

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

4

VOLUME 43
PRAHA
APRIL 1998
CS ISSN 0375-8427

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gescí 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., Reinfelden, 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 Kovářů, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Dr. Jozef Laurinčík, DrSc., Institute of Genetics and Experimental Biology, RIAP, Nitra, Slovak 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.,

Jílové u Prahy, Czech Republic

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

Editor-in-Chief – Vedoucí redaktorka

Ing. Zdeňka Radošová

World Wide Web (URL): <http://www.clark.cz/vri/casopis.htm>

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

Periodicita: Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 43 vychází v roce 1998.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve třech vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Zdeňka Radošová, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.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 1998 je 624 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: Agris, 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 43 appearing in 1998.

Acceptance of manuscripts: Three 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: editor@login.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 1998 is 145 USD (Europe), 152 USD (overseas).

HISTOLOGICAL AND FUNCTIONAL ALTERATIONS IN THE ENDOMETRIUM OF COWS WITH PERSISTING OVARIAN CYSTS

HISTOPATOLOGICKÉ A FUNKČNÍ ZMĚNY V ENDOMETRIU KRAV S PERZISTUJÍCÍMI OVARIÁLNÍMI CYSTAMI

V. Kummer, J. Mašková, Z. Zralý, J. Čanderle, Z. Věžník

Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Histological and functional alterations in the endometrium of 35 cows with persisting ovarian cysts were assessed considering the hormonal pattern and length of duration of the ovarian dysfunction. Bioptic samples of endometrium were collected repeatedly at intervals of 14 to 21 days or after slaughter along with blood sampling for the determination by RIA of progesterone, 17 β -oestradiol, triiodothyronine, thyroxine and cortisol. Up to postpartum day 40, the effects of persisting follicular cysts on endometrium corresponded to the pattern of prolonged oestrogenization, including aflux, hyperaemia, haemorrhages, intensive cell infiltration, particularly by lymphocytes, vacuolar degeneration of epithelial cells, incipient dilatation of uterine glands and hyperplasia of stroma in *stratum compactum*. The above processes became more intensive and took larger areas between postpartum days 40 and 60. This applied particularly to hyperplasia of glands and stroma and endometrial vascularization. Glandular hyperplasia, hyperaemia and cell infiltration receded from postpartum day 80 and irreversible lesions, including cystic dilatation of glands associated with dystrophy or atrophy of epithelium, periglandular fibrosis, reduction in the number of glands, intensive vascularization and vessel wall hypertrophy, diffuse fibrosis, and endometrial atrophy began to dominate from postpartum days 100 to 120. Analyses of the obtained data have shown that the dominant role in the development of the endometrial lesions was played by oestrogens and the length of duration of the ovarian endocrinopathy; certain variability may have been due to the topical oestrogen production. Protective effects of progesterone produced by luteinized cysts or corpus luteum present on the ovary simultaneously with the follicular cyst were more marked in glands, while inhibition of endometrial fibrotization and vascular proliferation were less conspicuous. Histochemical examinations demonstrated disturbed metabolism and inadequate enzymatic activity particularly in epithelial cells. The latter effect was evident even in morphologically unaltered cells. Cows with ovarian cysts should be treated around the postpartum day 60. Treatment at a later stage may be less effective and subfertility or sterility may develop.

cow; ovarian cysts; endometrium; histology; histochemistry

ABSTRAKT: U 35 krav s ovariálními cystami byly hodnoceny patomorfologické a funkční změny v endometriu ve vztahu k hormonálnímu typu a délce trvání ovariální dysfunkce. Vzorky endometria byly získávány biopsií opakovaně v intervalu 14 až 21 dnů nebo *post mortem* současně s odběrem krve k radioimunoanalýze progesteronu, 17 β -estradiolu, trijodtyroninu, tyroxinu a kortizolu. V období do 40 dnů po porodu jsou účinky perzistujících folikulárních cyst na endometrium charakteristické obrazy prolougované estrogenizace – aflux, hyperemie, tvorba hemoragií, intenzivní buněčná infiltrace převážně lymfocyty, vakuolární degenerace epitelii, počínající dilatace žlázek a hyperplazie stromatu ve *stratum compactum*. V období mezi 40. až 60. dnem po porodu se tyto procesy prohlubují a postihují stále větší oblasti endometria. Zvýrazňuje se především hyperplazie žlázek a stromatu a vaskularizace sliznice. Častější jsou nálezy periglandulární fibrózy, především u dilatovaných žlázek. Od 80. dne dochází k útlumu hyperplazie žlázek, hyperemie a buněčné infiltrace endometria a od 100. až 120. dne počínají dominovat patologické změny mající již charakter ireverzibility – cystická dilatace žlázek s dystrofií a atrofií epitelu, periglandulární fibróza, snížení počtu žlázek, intenzivní vaskularizace s hypertrofií stěn cév, difuzní fibróza a atrofie endometria. Z provedených analýz vyplývá, že rozhodující roli v rozvoji patologických změn v endometriu sehrávají estrogeny a délka trvání ovariální endokrinopatie, určitá variabilita může pramenit z aktuální produkce estradiolu. Histochemické vyšetření prokázalo narušený metabolismus a neadekvátní enzymatickou aktivitu zejména v epitelích, a to i v případech morfologicky nezfetelných abnormalit. Z dosažených výsledků vyplývá, že léčba ovariálních cyst by měla být situována do období okolo 60. dne po porodu, léčba v pozdějším období již může být provázena sníženou fertilitou až sterilitou krav.

kráva; ovariální cysty; endometrium; histologie; histochemie

INTRODUCTION

The growing incidence of cystic ovarian disease in cows, as a cause of reproductive disorders and considerable economic losses, has been motivating intensive studies of aetiology, therapy and prevention of this condition for several decades. Their results have been summarized and discussed in several reviews published among other authors by Kesler and Garverick (1982), Eyestone and Ax (1984), Nanda et al. (1989), Day (1991, 1991a), Lopez-Diaz and Bosu (1992).

Ovarian cysts have been defined as anovulatory follicular structures with a diameter >2.5 cm persisting for at least 10 days. Follicular cysts are thin-walled and occur as solitary or multiple structures. The production of oestradiol (E_2) is variable depending on the functional status of granulosa cells, and progesterone (P_4) concentration in blood serum is lower than 1 ng/ml. Luteal cysts are thicker-walled, develop less frequently (7 to 30%) and occur usually as solitary structures. The functional luteal tissue produces P_4 its blood serum concentrations being ≥ 1 ng/ml. Simultaneous occurrence of follicular cysts and an active corpus luteum (FC + CL) is found in 30 to 40% of the affected cows. Ovarian cysts develop usually between postpartum (pp) days 15 and 45. These rather dynamic structures can persist, or undergo atresia, luteinization and regression with subsequent spontaneous resumption of a normal ovarian cycle, or the development of another wave of cystic follicles.

Results of several experimental studies and experience in the treatment of bovine ovarian cysts (Roberts, 1956; Kudláč et al., 1969; Grunert and Berchtold, 1982; Berger, 1985, and others) have shown that therapeutic effects depend to a considerable extent on the length of duration of the condition, or, more specifically, on the length of the interval between parturition and the outset of treatment. The *quo ad fertilitatem* prognosis in cows treated after pp days 80 to 90 is rather unfavourable partly due to possible inadequate ovarian responses and partly to functional and morphological alterations of the uterine mucosa.

In spite of the abundance of studies dealing with bovine ovarian cysts, the number of those concentrating on morphological and functional changes of the uterine mucosa is rather limited. The papers published so far by Roberts (1956), Dawson (1961), Mochow and Olds (1966), Bogdan et al. (1970), Schvarc (1972), Averichin and Vjatkin (1976), Al-Dahash and David (1977), Bierschwal et al. (1980) and other authors give a basic description of endometrial lesions ranging from the most frequent cystic glandular dilatation with atrophy of epithelium up to the "swiss cheese" pattern, hyperplasia of stroma with mucosal fibrosis, hyperplasia of vascular muscle tissue and thinning of mucosa. Some

microscopic studies of endometrium (Moss et al., 1956; Cupps, 1973; Manspeaker et al., 1983; Gonzales et al., 1985) have demonstrated a relationship between glandular dilatation and periglandular fibrosis and a relatively high occurrence of this finding in cows with impaired fertility. The major drawback of most of the above papers is the lack of elementary anamnestic data including the length of duration of the ovarian disorder and endocrinological data and a complete absence of data on developmental dynamics of the microscopic lesions.

The objective of this study was to assess adverse consequences of prolonged activity of ovarian cysts on endometrial morphology and function in cows with defined hormonal status in respect of the length of duration of the ovarian dysfunction, and to identify lesions responsible for subfertility or sterility of breeder cows.

MATERIAL AND METHODS

The investigations were carried out in 35 crosses of Czech Red Pied x Black Lowland, or Czech Red Pied x Holstein crosses in their 2nd to 8th lactation period in which ovarian cysts were diagnosed. The cows underwent repeated gynaecological examinations and sampling for laboratory tests at 14-day to 21-day intervals. The monitoring was stopped as soon as a normal ovarian cycle was spontaneously resumed, after the outset of treatment, or after the cows were culled.

Biopic samples of endometrium ($n = 80$), collected from middle segments of both uterine horns were completed with 17 samples collected *post mortem* from culled cows. The samples were fixed in 10% neutral formaline and sections were prepared using the conventional paraffin technique and stained with haematoxyline-eosin for quantitative morphological assessment, toluidine blue for mast cells and the green Masson's trichrome stain for collagenous tissue. The *post mortem* samples collected for histochemical examination were fixed in cold Bouin's solution and sections were prepared using the freezing technique. The azo-coupling and indigogenic (Vacek, 1990) methods were used for the detection of alkaline and acid phosphatases (ALP and ACP) and non-specific esterase (NSPE), respectively.

Hormonal analyses, carried out in 23 cows, were focused on the assessment of endocrine activities of ovaries, thyroid gland and adrenal glands. Commercial kits supplied by Human-Lab (Košice, Slovakia), were used for radioimmunoanalysis of progesterone (P_4), triiodothyronine (T_3) and thyroxine (T_4), and kits supplied by Immunotech (Praha, Czech Republic), for the determination of 17β -oestradiol (E_2) and cortisol.

The results of hormonal examinations were processed using statistical methods (Student's *t*-test and correlation analysis) by the software Stat Plus (Matoušková et al., 1993).

RESULTS

ENDOCRINOLOGICAL CHARACTERISTICS

The lower mean concentrations of T_3 and T_4 (1.62 ± 0.06 and 55.30 ± 1.73 nmol/l, respectively; $\bar{x} \pm \text{SEM}$) in blood serum samples ($n = 49$) collected from the cows with ovarian dysfunction and the highly significant ($r = -0.412$; $P < 0.01$) negative correlation between E_2 (39.12 ± 3.93 pg/ml) and T_3 are evidences of a close link between the endocrine activities of the thyroid gland and ovaries. Also significant was the difference in P_4 concentrations (0.65 ± 0.13 vs. 1.58 ± 0.33 ng/ml) between the cows with FC and those with FC + CL. On the other hand, the production of E_2 (39.42 ± 6.53 vs. 38.07 ± 5.96 pg/ml) was almost identical in the two subgroups. An acute increase of concentrations of P_4 (≥ 1 ng/ml), indicating luteinization, was found in 26% of the cows in which follicular cysts were diagnosed by clinical examination. In none of them, however, such increase was observed before pp day 50.

HISTOLOGY OF ENDOMETRIUM

The description of the development of lesions in intercaruncular areas of the uterine mucosa due to hormonal imbalance has been divided into three periods.

Before pp day 40 (Fig. 1)

Hormonally active follicular cysts lacking marked signs of luteinization ($E_2 \geq 20$ pg/ml; $P_4 < 1$ ng/ml) were found in all the cows during this period.

The endometrium showed a pattern typical of prolonged oestrogenization including oedema and intensive hyperaemia with small haemorrhages in the upper layer of *stratum compactum* that may have caused a destruction of the surface epithelium here and there. Characteristic of this pattern was intensive or even massive infiltration of the upper layers of endometrium with mononuclear cells, mostly lymphocytes, and their penetration into the uterine and glandular lumina. The number of macrophages and mast cells increased, while polymorphonuclear cells were less frequent. The surface epithelium was heterogeneous, mostly cubic with stratified areas, with well apparent secretory activity. Vacuolar degeneration and disintegration was often seen in the epithelium of uterine glands. Dilatation of their upper segments, beginning proliferation of fibroblasts in *stratum compactum*, an increase in the number of collagenous fibres and increased vascularization of endometrium were apparent already in this period. All the above lesions had a focal character.

Postpartum days 41 to 60 (Fig. 2)

Active follicular cysts ($E_2 \geq 20$ pg/ml; $P_4 < 1$ ng/ml) or progressively luteinizing cysts ($E_2 \geq 20$ pg/ml, $P_4 \geq$

1 ng/ml) were found in 50% of the monitored cows and combinations of follicular and luteinizing cysts/corpus luteum, manifested by variable concentrations of E_2 and P_4 , in the rest.

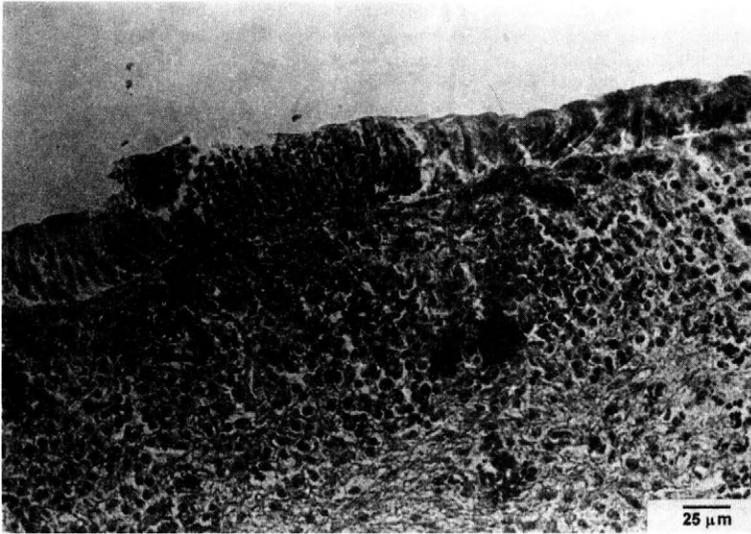
The severity of the lesions increased due to persisting ovarian dysfunction, particularly the increase in E_2 concentration. Uterine glands showed hyperplasia and hypertrophy of epithelium and its vacuolar degeneration and release of cells into glandular lumina were also frequently found. Dilatation affected up to 50% of the glands and was associated with an inhibition of hyperplasia and secretory activity of the epithelium and gradual flattening of epithelial cells. Medium to severe infiltration of the endometrium by lymphocytes, concentrating in the upper and periglandular areas, persisted and numerous lymphoid nodules and an increase in the number of macrophages and mast cells were observed. Hyperaemia was apparent in the whole extent of endometrium and small or more extensive haemorrhages were located mostly below the surface epithelium and around uterine glands. Proliferation of fibroblasts in *stratum compactum* became more apparent and periglandular fibrosis was found more frequently. An increased number of blood vessels and onset of hyperplasia of vascular muscular tissue were observed in *stratum spongiosum*.

Most of the microscopic lesions observed in this period can be subsumed under the term "hyperplastic active endometrium of the stromoglandular type". Strong effects of oestrogens on endometrium were apparently not inhibited even by increased concentrations of P_4 (≥ 1 ng/ml) and the "antioestrogenic" effect of the latter could not be unambiguously demonstrated during this period. Apart from less severe hyperaemia and infiltration by mononuclear cells, the temporary decrease in the production of E_2 had no marked effect on the development of the endometrial lesions.

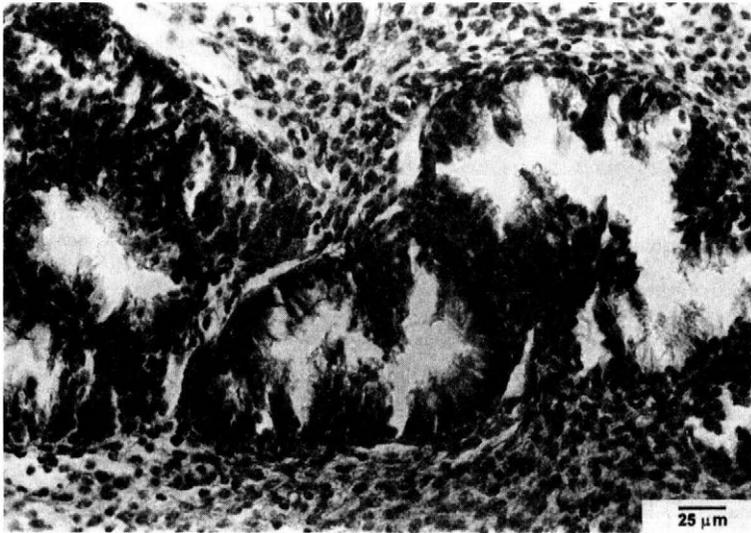
After pp day 60

Typical of this period was a decrease in the incidence of follicular cysts (38%) of which only one half showed increased endocrine activity ($E_2 \geq 20$ pg/ml). Simultaneous development of FC + CL was diagnosed in 50% of the cows. In this subgroup, increased concentrations of E_2 and P_4 were found in 65% and 71% of the animals, respectively. Luteal cysts were detected in 12% of the cows.

