973b): Die Bedeutung von Wasser für die Verbreitung von potentiell pathogenen Mykobakterien II. Vermehrung von Mykobakterien in Gewässermodellen. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt., Orig. B.*, 158, 170–176.
- KAZDA, J. (1977): Die Bedeutung der Moorbiothope für die Ökologie von Mykobakterien. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt., Orig. B.*, 165, 323–334.
- KAZDA, J. (1978): Vermehrung von Mykobakterien in der grauen Schicht der Sphagnum-Vegetation. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt., Orig. B.*, 166, 463–469.
- KAZDA, J. (1983): The principles of the ecology of mycobacteria. In: *The Biology of the Mycobacteria*. Vol. 2, 323–341.
- KAZDA, J. (1990): Acid-fast bacilli found in sphagnum vegetation of coastal Norway containing *Mycobacterium leprae*-specific phenolic glycolipid. *Int. J. Leprosy*, 58, 353–358.
- KAZDA, J. (1997): *The Ecology of the Mycobacteria*. London, Academic Press, (in press).
- KAZDA, J. – COOK, B. R. (1988): *Mycobacteria* in pond waters as a source of non-specific reactions to bovine tuberculin in New Zealand. *N. Z. Vet. J.*, 36, 184–188.
- KAZDA, J. – DVOŘÁK, R. (1965): Příspěvek k objasnění etiologie paraalergických reakcí na aviární tuberkulin u drůbeže. *Veterinářství*, 15, 487–489.
- KAZDA, J. – MÜLLER, K. – COOK, B. R. (1989): Microbiology of sphagnum peat with special reference to mycobacteria. In: *Proc. Int. Symp. on Peat/Peatland Characteristics and Uses*. Bemidji State Univ., Bemidji, Minnesota, S. A. Spigarelli Ed. 552–559.
- KAZDA, J. – STACHEBRANDT, E. – SMIDA, J. – MINNIKIN, D. E. – DAFÉ, M. – PARLETT, J. H. – PITULLE, C. (1990): *Mycobacterium cookii* sp. nov. *Int. J. System. Bacteriol.*, 40, 217–223.
- KAZDA, J. – COONEY, R. – MONAGHAN, M. – QUINN, P. J. – STACHEBRANDT, E. – DORSCH, M. – DAFÉ, M. – MÜLLER, K. – COOK, B. R. – TARNOK, Z. S. (1993): *Mycobacterium hiberniae* sp. nov. *Int. J. System. Bacteriol.*, 43, 352–357.
- KAZDA, J. – COONEY, R. – MONAGHAN, M. – QUINN, P. J. – MÜLLER, K. – COOK, B. R. (1997): High density of mycobacteria in bryophyte vegetation (Musci) in morland of Ireland. *Int. Peat J.*, (in press).
- KRUCKÝ, J. (1972): Izolace skotochromogenních mykobakterií ze sekčního materiálu skotu a prasat. *Veterinářství*, 22, 408–411.
- KUBICA, G. P. – WAYNE, L. G. (1984): *The Mycobacteria: a sourcebook*. Inc. New York and Basel, Marcel Dekker. Part A. 679 pp.
- KUBÍN, M. (1975): Infekce vyvolané atypickými mykobakteriemi. Praha, Avicenum. 283 s.
- KUBÍN, M. (1979): Přírodní rezervoáry a ekologie potenciálně patogenních mykobaktérií. *Bull. Čes. Mikrobiol. Spol.*, 3, 7–11.
- LEITE, C. Q. F. – GIANNINI, M. J. S. M. – FALCAO, D. P. – LÉVY-FRÉBAULT, V. – DAVID, H. (1988): Presence of *Mycobacterium marinum* and other opportunist mycobacteria in swimming pool waters in Araraquara, SP. *Rev. Microbiol.*, 19, 354–359.
- MASAKI, S. – SHIMIZU, K. – CHO, N. – HIROSE, T. (1981): Isolation of mycobacteria from lymph nodes of pig and their environment. *J. Japan Vet. Med. Assoc.*, 44, 213–221.
- MASAKI, S. – KONISHI, T. – SUGIMORI, G. – OKAMOTO, A. – HAYASHI, Y. – KUNZE, F. (1989): Plasmid pro-