Morphological and functional alterations of the epithelial and the fibrous components of endometrium became more intensive and extensive. Characteristic pattern included progressive remission of hyperaemia and lymphocytary infiltration of endometrium and, from pp day 80, also of glandular hyperplasia. On the other hand, fibrosis of endometrium and dystrophy and atrophy of glandular epithelium began to dominate from pp days 100 to 120 (Figs. 3, 4 and 5). An increasing number of dilated glands acquired cystic appearance, the glandular epithelium was cubic to flat showing almost



1. Marked mononuclear infiltration and small haemorrhages in *stratum compactum*, local destruction of surface epithelium and penetration of blood cells into uterine cavity in a cow with active FC on pp day 37 (Masson's trichrome, 100x)



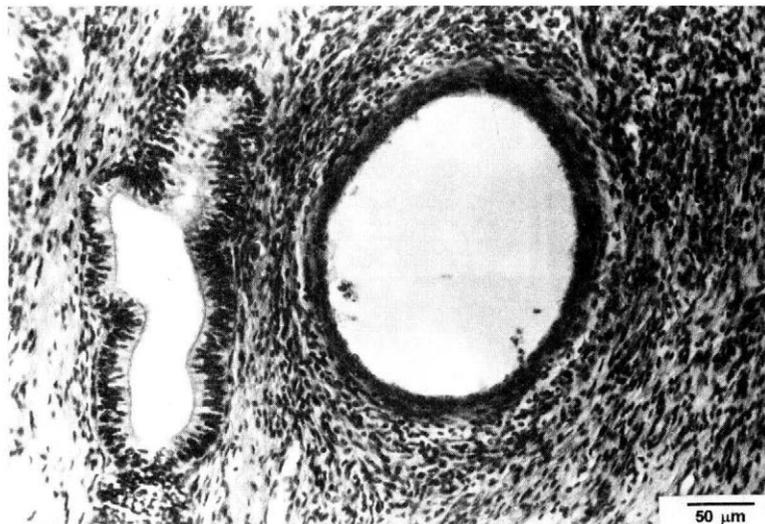
2. Hyperplasia of uterine glands, hypertrophy and vacuolar dystrophy of epithelium, destruction and release of cells into glandular lumina in a cow with active FC and inactive CL on pp day 47 (Masson's trichrome, 100x)

zero secretory activity (Fig. 6). The epithelium was disintegrated and the glands necrotic in some segments. The number of glands decreased and periglandular fibrosis was observed around most of them. Marked fibrosis proceeded from *stratum compactum* into *stratum spongiosum*. Extensive vascularization of endometrium and hypertrophy of vascular muscular tissue developed and the vessels often proceeded up to the upper parts of the mucosa. The height of the latter decreased progressively and the pattern of atrophic endometrium began to dominate. Individual differences in the extent and intensity of the lesions, dependent on the endocrine activity, were observed. The protective effect of P_4 was

apparent only in uterine glands and only in animals in which higher concentrations persisted for prolonged periods. The inhibition of connective tissue and blood vessel proliferation was less evident. The most serious lesions in the target tissues were induced by persisting follicular cysts with permanent, if variable, production of E_2 .

HISTOCHEMISTRY OF ENDOMETRIUM

Insufficiency and asynchrony of functions of individual endometrial tissues were apparent already in the



3. Cystic uterine gland with a low dystrophic epithelium, marked periglandular fibrosis with infiltration of mononuclears, intact gland to the left. *Stratum compactum* of a cow with active FC and CL on pp day 120 (HE, 63x)



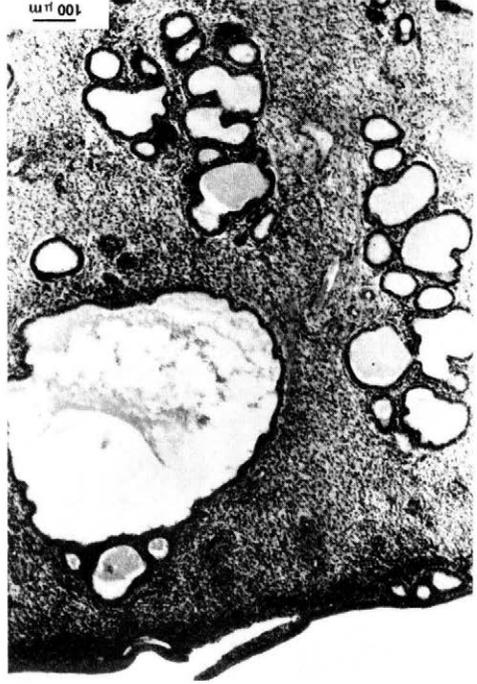
4. Fibrotic endometrium, numerous cystic glands with periglandular fibrosis, reduced number of glands, vascularization and hypertrophy of vessel walls in a cow with active FC and CL on pp day 128 (HE, 25x)

initial stage of the development of the microscopic lesions. Unlike the physiological pattern of the luteal phase, no activity of ALP was detectable in the surface epithelium (apart from the apical parts) and its increase in hyperplastic parts of stroma was recorded in the FC + CL cows (Fig. 7). The inadequate response of the epithelium to progesterone is also evident from the low activity of ACP. On the other hand, the lower activity of NSPE did not correspond to the high production of E_2 by the ovarian cysts. The functional insufficiency of the endometrial epithelial cells was apparent also in the luteal phase after the resumption of the ovarian cycle.

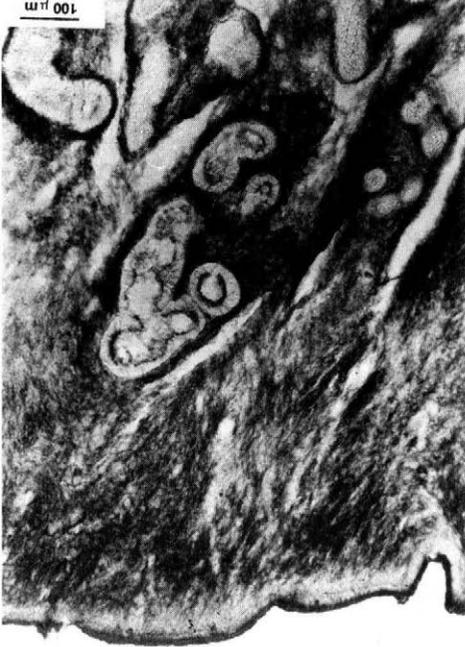
DISCUSSION

The effects of oestradiol on endometrial tissues were rather characteristic. Hormonally active follicular cysts persisting for less than 30 days (up to pp days 50 to 60) induced changes in the uterine mucosa, including afflux, hyperaemia, haemorrhages, intensive infiltration, particularly by lymphocytes, vacuolar degeneration of epithelium, glandular hyperplasia and dilatation, and beginning proliferation of connective tissue, that can all be classified as repairable. Similar findings were also described in

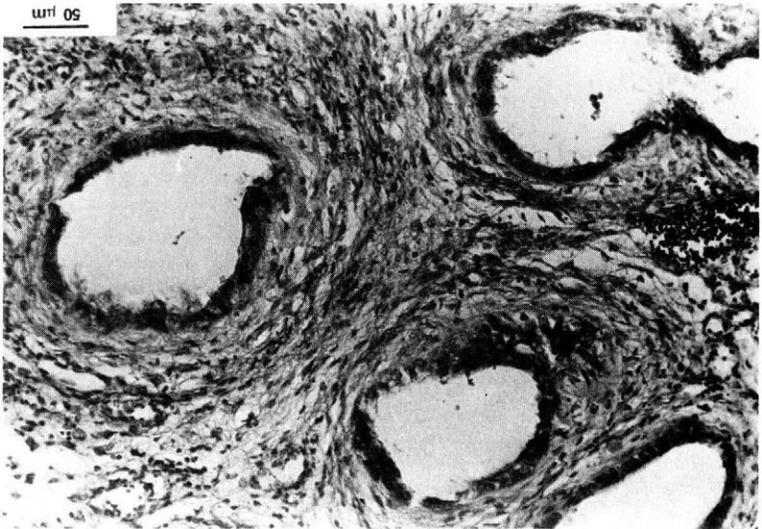
6. Cystic dilation of most uterine glands ("swiss cheese") and advanced fibrosis of endometrium of a cow with multiple active FCs on pp day 182 (HE, 25x)



7. Absence of alkaline phosphatase activity in the epithelium of uterine glands and in the surface epithelium (excepting its apical parts and secretions), intensive enzymatic activity of hyperplastic connective tissue in *stratum compactum* and the periglandular areas in a cow with FC+CL on pp day 123 (G1x)



5. Dilated uterine glands with advanced dysplasia, periglandular fibrosis, upper parts of *stratum spongiosum* of a cow with active FC on pp day 167 (Masson's trichrome, 63x)



ovarectomized cows treated with of single higher doses of oestradiol (Kummer et al., 1995).

Endometrial alterations most frequently described in cows affected by ovarian cysts, including atrophy of epithelium and cystic dilatation of uterine glands, fibrosis and atrophy of mucosa and massive vascularization with hypertrophy of vessel walls, result from prolonged hormonal imbalance and become irreversible. As observed in our investigations, such lesions become more marked and extensive from pp days 100 to 120. In such cases, even a successful treatment, leading to resumption of the ovarian cycle, cannot provide favourable conditions for the survival of spermatozoa or fertilized egg in the uterus and its implantation and further development. The time of the development of such irreversible lesions corresponds to impaired fertility described in cows treated after pp days 80 to 90 (Grunert and Berchtold, 1982; Berger, 1985).

Cystic dilatation of uterine glands with a low epithelium is often described in cows suffering from hormonal imbalance and occurs less frequently in those affected by chronic endometritis (Gonzales et al., 1985). Cystic glands were found in 10 to 20% of infertile cows (Moss et al., 1956; Simon and McNutt, 1957; Mochow and Olds, 1966) and in up to 40% of those in which ovarian cysts were demonstrated (Dawson, 1961). Periglandular fibrosis, accompanying often the cystic glandular dilatation, is regarded as a lesion correlating well with impaired fertility (Manspeaker et al. 1983). Moss et al. (1956) described such dilatation in 56% of subfertile cows and 12% of cows showing normal fertility. Cupps (1973) observed dilated uterine glands in 33.3% of sterile and 2.5% of control and pregnant cows. In spite of certain individual variations, no significant effects of age or number of calvings on the microscopic pattern of the bovine endometrium could be confirmed (Mochow and Olds, 1966; Manspeaker and Haaland, 1983). The microscopic lesions described in this paper can therefore be unambiguously attributed to the persisting ovarian dysfunction.

Our analyses have shown that the decisive role in the development of microscopic endometrial lesions is played by the length of the ovarian endocrinopathy. A certain variability in the severity and type of the lesions may have been due to the actual production of oestradiol or progesterone that depends on atresia or luteinization of cysts, development of a new population of cysts, or simultaneous occurrence of corpus luteum. All these causes should be considered when interpreting the rather different findings in the endometrium of cows affected by ovarian cysts published by Schvarc (1972).

Like in the earlier papers (Kummer and Věžník, 1972; Věžník et al., 1972; Schvarc, 1972), the results of our histochemical investigations demonstrated serious cellular metabolic disorders, particularly in the surface and glandular epithelial cells

even in animals with less pronounced microscopic defects. The inadequate enzymatic activity of individual endometrial tissues and asynchrony of the ovarian and uterine cycles may persist even after the resumption of the regular ovarian cycle and affect considerably the uterine milieu and fertility.

The dynamics of the development and type of lesions in cows with persisting ovarian cysts are the most important criteria for differential diagnostics of inflammatory conditions and functional alterations as well as the basis for prognosis. The collection of bioptic endometrial samples has been widely used in such investigations (Studer and Morrow, 1978; Manspeaker and Haaland, 1983; Chaffaux et al., 1987; Bonnett et al., 1991; Ohtani and Okuda, 1995, and other authors).

It can be concluded from the results of our investigations that early diagnostics and treatment of ovarian cysts in cows are decisive for a rapid and economically acceptable resumption of normal reproductive functions. For practical reasons, the affected animals should be examined and treated around pp day 60. Any delay in the treatment of persisting follicular cysts may result in subfertility or even sterility of the affected females.

Acknowledgement

The authors wish to thank Mrs. MVDr. Jindřiška Bendová for hormonal analyses.

REFERENCES

- AL-DAHASH, S. Y. A. – DAVID, J. S. E. (1977): Histological examination of ovaries and uteri from cows with cystic ovaries. *Vet. Rec.*, *101*, 342–347.
- AVERICHIN, A. I. – VJATKIN, A. N. (1976): Tučnyje kletki pri poraženijach polovych organov korov. *Veterinarija (Moscow)*, *10*, 58–61.
- BERGER, G. (1985): Zur Häufigkeit und Therapie von Ovarialzysten beim Rind – Ergebnisse aus der zuchthygienischen Betreuung einer grossen Milchviehherde. *Mh. Vet.-Med.*, *40*, 433–436.
- BIERSCHWAL, C. J. – ELMORE, R. G. – BROWN, E. M. – YOUNGQUIST, R. S. (1980): Pathology of the ovary and ovarian disorders and the influence of ovarian abnormalities on the endometrium, including therapeutical aspects (cow). In: *Proc. IXth Int. Congr. Animal Reproduction and Artificial Insemination*. Vol. I. Madrid, pp. 193–202.
- BOGDAN, T. A. – BOITOR, I. – BOGDAN, I. (1970): Zur glandulär-zystischen Hyperplasie des Endometriums beim Rind. *Fortpfl. Besam. Aufz. Haustiere*, *6*, 325–330.
- BONNETT, B. N. – MILLER, R. B. – ETHERINGTON, W. G. – MARTIN, S. W. – JOHNSON, W. H. (1991): Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. I. Technique, histological criteria and results. *Can. J. Vet. Res.*, *55*, 155–161.
- CHAFFAUX, S. – RECORBET, Y. – BHAT, P. – CRESPEAU, F. – THIBIER, M. (1987): Biopsies de l'endomètre au

- cours du post-partum pathologique chez la vache. *Rec. Méd. Vét.*, 163, 199–209.
- CUPPS, P. T. (1973): Uterine changes associated with impaired fertility in the dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 56, 878–884.
- DAWSON, F. L. M. (1961): The bovine uterus – histopathology. *Vet. Rev. Annot.*, 7, 29.
- DAY, N. (1991): The diagnosis, differentiation, and pathogenesis of cystic ovarian disease. *Vet. Med.*, 86, 753–760.
- DAY, N. (1991a): The treatment and prevention of cystic ovarian disease. *Vet. Med.*, 86, 761–766.
- EYESTONE, W. H. – AX, R. L. (1984): A review of ovarian follicular cysts in cows, with comparisons to the condition in women, rats and rabbits. *Theriogenology*, 22, 109–125.
- GONZALES, H. E. – CROWELL, W. A. – CAUDLE, A. B. – THOMPSON, F. N. (1985): Morphometric studies of the bovine uterus: Microscopic lesions and retrospective reproductive history. *Am. J. Vet. Res.*, 46, 2588–2595.
- GRUNERT, E. – BERCHTOLD, M. (1982): Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind. Berlin und Hamburg, Verlag Paul Parey, 522 S.
- KESLER, D. J. – GARVERICK, H. A. (1982): Ovarian cysts in dairy cattle: A review. *J. Anim. Sci.*, 55, 1147–1159.
- KUDLÁČ, E. – VRTĚL, M. – MINÁŘ, M. (1969): Zhodnocení různých způsobů léčby ovariálních cyst u skotu. *Veterinářství*, 19, 405–407.
- KUMMER, V. – VĚŽNÍK, Z. (1972): Histochemický obraz endometria skotu v průběhu pohlavního cyklu. *Čs. fysiол.*, 21, 467.
- KUMMER, V. – ZRALÝ, Z. – ČANDERLE, J. – MAŠKOVÁ, J. (1995): Light and scanning electron microscopy of endometrium of ovariectomized cows treated with oestradiol. *Vet. Med.–Czech*, 40, 265–271.
- LOPEZ-DIAZ, M. C. – BOSU, W. T. K. (1992): A review and an update of cystic ovarian generation in ruminants. *Theriogenology*, 37, 1163–1183.
- MANSPEAKER, J. E. – HAALAND, M. A. (1983): Implementation of uterine biopsy in bovine reproduction: a practitioner's diagnostic tool. *VM/SAC*, 78, 760–766.
- MANSPEAKER, J. E. – HAALAND, M. A. – DAVIDSON, J. P. (1983): Incidence and degree of endometrial periglandular fibrosis in parity 1 dairy cows. *VM/SAC*, 78, 943–946.
- MATOUŠKOVÁ, O. – CHALUPA, J. – CÍGLER, M. – HRUŠKA, K. (1993): Statistický a grafický systém Stat Plus, verze 1.10. Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 168 s.
- MOCHOW, R. – OLDS, D. (1966): Effect of age and number of calvings on histological characteristics of the bovine uterus. *J. Dairy Sci.*, 49, 642–646.
- MOSS, S. – SYKES, J. F. – WRENN, T. R. (1956): Some abnormalities of the bovine endometrium. *J. Anim. Sci.*, 15, 631–639.
- NANDA, A. S. – WARD, W. R. – DOBSON, H. (1989): Treatment of cystic ovarian disease in cattle – an update. *Vet. Bull.*, 59, 537–556.
- OHTANI, S. – OKUDA, K. (1995): Histological observation of the endometrium in repeat breeder cows. *J. Vet. Med. Sci.*, 57, 283–286.
- ROBERTS, S. J. (1956): *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*. New York, Ithaca, 551 pp.
- SCHVARC, F. (1972): Histologické a histochemické zmeny v endometriu kráv pri niektorých ovariálnych poruchách. *Vet. Med. (Praha)*, 17, 217–224.
- SIMON, H. J. – McNUTT, S. H. (1957): Histological alterations of the bovine uterus. II. Uterine tissue from cows of low fertility. *Am. J. Vet. Res.*, 18, 241–245.
- STUDER, E. – MORROW, D. A. (1978): Postpartum evaluation of bovine reproductive potential: comparison of findings from genital tract examination per rectum, uterine culture, and endometrial biopsy. *JAVMA*, 172, 489–494.
- VACEK, Z. (1990): *Histológia a histologická technika*. Martin, Osveťa, 504 s.
- VĚŽNÍK, Z. – HRUŠKA, K. – KUMMER, V. (1972): Morphological and biochemical changes in the endometrium of dairy cattle during ovarian cycle. In: *Proc. VIIIth Int. Congr. Animal Reproduction and Artificial Insemination*. Vol. II. München, pp. 799–803.

Received: 97–11–26

Accepted after corrections: 97–12–22

Contact Address:

MVDr. Vladimír K u m m e r, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno, Česká republika
Tel. +420 5 41 32 12 41, fax +420 5 41 32 12 29, e-mail: kahr@vuvel.anet.cz

EFFECT OF BUSULPHAN ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF THE CHICKEN EMBRYOS*

VLIV BUSULPHANU NA RŮST A VÝVOJ DRŮBEŽÍCH EMBRYÍ

Š. Smýkalová, A. Kotrbová, P. Trefil

Research Institute of Animal Production, Praha, Czech Republic

ABSTRACT: We have studied the effects of busulphan dissolved in sesame oil in the dose of 100 µg/50 µl per egg on the growth and development of chicken embryos. Busulphan was injected into egg yolk. We found that the higher dose of busulphan had a negative influence on chicken embryo development. The size of treated embryos was significantly reduced (about 1/3 in comparison with the control embryos) after 8 days of incubation. The overall number of surviving embryos was significantly higher in the control group. The gonads of busulphan treated embryos were significantly smaller in comparison with untreated embryos. The total number of gonad cells (somatic and primordial germ cells) was reduced in the busulphan treated embryos more than 50%. Hatched busulphan treated cocks showed retarded secondary sexual characteristic in 12 weeks of age.

chicken; gonads; busulphan

ABSTRAKT: Cílem této práce bylo ověřit vedlejší účinky busulphanu na růst a vývoj drůbežního embrya. Busulphan byl aplikován přímo do žloutku v dávce 100 µg/50 µl. Zjistili jsme, že uvedená dávka busulphanu měla negativní vliv na vývoj embrya. Ošetřená embrya byla po osmi dnech inkubace prokazatelně menší (přibližně o 1/3 ve srovnání s kontrolními embryi). Celkový počet životaschopných embryí byl průkazně vyšší u kontrolních skupin. Gonády vypreparované z ošetřených embryí byly průkazně menší ve srovnání s kontrolními embryi. Celkový počet buněk v gonádách byl snížen po aplikaci busulphanu o více než 50 %. Kohoutci vylíhli z busulphanem ošetřených embryí vykazovali ve dvanácti týdnech věku opožděný vývoj sexuálních pohlavních znaků a nižší tělesnou hmotnost.

kuře; gonády; busulphan

UVOD

Skutečnost, že ptačí zygota není přístupná a lehce manipulovatelná, tak jako u savců, vede k velkým technickým potížím při konstrukci transgenní drůbeže. Přímá mikroinjekce do prvojádra používaná u myši (Palmiter aj., 1982) je téměř neuskutečnitelná u drůbeže (Perry aj., 1991). Práce v uvedené oblasti se koncentrovaly na manipulace s ještě nediferenciovannými blastodermálními buňkami (Petitte aj., 1990; Trefil aj., 1995) nebo primordiálními gonocyty (Chang aj., 1995). V současné době se otevřela nová oblast možné produkce zárodečných chimér – částečná destrukce pohlavních buněk ve varlatech jedince a jejich opětovná rekolonizace pohlavními buňkami jiného jedince. Tuto cestu otevřel u myši Brinster aj. (1994).

Kučecí gonády vznikají ze dvou odlišných typů buněk. Jednou z nich je zárodečný srpek, který dává vznik základní pojivové složce budoucích gonád. Původ dru-

hých typů buněk je v primordiálních gonocytech (PGCs – progenitorů pohlavních buněk), které jsou epiblastického původu. Tyto prapohlavní buňky jsou ve stadiu 12 až 14 (Hamburger a Hamilton, 1951) pasivně unášeny pomocí již existujícího krevního oběhu do oblasti, kde se vytváří zárodečná lišta. To je právě vhodné období, kdy je možné na ně působit. Naši snahou byla destrukce těchto buněk. K tomuto účelu je možné použít chemickou látku busulphan (1,4-butandiol dimethylsulfonát), která patří mezi alkylační agens způsobující překřížení DNA a tvorbu diguaninových derivátů (Tong aj., 1980). Pokud byl tento busulphan podáván samicám potkana v době gestace, narozená mláďata byla sterilní (Hemsworth aj., 1963). Později bylo zjištěno, že podobné sterilizační účinky má tento preparát i na ptačí embrya (Aige-Gil aj., 1991; Bresler aj., 1994; Vick aj., 1993).

Cílem této práce bylo ověřit vedlejší účinky busulphanu na růst drůbežích gonád během raného embryonálního vývoje a jeho vliv na ošetřená embrya.

* Supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Grant No. 0960006201) and Grant Agency of the Czech Republic (Grant No. 514/94/1300).

MATERIÁL A METODA

Pro pokus byla použita oplozená vejce leghornky žíhané (LB) křížené s kohoutem minority černé (BM). Vejce byla inkubována 48 h při teplotě 37,8 °C a vlhkosti 75 %. Po 48 h inkubace byla vejce ošetřena tímto způsobem:

- v první skupině byla vejce ošetřena busulphanem (1,4-butandiol dimethylsulfonát Sigma Chemical Co.) rozpuštěným v sezamovém oleji v dávce 100 µg/50 µl sezamového oleje na jedno vejce (celkem 148 vajec);
- druhou skupinu tvořila vejce ošetřená pouze sezamovým olejem (Sigma Chemical Co.) v dávce 50 µl na jedno vejce (celkem 60 vajec);
- třetí skupina byla kontrolní, vejce zůstala neošetřena (celkem 86 vajec).

Busulphan byl rozpuštěn v sezamovém oleji a aplikován pomocí inzulínové injekční stříkačky přes vzduchovou komůrku přímo do žloutku. Otvor po vpichu ve skořápce byl zakryt hliníkovou samolepicí fólií. Vejce po ošetření byla opět umístěna do líhne.

Vejce všech skupin po osmi dnech inkubace byla vyjmata z líhne, rozbita a embrya byla umístěna do PBS (phosphate buffered saline, Ca, Mg free). Ve všech sledovaných bylo zaznamenáno procento odumřelých zárodků z celkového počtu ošetřených vajec a procento vyvíjejících se embryí z celkového počtu ošetřených vajec.

Všechna vyvíjející se embrya z první a druhé skupiny byla srovnána s kontrolní skupinou. Velikostní rozdíly byly zaznamenány měřením embryí (v mm) pomocí posuvného měřítka. Vývojové rozdíly byly posouzeny podle vývojové stupnice HH (Hamburger a Hamilton, 1951) a embrya byla zařazena do jednotlivých vývojových stadií této stupnice.

Z embryí byly následně vyjmuty gonády, umístěny do PBS a změněny velikostní rozdíly. Gonády embryí byly disociovány ve 150 µl roztoku (0,25% Trypsin, 1 mM EDTA) po dobu 8 min při teplotě 37 °C s ručním mícháním. Následovala centrifugace při 1 500 otáčkách po dobu 5 min. Supernatant byl odsán a buněčná sus-

penze tvořená somatickými a PGCs buňkami byla disociována v 50 µl M199 (Sigma Chemical Co.). Počet všech buněk vypreparovaných z gonád byl zjištěn na hematocytometru. Statistické vyhodnocení závislosti bylo provedeno χ^2 -testem (Snedecor a Cochran, 1957) a *t*-testem.

Deset vajec z každé skupiny bylo vylihnuto a byly sledovány rozdílly mezi jedinci.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Kontrolní embrya a embrya ošetřená pouze sezamovým olejem se nacházela po osmi dnech inkubace ve stadiu vývoje 34 HH. Embrya ošetřená busulphanem se nacházela ve stadiích 30 až 31 HH, což odpovídá vývoji embryí po 6,5 až 7,5 dnech inkubace, nikoliv osmi dnům skutečné inkubace (tab. I).

V tomto stadiu vývoje embrya byl již jasně patrný negativní vliv busulphanu, který byl aplikovaný v dávce 100 µg, na vyvíjející se drůbeží embrya.

Statistický test nezávislosti (χ^2 -test) prokázal, že ošetření embryí busulphanem rozpuštěným v sezamovém oleji ovlivňuje statisticky výsoko průkazně ($P < 0,01$) procento vyvíjejících se zárodků. Dále statistický test nezávislosti prokázal, že ošetření vajec sezamovým olejem má rovněž statisticky významný vliv ($P < 0,01$) na procento vyvíjejících se zárodků (tab II).

Průkazné rozdíly byly zjištěny mezi velikostí embryí ošetřených busulphanem a kontrolními embryí ($P < 0,01$). Rovněž mezi počtem buněk vypreparovaných z gonád kontrolních embryí a embryí ošetřených busulphanem byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly ($P < 0,01$). Rozdíl ve velikosti gonád ošetřených sezamovým olejem a kontrolními gonádami nebyl statisticky průkazný na hladině $P < 0,01$. Mezi počtem buněk vypreparovaných z gonád kontrolních embryí a embryí ošetřených sezamovým olejem nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly (tab. I, obr. 1, 2).

Kohoutci ve věku 12 týdnů vykazovali oproti kontrolní neošetřené skupině výrazně opožděný vývoj sekundárních pohlavních znaků (hřeben, ušnice, laloky),

I. Porovnání velikosti a vývoje embryí po osmi dnech inkubace. Srovnání počtu vypreparovaných gonádových buněk z osmidenních embryí – Comparison of size and development of embryos after eight days of incubation. Comparison of the number of isolated gonad cells from eight-day embryos

	Velikost embryí ⁴ (mm)	Stadium vývoje ⁵ (HH)	Počet buněk vyzolovaných z gonád na 1 µl ⁶
a – embrya ošetřená busulphanem ¹	8 b, c	30–31	209 b, c
b – embrya ošetřená sezamovým olejem ²	12 a	34	453 a
c – embrya kontrolní ³	12 a	34	461 a

Písmeny jsou zaznamenány průkazné rozdíly na hladině významnosti $P < 0,01$ – Letters denote significant differences on the level of significance $P < 0,01$

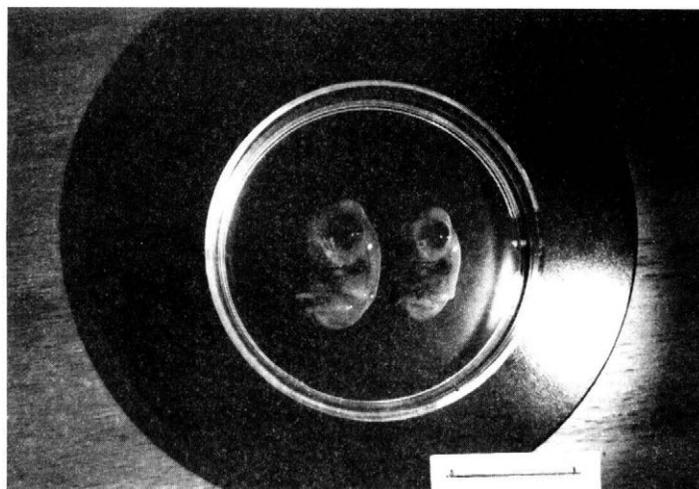
¹busulphan treated embryos, ²sezam oil-treated embryos, ³control embryos, ⁴size of embryos, ⁵stage of development, ⁶number of cells isolated from gonads per 1 µl

II. Procento vyvíjejících se embryí z celkového počtu vajec – Percentage of developing embryos of the total number of eggs

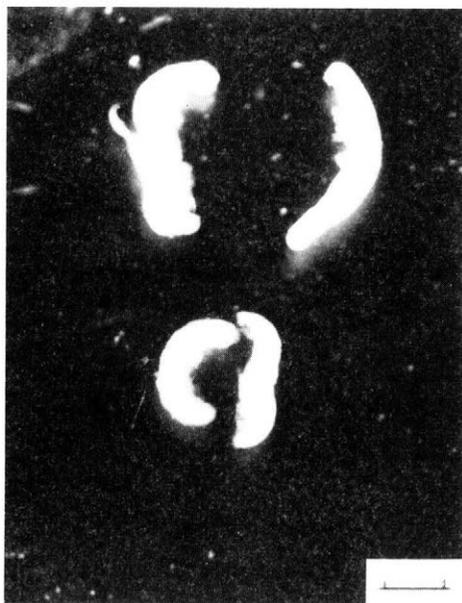
	Celkem vajec ⁴	Procento vyvíjejících se zárodků z celkového počtu vajec ⁵
a – vejce ošetřená busulfanem ¹	148	32,64 b, c
b – vejce ošetřená sezamovým olejem ²	60	53,33 a, c
c – vejce kontrolní ³	86	87,20 a, b

Písmeny jsou zaznamenány průkazné rozdíly na hladině významnosti $P < 0,01$ – Letters denote significant differences on the level of significance $P < 0,01$

¹busulphan treated eggs, ²sesam oil treated eggs, ³control eggs, ⁴eggs in total, ⁵percentage of developing embryos of the total number of eggs



1. Osmidenní kuřecí embrya; vlevo embryo kontrolní (neošetřené), vpravo embryo ošetřené busulfanem (rozpuštěným v sezamovém oleji v dávce 100 µg/50 µl); úsečka představuje 1 cm – Eight-day chicken embryos; left – control embryo (untreated), right – busulphan treated embryo (dissolved in sesam oil in a dose of 100 µg/50 µl; segment represents 1 cm



2. Gonády vyizolované z osmidenních embryí; úsečka představuje 0,5 mm – Gonads isolated from eight-day embryos; segment represents 0.5 mm

ale i hmotnost těla byla výrazně snižena; hmotnostní rozdíl činil 700 g (obr. 3).

Vick aj. (1993) uvádějí, že dávka do 50 µg busulphanu neovlivňuje teratologicky vývoj a líhnutí drůbežního embrya, ale zároveň jen částečně snižuje počet zárodečných buněk v embryu. Jak uvádí Aige-Gil aj. (1991) je nutné k dosažení alespoň parciální sterility použít dávku nejméně 50 µg busulphanu. Jak vyplývá z prací autorů Vick aj. (1993) a Aige-Gil aj. (1991) je pravděpodobně možné použít menší dávku busulphanu (do 50 µg) k experimentům týkajících se inzerce cizích primordiálních gonocytů do embrya, ve kterém byly vlastní primordiální gonocyty částečně po aplikaci busulphanu zlikvidovány. V případě výměny zárodečných buněk v gonádách (Brinster aj., 1994; Ogawa et al., 1997) kohoutků bude jistě lepší a důležitá celková a ne pouze parciální sterilizace. Proto byla použita vyšší dávka busulphanu s cílem vyšší pravděpodobnosti sterilizace, ale zároveň s co nejnižším negativním dopadem na vyvíjející se embryo, popřípadě kohoutka.



3. Kohoutci ve věku 12 týdnů; vzadu kohout ošetřený busulphanem (méně vyvinuté sekundární pohlavní znaky), v popředí kontrolní jedinec – 12-day old cockerels; behind busulphan treated cock (less developed secondary sexual characteristics), in the front – control individual

Výsledky našich experimentů prokázaly vliv aplikace busulphanu (v dávce 100 µg do násadových vajec drůbeže inkubovaných 48 h) na vyvíjející se drůbeží embryo tímto způsobem:

- použití busulphanu výrazně snížilo procento vyvíjejících se zárodků,
- embrya ošetřená busulphanem byla proti kontrole výrazně menší (1/3),
- rozdíly ve velikosti gonád lze dobře dokumentovat po osmi dnech inkubace,
- gonády ošetřených embryí byly výrazně menší,
- celkový počet buněk vyizolovaných z gonád busulphanem ošetřených embryí byl více než o 50 % nižší proti kontrolní skupině,
- kohoutci vylíhnutí z busulphanem ošetřených embryí vykazovali nižší hmotnost a zpožděný vývoj sekundárních pohlavních znaků.

Uvedené experimenty mohou dále sloužit jako základní informace k získání celkové sterility ošetřených kohoutků, kterým bude možné následně aplikovat cizí zárodečné transfekované gonocyty a obnovit tak činnost jejich gonád.