- files of *Mycobacterium avium* complex isolated from swine. Microbiol. Immunol., 33, 429–433.
- McSWIGGAN, D. A. – COLLINS, C. H. (1974): The isolation of *M. kansasii* and *M. xenopi* from water systems. Tubercle, 55, 291–297.
- MEDEK, B. – KUBÍN, M. – HUDEC, V. – CHOBOT, S. – OLŠOVSKÝ, Ž. – PELIKÁN, M. – RICHTROVÁ, S. – ŠVANDOVÁ, E. – MALÍŠ, J. (1979): Endemický výskyt onemocnění vyvolaných *Mycobacterium kansasii* v karvinské průmyslové aglomeraci. Čas. Lék. Čes., 118, 307–314.
- MEISSNER, G. – SCHMIEDEL, A. (1970): Mykobakterien und mykobakterielle Krankheiten. Band 4. In: Bovine Tuberkulose, aviäre Tuberkulose und andere Mykobakteriosen. 1. vyd. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag. 416 s.
- MONAGHAN, M. L. – DOHERTY, M. L. – COLLINS, J. D. – KAZDA, J. F. – QUINN, P. J. (1994): The tuberculin test. Vet. Microbiol., 40, 11–124.
- MÖLLER, A. (1899): Ein neuer säure- und alkoholfester Bazillus aus der Tuberkelbazillengruppe, welcher echte Verzweigungsformen bildet. Zbl. Bakt., I. Abt., 25, 369. (From: NASSAL et al., 1974)
- MURRAY, P. R. – BARON, E. J. – PFALLER, M. A. – TENOVER, F. C. – YOLKEN, R. H. (1995): Manual of clinical microbiology. 1 452 pp.
- MÜLLER, K. – KAZDA, J. (1987): Zum Vorkommen von Mykobakterien in der Sphagnum-Vegetation der Paramoore Südkolumbiens. Telma, 17, 221–229.
- MÜLLER, K. – KAZDA, J. – IRGENS, L. M. (1980): Zur Vorkommen von Mykobakterien in Mooren. Telma, 10, 252–254.
- NASSAL, J. – WERNER SCHIECK, B. (1970): Mycobacteria in human faeces. Prax. Pneumol., 24, 473–478.
- NASSAL, J. – BREUNIG, W. – SCHNEDELBACH, U. (1974): Atypische Mykobakterien in Obst, Gemüse und Getreide. Prax. Pneumol., 28, 667–674.
- PATTYN, S. R. – PORTAELS, F. – BOIVIN, A. – VAAN DEN BREEN, L. (1971): Mycobacteria isolated from the aquaria of the Antwerp ZOO. Acta Zool. Pathol. Antverp., 52, 65–72.
- PAVLAS, M. (1961): Účinnost některých dezinfekčních prostředků na *Mycobacterium tuberculosis* var. bovis. Vet. Med. (Praha), 34, 507–512.
- PAVLAS, M. (1965): Význam některých saprofytických mykobaktérií při paraalergických reakcích na savčí tuberkulin. [Vědecká práce.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, s. 111–124.
- PAVLAS, M. (1995): Diagnostika mykobakterií prasat. [Výroční zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 16 s.
- PAVLAS, M. – PATLOKOVÁ, V. (1981): Optimální koncentrace aviárního PPD tuberkulinu při diagnostice tuberkulózy prasat. [Dílčí zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 28 s.
- PAVLAS, M. – PATLOKOVÁ, V. (1985): Occurrence of mycobacteria in sawdust, straw, hay and their epizootological significance. Acta Vet. (Brno), 54, 85–90.
- PAVLAS, M. – PAVLÍK, I. – KOCIÁNOVÁ, I. (1991): Výskyt atypických mykobaktérií v zevním prostředí. [Závěrečná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 49 s.
- PAVLÍK, I. (1992): Intravitální diagnostika paratuberkulózy skotu, ovcí a ostatních přežvýkavců. [Dizertační práce.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 149 s.
- PAVLÍK, I. – PAVLAS, M. – KOSKOVÁ, S. – VESELÝ, T. – BARTL, J. – HORVÁTHOVÁ, A. – BEJČKOVÁ, L. (1995): Diagnostika a tlumení paratuberkulózy a mykobakterií zvířat. [Závěrečná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 31 s.
- PELIKÁN, M. – MIKOVÁ, Z. – KAUSTOVÁ, J. – KUBÍN, M. (1973): Aerosol z užitkové vody jako pravděpodobný faktor přenosu při infekci atypickými mykobakteriemi. Čs. Hyg., 18, 316–323.
- PELLETIER, P. A. – duMOULIN, G. C. – STOTTMEIER, K. D. (1988): Mycobacteria in public water supplies: comparative resistance to chlorine. Microbiol. Sci., 5, 147–148.
- POPLUHÁR, L. – VRTIAK, O. J. – MELTER, J. (1986): Atypical mycobacteria, their pathogenicity and diagnostics in swine. Folia Vet., 30, 9–17.
- PORTAELS, F. (1988): The importance and evaluation of mycobacterial diseases as assessed by a mycobacteriological laboratory. Bull. Int. Union Against Tuberculosis and Lung Diseases, 63, 13–16.
- PROSSER, B. A. (1989): Methods used to investigate a possible environmental source of *Mycobacterium avium-intracellulare-scrofulaceum* (MAIS) infection in farmed deer. J. Appl. Bact., 66, 219–226.
- REZNIKOV, M. – DAWSON, D. J. (1971): Serological investigation of strains of *Mycobacterium intracellulare* (Battley bacillus) isolated from house-dusts. Med. J. Aust., 58, 682–683.
- REZNIKOV, M. – DAWSON, D. J. (1980): Mycobacteria of the intracellulare-scrofulaceum group in soils from the Adelaide area. Pathology, 12, 525–528.
- REZNIKOV, M. – LEGGO, J. H. – TUFFLEY, R. E. (1971): Further investigations of an outbreak of mycobacterial lymphadenitis at a deep-litter piggery. Aust. Vet. J., 47, 622–623.
- RHEINWALD, W. (1972): Untersuchungen über das Vorkommen atypischer Mykobakterien in Eistreu (Sägemehl) und Futter von Schweinen in Nordhessen. Vet. Med. Diss., Giessen, 142 pp.
- RUDOLPH, H. J. (1964): Zur Frage der Membranochromie bei Sphagnen. Flora, 250–258.
- SAITANU, K. – HOLMGAARD, P. (1977): An epizootic of *Mycobacterium intracellulare*, serotype 8 infection in swine. Nord. Vet. Med., 29, 221–226.
- SAITO, H. – TSUKAMURA, M. (1976): *Mycobacterium intracellulare* from public bath water. Jap. J. Microbiol., 20, 561–563.
- SANCHEZ, I. – ROSELL, R. (1983): Principal sources of infection with atypical mycobacteria in cattle herds. Rev. Cuba Cien. Vet., 14 29–33.
- SCARLATA, G. – PELLERITO, A. M. – DI BENEDETTO, M. – MASSENTI, M. F. – NASTASI, A. (1985): Isolation of mycobacteria from drinking water in Palermo. Bull. Ist. Sieroter. (Milano), 64, 479–482.
- SHOWALTER, S. G. – WOLINSKY, E. (1974): Water as a source of pathogenic mycobacteria. Am. Rev. Resp. Dis., 109, 710.