LITERATURA

- AIGE-GIL, V. – SIMKISS, K. (1991): Sterilization of avian embryos with busulphan. *Res. Vet. Sci.*, *50*, 139–144.
- BRESLER, M. – BEHNAM, J. – LUKE, G. – SIMKISS, K. (1994): Manipulations of germ-cells populations in the gonad of the fowl. *Brit. Poultry Sci.*, *35*, 241–247.
- BRINSTER, L. R. – AVARBOCK, M. R. (1994): Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *91*, 11303–11307.
- CHANG, I. – YOSHIKI, K. A. – KUSAKABE, M. – TAJIMA, A. – CHIKAMUNE, T. – NAITO, M. – OHNO, T. (1995): Germ line chimera produced by transfer of cultured chick primordial germ cells. *Cell Biol. Int.*, *19*, 569–576.
- HAMBURGER, V. – HAMILTON, H. L. (1951): A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morphol.*, *88*, 49–92.
- HEMSWORTH, B. H. – JACKSON, H. (1963): Effect of busulphan on the developing ovary in the rat. *J. Reprod. Fertil.*, *6*, 229–233.
- OGAWA, T. – ARÉCHAGA, J. M. – AVARBOCK, M. R. – BRINSTER, R. L. (1997): Transplantation of testis germinal cells into mouse seminiferous tubules. *Int. J. Dev. Biol.*, *41*, 111–122.
- PALMITER, R. D. – BRINSTER, R. I. – HAMMER, R. E. – TRUMB AUER, M. E. – ROSENFELD, M. G. – BIRNBERG, N. C. – EVANS, R. M. (1982): Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with methallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature*, *300*, 611–615.
- PERRY, M. M. – MATHER, C. M. (1991): Satisfying the needs of the chick embryo in culture, with emphasis on the first week of development. *Avian Incubation*, Tullet. London, S. G. Ed. 91.
- PETTITTE, J. N. – CLARK, M. E. – LIN, G. – VERRINDER GIBBINS, A. M. – ETCHES, R. J. (1990): Production of somatic and germline chimeras in the chicken by transfer of early blastodermal cells. *Development*, *108*, 185–189.
- SNEDECOR, G. W. – COHRAN, W. G. (1957): Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology. The Iowa State College Press, Iowa.
- TONG, W. P. – LUDLUM, D. B. (1980): Crosslinking of DNA by busulphan. Formation of diguanyl derivatives. *Biochim. Biophys. Acta*, *608*, 174–181.

- TREFIL, P. – KOTRBOVÁ, A. – FULKA, J. Jr. (1995): Production of chick chimaeras by transferring blastodermal cells. *Živoč. Vyr.*, 40 (11), 481–484.
- VICK, L. – LUKE, G. – SIMKISS, K. (1993): Germ-line chimaeras can produce both strains of fowl with high efficiency after partial sterilization. *J. Reprod. Fertil.*, 98, 637–641.

Received: 97–09–18

Accepted after corrections: 98–01–09

Kontaktní adresa:

Ing. Pavel Trefil, CSc., BIOPHARM – Výzkumný ústav farmacie a veterinárních léčiv, a. s., Pohří-Chotouň, 254 49 Jilové u Prahy, Česká republika
Tel. +420 2 995 11 91–3, fax +420 2 995 13 34, e-mail: biopharm@mbox.vol.cz

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

Current Contents

na disketách

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

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

Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojím způsobem:

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

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

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

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

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

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna

Dr. Bartošová

Slezská 7

120 56 Praha 2

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

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

THE FIRST ISOLATION OF *PSYCHROBACTER IMMOBILIS* FROM
FOODS IN THE CZECH REPUBLICPRVNÍ IZOLACE *PSYCHROBACTER IMMOBILIS* Z POTRAVIN V ČESKÉ
REPUBLICE

Z. Páčová, E. Urbanová

Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Six strains (17.1%) of *Psychrobacter immobilis* were identified from tested 35 gram-negative, oxidase-positive, non-fermentative bacteria isolated from milk and dairy products. A commercial diagnostic kit NEFERMtest (Lachema a.s., Brno), additional conventional tests and a numerical identification system TNW (Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Brno) were used for identification.

Psychrobacter immobilis; characteristics; foods

ABSTRAKT: Během testování 35 gramnegativních, oxidáza pozitivních, nefermentujících psychrotrofních bakterií izolovaných z mléka a mléčných výrobků bylo identifikováno šest kmenů (17.1 %) *Psychrobacter immobilis*. Identifikace byla provedena pomocí komerčního setu NEFERMtest (Lachema, a.s. Brno), dodatkových konvenčních testů a numerického identifikačního programu TNW (Česká sbírka mikroorganismů, PfF MU, Brno).

Psychrobacter immobilis; charakteristika; potraviny

Psychrotrophic bacteria of the genera *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* etc. influence the hygienic and nutrition qualities of foods from animal sources by their proteolytic and lipolytic activities. That is why we aimed (Urbanová and Páčová, 1995; Páčová and Urbanová, 1995) at their isolation and identification from foods. Six strains (17.1%) of *Psychrobacter immobilis* were identified from Edam cheese with the testing of 35 strains of psychrotrophic bacteria from milk and dairy products (Páčová and Urbanová, 1995).

For many years the isolations of *Moraxella*-like or "Achromobacter" (later *Psychrobacter immobilis*) psychrotrophic bacteria from a variety of sources, namely from fish (Laycock and Rieger, 1970; Shaw and Latty, 1988), poultry (Lahellec et al., 1975; Shaw and Latty, 1988) and meat products (Tiwari and Maxcy, 1972) have been described. Later, Rossau et al. (1991) referred to the isolation of *Psychrobacter-Moraxella* strains from cheese.

A new genus and species, *Psychrobacter immobilis*, has been proposed for psychrotrophic, aerobic, gram-negative, nonfermentative, nonmotile, oxidase-posi-

tive coccobacilli by Juni and Heym (1986). A new family *Moraxellaceae* was proposed to accommodate the genera *Moraxella*, *Acinetobacter* and *Psychrobacter* (Rossau et al., 1991). In 1996 two other species of psychrobacters from ornithogenic soil from Antarctica, *Psychrobacter frigidicola* and *P. urativorans* (Bowman et al., 1996) were described. Comparison of *P. immobilis* and *Moraxella phenylpyruvica* reference cultures (phenotypic tests, e.g. growth at 4 °C, toleration up to 9% NaCl, rRNA-DNA hybridization, 16S ribosomal DNA phylogenetic analysis) have indicated that *M. phenylpyruvica* is more closely related to *P. immobilis* than to other *Moraxella* species. Therefore this species was transferred into the genus *Psychrobacter* as *P. phenylpyruvicus* (Bowman et al., 1996). The fifth species of *Psychrobacter* isolated from Antarctic Sea ice was described as *P. glacincola* by Bowman et al. (1997). The psychrobacters however are able to grow at 35 to 37 °C consequently of natural mutation and therefore are now able to grow in new environments, such as human or animal tissues. The sources of isolation suggest that psychrobacters might be a cause of serious opportunistic infections (Gini, 1990; Lloyd-Puryear et al., 1991).

I. Characteristics of 6 strains of *Psychrobacter immobilis*

Characteristics	Our results	<i>Psychrobacter immobilis</i>	
		(Juni and Heym, 1986)	(Bowman et al., 1996)
Morphology	coccobacilli	coccobacilli	coccobacilli
Catalase	+	+	+
Oxidase	+	+	+
Production of spores	-	-	ND
fluorescein	-	-	ND
Growth			
5 °C	+	(+)	+
15 °C	+	+	+
25 °C	+	+	+
35 °C	-	(-)	(+)
Acid from			
glucose	+	+	ND
mannitol	-	ND	-
xylose	+	+	+
maltose	-	-	-
lactose	(-) 2 strains positive	ND	(-)
Nitrate reduction	(+) 1 strain negative	+	(-)
Indole	-	-	-
Simmons citrate	(-) 2 strains positive	ND	-
Urease	(+) 2 strains negative	+	(+)
β-galactosidase (ONPG)	-	ND	-
Phosphatase	-	ND	-
Phenylalanin deaminase	+	+	+
Arginin dihydrolase	-	ND	-
Hydrolysis of			
gelatine	-	-	-
Tween 80	+	+	+
esculine	-	ND	-

+ = positive, - = negative, (+) = almost positive, (-) = almost negative, ND = no date

The strains of *P. immobilis* were isolated on Nutrient Agar (Oxoid) or Pseudomonas Agar (Oxoid) after incubation at room temperature (22–24 °C) for three days. The identification was parallelly determined using the commercial kit NEFERM test including 12 biochemical reactions (Lachema a.s., Brno) and comparable conventional methods supplemented the following tests: oxidase, catalase, β-galactosidase (ONPG), production of fluorescein and phenylalanin deaminase, growth at 5, 15, 25 and 35 °C (Barrow and Feltham, 1993), hydrolysis of gelatine and Tween 80 (Páčová and Kocur, 1984). A numerical identification system TNW (Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Brno) was used to process the results.

The results of the identification (Tab. I) correspond to the species described by Juni and Heym (1986) and Bowman et al. (1996). The strains were quite explicitly identified as *P. immobilis* by TNW numerical

identification programme. With respect to the negative influence of psychrotrophs, as well as *P. immobilis* on the quality of foods of animal origin, it is necessary to pay attention to identification of this species with microbial testing quality.

REFERENCES

- BARROW, G. I.– FELTHAM, R. K. A. eds. (1993): Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria. 3rd ed. Cambridge University Press, 192–208.
- BOWMAN, J. P. – CAVANAGH, J. – AUSTIN, J. J. – SANDERSON, K. (1996): Novel *Psychrobacter* species from Antarctic ornithogenic soil. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **46**, 841–848.
- BOWMAN, J. P. – NICHOLS, D. S. – McMEEKIN, T. A. (1997): *Psychrobacter glacincola* sp. nov., a halotolerant, psychrophilic bacterium isolated from Antarctic Sea ice. *Syst. Appl. Microbiol.*, **20**, 209–215.

- GINI, G. A. (1990): Ocular infection caused by *Psychrobacter immobilis* acquired in the hospital. *J. Clin. Microbiol.*, **28**, 400–401.
- JUNI, E. – HEYM, G. A. (1986): *Psychrobacter immobilis* gen. nov., sp. nov.: Genospecies composed of gram-negative, aerobic, oxidase-positive coccobacilli. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **36**, 388–391.
- LAHELLEC, C. – MEURIER, C. – BENNEJEAN, G. – CATSARAS, M. (1975): A study of 5 920 strains of psychrotrophic bacteria isolated from chickens. *J. Appl. Bacteriol.*, **38**, 89–97.
- LAYCOCK, R. A. – REGIER, L. W. (1970): Pseudomonads and achromobacters in the spoilage of irradiated haddock of different preirradiated quality. *Appl. Microbiol.*, **20**, 333–341.
- LLOYD-PURYER, M. – WALLACE, D. – BALDWIN, T. – HOLLIS, D. G. (1991): Meningitis caused by *Psychrobacter immobilis* in an infant. *J. Clin. Microbiol.*, **29**, 2041–2042.
- PÁČOVÁ, Z. – KOCUR, M. (1984): New medium for detection of esterase and gelatinase activity. *Zbl. Bact. Hyg. A*, **258**, 69–73.
- PÁČOVÁ, Z. – URBANOVÁ, E. (1995): Application of NE-FERM-test to identification of psychrotrophic bacteria isolated from milk and dairy products. *Vet. Med. – Czech*, **40**, 217–220.
- ROSSAU, R. – van LANDSCHOOT, A. – GILLIS, M. – DE LEY, J. (1991): Taxonomy of *Moraxellaceae* fam. nov., a new bacterial family to accommodate the genera *Moraxella*, *Acinetobacter*, and *Psychrobacter* and related organisms. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **41**, 310–319.
- SHAW, B. G. – LATTY, J. B. (1988): A numerical taxonomic study of non-motile non-fermentative Gram-negative bacteria from foods. *J. Appl. Bacteriol.*, **65**, 7–21.
- TIWARI, N. P. – MAXCY, R. B. (1972): *Moraxella-Acinetobacter* as contaminants of beef and occurrence in radurized product. *J. Food Sci.*, **73**, 901–903.
- URBANOVÁ, E. – PÁČOVÁ, Z. (1995): Application of NE-FERM-test to identification of psychrotrophic bacteria isolated from foods. *Vet. Med. – Czech*, **40**, 151–155.

Received: 97-12-17

Accepted: 98-01-15

Contact Address:

RNDr. Zdena Páčová, Česká sbírka mikroorganismů Masarykovy univerzity, Tvrdého 14, 602 00 Brno, Česká republika
Tel. +420 5 33 72 31, fax +420 5 41 21 12 14, e-mail: zdena@sci.muni.cz

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna (ÚZLK)

Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38

Máte zájem o pravidelné sledování nejčerstvějších informací ze zahraničních odborných časopisů?

Tento požadavek Vám rádi splníme, objednáte-li si naši informační reprografickou službu „Obsahy zahraničních časopisů a články“ typu „Current Contents“.

Vyberete-li si z každoročně aktualizovaného **Seznamu časopisů objednaných do fondu ÚZLK** sledování nejzajímavějších časopisů z Vašeho oboru, zašleme Vám nejprve kopie obsahů nejčerstvějších čísel časopisů a na základě výběru kopie požadovaných článků.

Chtěli bychom Vás také upozornit na další reprografickou službu ÚZLK, a to na poskytování kopií článků z knih a časopisů, které jsou ve fondu ÚZLK. Požadavky na tyto kopie můžete uplatňovat v průběhu celého roku na formulářích „Objednávka reprografické práce“, které si můžete objednat v Technickém ústředí knihoven, Solniční 12, 601 74 Brno, pod katalog. č. TÚK 138-0.

Veškeré další informace a objednávky na reprografické služby včetně Vašich připomínek Vám poskytneme na adrese:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna – ÚZPI

Odd. reproslužeb

Slezská 7, 120 56 Praha 2

Poštovní schránka 39

Telefonické dotazy: 02/24 25 79 39, linka 329, 421 nebo 306

THE OCCURRENCE OF MYCOBACTERIA IN INVERTEBRATES AND POIKILOTHERMIC ANIMALS AND THEIR ROLE IN THE INFECTION OF OTHER ANIMALS AND MAN

VÝSKYT MYKOBAKTERIÍ U BEZOBRATLÝCH A POIKILOTERMNÍCH ŽIVOČICHŮ A JEJICH VÝZNAM PŘI INFEKCI ZVÍŘAT A LIDÍ

L. Mátlová¹, O. Fischer¹, J. Kazda², J. Kaustová³, J. Bartl¹, A. Horváthová¹, I. Pavlík¹

¹ *Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic*

² *University of Kiel; private address: Porkallee 39b, D-23845 Borstel, Germany*

³ *Regional Centre for Hygiene, National Reference Laboratory for Mycobacterium kansasii, Ostrava, Czech Republic*

ABSTRACT: During the eradication of herds infected with bovine tuberculosis and paratuberculosis, and flocks infected with avian tuberculosis, we often confront with issues on to how mycobacterial infections are transmitted by invertebrates – poikilothermic animals. Similar questions have been also raised in human medicine, especially in infections caused by opportune pathogenic mycobacteria. In the last years, the occurrence of these mycobacteria in lower and higher vertebrates, and as well as in man, has been rising steadily. Our study included information about the occurrence and possible ways of transmission of mycobacterial infections through invertebrates and poikilothermic animals. In addition, the impact of the opportune pathogenic mycobacteria on man and animals, and the course of the disease have been described.

mycobacteria; invertebrates; poikilothermic vertebrates; infection

ABSTRAKT: Při ozdravování infikovaných chovů zvířat nakažených bovinní tuberkulózou a paratuberkulózou a chovů ptáků nakažených aviární tuberkulózou stojíme často před otázkami, jaké jsou možnosti přenosu mykobakteriálních infekcí prostřednictvím bezobratlých, příp. poikilotermních živočichů. Stejně otázky se naskýtají také v humánní medicíně při zjišťování zdrojů mykobakteriálních infekcí způsobených především podmíněně patogenními mykobakteriemi. V posledních letech stále roste význam podmíněně patogenních mykobakterií ve vnějším prostředí zjišťovaných u nižších a vyšších obratlovců i u lidí. Práce shrnuje poznatky o výskytu a možnostech přenosu mykobakterií prostřednictvím bezobratlých a poikilotermních živočichů. Současně je zmíněn význam podmíněně patogenních mykobakterií u lidí a zvířat s analýzou příčin a průběhu onemocnění.

mykobakterie; bezobratlí; poikilotermní obratlovci; infekce

CONTENTS

1. Introduction
2. Characteristics of mycobacteria and their classification
3. Spread of mycobacteria in the environment
4. Mycobacteria in invertebrates
 - 4.1. Transmission of mycobacterial infections by invertebrates (O. Fischer, J. Kazda)
 - 4.1.1. Transmission of mycobacteria, chiefly *M. avium* and *M. paratuberculosis* by flies
 - 4.1.2. Spread of mycobacteria by other insects
 - 4.1.3. Spread of *M. avium* and *M. paratuberculosis* by dung-worms
 - 4.1.4. Spread of mycobacterial infections by acarina
 - 4.2. Transmission of mycobacteria by predators of invertebrates (O. Fischer)
 - 4.3. Occurrence of mycobacteria in daphnia and larvae of aquatic dragon-flies and their environmental role (J. Kazda)

5. Mycobacterial infection in poikilothermic vertebrates
 - 5.1. Mycobacterial diseases in fish (L. Mátlová, J. Bartl, I. Pavlík)
 - 5.1.1. Prevalence of mycobacterial diseases in fish
 - 5.1.2. Spontaneous mycobacterial infection in fish
 - 5.1.3. Susceptibility of fishes to experimentally induced mycobacterial infection
 - 5.1.4. Spread of mycobacterial infections in fish
 - 5.1.5. Clinical and pathological lesions in fish
 - 5.1.6. Histological findings in mycobacterial infection of fish
 - 5.1.7. Localization of granulomas in mycobacterial infection of fish
 - 5.1.8. Presence of pigmented cells in mycobacterial infections of fish
 - 5.2. Mycobacterial diseases in amphibians (L. Mátlová, J. Bartl)
 - 5.2.1. Causes of mycobacterial infections in amphibians
 - 5.2.2. Experimental mycobacterial infection in amphibians
 - 5.2.3. Pathological lesions in mycobacterial infections of amphibians
 - 5.2.4. Histopathological lesions in frogs
 - 5.3. Mycobacterial diseases in reptiles (L. Mátlová, J. Bartl, I. Pavlík)
 - 5.3.1. Spread of mycobacterial infections in reptiles
 - 5.3.2. Causes of mycobacterial infections in reptiles and their therapy
 - 5.3.3. Pathological lesions in reptiles
 - 5.3.4. The course of mycobacterial infections in reptiles and their histological findings
 - 5.4. Diseases in man caused by opportune pathogenic mycobacteria, transmitted by poikilothermic vertebrates (J. Kaustová)
 - 5.5. Causes of opportune mycobacterial infections in man (J. Kaustová)
 - 5.5.1. Source of human opportune pathogenic mycobacteria, carried by poikilothermic vertebrates and invertebrates
 - 5.6. Clinical findings in human opportune mycobacterial infection (J. Kaustová)
 - 5.6.1. Characteristics of mycobacterial diseases of the skin, caused by *M. marinum* and *M. ulcerans*
 - 5.6.2. Characteristics of diseases caused by the species *M. avium-intracellulare* and *M. scrofulaceum*
 - 5.6.3. Characteristics of diseases caused by *M. simiae*, *M. kansasii* and *M. xenopi*
 - 5.6.4. Characteristics of diseases caused by fast growing species of mycobacteria
6. References

OBSAH

1. Úvod
2. Charakteristika mykobakterií a jejich dělení
3. Rozšíření mykobakterií ve vnějším prostředí
4. Mykobakterie u bezobratlých
 - 4.1. Možnosti šíření mykobakteriálních infekcí bezobratlými (O. Fischer, J. Kazda)
 - 4.1.1. Možnosti přenosu mykobakterií, zejména původců aviární tuberkulózy a paratuberkulózy mouchami
 - 4.1.2. Možnosti přenosu mykobakterií jinými druhy hmyzu
 - 4.1.3. Možnosti přenosu původců aviární tuberkulózy a paratuberkulózy žížalami
 - 4.1.4. Možnosti přenosu mykobakteriálních infekcí roztoči
 - 4.2. Možnosti přenosu mykobakterií predátory bezobratlých (O. Fischer)
 - 4.3. Výskyt mykobakterií u dafnií a larev vodních vážek a jejich ekologický význam (J. Kazda)
5. Mykobakteriální infekce u poikilothermních obratlovců
 - 5.1. Mykobakteriální onemocnění u ryb (L. Mátlová, J. Bartl, I. Pavlík)
 - 5.1.1. Rozšíření mykobakteriálních onemocnění u ryb
 - 5.1.2. Spontánní mykobakteriální infekce ryb
 - 5.1.3. Vnímavost ryb k uměle vyvolané mykobakteriální infekci
 - 5.1.4. Šíření mykobakteriálních infekcí u ryb
 - 5.1.5. Klinické a patologicko-anatomické změny u ryb
 - 5.1.6. Histologický obraz mykobakteriální infekce u ryb
 - 5.1.7. Lokalizace výskytu granulomů při mykobakteriální infekci ryb
 - 5.1.8. Pigmentové buňky při mykobakteriálních infekcích ryb
 - 5.2. Mykobakteriální onemocnění u obojživelníků (L. Mátlová, J. Bartl)
 - 5.2.1. Příčiny podmiňující vznik mykobakteriálních infekcí u obojživelníků
 - 5.2.2. Experimentální mykobakteriální infekce u obojživelníků
 - 5.2.3. Patologicko-anatomické změny při mykobakteriálních infekcích obojživelníků

- 5.2.4. Histopatologické změny u žab
 - 5.3. Mykobakteriální onemocnění u plazů (L. Mátllová, J. Bartl, I. Pavlík)
 - 5.3.1. Rozšíření mykobakteriálních infekcí u plazů
 - 5.3.2. Příčiny podmiňující vznik mykobakteriálních infekcí plazů a jejich léčba
 - 5.3.3. Patologicko-anatomické změny u plazů
 - 5.3.4. Průběh mykobakteriálních infekcí u plazů a jejich histologický obraz
 - 5.4. Onemocnění lidí způsobovaná podmíněně patogenními mykobakteriemi přenosem z poikilotermních obratlovců (J. Kaustová)
 - 5.5. Příčiny vzniku infekce u lidí podmíněně patogenními mykobakteriemi (J. Kaustová)
 - 5.5.1. Zdroje podmíněně patogenních mykobakterií pro lidi od poikilotermních obratlovců a bezobratlých
 - 5.6. Klinické projevy infekce u lidí vyvolané podmíněně patogenními druhy (J. Kaustová)
 - 5.6.1. Charakteristika kožních mykobakteriálních onemocnění vyvolaných druhy *M. marinum* a *M. ulcerans*
 - 5.6.2. Charakteristika onemocnění vyvolaných druhy komplexu *M. avium-intracellulare* a *M. scrofulaceum*
 - 5.6.3. Charakteristika onemocnění vyvolaných *M. simiae*, *M. kansasii* a *M. xenopi*
 - 5.6.4. Charakteristika onemocnění vyvolaných rychle rostoucími druhy mykobakterií
6. Literatura

1. ÚVOD

Tuberkulóza lidí stále patří k závažnému onemocnění. Počet úmrtí na tuberkulózu byl počátkem tohoto desetiletí celosvětově odhadován Světovou zdravotnickou organizací (WHO) na 8,8 mil. lidí. Skutečný počet však bude podstatně vyšší, protože se situace, zejména ve státech s válečnými konflikty, rychle zhoršuje. Na základě odhadů pracovníků WHO se na tuberkulóze lidí podílí zejména infekce *Mycobacterium tuberculosis*, přičemž značný význam má i infekce *M. bovis* (v některých afrických, jihoamerických či asijských zemích se podle odhadu podílí 20 až 25 %).

Kromě těchto obligátně patogenních původců tuberkulózy lidí ovlivňují zdravotní stav určitých skupin obyvatel rovněž i ostatní (MOTT – mycobacteria other than tuberculosis) podmíněně patogenní mykobakterie, o které vzrůstá v současné době zájem odborné veřejnosti. Nemalá pozornost byla i v České republice věnována zdrojům a možností přenosu podmíněně patogenních mykobakterií na člověka, přičemž zvláště významné je jejich rozšíření ve vnějším prostředí (Šlosárek aj., 1993, 1994; Kubálek a Komenda, 1995; Kaustová aj., 1995; Kubálek a Myšák, 1996).

Proto je tento přehledný článek zaměřen především na výskyt mykobakteriálních infekcí u bezobratlých a poikilotermních živočichů, kteří jsou důležitou součástí vnějšího prostředí. Současně je věnována pozornost onemocněním lidí způsobovaných podmíněně patogenními mykobakteriemi včetně klinických projevů.

Již před více než sto lety byla pozorována řada onemocnění tuberkulózního charakteru u poikilotermních obratlovců (ryb, obojživelníků a plazů) vyvolaných acido-alkohol-rezistentními bakteriemi. Tyto bakterie vyvolávaly u poikilotermních obratlovců změny podobné tuberkulózním lézím u homoiotermních obratlovců (ptáků a savců). Bataillon aj. (1897) poprvé zaznamenali výskyt onemocnění tuberkulózního charakteru u kaprů (*Cyprinus carpio*), kteří se nacházeli ve vodě kontaminované sputy a exkrety osob s tuberkulózou.

Předpokládali tedy, že kmeny izolované z nemocných ryb patří k druhu *Mycobacterium tuberculosis* (původce tuberkulózy u lidí). Radou následujících experimentů se jim však vzájemný přenos mezi člověkem a rybami nepodařilo prokázat (Bataillon a Terre, 1897; Terre, 1902). Acido-alkohol-rezistentní bakterie izolované z jejich lézí byly později nazývány „netuberkulózní“ nebo „atypické“ mykobakterie (Thoen a Schliesser, 1984).

Naproti tomu u bezobratlých se začal výskyt mykobakterií sledovat intenzivněji až v posledních dvou desetiletích. Přestože je publikací z této oblasti relativně málo, je zřejmé, že v některých případech se mohou bezobratlí živočichové stát významným přirozeným rezervoárem mykobakterií v prostředí, případně i jejich náhodnými přenašeči na některé obratlovce včetně člověka.

2. CHARAKTERISTIKA MYKOBAKTERIÍ A JEJICH DĚLENÍ

Mykobakterie patří do řádu *Actinomycetales*, čeledi *Mycobacteriaceae*. Jsou to aerobní nebo fakultativně anaerobní, grampozitivní tyčinky s vysokou rezistencí vůči alkoholům a kyselinám. Rezistence je dána vysokým obsahem lipidů v buněčné stěně (Rosypal aj., 1981). Klasifikace mykobakterií je založena na rozlišení jednotlivých druhů podle charakteristických vlastností, například rychlost růstu, optimální teplota pro růst, morfolgie kolonií, tvorba pigmentu, specifické biochemické reakce, dále pak na základě determinace různými sérologickými metodami (aglutinace, imuno-difuzní test a další). K identifikaci mykobakterií se v posledních letech začíná využívat metod molekulární genetiky (RFLP-restriction fragment length polymorphism, PCR-polymerase chain reaction, MTD-mycobacteria direct test).

V současné době je známo více než 70 druhů mykobakterií, jež je možné z hlediska vztahu k hostiteli dělit do dvou skupin. První skupinu představují obligátně patogenní druhy mykobakterií pro obratlovce, jimiž

jsou druhy *M. tuberculosis* (původce tuberkulózy člověka), *M. paratuberculosis* (původce paratuberkulózy přežvýkavců), *M. avium* (původce tuberkulózy ptáků), *M. bovis* (původce tuberkulózy skotu, příp. člověka). Druhou skupinu tvoří potenciálně patogenní druhy a saprofytické mykobakterie. Do této skupiny patří většina mykobakterií vyskytujících se také u bezobratlých a poikilotermních živočichů, především druhy *M. marinum*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. ulcerans*, *M. smegmatis*, *M. phlei* a *M. xenopi*.

Podle Bergeyova manuálu systematické bakteriologie (Sneath, 1986) lze mykobakterie dělit vzhledem k rychlosti růstu na kultivačních médiích na pomalu rostoucí (kultivace trvající více než sedm dnů) a rychle rostoucí druhy (kultivace trvající do sedmi dnů). Podle údajů různých autorů (Parisot, 1958; Ippen, 1964; Cooper, 1981; Thoen a Schliesser, 1984) byly izolovány z experimentálně a z přirozeně infikovaných jedinců poikilotermních obratlovců jak pomalu rostoucí mykobakteriální druhy (například *M. marinum* a *M. avium* komplex), tak i rychle rostoucí druhy mykobakterií (například *M. chelonae* a *M. fortuitum*). U bezobratlých byly izolovány především pomalu rostoucí druhy mykobakterií, například komplex *M. avium-intracellulare*, *M. leprae* a další (Meissner a Anz, 1977; Narayanan aj., 1978; Banerjee aj., 1991; Golyshvskaya, 1991; Goodwin a Waltman, 1996).

3. ROZSÍŘENÍ MYKOBAKTERIÍ VE VNEJŠÍM PROSTŘEDÍ

Mykobakterie se běžně nacházejí ve vnějším prostředí jako součást určitých ekosystémů (Horváthová aj., 1997). Mnohé druhy mají schopnost dlouhou dobu přežít ve vnějším prostředí, kde se mohou za vhodných podmínek i rozmnožovat. Tím se rovněž zvyšuje rizikovost zdroje pro různé druhy živočichů (Kazda, 1973a, b). Význam půdy a vody jako rezervuáru podmíněně patogenních mykobakterií byl v posledních letech intenzivně studován (Beerwerth, 1973; Collins aj., 1984). Podmíněně patogenní druhy (nejčastěji se vyskytující druhy: komplex *M. avium-intracellulare*, *M. gordonae*, *M. flavescens* a příležitostně se vyskytující druhy: *M. fortuitum*, *M. terrae*, *M. scrofulaceum*, *M. xenopi*, *M. kansasii*) byly prokázány také ve vodovodním zásobovacím systému (Kaušová aj., 1981; Horák aj., 1986; Peters aj., 1995; Kubálek a Myšák, 1996). Bylo zaznamenáno jejich sezonní kolísání s vyššími hodnotami v jarním období oproti podzimmu (Kubálek a Komenda, 1995; Peters aj., 1995).

4. MYKOBakterie u bezobratlých

Mykobakterie byly prokázány, kromě jiných živočichů, také u bezobratlých, přestože jsou tyto výsledky

publikovány zcela ojediněle. Kmeny komplexu *M. avium-intracellulare* byly izolovány z hmyzu žijícího v pilinách (Meissner a Anz, 1977). V jednom infikovaném chovu prasat na východním Slovensku byly mykobakterie prokázány v larvách much vyvíjejících se ve stájovém prostředí (Petřík – osobní sdělení, Univerzita veterinárního lékařstva, Košice). V naší laboratoři se podařilo izolovat mykobakterie rovněž ze žízal odebraných z orné půdy v jarních měsících (nepublikováno).

4.1. Možnosti šíření mykobakteriálních infekcí bezobratlými

Nejintenzivnější výzkum zaměřený na živočichy ze skupiny bezobratlých, kteří mohou přenášet původce infekčních a parazitárních onemocnění, byl prováděn v humánní a veterinární parazitologii.

Skupina bezobratlých může hrát důležitou roli při infekci poikilotermních i homoiotermních živočichů. Mohou být součástí jejich potravního řetězce nebo infikovat různým způsobem jejich přirozené prostředí, například znečištěním tohoto prostředí svými infikovanými výkaly a zvrátky. V zajetí se potom zkrmování této infikované potravy, která se skládá hlavně z bezobratlých živočichů, stává hlavním cestou nákazy poikilotermních obratlovců (Goodwin a Waltman, 1996). Dalším možným způsobem přenosu je přímý kontakt vnímavého organismu s přenašečem. Zde se dá předpokládat spíše pasivní přenos, například infekce různých ran na povrchu těla hostitele. Do jisté míry není vyloučen ani aktivní přenos, například cizopasícním jedincem na povrchu nebo uvnitř těla hostitele.

Jednou z cest šíření původců onemocnění (včetně mykobakterií) mohou být přenašeči z řad bezobratlých, kteří se žijí trusem a kadávery infikovaných zvířat. Tito bezobratlí sami migrují nebo se stávají kořistí migrujících predátorů. Z hlediska přežívání mykobakterií v organismu bezobratlých není zatím známo, zda může dojít k pomnožování mykobakterií v jejich trávicím traktu a jak dlouho trvá jejich následně vylučování trusem. Odolnost mykobakterií je dána také jejich rezistencí vůči silným kyselinám, která jim umožňuje přežít ve vrstvách rašelínku (*Sphagnum* spp.) v rašeliníštích při pH 2 (Kazda, 1990). Z tohoto důvodu lze předpokládat, že mykobakterie by mohly odolávat kyselým trávicím šťávám bezobratlých, případně jejich predátorů.

Tyčinkovité mykobakterie se mohou za přirozených podmínek přeměnit v kokoidní formy malých rozměrů, což usnadňuje přenos hmyzem sajícím krev (Golyshvskaya a, 1991).

Narayanan aj. (1978) zjistili, že *M. leprae* přežívá v sósáku komára *Aedes aegypti* 156 hodin a v sósáku *Culex fatigans* 144 hodin po nasátí krve z pacientů. Ve střevech obou druhů komárů *M. leprae* přežívá 96 hodin. Banerjee aj. (1991) experimentálně prokázali možnost přenosu *M. leprae* z lidí na myši mláďata při sání komára *Aedes aegypti*. Podobné schopnosti se podle některých autorů dají předpokládat i u muchiček (Sreavatsa aj., 1992).

4.1.1. Možnosti přenosu mykobakterií, zejména původců aviární tuberkulózy a paratuberkulózy mouchami

Pro šíření druhů *M. avium* a *M. paratuberculosis*, původce aviární tuberkulózy ptáků a paratuberkulózy přežvýkavců, je společné jejich vylučování ve velkém množství trusem do vnějšího prostředí, čímž dochází k dlouhodobé kontaminaci stájového prostředí, případně i pastvin. Proto je v současné době věnována pozornost otázce šíření těchto dvou původců závažných onemocnění žilalami, mouchami a dalšími bezobratlými.