- SCHNEIDERLIN, K. (1897): Über die Biologie der Tuberkuloseerreger. Med. Diss. Freiburg/Br. (From: NASSAL et al., 1974).
- SCHRÖDER, K. H. – KAZDA, J. – MÜLLER, K. – MÜLLER, H. J. (1992): Isolation of *Mycobacterium simiae* from the environment. Zbl. Bakt., 277, 561–564.
- SINGER, E. – RODDA, G. M. (1965): Non-specific sensitization to old tuberculin: mycobacteria in water. Tubercle, 46, 209–213.
- SNEATH, P. H. (1986): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 1st ed. Baltimore, Williams and Wilkins. 1 599 pp.
- SONGER, J. G. – BICKNELL, E. J. – THOEN, C. O. (1980): Epidemiological investigation of swine tuberculosis in Arizona. Can. J. Comp. Med., 44, 115–120.
- STEJSKAL, J. – BURJANOVÁ, B. (1986): Epidemický výskyt ochorení vyvolaných *Mycobacterium xenopi*. Stud. Pneumol. Phtiseol. Czechoslov., 46, 275–279.
- STINE, T. M. (1987): A pseudoepidemic due to atypical mycobacteria in a hospital water supply. J. Am. Med. Ass., 258, 809–811.
- SYMON, K. – ČUTA, J. – KUBÍN, M. – MIKOVÁ, Z. – PELIKÁN, M. (1975): Dezinfekce vody obsahující atypické mykobakterie za pokusných a provozních podmínek. Čs. Hyg., 20, 164–171.
- ŠLOSÁREK, M. – JANOTA, J. (1990): Účinnost vodárenského procesu na odstranění podmíněně patogenních mykobaktérií. Vod. Hosp., 1, 40–42.
- ŠLOSÁREK, M. – JANOTA, J. – MAIXNER, J. – ČIŽINSKÁ, S. (1987): Výskyt mykobaktérií v systému mechanicko-biologické čistírny odpadních vod Sepap Štětí. Vod. Hosp., 7, 183–186.
- ŠVORCOVÁ, L. – ŠLOSÁREK, M. (1984): K výskytu mykobaktérií v lázeňských bazénech. Fyziat. Věst., 62, 138–146.
- THOEN, C. O. – HIMES, E. M. (1976): Tuberculosis in brood sows and pigs slaughtered in Iowa. Am. J. Vet. Res., 37, 775–778.
- THOEN, C. O. – JOHNSON, D. W. (1976): Experimentally induced *Mycobacterium avium* serotype 8 infection in swine. Am. J. Vet. Res., 37, 177–181.
- THOEN, C. O. – HIMES, E. M. – CAMPBELL, J. N. (1976): Isolation of *Mycobacterium avium* serotype 3 from a White-headed tree duck. Avian Dis., 20, 587–592.
- TREML, F. (1990): Procesy cirkulace mykobaktérií ve velkochovech hospodářských zvířat a ve volné přírodě. [Závěrečná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární, 40 s.
- TSUKAMURA, M. – MIZUNO, S. – MURATA, H. – NEMOTO, H. – YUGI, H. (1974): A comparative study of mycobacteria from patients room dusts and from sputa of tuberculous patients. Source of pathogenic mycobacteria occurring in the sputa of tuberculous patients as causal isolates. Jap. J. Microbiol., 18, 271–277.
- TSUKAMURA, M. – MIZUNO, S. – TOYAMA, H. (1984): Mycobacteria from dusts of Japanese houses. Kekkaku, 59, 625–631.
- TSUKAMURA, M. – KITA, N. – SHIMOIDE, H. – ARAKAWA, H. – KUZE, A. (1988): Studies on the epidemiology of nontuberculous mycobacteriosis in Japan. Am. Rev. Resp. Dis., 137, 1280–1284.
- TUFFLEY, R. E. – HOLBECHE, J. D. (1980): Isolation of *Mycobacterium avium*-*M. intracellulare*-*M. scrofulaceum* complex from tank water in Queensland, Australia. Appl. Envir. Microbiol., 39, 48–53.
- UHLEMANN, J. – HELD, R. – MÜLLER, K. – JAHN, H. – DÜRRING, H. (1975): Schweinetuberkulose im einem Mastkombinat nach Einstreu von Hobel- und Sägespänen. Mh. Veter.-Med., 30, 175–180.
- WELLS, S. K. – GUTTER, A. – VAN METER, K. (1990): Cutaneous mycobacteriosis in a harbor seal: attempted treatment with hyperbaric oxygen. J. Zool. Wild. Med., 21, 73–78.
- WENDT, S. L. – GEORGE, K. L. – PARKER, B. C. – GRUFT, H. – FALKINHAM III, J. O. (1980): Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. III Isolation of potentially pathogenic mycobacteria from aerosols. Am. Rev. Resp. Dis., 122, 259–263.
- WERNER-SCHIECK, B. (1970): Untersuchungen zum Vorkommen von Mykobakterien in Stuhlproben vom Menschen. Med. Diss. Heidelberg.
- WOLINSKY, E. – RYNEARSON, T. K. (1968): Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains. Am. Rev. Resp. Dis., 97, 1032–1037.
- WORTHINGTON, R. W. (1967): Mycobacterial sensitines and the non-specific reactor problem. J. Vet. Res., 34, 345–438.
- ZÓRAWSKI, C. – KARPINSKI, T. – SKWAAREK, P. – LODA, M. (1983): Mycobacterium intracellulare, serotype 8 (Davies), existing in sawdust as a cause of mass infection of pigs. Bull. Vet. Inst. (Pulawy), 26, 1–5.