Je známo, že mouchy mohou přenášet na povrchu těla a v trávicím traktu bakterie, vývojová stadia parazitů, spory plísní i další původce onemocnění. Na pastvinách se nejčastěji vyskytují synbovilní mouchy, například *Musca autumnalis*, *M. sorbens*, *M. vitripennis*, *Muscina stabulans*, *Hydrotaea irritans*, které olizují sekrety a exkreta zvířat. Mezi ně se rovněž řadí mouchy sající krev, například *Chrysops* spp., *Haematobia irritans*, *Haematobosca stimulans* aj. (Lůf t e n e g g e r, 1982; Muš k a, 1987). Ve stájej se častěji vyskytuje bodalka stájová (*Stomoxys calcitrans*) a synantropní mouchy (*Musca* spp., *Fannia* spp.), jejichž larvy se vyvíjejí především ve zbytcích píce, případně jiném organickém materiálu včetně trusu zvířat. Jejich kontakt s původci aviární tuberkulózy a paratuberkulózy v prostředí kontaminovaném trusem infikovaných zvířat je vysoce pravděpodobný. Synantropní mouchy mohou zalétat i do lidských obydlí a kontaminovat potraviny bakteriemi z chodidel a sosačky nebo trusem a zvratky (Supperer a Heim bucher, 1982; Vilá g i o v á a Peč k o, 1994).

V chovech zvířat se často nacházejí také některé stájové mouchy, jejichž larvy se vyvíjejí v hnojných jímkách, odkud migrují před zakuklením na značnou vzdálenost. Tím jsou známé především larvy pestřenek (např. *Eristalomyia tenax*). Během migrace se larvy mohou stát kořistí predátorů, zvláště hmyzožravých ptáků nebo saveců (rejsek a další).

Z epidemiologického hlediska jsou závažné přelety koprofágních much na rostliny, především na dozrávající plody (B e j š o v e c, 1962). Samičky mnoha druhů much, které kladou vajíčka do fekálií, potřebují pro svoji výživu sacharidy a vitaminy. Proto vyhledávají zralé, případně přezralé plody a sladké potraviny. Tímto způsobem mohou zprostředkovat mimo jiné i přenos mykobakterií komplexu *M. avium-intracellulare* mezi kontaminovaným prostředím (zvláště trusem zvířat) a dalším vnímavým hotelem prostřednictvím výše uvedených článků potravního řetězce (B e e r w e r t h a K e s s e l, 1976).

Mouchy nalétávající na trus zvířat nebo stolicí lidí (T e s c h n e r, 1958) mohou přenášet nejrůznější bakterie na povrchu těla nebo v trávicím traktu. O s t a š o v (1956) izoloval z much nacytaných v chovech prasat bakterie *Escherichia coli*, koky a streptokoky. Rozdíl v druhovém zastoupení bakterií na povrchu těla a ve stěvě mouchy nebyly zjištěny (L y s e n k o, 1958). Nejhojnějšími bakteriemi izolovanými z much bývá *Proteus* spp. a *Escherichia* spp., u much chycených

na jatkách a skládkách odpadu také *Enterococcus* spp. (L y s e n k o a P o v o l n ý, 1961). T o l s t j a k (1956) popsal přenos červenyky prasat bodalkou stájovou (*Stomoxys calcitrans*).

W e l l m a n n (1955) uskutečnil přenos červenyky na prasata prostřednictvím much domácích (*Musca domestica*), které požíly kulturu bakterie *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Poněvadž moucha domácí nebdá a nesaje krev, byla kůže pokusných prasat skarifikována. Šlo o přenos bakterií v sosačky, případně na povrchu těla.

Po pozření bakterií mouchami nebo jejich larvami dochází ke značnému snížení počtu životaschopných bakterií ve střední části střeva vlivem silné kyselosti a látek majících bakteriostatické nebo baktericidní vlastnosti. Muší larvy se živí potravou silně kontaminovanou bakteriemi (trus, hnijící maso). Před zakuklením odvrhují přední a zadní část střeva, které zůstávají na svlečené pokožce. Tyto mechanismy způsobují, že dospělé mouchy bývají po vylhnutí z pupáří téměř sterilní (P o v o l n ý, 1974).

Možnosti přežívání mykobakterií (jež jsou v srovnání s jinými druhy bakterií (*Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Proteus* spp.) velmi odolné ke kyselému prostředí) v mouchách a jejich larvách by měly být předmětem dalšího výzkumu.

4.1.2. Možnosti přenosu mykobakterií jinými druhy hmyzu

Hojně se vyskytující synantropní šváb obecný (*Blattella orientalis*) bývá aktivní hlavně večer a v noci, kdy vylézá z úkrytů a požirá odpadky. Vniká také do odpadkových kontejnerů. Laboratorní nebo nemocniční odpadkové kontejnery mohou obsahovat sputum pacientů nemocných tuberkulózou. Švábi mohou sputum v kontejnerech požívat a šířit mykobakterie vlastním trusem. A l l e n (1987) prokázal životaschopnost *M. tuberculosis* v trusu švábů, kteří požíli sputum, dokonce po osmi týdnech uchování vzorků trusu švábů při pokojové teplotě. Švábi jsou z hlediska šíření mikrobu významní nejen pro svou pohyblivost a schopnost létat, ale také proto, že často vyvrhují a znovu požirají natrávenou potravu. Vývržky potraviny a znovu vyvržené odpadkové kontejneru, na skládce nebo ve stoce tak mohou kontaminovat například čerstvě připravené jídlo. Proto je nutno uzavírat odpadkové kontejnery, aby do nich švábi neměli přístup a nemohli šířit tuberkulózu.

Mykobakterie se vyskytují v přírodě hojně, ale pro přenos bezobratlými budou mít praktický význam především ty organismy, v nichž se mykobakterie mohou kumulovat nebo rozmnožovat. Objevení jednoho takového případu se podařilo S o e f f i n g o v i a K a z d o v i (1993). Při sledování výskytu mykobakterií ve vodách rašeliníšť vyšetřovali larvy vážek *Leucorrhinia rubicunda*. Prokázali v nich *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. flavescens* a *M. sphagni*. Pro překvapivý nálezy mají prostě vysvětlení potvrzené výsledky vyšetřování vodního planktonu. Vody rašeliníšť bohaté mykobakteriemi jsou místem výskytu dafnií. Dafnie druhů *Ceriodaphnia reticulata* a *Daphnia magna* pohlcují mykobakte-

rie a samy se pak stávají potravou larev vážek. Proto larvy vážek, které se živí dafniemi, obsahovaly mykobakterie. Dafnie a larvy vážek se náhodně stávají kořistí ryb a dalších obratlovců, čímž současně mohou sloužit jako zdroj infekce pro další živočichy.

4.1.3. Možnosti přenosu původců aviární tuberkulózy a paratuberkulózy žížalami

Při šíření druhů *M. avium* a *M. paratuberculosis* mohou hrát významnou roli také žížaly, které migrují z hlubin půdy na povrch, kde se živí částicemi trusu. Zvýšení rizika nastává zejména v období sucha, kdy se žížaly zdržují pod trusem, v němž nacházejí potřebnou vlhkost. Z literatury je známo, že žížaly se mohou stát paratenickými hostiteli ptačích kapilárií (např. *Eucoleus annulatus*, *Capillaria caudinflata*, *Capillaria bursa-ta* aj.), srostlic (*Syngamus* spp.), prasečích plicnívek (*Metastrongylus* spp.) a hliště druhu *Stephanurus dentatus* (Jurášek a Dubinský, 1996). Loncová (1980) prokázala také možnost přenosu vajíček tasemnice bezbranné (*Taenia saginata*) žížalami.

4.1.4. Možnosti přenosu mykobakteriálních infekcí roztočů

Půdní roztoči pancířníci (*Oribatei*) byli zkoumáni v souvislosti s přenosem vývojových stadií tasemnic přežvýkavců (*Moniesia* spp.). Pancířníci požírají vajíčka tasemnic a mohou v těle obsahovat jejich invazeschopná vývojová stadia (cysticerkoidy), jak uvádějí Jurášek a Dubinský (1996). Tělička uhynulých roztočů se stávají součástí prachu, ve kterém Ichijama aj. (1988) prokázali výskyt mykobakterií.

4.2. Možnosti přenosu mykobakterií predátory bezobratlých

Na přeměně trusu v humus se podílí celá řada bezobratlých, například žížaly (Loncová, 1980), koprofágní plži (Frömming, 1958), brouci (Bílý aj., 1978), mouchy (Teschner, 1958; Nuorteva, 1959; Dipeolu, 1974; Lüftenegger, 1982; Fotedar aj., 1992) a jejich vývojová stadia. Tito bezobratlí mohou pozřít mykobakterie obsažené v trusu a pak se stát kořistí predátorů, ať již z řad bezobratlých (dravých much, brouků a jejich larev) nebo obratlovců (obojživelníků, plazů, ptáků a savců).

Hejlíček a Treml (1993, 1994; 1995a, b, c) prokázali přenos mykobakterií ptáky. Mykobakterie se významněji odolnosti vůči kyselému prostředí a lze proto předpokládat, že přežívají průchod trávicím traktem bezobratlých i jejich predátorů.

4.3. Výskyt mykobakterií u dafnií a larev vodních vážek a jejich ekologický význam

Mykobakterie mají zvýšenou afinitu k biotopům, jejichž dominantu tvoří rašeliníková vegetace (Kazda, 1977; Horváthová aj., 1997). Ve slatích a rašeli-

ništích se často vyskytují jezírka, která jsou porostlá plovoucími rašeliníky. V nich obsažená voda vykazuje slabě kyselou reakci a je velmi chudá na organické živiny. Dlouhou dobu se nepodařilo vysvětlit, jak se mohou v těchto vodách rozmnožovat vážky, jejichž larvy jsou odkázány na biotopy s velkým nadbytkem organických živin. Některé druhy vážek se hromadně vyskytují na slatích. Ekologií vážky *Leucorhina rubicunda* L. se podrobně zabýval Soeffing (1988). Prokázal, že mykobakterie, které se vyskytují v rašeliníkové vegetaci plovoucí na povrchu rašelinných jezírek, jsou jedním z předpokladů vývoje jejich larev. Tím také umožňují osídlování těchto biotopů vážkami.

Larvy vážek jsou v prvním stadiu vývoje odkázány na zooplankton. Poněvadž mykobakterie dosahují malých mikroskopických rozměrů, nemohou je larvy přímo konzumovat. Jsou proto odkázány na filtrační činnost dafnií (*Daphnia magna*, *Ceriodaphnia reticulata*), které koncentrují ve svém trávicím traktu mykobakterie pro svoji vlastní výživu.

Laboratorními pokusy s použitím radioaktivně značených mykobakterií prokázal Soeffing (1990), že dafniemi filtrované mykobakterie se dostanou do trávicího traktu larev vážek. Ty se zdržují převážně v blízkosti plovoucích rašeliníků, kde je také nejvyšší koncentrace dafnií. Dafnie se stávají hlavní součástí potravy larev vodních vážek v prvním stadiu vývoje. Podářilo se prokázat, že koncentrace mykobakterií ve vodě slatiných jezírek je přímo úměrná množství výskytu těchto mikroorganismů v dafniích a v larvách vodních vážek, kde jejich množství dosahuje hodnot mnoha milionů. Tímto způsobem se dostanou mykobakterie do potravního cyklu dafnií a vodních vážek, pro které jsou tyto mikroorganismy zdrojem důležitých aminokyselin, proteinů a lipidů (Soeffing a Kazda, 1993).

Na jedné straně mykobakterie hrají pozitivní roli v přirozeném cyklu živin v oligotrofních biotopech jako zdroj potravy pro kolonizaci slatiných jezírek dafniemi a následně vodními vážkami. Na druhé straně však dafnie a larvy vodních vážek koncentrují mykobakterie ve svých zažívacích orgánech a samy mohou sloužit jako potrava pro vyšší organismy této biocenózy. Tímto způsobem dochází k dalšímu rozšiřování mykobakterií. Dospělá imága vodních vážek sice neobsahují již mykobakterie ve svých vnitřních orgánech, ale při kladení vajíček na povrch plovoucích rašeliníků přenášejí pasivně mykobakterie ze svého povrchu na další biotopy. Z literárních údajů je známo, že vedle saprofytických mykobakterií mohou mechy rašeliníšť a slatí obsahovat také podmíněně a obligátně patogenní druhy, zejména *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. xenopi*, *M. avium* a *M. simiae* (Müller a Kazda, 1988; Müller aj., 1991).

5. MYKOBACTERIÁLNÍ INFEKCE U POIKILOTERMNÍCH OBRATLOVCŮ

U různých druhů poikilotermních obratlovců se setkáváme s odlišnou frekvencí výskytu tuberkulózních

onemocnění. Je to dáno různou predispozicí těchto živočichů k mykobakteriální infekci a současně také působením vnějších faktorů, které často mají rozhodující vliv na vznik a průběh onemocnění. U obojživelníků a plazů je výskyt spontánních mykobakteriálních onemocnění spíše sporadický. Pro vznik mykobakteriálních onemocnění u těchto živočichů je důležitá velikost infekční dávky, oslabení hostitelovy imunity a vliv vnějších podmínek. Z vlivů vnějšího prostředí je to například vysoká teplota, nízká vlhkost v teráriu, nešetrné zacházení, stresující činitele, parazitární onemocnění a další vlivy (Ippen, 1964; Conroy, 1967; Cooper, 1981; Thoen a Schliesser, 1984; Knotek aj., 1992).

Zvířata chovaná v zajetí jsou z výše uvedených důvodů více vystavena infekčnímu tlaku mykobakterií než volně žijící zvířata. Pro ryby může být tímto zdrojem neproudicí a dlouho nevyměňovaná voda v nádržích a akváriích, která se stává vhodným prostředím pro množení mykobakterií. Některá vzplanutí onemocnění u ryb chovaných v zajetí jsou způsobena podáváním nevhodné potravy, nízkou koncentrací kyslíku ve vodě, překrmováním, případně dalšími příčinami. V důsledku stresu potom dochází při přisunu velkého množství na proteiny bohaté potravy k rychlému ztuhnutí organismu, které následně vede k jeho oslabení. Snížená přirozená rezistence hostitele má za následek snazší vznik různých, mimo jiné také mykobakteriálních, infekcí (Parisot, 1958; Ippen, 1964; Cooper, 1981).

5.1. Mykobakteriální onemocnění u ryb

Úhyny na mykobakteriální infekce byly často popsány u ryb nacházejících se ve velkých vodohospodářských zařízeních (zvláště přehradách) a v komerčních akváriích. Informace o výskytu mykobakteriálních onemocnění u ryb, obojživelníků a plazů chovaných v ZOO však nejsou dostatečné. Pravděpodobně je to způsobeno nedostatkem důkladných patologicko-anatomických a bakteriologických vyšetření kadáverů nebo nedostatečným počtem publikací o těchto nálezech (Aronson, 1926; Ippen, 1964; Cooper, 1981; Thoen a Schliesser, 1984).

Mykobakteriáza sladkovodních ryb byla poprvé popsána Bataillonem aj. (1897), který pozoroval v abdominální stěně a ve vaječnicích kapra obecného (*Cyprinus carpio*) velké výrazné léze s nahromaděnými leukocyty. Buňky funkčně podobné lymfocytům savců (oproti očekávání nebyly u těchto ryb nalezeny). Mikroskopické vyšetření tuberkulů potvrdilo přítomnost mnoha acido-alkohol-rezistentních bakterií, rostoucích tři až čtyři dny na médiu inkubovaném při teplotě 23 °C. Autoři tedy izolované mykobakterie nazvali *M. piscium*. U mořských druhů ryb byla spontánní infekce mykobakteriemi poprvé zaznamenána u tresky v roce 1913 (Johnstone, 1913).

Mykobakteriáza je jedním z nejběžnějších chronických onemocnění u sladkovodních i mořských ryb

v oblastech mírného podnebního pásma i v tropech. Na základě četných literárních údajů lze konstatovat, že mykobakteriální infekce ryb jsou rozšířeny po celém světě (Parisot, 1958; Nigrelli a Vogel, 1963; Ippen, 1964; van Duijn, 1967; Brownstein, 1978; Thoen a Schliesser, 1984). Nejčastěji izolovanými druhy mykobakterií u ryb jsou podle současně platné taxonomie *M. marinum* a *M. fortuitum*, přičemž byly izolovány také druhy komplexu *M. avium-intracellulare*, *M. chelonae*, *M. aurum* a *M. parafortuitum* (Arakawa aj., 1986). Nedávno byla popsána *Tortolim* aj. (1996) infekce u ryb druhu *Channa striatus* nově objeveným druhem mykobakterií *M. poriferae*, který byl dříve izolován jen z mořských hub.

5.1.1. Rozšíření mykobakteriálních onemocnění u ryb

Jak uvádí ve své monografii Ippen (1964), do roku 1963 byla popsána mykobakteriální infekce u 10 řádů, 85 rodů a 123 druhů sladkovodních i mořských ryb. Abernethy a Lund (1978) zaznamenali 8% prevalenci mykobakteriálních onemocnění u ryb druhu *Prosopium williamsoni* ulovených v řece Yakima ve Washingtonu. Nejistili zde žádný rozdíl ve výskytu mykobakteriázy u samic a samic, nicméně závažnost onemocnění závisela na věku ryb. Častěji byla mykobakteriální infekce diagnostikována u starších ryb některých druhů. U některých druhů ryb chovaných v akváriích činila prevalence mykobakteriálních infekcí 10 až 15 % (Wolke a Stroud, 1978).

5.1.2. Spontánní mykobakteriální infekce ryb

Mykobakteriální infekce u ryb jsou mnohem častěji zdravotním problémem akvarijních ryb než ryb ve volné přírodě. Noga aj. (1990) popsali u akvarijně chované ryby druhu *Oreochromis mossambicus* (*Tilapia mossambica*) přirozenou infekci *M. marinum*, která se vyznačovala nehojícími se kožními záněty, orgánovými změnami a dalšími. Jahnel (1940a, b) popsal nálezy mykobakterií u mnoha druhů akvarijních ryb (*Danio malabaricus*, *Gymnocorymbus ternetzi*, *Haplochromis multicolor*, *Aphyocharax rubropinnis*, *Brachydanio albolineatus*, *Barbus phuthunio*, *Xiphophorus* a *Colisa labia*).

Velkým problémem byl také výskyt mykobakteriálních infekcí v líhních lososů, kde byly mladé ryby krmeny nevařenými vnitřnostmi z dospělých ryb infikovaných mykobakteriemi. V důsledku infekce mladých rybek mykobakteriemi zaznamenali autoři v pozdějším období návrat menšího množství dospělých lososů pocházejících z těchto líhní (Wood a Ordal, 1958).

Rozšíření onemocnění může mít i epidemický charakter. V tom případě dochází k velkým ztrátám. Van Duijn (1967) studoval u ryb druhu *Gymnocorymbus ternetzi* mykobakteriální epizootii, při níž během několika týdnů uhynulo asi 800 ryb. U akvarijních ryb druhu *Xiphophorus vulgaris* a ve vodě akvárií prokázala Vassilová (1988) mykobakterie druhu *M. fortuitum*.

5.1.3. Vnímavost ryb k uměle vyvolané mykobakteriální infekci

Ryby jsou mnohem vnímavější vůči podmíněně patogenním mykobakteriím než vůči patogenním mykobakteriím (*M. tuberculosis*, *M. bovis* a komplex *M. avium-intracellulare*) vyvolávajícím tuberkulózu u homoiotermních živočichů. Při umělé infekci těmito druhy mykobakterií mají takto vyvolaná onemocnění převážně chronický průběh. Klinické příznaky nejsou závislé na druhu mykobakterií, jimiž jsou zvířata infikována. Četnými biologickými pokusy bylo prokázáno, že ryby jsou částečně vnímavé i vůči původcům tuberkulózy homoiotermních obratlovců. Patologicko-anatomické změny v organizmu ryb vyvolané těmito mykobakteriemi jsou stejné jako u homoiotermních obratlovců. U poikilotermních živočichů, na rozdíl od vyšších obratlovců, však tato onemocnění probíhají mnohem pomaleji a bez kočné generalizace procesu (Ippen, 1964).

5.1.4. Šíření mykobakteriálních infekcí u ryb

Cesty šíření mykobakteriálních infekcí u ryb nejsou dosud podrobně známy. Hlavním způsobem infekce bývá většinou alimentární cesta, při níž jsou nejvíce zasažena střeva, hepatopankreas a slezina. Primární mykobakterióza postihující pouze kůži se vyskytuje zcela ojediněle, neboť kožní změny bývají nejčastěji projevem celkové infekce (Jahnel, 1940b). Někteří autoři nevylučují i možnost přenosu z rodičů na potomky. Nigrelli a Vogel (1963) konstatovali, že transovariální přenos je u ovovivipárních ryb velmi pravděpodobný. Přesto se tento přenos pokusy s pasážívaním mykobakterií přes jikry a mlíči některých druhů pstruhů nepodařilo prokázat (Ross, 1970).

5.1.5. Klinické a patologicko-anatomické změny u ryb

Vzácněji se setkáváme u přirozeně infikovaných ryb i s akutními formami onemocnění, při kterých dochází k jejich úhynu bez jakýchkoliv vnějších příznaků, takže onemocnění se již nestačí rozvinout do pokročilejších stadií. Systematické onemocnění vyvolané mykobakteriemi může postihovat kterýkoliv orgánový systém, především pak slezinu a hepatopankreas, přiležitostně i ledviny, vaječníky, osrdečník, žábry a jiné orgány. Tyto změny se ale projevují až v pokročilejších stadiích onemocnění (Ippen, 1964; van Duijn, 1967; Wolke, 1975; Wolke a Stroud, 1978).

Podobně jako řada onemocnění vyvolaná jinými bakteriemi, také mykobakteriální infekce se navenek projevuje nespecifickými příznaky, jako jsou nechutenství, progresivní hubnutí, sešlost a změny v chování. K charakteristickým klinickým příznakům při generalizaci mykobakteriálních infekcí u ryb patří především sekundární kožní defekty, které zahrnují zánětlivá poranění, změny v kožní pigmentaci, vředy případně i ztrátu šupin. Často dochází i ke změnám na kostě (lordózy, skoliózy a další).

U ryb druhu *Channa striatus* popsali Chinabut aj. (1990) mykobakteriální změny jak na povrchu těla (ztráta pigmentace v okolí hlavy, keratitidy), tak i ve vnitřních orgánech (malá bílá ložiska na zábrách). Postižené ryby měly zřetelně zvětšené ledviny s malými bělavými uzlíky na povrchu a podobné změny byly pozorovány i na játrech.

5.1.6. Histologický obraz mykobakteriální infekce u ryb

Při mikroskopickém vyšetření lézí u mykobakteriálních infekcí ryb byly pozorovány klasické ohniskové granulomy. Byly složeny z epiteloidních buněk (hypertrofované histiocyty se sklovitou cytoplazmou, podobně epiteloidním buňkám) a z histiocytů vyplňujících centrální oblast lézí, která byla obklopena stěnou fibroblastových buněk. Mykobakteriální onemocnění ryb je histologicky podobné lidskému pouze tím, že obsahuje „měkké“ a „tvrdé“ tuberkuly. „Měkký“ tuberkul má v centru oblast kazeózní nekrózy, zatímco „tvrdý“ tuberkul ji nemá. Od lidské tuberkulózy se mykobakteriální infekce ryb liší dvěma významnými znaky. Je to nepřítomnost Langhansových buněk, přičemž zde nedochází ke kazeifikaci lézí a relativně větší počet bakterií v centrální oblasti, než je tomu u vyšších obratlovců (Amlicher, 1961).

Baker a Hagan (1942) sledovali projevy mykobakteriálních infekcí u ryb druhu *Platycephalus maculatus*. V očích některých ryb nacházeli epiteloidní buňky s měchýřkovitým jádrem, které vnikaly do oční svaloviny, bulbu a zrakového nervu, čímž narušovaly jejich vnitřní strukturu. Nejmenší uzlíky byly tvořeny pouze několika kulatými buňkami s dobře barvitelným jádrem, zatímco větší uzlíky, které byly nalezeny v játrech, měly ve svém středu nekrotizované oblasti. Jaterní buňky infikovaných jedinců byly zvětšené, granulované a jádra nebyla zřetelně viditelná. Cévy procházející jaterní tkání byly rovněž zvětšené a jejich lumen byl vyplněn napadenými jaterními buňkami, které prorůstají dovnitř cév. V několika případech byla zjištěna nekróza endotelii cév.

5.1.7. Lokalizace výskytu granulomů při mykobakteriální infekci ryb

Histologickým vyšetřením tkání infikovaných ryb druhu *Channa striatus* prokázali Chinabut aj. (1990) miliární granulomy ve všech vnitřních orgánech včetně žaber. V lymfoidní tkáni však nebyly zjištěny žádné změny. Léze měly centrální oblast kazeózní nekrózy obklopenou vrstvami makrofágů a epiteloidních buněk. V některých lézích byly zjištěny buňky obsahující melanin, přičemž se zde nevyskytovaly žádné obrovské buňky. Mikroskopické vyšetření kazeifikovaných středů lézí prokázalo přítomnost velkého množství acido-alkohol-rezistentních bakterií. Slezina a ledviny byly silně postiženy a jejich povrch byl tvořen převážně granulomy. Rovněž byla značně narušena i hemopoetická tkáň. Ložiskové granulomy byly nale-

zeny také v lamelární tkáni žaber, mozku, skeletární svalovině a v hemoragických lézích v kůži (Parisot, 1958; Ippen, 1964; Thoen a Schliesser, 1984).

Ippen (1964) zjistil při experimentální infekci ryb patřících do rodu *Cichlidae* mykobakteriálním druhem *M. bovis*, že histologické změny vytvořené na slezině byly výraznější než změny na játrech. Kromě nekrotických buněk v cévním endotelu, uzavřených v uzlíku, nebyly nikde pozorovány žádné větší nekrózy. Naproti tomu uzlíky v játrech měly typickou okrouhlou formu. Střed tuberkulu byl zcela homogenně nekrotický a byl obklopen lemem buněk s měchýřkovitými jádry. Na periférii byly uzlíky ohraničeny jednou nebo více vrstvami pojivové tkáně. V silně eozinofilně se barvící nekróze byly vidět pyknotické zbytky jader. Parenchym sleziny v okolí uzlíku byl nezměněn a v okrajové části nekrózy byly pozorovány jemné tukové kapénky.

5.1.8. Pigmentové buňky při mykobakteriálních infekcích ryb

Noga aj. (1990) se zabývali hlavně studiem příčin změn pigmentace kůže. Na kůži a ve slezině se často vyskytovala melanotická ložiska, což bylo dáno přítomností pigmentových buněk obklopujících kožní a slezině záněty. V zánětlivých lézích byly nalezeny všechny tři druhy pigmentových buněk, vyskytující se u ryb: melanomakrofágy, melanocyty a melanofory.

Melanomakrofágy byly typické ovoidní buňky schopné fagocytózy, které měly své melanosomy uzavřené v membránových vakuolách. Melanocyty a melanofory byly obvykle buňky s četnými výběžky až téměř hvězdicovitého vzhledu, bez melanosomů v cytoplazmě a bez schopnosti fagocytózy. Ve vnitřních orgánech převažoval větší počet melanomakrofágů než ostatních pigmentových buněk, na rozdíl od kožních lézí, kde byly všechny tři druhy pigmentových buněk zastoupeny rovnoměrně (Noga aj., 1990).

Při mykobakteriální infekci se ve slezině a v hepatopankreatu nachází velké množství melanomakrofágů a dochází zde k redukcí pankreatických acínů, které jsou těmito buňkami nahrazovány. Biologický význam melanocytů při odpovědi na přítomnost mykobakteriální infekce není ještě zcela objasněn. Na základě řady prací týkajících se infekcí u nižších živočichů se předpokládá, že polyfenolové sloučeniny, mezi něž patří i melanin, hrají významnou roli v ochraně organismu proti invazivním patogenům (Roberts, 1975).

5.2. Mykobakteriální onemocnění u obojživelníků

Informace o mykobakteriálních onemocněních byly počátkem šedesátých let dostupné u jedenácti druhů obojživelníků (Ippen, 1964). Na rozdíl od ryb se u obojživelníků spontánní mykobakteriální infekce vyskytují pouze u žab. Rupprecht (1904) jako první prokázal acido-alkohol-rezistentní bakterie v silně zvětšených játrech žáby, na jejichž povrchu pozoroval

promínující uzlíky. Nejčastěji izolovanými druhy mykobakterií jsou kmeny druhů *M. marinum*, *M. fortuitum*, komplex *M. avium-intracellulare* a *M. xenopi* (Kazda a Hoyte, 1972; Kazda, 1973a, b; Thoen a Schliesser, 1984).

5.2.1. Příčiny podmiňující vznik mykobakteriálních infekcí u obojživelníků

Onemocnění obojživelníků bývá většinou zapříčiněno nevhodnými podmínkami chovu, jako je nedostatek přirozeného světla, nízká vlhkost vzduchu, nevyhovující jakost substrátu a především nedodržení správné kvality a nezávadnosti vody. Ke vzniku nákazy dochází často u zvířat poraněných a zesláblých (Knotek, 1993).

5.2.2. Experimentální mykobakteriální infekce u obojživelníků

Kromě infekce žab potenciálně patogenními mykobakteriemi se řada pracovníků zaměřila na problém adaptace mykobakterií homoiotermních živočichů na organismus obojživelníků. Byly používány převážně druhy *M. tuberculosis*, *M. bovis* a *M. avium*. Makroskopické změny se u infikovaných jedinců vyskytovaly jen vzácně. Ve většině případů šlo o malé uzlíky v místě vpichu, v nichž byl nalezen sklovitý, průsvitný výpotek (Baker a Hagan, 1942).

Experimentální infekce u drápatek (*Xenopus laevis*) neprokázaly, že by *M. marinum* mělo vliv na iniciaci a vývoj lymforetikulárního nádoru (Clothier a Balls, 1973). Byla studována i možnost využití mykobakteriálních druhů izolovaných od poikilotermů k vakcinaci lidí nebo zvířat, leč bez výrazného úspěchu (Schliesser, 1965).

5.2.3. Patologicko-anatomické změny při mykobakteriálních infekcích obojživelníků

U postižených zvířat byly pozorovány nespecifické příznaky, například ztráta pigmentu v pokožce s následným zesvětlením malé části, případně celého povrchu těla. Rovněž byl pozorován vznik drobných otevřených ran, celková apatie, nechutenství a úbytek na váze (Rosypal aj., 1981). Kožní formy onemocnění se projevovaly buď ve formě granulomatózních vředů nebo docházelo k difúzním mykobakteriálním dermatitidám. V pozdějších stadiích onemocnění byly postiženy vnitřní orgány. Miliární nebo velké granulomy se nalézaly v játrech, střevech, plicích, ledvinách a v srdci (Knotek, 1993). Granulomy byly nalezeny také v mozku jedné žáby infikované *M. marinum* (Shively aj., 1981).

5.2.4. Histopatologické změny u žab

Při histologickém vyšetření orgánů infikovaných jedinců byly pozorovány různé velké uzlíky. Nejmenší

z nich byly tvořeny pouze několika buňkami s bohatou protoplazmou a výrazným měchýřkovitým jádrem. Větší léze obsahovaly také epiteloidní buňky a občas i malé lymfocyty. Obrovské buňky zcela chyběly a nebylo pozorováno ani ohraničení uzlíků pojivovou tkání. U některých žab byly na obvodu uzlíků pozorovány četné pigmentové buňky (Ippen, 1964).

Leprózní granulomy nacházející se v kůži žab byly vyplněny typicky ložiskovými infiltráty histiocytů (Machicao a La-Placa, 1954). Léze byly v některých případech výrazně ohraničené řetězci pojivové tkáně, ale většinou byly difúzně rozptýlené do okolní tkáně. V cytoplazmě histiocytů byly nalezeny četné acido-alkohol-rezistentní bakterie. Rupprecht (1904) popsal v játrech žab subperitoneálně uložené uzlíky, které byly stlačený Glissonovým pouzdem. Žádné buňky Langhansova typu však v lézích orgánů žab nebyly nalezeny.

Zajímavých výsledků dosáhli Shively aj. (1981) u ropuch nakažených *M. marinum*. Mikroskopickým vyšetřením tkání orgánů zjistili přítomnost četných granulomů. Některé léze představovaly pouze směs několika makrofágů, kdežto jiné byly tvořeny dobře vyvinutými granulomy obsahujícími mykobakterie. Středý těchto lézí obsahovaly homogenní materiál tvořený nekrotickými buňkami. Zóna epiteloidních buněk, které často obsahovaly více jader, obklopovala centrální oblast. Léze byly ohraničeny vazivovými pouzdry.

5.3. Mykobakteriální onemocnění u plazů

Plazi vykazují poměrně vysoký stupeň přirozené rezistence vůči mykobakteriím, což potvrzuje i nízký počet popsaných mykobakteriálních infekcí (Reichenbach-Klinke a Elkan, 1965). Spontánní infekce jsou vyvolávány především druhy *M. marinum*, *M. chelonae*, *M. fortuitum* a komplexu *M. avium-intracellulare*. Mykobakteriální infekce byly popsány u několika druhů hadů, želv, ještěrek a krokodýlů. Mykobakterie druhů *M. smegmatis* a *M. phlei* byly však izolovány i u klinicky zdravých jedinců (Ippen, 1964; Cooper, 1981; Thoen a Schliesser, 1984).

5.3.1. Rozšíření mykobakteriálních infekcí u plazů

Sibley (1889) poprvé zaznamenal přirozené se vyskytující progresivní onemocnění s granulomy podobnými tuberkulóze u užovky obojkové (*Natrix natrix*). Miliární uzlíky byly nalezeny v játrech, slezině, ledvinách, reprodukčním systému a v podkoží, přičemž v plicích nebyly pozorovány žádné léze. Snyder (1978) uvádí, že mykobakteriální infekce byla při pitvě diagnostikována u čtyř (8,0 %) z 50 sledovaných želv a u 31 (14,8 %) z 209 hadů a ještěřů. Brownstein (1978) zjistil, že onemocnění se objevovalo u 0,1 až 0,5 % plazů chovaných ve vhodném chovném prostředí.

I přes vysoký stupeň přirozené rezistence vůči mykobakteriální infekci jsou plazi často používáni jako

experimentální modely při studiu infekcí lidí podmíněně patogenními druhy mykobakterií. Například u ještěrky *Anolis carolinensis* bylo sledováno působení druhu *M. ulcerans*, který je původcem kožních lézí u člověka (Marcus aj., 1975).

5.3.2. Příčiny podmiňující vznik mykobakteriálních infekcí plazů a jejich léčba

Tak jako u ostatních poikilotermů, byla většina mykobakteriálních onemocnění plazů zaznamenána u jedinců chovaných v zajetí. Ke vzniku onemocnění dochází nejčastěji alimentární cestou a v zajetí k tomu přispívá hlavně nevhodný způsob chovu. Za značné rizikové je nutné považovat používání některých substrátů (piliny, mech rašelínik), které mohou být současně též výborným rezervoárem mykobakterií (Kazda, 1973a; Pavlas a Patloková, 1985). Dalšími faktory jsou špatné mikroklimatické podmínky v teráriu a také stresové faktory při odchytu a transportu (Jahoda a Pavlík, 1991). Zvýšená vnímavost vůči podmíněně patogenním mykobakteriím bývá důsledkem také tzv. maladaptčního syndromu.