Received 97-02-10

Accepted after corrections: 97-04-15

Kontaktná adresa:

MVDr. Alica Horváthová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno, Česká republika
Tel. 05/41 32 12 41, fax 05/41 21 12 29, e-mail: kahr@vuvel.anet.cz

IN VITRO METHODS AND THEIR USE IN TOXICOLOGY

IN VITRO METÓDY A ICH VYUŽITIE V TOXIKOLÓGII

E. Hurná

Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: Assessment of the human health risks from chemicals is based predominantly on animal studies. After quantitative evaluation of data, a no-observed adverse effect level (NOAEL) is determined. The NOAEL is subsequently extrapolated to the human situation, resulting in a recommended exposure limit for the general human population. The aim of this work is to point out to the use of alternative methods in toxicology which diminished the number of animals in standard tests of toxicity and to the use of *in vitro* techniques in cytotoxicity and genotoxicity of chemicals.

toxicology; cell cultures; cytotoxicity; genotoxicity; *in vitro*; alternative methods

ABSTRAKT: Cieľom práce je poukázať na využitie alternatívnych metód v toxikológii, ktoré môžu znížiť počet zvierat v štandardných testoch na zisťovanie toxicity a na využitie *in vitro* techník pri zisťovaní toxicity a genotoxicity chemických látok.

toxikológia; bunkové kultúry; cytotoxicita; genotoxicita; *in vitro*; alternatívne metódy

ÚVOD

V poslednej dobe sa vo zvýšenej miere vyvíjajú alternatívne metódy testovania toxicity. Jedným z hlavných cieľov týchto metód je získať dostatočnú informáciu na identifikáciu možných toxických účinkov novovyvíjaných chemických látok. Tak isto sú to aj etické dôvody, prečo sa výskumní pracovníci zameriavajú na vývoj *in vitro* metód, využitím ktorých by sa mohli znížiť alebo zameniť testy na zvieratách (Rodríguez-Farré a i., 1993; Lopreno a i., 1994). Myšlienka využitia alternatívnych metód vo výskume, vzdelávaní a testovaní má svoje korene už v 50. rokoch, keď Russell a Burch na sympóziu o humánnych technikách v laboratóriu v roku 1957 definovali využitie troch R (reduction, refinement and replacement) v štandardných testov na zvieratách (Morton, 1995).

Pod pojmom „redukcia“ rozumieme použitie čo najmenšieho počtu zvierat v toxikologickom výskume alebo získanie viacerých informácií o negatívnych vplyvoch chemických látok na danom počte zvierat, ktorých výsledky vedú k dosiahnutiu potrebných údajov (Zurlo a i., 1996).

„Zdokonalenie“ je vlastne zlepšenie metód v toxikologickom výskume rôznymi spôsobmi ako je napríklad eliminácia stresu a pocitu bolesti u zvierat použitých pri testovaní alebo tiež redukcia zvierat v pokusoch. Stres je nepriaznivý stav, v ktorom zviera nie je schopné sa úplne adaptovať na stresory. Bolesť je výsledkom možného alebo existujúceho poškodenia tkaniva, ktoré

je spôsobené poranením, chirurgickým zásahom alebo chorobou, čo vedie tak isto k stresu (Flecknell, 1994; Zurlo a i., 1996).

Tretím pojmom je „zámena“, kde sa v toxikologickom výskume využívajú alternatívne metódy bez použitia intaktných zvierat (DeLaso, 1993). Tieto zmeny sa začínajú uplatňovať v súčasnosti na základe nových zákonov vo viacerých krajinách Európy. Výskum je zameraný predovšetkým na vývoj nových metód založených na molekulárnej a bunkovej biológii ako základ k využitiu v toxikológii.

ALTERNATÍVNE METÓDY

Alternatívne metódy k testom na zvieratách sú postupy, ktoré sa môžu v celom rozsahu použiť namiesto testov na zvieratách, čo umožňuje znížovať počty zvierat v pokusoch alebo obmedziť stres pri týchto testoch. K takýmto metódam patria aj *in vitro* techniky (Balls, 1994; Orleans, 1996).

In vitro znamená „v skle“, ale biológovia interpretujú tento termín širšie – ako výskum, v ktorom sa bunky a tkanivá cicavcov, rastlín, testy na baktériách a bezstavovcov, kuracích embryách a embryách žiab využívajú v testovaní chemických látok predtým, než sa zaviedú na trh. Testovaná látka môže spôsobovať zmeny napríklad v krvi, v bunkách špecifických orgánov a môže ovplyvňovať človeka, zvieratá, rastliny, hmyz, ryby. Alternatívne metódy nám umožňujú sledovať priamy účinok na bunky z týchto druhov.

Cytotoxikológia sa zaoberá štúdiom toxických účinkov chemických látok a iných materiálov na úrovni bunky.

Celková cytotoxicita (základná cytotoxicita) je výsledkom toxických účinkov na štruktúru a funkcie bunky, ktoré sú rovnaké pre bunky celého organizmu, ako je DNA, chromozómy, mitochondrie, cytoskelet a membrány bunky. V testoch sa využívajú permanentné bunkové línie, ktorými môžeme vyhodnocovať veľké množstvo chemických látok relatívne v krátkom čase. Výsledky získané z týchto testov sú základom pre interpretáciu výsledkov získaných z tkanivovo-špecifickéj toxicity.

V súčasnosti sa výskum zameriava na sledovanie účinku chemických látok na tkanivové kultúry získané z ľudských tkanív rôznych orgánov, takže otázka toxického účinku na ľudský organizmus môže byť zodpovedaná presnejšie (Calleja a Persoone, 1992; Goldberg a Wehr, 1993).

Druhou kategóriou testov je určiť účinok sledovanej látky na špecifický orgán, napríklad pečeň. Ďalšími testami môžeme zistiť, ako rozkladné produkty môžu ovplyvniť bunku ako aj iný typ bunky. V takomto prípade bunková kultúra pozostáva z dvoch typov buniek, napríklad bunky pečene a obličiek (Goldberg a Wehr, 1993).

Liečivá a novovyvinuté chemické látky sa obvyčajne testujú *in vivo* testami na zistenie akútnej toxicity a ďalšími testami, ktoré častokrát trvajú aj dva roky (testy na karcinogenitu). Každá modifikácia aj starého prípravku alebo zmesi známych chemických látok musia prejsť predpísanými testami. Preto zmeny v testovaní nebezpečnosti novozavádzaných látok sú nevyhnutné a schéma takého testovania môže pozostávať zo série testov, ktoré sa začínajú koreláciou štruktúry a účinku, pokračujú fyzikálnymi a chemickými analýzami, krátkodobými testami, skríningovými skúškami, pokusmi na zvieratách a nakoniec hodnotením rizika pre človeka. V batérii testov sú zahrnuté aj *in vitro* metódy a krátkodobé testy pri odhade rizika chemickej látky. Tieto testy poskytujú možnosť sledovať mechanizmy chemickej toxicity na bunkovej úrovni a takto možnosť ovplyvnenia terapeutickou alebo antitoxickou látkou. Alternatívne metódy sa môžu využívať ako skríningové testy alebo ako testy, ktoré nahrádzajú test *in vivo*.

Skríningová metóda slúži na získanie orientačných výsledkov. Tieto metódy sa využívajú v predbežných rozhodnutiach alebo na prvotné získanie údajov o toxickom účinku. Na základe týchto údajov nezískame takú komplexnú odpoveď na účinok chemickej látky ako metódami, ktoré nahrádzajú metódy *in vivo*. Tieto údaje poskytujú informáciu, ktorá sa využije ďalej v testovaní na toxicitu.

Náhradné testy musia poskytnúť rovnakú informáciu ako údaje z *in vivo* testov, na základe ktorých sa dá definitívne odhadnúť miera toxikologického rizika (Green, 1993).

Toxické látky môžu vyvolať nasledujúce účinky na bunku: poškodenie bunkovej membrány, narušenie metabolického aktivity a poškodenie genetického materiálu

(genotoxicita). Vo väčšine prípadov však sa stretávame s kombináciou týchto účinkov.

Cytotoxicita je definovaná ako ireverzibilné poškodenie bunky, ktoré môžeme sledovať viacerými metódami, napríklad životnosť buniek, poškodenie membrány, zastavenie proliferácie buniek.

Genotoxicita je definovaná ako indukcia poškodenia DNA kovalentným naviazaním chemických látok na DNA, zmenou štruktúry alebo počtu génov v chromozómoch. Tieto zmeny vyvolávajú napríklad aromatické uhľovodíky (Schweikl a Schmalz, 1991; Celloti a Bianchi, 1991). Mutácie v špecifických génoch zapríčinjajú stabilné dedičné zmeny a chromozomálne abnormality (Auletta, 1990). Génové mutácie sa sledujú predovšetkým na baktériách, kvasinkách, cicavčích bunkách, hmyze a rastlinách. Z mikrobiálnych testov sa najčastejšie využíva Amesov test, v ktorom sa používa séria mutantných baktérií *Salmonella typhimurium* bez metabolickej aktivity a s metabolickou aktiváciou. Cicavčie bunky *in vitro* poskytujú biologický materiál, ktorý je na rozdiel od mikroorganizmov blízky somatickým bunkám *in vivo*. Danou metódou sa zisťuje schopnosť skúmanej látky vyvolať v cicavčích bunkách genetickú zmenu, napríklad rezistenciu voči básovým analógom (6-tioquanín, 8-azoquanín). Testy na chromozomálne aberácie pozostávajú zo skúšok na cytogenetickú analýzu, sesterské chromatídové výmeny a mikronukleus test. V testoch na zisťovanie DNA poškodenia a opravy sa používajú ako biologický materiál predovšetkým *Escherichia coli* alebo *Bacillus subtilis*.

Poškodenie membrány vzniká vtedy, keď sledovaná látka naruší štruktúru biologických membrán, napríklad zvýšením permeability, ktorá sa prejaví zmenou v prestupe vody, iónov a metabolitov. To vedie k lýze bunky. Poškodenie metabolickej aktivity bunky môžu spôsobiť reaktívne látky, napríklad ióny ťažkých kovov, reziduálne monoméry alebo radikály, ktoré inhibujú aktivitu bunkových enzýmov. Toxický vplyv sa takto prejavuje v znížení energetickej produkcie a syntézy proteínov, výsledkom čoho je zmena aktívneho transportu cez bunkovú membránu, zastavuje sa bunková proliferácia a nakoniec tieto procesy vedú k smrti bunky (Jenssen a Syversen, 1991; Lugscheider a i., 1994). Na sledovanie genotoxicity sa používajú testy na rôznych bakteriálnych druhoch alebo bunkách cicavcov.

Výhodami *in vitro* metód je to, že týmito metódami sledujeme cytotoxicitu a hodnotíme zmeny od veľmi malých odchyľok vo funkcii bunky až po zistenie smrti bunky (Kirkpatrick a Mittermayer, 1990) a na základe výsledkov určujeme toxickú odpoveď v závislosti na dávke. Počet zvierat v experimentoch sa redukuje tým spôsobom, že na kompletný pokus alebo skupinu pokusov sa využije len jedno zviera. Zníženie nákladov v pokusoch sa prejaví v redukcii zvierat a tiež v znížení nákladov na krmivo a ich chov. Ďalšou výhodou je, že bunky, ktoré sú použité v pokuse sú tej istej populácie, získané z toho istého zvieratá a tým sa redukuje variabilita v pokuse. Výhodou je aj to, že *in vitro* metó-

dami môžeme v priebehu niekoľko hodín identifikovať metabolity chemických látok, zatiaľ čo v pokusoch *in vivo* to trvá niekoľko dní. Na základe *in vitro* systémov sa dajú lepšie zostaviť pokusy *in vivo* a predpokladať primerané dávky pre pokus na zvieratách.

Nevýhodami týchto testov je, že ich nemôžeme použiť pri hodnotení takých faktorov ako je napríklad distribúcia a eliminácia liečiv. Tak isto aj funkcie niektorých primárnych buniek môžu byť nestabilné. Je to otázka cytochromu P-450, ktorého obsah sa znižuje v závislosti od trvania kultivácie (Delraso, 1993).

ZÁVER

Záverom môžeme povedať, že na získanie potrebných výsledkov je potrebné zostaviť batériu *in vitro* testov použitím rôznych bunkových typov. Musia byť známe výhody a nevýhody *in vitro* systémov predtým, než sa definitívne začnú využívať v toxikologických štúdiách. Musia byť riadne uznané a musí byť dosiahnutá šandardnosť testov. V súčasnosti nie je reálna úplná zámena *in vivo* testami s *in vitro* metódami. Avšak využitie týchto testov v súčasnosti redukuje počty zvierat v pokusoch a na základe výsledkov z *in vitro* testov získavame komplexnejší pohľad na účinky testovanej látky.

LITERATÚRA

AULETTA, A. (1990): Current status of short-term tests for carcinogenicity. *J. Envir. Sci. Hlth. C8(1)*, 1–43.
BALLS, M. (1994): Replacement of animal procedures: alternatives in research, education and testing. *Lab. Anim.*, 28, 193–211.
CALLEJA, M. C. – PERSOONE, G. (1992): Cyst-based toxicity tests. IV. The potential of ecotoxicological tests for the prediction of acute toxicity in man as evaluated on the first acute chemicals of the MEIC programme. *ATLA*, 20, 396–405.
CELLOTTI, L. – BIANCHI, V. (1991): Applications of human peripheral blood lymphocytes in genotoxicity and cytotoxicity. *ATLA*, 18, 231–241.

DELRASO, N. J. (1993): *In vitro* methodologies for enhanced toxicity testing. *Toxicol. Lett.*, 68, 91–99.
FLECKNELL, P. A. (1994): Refinement of animal use-assessment and alleviation of pain and distress. *Lab. Anim.*, 28, 222–231.
GREEN, S. (1993): Regulatory agency considerations and requirements for validation of toxicity test alternatives. *Toxicol. Lett.*, 68, 119–123.
GOLDBERG, A. – WEHR, F. (1993): Alternatives to whole animal testing. In: KAPIS, M. – GAD, S. C. (eds.): *Non-animal Techniques Inbiomedical and Behavioral Research and Testing*. New York, pp. 1–9.
JENSSEN, J. – SYVERSEN, T. (1991): Effects of high pressure and metal salts on cell growth. *ATLA*, 19, 245–250.
KIRKPATRICK, C. J. – MITTERMAYER, C. (1990): Theoretical and practical aspects of testing potential biomaterials *in vitro*. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 1, 9–13.
LOPRENO, N. – BONCRISTIANI, G. – BOSCO, E. – NIERI, M. – LOPRENO, G. (1994): The Galileo data bank on toxicity testing with *in vitro* alternative methods II. Toxicology profiles of 20 chemicals. *ATLA*, 22, 82–114.
LOGSCHEIDER, E. – KNEPPER, M. – HEIMBERG, B. – DEKKER, A. – KIRKPATRICK, C. J. (1994): Cytotoxicity investigations of plasma sprayed calcium phosphate coatings. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 5, 371–375.
MORTON, D. B. (1995): Advances in refinement in animal experimentation over the past 25 years. *ATLA*, 23, 812–822.
ORLEANS, G. (1996): The three Rs in research and education: A long road ahead in the United States. *ATLA*, 24, 151–158.
RODRÍGUEZ-FARRÉ, E. – ROBERFROID, M. – FRANCHIA, G. N. (1993): Research and development of *in vitro* pharmacotoxicology: A European perspective. *ATLA*, 21, 285–293.
SCHWEIKL, H. – SCHMALZ, G. (1991): Evaluation of the mutagenic potential of root canal sealers using the Salmonella/microsome assay. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2, 181–185.
ZURLO, J. – RUDACILLE, D. – GOLDBERG, A. M. (1996): The three Rs: The way forward. *Environ. Hlth Persp.*, 104, 878–880.

Received 97–03–10

Kontaktná adresa:

MVDr. Edita Hurná, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A, 040 01 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/633 20 11, fax 095/633 18 53

IAMS COMPANY *Award* — 1997 —

The Iams Company Award for the best clinical article

In 1995 The Iams Company inaugurated the Iams Company Award for the best clinical article published in a European Veterinary Journal by a junior veterinarian.

The second Iams Company Award was met with wide enthusiasm and over 40 outstanding articles were submitted to the independent Award Committee. The winner of the Iams Company Award 1996, dr. K. Onclin from Liège University in Belgium, received her prize at the WSAVA Congress in Jerusalem in October 1996.

Building on the successes of 1995 and 1996, The Iams Company invites young veterinary authors again to submit their publication(s) to participate in the competition for

the Iams Company Award 1997. Nominees are veterinarians under 36 years of age, who have published a clinical paper in a peer reviewed European Veterinary Journal (national or international). The articles describe either clinically orientated basic research or a clinical study. Both retrospective and prospective studies as well as high quality review articles in the field of Clinical Companion Animal Medicine and Surgery can be nominated for the Iams Company Award. Articles should be submitted in their language of publication together with a full abstract in English.

The winner of the Iams Company Award 1997 will be announced during the ESVIM Congress in Lyon, 11 - 13 September 1997.

The prize for the winner of the Iams Company Award 1997 includes

1. ECU 2500.00 in cash
2. ECU 1500.00 in travel vouchers to attend the ESVIM Congress
3. free subscription to the ESVIM Congress
4. free subscription to specialist seminars during the ESVIM Congress
5. free participation to the social evening program of the ESVIM Congress
6. reprint of the article in the next issue of the FECAVA Journal

The award winning manuscript will be selected by an independent committee consisting of three European clinicians eminent in the field of veterinary Medicine and Surgery. Manuscripts or reprints of articles on one of the above mentioned subjects published between 1 July 1996 and 1 July 1997 should be submitted in quadruplicate, together with a CV of the first author, before 15 July 1997 to: The Iams Company Award Committee, Mrs. M.L.T. van der Kraan, Iams Pet Food International Inc., Luchthavenweg 67, NL-5657 EA Eindhoven, The Netherlands.



POKyny PRO AUTORY

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem. Časopis zveřejňuje i názory, postřehy a připomínky čtenářů ve formě kurziv, glosy, dopisu redakci, diskusního příspěvku, kritiky zásadního článku apod., ale i zkušenosti z cest do zahraničí, z porad a konferencí.

Autoři jsou plně odpovědní za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce. Redakce přijímá práce imprimované vedoucím pracoviště nebo práce s prohlášením všech autorů, že se zveřejněním souhlasí.

Rozsah původních prací nemá přesáhnout 10 stran psaných na stroji včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI.

Rukopis má být napsán na papíře formátu A4 (30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojité mezery). K rukopisu je vhodné přiložit disketu s textem práce, popř. s grafickou dokumentací pořízenou na PC s uvedením použitého programu. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlépají se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Podrobné pokyny pro autory lze vyžádat v redakci.

Applications for detailed instructions for authors should be sent to the editorial office.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short or a longer summary. The journal also publishes readers' views, remarks and comments in form of a text in italics, gloss, letter to the editor, short contribution, review of a major article, etc., and also experience of stays in foreign countries, meetings and conferences.

The authors are fully responsible for the originality of their papers, for its subject and formal correctness. The authors shall make a written declaration that their papers have not been published in any other information source.

The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper. The editors accept papers approved to print by the head of the workplace or papers with all the authors' statement they approve it to print.

The extent of original papers shall not exceed ten typescript pages, including tables, figures and graphs.

Manuscript should be typed on standard paper (quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript). A PC diskette with the paper text or graphical documentation should be provided with the paper manuscript, indicating the used editor program. Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

The title of the paper shall not exceed 85 strokes and it should provide a clear-cut idea of the paper subject. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract. It must present information selection of the contents and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes and comprise base numerical data including statistical data.

Introduction has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form. This introductory section also provides information why the study has been undertaken.

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

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

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

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

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

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

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

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code, telephone and fax number, or e-mail.

VETERINARY MEDICINE – CZECH

Volume 42, No. 7, July 1997

CONTENTS

Blahovec J. Kostecká Z., Mešter J., Cavaille F.: Peptidic components of sheep amniotic fluid regulate cell proliferation of BP-A31 cells.....	185
REVIEW ARTICLE	
Horváthová A., Kazda J., Bartl J., Pavlík I.: Occurrence of conditionally pathogenic mycobacteria in the environment and their impact on living organism	191
INFORMATION	
Hurná E.: <i>In vitro</i> methods and their use in toxicology	213

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Ročník 42, č. 7, Červenec 1997

OBSAH

Blahovec J. Kostecká Z., Mešter J., Cavaille F.: Peptidické látky amniónové tekutiny oviec regulujú proliferáciu buniek BP-A31	185
PŘEHLED	
Horváthová A., Kazda J., Bartl J., Pavlík I.: Výskyt podmienčne patogénnych mykobaktérií v prostredí a ich vplyv na živý organizmus	191
INFORMACE	
Hurná E.: <i>In vitro</i> metody a ich využitie v toxikológii	213