Mykobakterií se u plazů neléčí vzhledem k dlouhodobému charakteru léčby a vysoké rezistenci nejčastěji izolovaných druhů mykobakterií k antituberkulotikům. Navíc existuje riziko přenosu onemocnění z plazů na chovatele (Marcus, 1981).

5.3.3. Patologicko-anatomické změny u plazů

U chronických mykobakteriálních infekcí plazů alimentárního původu se nejčastěji vyskytuje disseminovaná granulomatózní forma s kazeifikací. Četné tuberkuly se nalézají nejvíce ve slezině a v játrech. Postupným šířením onemocnění mohou vznikat také tzv. sekundární tuberkuly v kostech, plicích, CNS, gonádách, podkoží a v dalších orgánech. Přitom je z literárních údajů zřejmé, že plení tuberkuly jsou charakteristickým nálezem při mykobakteriálních infekcích ještěrek, hadů a krokodýlů (Rhodina a Anver, 1977).

5.3.4. Průběh mykobakteriálních infekcí u plazů a jejich histologický obraz

Mykobakteriální infekce u plazů mohou probíhat jako perakutní, akutní nebo chronické onemocnění. Přitom perakutní onemocnění bylo zaznamenáno pouze po experimentálně vyvolané infekci. Výsledkem byla vysoká mortalita spojená s masivní intravaskulární proliferací acido-alkohol-rezistentních buněk a s minimální zánětlivou reakcí hostitele (Aronson, 1926).

Akutní průběh mykobakterií se při spontánní infekci mykobakteriemi běžně nevyskytuje. Reakcí organismu na mykobakterie je vznik suppurativního zánětu s příznaky anorexie, dyspnoe, případně pneumonie. Nekrotické oblasti jsou vyplněny exsudátem obsahujícím velké množství extracelulárně uložených acido-alko-

kohol-rezistentních bakterií a heterofilních granulocytů. Výskyt makrofágů a fibroplazie je při tomto průběhu mykobakteriálních infekcí minimální (Brownstein, 1978).

Nejčastějším typem spontánního onemocnění je chronická forma. Charakteristickým rysem dlouhodobě probíhajícího onemocnění je granulomatózní zánět s tvorbou tuberkulů. Ty se skládají z centrální oblasti obsahující makrofágy s velkým počtem intracelulárně uložených acido-alkohol-rezistentních tyčinek. Okolní zóny jsou složeny z vřetenovitých histiocytů a retikulocytů. V pozdějším stadiu vývoje tuberkulů dochází k centrální kaseifikaci. Současně dochází rovněž k destrukci tuberkulu. Epiteloidní buňky představují převážnou část zánětlivé odpovědi chladnokrevných živočichů vůči mykobakteriím. Buňky Langhansova typu nebyly pozorovány u hadů, avšak byly nalezeny u želv a ještěrek (Thoen a Schliesser, 1984).

5.4. Onemocnění lidí způsobovaná podmíněně patogenními mykobakteriemi přenosem z poikilotermních obratlovců

Ústup klasické tuberkulózy a na druhé straně nárůst nepříznivých zevních faktorů, které se mohou uplatnit jako příčina snížení lokální nebo celkové obranyschopnosti lidského organismu, umožnily postupně v průběhu posledních 50 let daleko větší patogenetické uplatnění podmíněně patogenních mykobakterií v lidské populaci.

Jako etiologické agens mykobakterií se uplatňují zejména mykobakterie komplexu *M. avium-intracellulare*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. genavense* (Yates aj., 1993; Levine a Chaisson, 1991; Böttger aj., 1992; Zaugg aj., 1993; Siddigí aj., 1993). Uplatnění jednotlivých druhů souvisí s jejich přírodními rezervoáry.

5.5. Příčiny vzniku infekce u lidí podmíněně patogenními mykobakteriemi

Úzký kontakt s životním a pracovním prostředím, které je kontaminováno různými druhy podmíněně patogenních mykobakterií, rovněž také styk se zvířaty, jejich exkrementy a konzumace produktů rostlinné a živočišné produkce mohou být příčinou onemocnění postihujících jeden nebo více orgánů, případně vedoucí ke generalizaci onemocnění. Tato onemocnění se vyskytují zejména u osob se sníženou lokální nebo celkovou odolností, což může být příčinou různé lokalizace onemocnění. Poměrně časté jsou ovšem také případy krátkodobé nebo dlouhodobé kolonizace dýchacích cest některými mykobakteriálními druhy (*M. gordonae*, *M. xenopi*, *M. scrofulaceum*, *M. terrae*, *M. nonchromogenicum* aj.), které mohou činit problémy v diagnostice.

Kromě běžných faktorů, kterými je v současné době ovlivňován fyzický a psychologický stav člověka (znečištěné ovzduší a voda, kontakt se stále novými chemickými látkami, alergenem, rozšíření spektra a používání

léků s imunodepresivním účinkem, psychické stresové faktory moderní doby) vstupují v posledních letech další negativní faktory: nárůst incidence maligních onemocnění a pandemické působení virů HIV (human immunodeficiency viruses). V současné lékařské literatuře se stále častěji setkáváme u lidí onemocnělých AIDS (AIDS – acquired immunodeficiency syndrome, český ekvivalent: syndrom získaného selhání imunity) v důsledku onemocnění způsobujícího oslabení imunitního systému lidí se signifikantně vyšším procentem onemocnění vyvolaných klasickými mykobakteriemi, ale také i s nemocemi vyvolanými podmíněně patogenními mykobakteriemi (Berlin aj., 1984; Selwyn aj., 1989; Shafer aj., 1991; American thoracic society, 1992; Swetter aj., 1993). Onemocnění vyvolaná těmito mykobakteriemi jsou proto mnohem častěji diagnostikována u lidí s AIDS než u imunokompetentních pacientů (Parent aj., 1995; Monforte aj., 1995; Monno aj., 1996; Smith aj., 1996; Bonnet aj., 1996). U těchto osob je častější mimoplicní lokalizace onemocnění.

5.5.1. Zdroje podmíněně patogenních mykobakterií pro lidi od poikilotermních obratlovců a bezobratlých

Jako nejčastější zdroje onemocnění byly zjištěny kontakty pacientů s kontaminovanými rybami, rybími nádržemi, plaveckými bazény a akvárii (Street aj., 1991; Peters aj., 1995). Jsou označovány jako granulomy plaveckých bazénů, protože byly právě v těchto zařízeních tyto druhy podmíněně patogenních mykobakterií izolovány (Havelaar aj., 1985; Leite aj., 1988).

V některých případech byl zdroj infekce lidí později odhalen v souvislosti s různými činnostmi, kdy došlo k poezání při čištění akvária nebo při práci na zahradě. Některé mykobakteriální infekce souvisely také se zapíchnutím třísky a v jednom případě bylo jako příčina onemocnění označeno bodnutí hmyzem (Street aj., 1991).

U malého chlapce se zánětem očního víčka, který vznikl po poranění oka rybářským prutem, byla kultivačně prokázána přítomnost rychle rostoucích mykobakterií druhu *M. abscessus* (Klapper aj., 1995).

Řada autorů se zabývala izolací podmíněně patogenních mykobakterií ze vzorků odebraných ve vnějším prostředí ve vztahu ke vzniku onemocnění u lidí. Nejčastěji jsou popsána onemocnění v souvislosti s vodou. Řada autorů označila aerosol z užitkové i pitné vody jako pravděpodobný zdroj plicní mykobakterií, zejména původcem je *M. kansasii* (Pelikán aj., 1973; Medek aj., 1979; Kubín, 1980; Volák aj., 1980; Horák aj., 1980; Kaustová aj., 1981; Málková aj., 1982; Collins aj., 1984; Kaustová aj., 1995).

Jadin (1975), Pelletier aj. (1988), Šlosárek aj. (1987), Schulze-Röbbecke aj. (1989, 1992a, b), Kadlec a Horák (1990) a Šlosárek a Janota (1990) se zabývali kromě vlivu chlů-

ru a jiných chemických látek na snížení kontaminace pitné a užitkové vody podmíněně patogenními mykobakteriemi také vlivy, které umožňují osídlení vodovodních systémů mykobakteriemi i jinými mikroorganismy. K faktorům umožňujícím množení a přežívání patří podle jejich sdělení i možná úloha améb, které mohou zprostředkovat nejen přenos podmíněně patogenních mykobakterií ve vodovodním systému, ale také jejich ochranu vůči nepříznivým zevním fyzikálním a chemickým vlivům. Snížení rizika infekce z pitné a užitkové vody je možno dosáhnout omezením tvorby biofilmů, protože riziko onemocnění se zvyšuje v závislosti na množství aspirovaných mykobakteriálních životaschopných buněk. A právě tento biofilm ve vodovodním potrubí se následně stává zdrojem pomnožených druhů mykobakterií ve vodě, která je nosičem mykobakteriální infekce.

M. kansasii a *M. xenopi* jsou v literatuře uváděny také v souvislosti s nákazami v nemocničních zařízeních, zejména na resuscitačních jednotkách, kde přičinou je kontaminace vody.

Výskyt *M. chelonae* byl zjištěn také ve vzorcích získaných z bronchiálních výplachů od pacientů, kteří byli infikováni kontaminovanými přístroji při fibrooptické bronchoskopii (Wang aj., 1995). V souvislosti s hospitalizací a s chirurgickými výkony byla popsána i onemocnění vyvolaná jinými druhy podmíněně patogenních bakterií, např. *M. kansasii* (Fraser aj., 1975), *M. xenopi* (Wright aj., 1985; Fuchsová aj., 1990; Weber aj., 1989), *M. haemophilum* (Gouby aj., 1988).

Infekce mykobakteriemi se vyskytují také při transplantacích některých orgánů. Chronický zánět a stromální infiltrace v transplantátu rohovky byly projevem infekce *M. chelonae* (Aylward aj., 1987). Možná příčina onemocnění nebyla objasněna. Původce infekce mohl být přítomen v rohovce dárce již před počátkem operace nebo mohl být do organismu zavlečen prostřednictvím lékařských nástrojů. Rovněž mohlo dojít k infekci při nošení kontaktních čoček, které přišly do styku s nepřevařenou kontaminovanou vodou.

Jako zdroj infekce *M. kansasii* byla označena voda z potrubí kolonizovaná prvoky, kteří žijí v organickém biofilmu uvnitř vodovodního potrubí. V tomto biofilmu je schopen množení za příznivých podmínek i druh *M. kansasii* (Kaustová aj., 1981; Wright aj., 1985; Schulze-Röbbecke a Fischeder, 1989).

5.6. Klinické projevy infekce u lidí vyvolané podmíněně patogenními druhy

Následující část je proto věnována nejen popisu klinických projevů infekcí lidí vyvolanými podmíněně patogenními mykobakteriemi získanými od poiklotermních obratlovců, ale také nejčastějším zdrojům mykobakteriální infekce u literárně popsaných případů.

5.6.1. Charakteristika kožních mykobakteriálních onemocnění vyvolaných druhy *M. marinum* a *M. ulcerans*

Onemocnění vyvolaná *M. marinum*, projevující se většinou jako kožní verukózní léze na předlekcích místech horních a dolních končetin, vznikají nejčastěji v souvislosti s infekcí drobných poranění při plavání v kontaminovaných bazénech a bývají proto také označovány jako „swimming-pool diseases“ (Linell a Norden, 1954; Niedecken, 1984). K infekci může rovněž dojít při kontaktu s infikovanými rybami z vodních nádrží nebo s mořskými rybami; jsou popsány též infekce chovatelů akváriálních rybiček (Wendt aj., 1986; Clark aj., 1990).

Mykobakteriální infekci u lidí všech věkových kategorií nejčastěji předchází poranění se vznikem velkého, nehojlivého vředu především na dolních končetinách. Rovněž v místě primárního poranění se objevily lokální či široce rozšířené sekundární nekrózy. Kožní léze mohou být v některých případech prvním a také jediným příznakem onemocnění. Většinou jsou lokalizovány na loktech nebo kolenou. Street aj. (1991) studovali výskyt podmíněně patogenních mykobakterií u pacientů s kožními lézemi v průběhu let 1963 až 1988. Pozitivní nálezy byly zjištěny u osmi mužů a šesti žen, z nichž většina se vyznačovala oslabením imunitního systému organismu. Mezi příznaky onemocnění převládalo požití rukou. Nejčastěji byly z těchto lézí izolovány druhy *M. marinum* (v sedmi případech) a druhy komplexu *M. avium-intracellulare* (ve třech případech). U dalších čtyř pacientů byly zjištěny *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. ulcerans* a *M. kansasii*. Klinickými projevy byly uzlíky a vředy, které se vytvářely v místě pravděpodobného vstupu infekce. Některé záněty postihovaly nejen kůži, ale také slachy a kosti. V ojedinělých případech se onemocnění rozvinulo do generalizované podoby.

Mykobakteriální infekce byly popsány i u dětských pacientů se sníženou imunitou, kteří byli vystaveni působení mykobakterií z kontaminované sladké nebo slané vody, případně přišli do styku s infikovanou vodou v akváriích. Docházelo u nich ke vzniku různých dermatitid, osteomyelitid a bakteriemií, především s nálezem mykobakterií druhu *M. marinum* (Parent aj., 1995).

Někteří autoři, například Clothier a Balls (1973), uvažovali dokonce o vztahu mykobakteriální infekce v lidském organismu a tvorbou neoplazmat. Na základě experimentálních infekcí *M. marinum* drápatka (*Xenopus laevis*), u kterých se jim nepodařilo pokázat vliv onemocnění na vznik lymforetikulárního nádoru, a na základě anamnestických údajů tento vztah nepotvrdili. Mykobakteriální infekce při současném výskytu lidských nádorů je zřejmě jen doprovodným jevem pokročilého stavu, kdy je narušen imunitní systém pacientů.

Dalším mykobakteriálním druhem vyvolávajícím kožní ulcerativní a nekrotizující léze u člověka je

M. ulcerans. První onemocnění byla popsána v Ugandě. Toto onemocnění je také nazýváno „Morbus buruli“ podle místa prvních nálezů. Výskyt onemocnění byl později popsán i v Austrálii, Mexiku a na Nové Guineji (L u n n aj., 1965; R a d f o r d., 1975). K infekci dochází perkutánní inokulací, pravděpodobně po styku s tlejší vegetací v tropických a subtropických oblastech. Nevylučuje se však ani možná spoluúčast bodavého hmyzu a některých drobných zvířat.

5.6.2. Charakteristika onemocnění vyvolaných druhy komplexu *M. avium-intracellulare* a *M. scrofulaceum*

Zdrojem onemocnění vyvolaného druhem *M. avium*, případně *M. intracellulare*, může být nemocné zvíře, kontaminovaná půda, prach nebo voda. U dětí jsou častější krční lymfadenitidy a disseminovaná forma onemocnění. U dospělých osob je nejčastější lokalizace plicní, jsou však popsána rovněž onemocnění disseminovaná, urogenitální, kožní, hepatitidy, ulcerózní kolitidy, osteomyelitidy, mastoitidy, perikarditidy, meningitidy, infekce po transplantacích a hemodialýze, nosokomiální infekce a další. Onemocnění se vyskytují zejména v USA, Austrálii, Japonsku, ale také v evropských státech.

V USA jsou u HIV pozitivních osob nejčastějším přidruženým onemocněním infekce vyvolané podmíněně patogenními mykobakteriemi (Y o u n g., 1988; L o w e l l., 1988; H a v l i k aj., 1992). Česká republika je charakterizována jako oblast s nízkou prevalencí HIV (1,64 pozitivních osob na 10⁵ populace) a jako oblast s nízkou prevalencí tuberkulózy, protože v roce 1990 činila úmrtnost na tuberkulózu 0,8 osob na 10⁵ populace (K u b i n aj., 1990). Od roku 1986 do roku 1993 byl u nás sledován výskyt mykobakteriálních onemocnění u osob s HIV/AIDS. Z celkového počtu 45 osob s tímto onemocněním bylo zjištěno 10 případů spojených s mykobakteriální infekcí, z nichž devět pacientů byli muži ve věku 29 až 55 let a jedna žena ve věku 48 let. Pouze v jednom případě bylo jako původce tuberkulózy označeno *M. tuberculosis*. Ostatní pacienti byli infikováni podmíněně patogenními mykobakteriemi: *M. avium* u pěti osob, *M. kansasii* u dvou jedinců, *M. xenopi* u jednoho a *M. fortuitum* rovněž u jednoho pacienta (S t a ň k o v á aj., 1994).

M. scrofulaceum, skotochromogenní mykobakterium s ubikvitárním výskytem v přírodě, je popsáno jako etiologické agens plicních onemocnění i krčních a mesenterálních lymfadenitid (W a y n e., 1985; W o o d s a W a s h i n g t o n., 1987).

5.6.3. Charakteristika onemocnění vyvolaných *M. simiae*, *M. kansasii* a *M. xenopi*

Onemocnění vyvolaná *M. simiae*, u nichž byly popsány jako zdroj infekce opice a porosty mechů na Madagaskaru, mohou být lokalizována v plicích nebo kostech. Rovněž byla popsána i disseminovaná onemocnění (S c h r ö d e r aj., 1992).

Průměrně u 80 % pacientů, kteří mají v anamnéze rovněž i jiné onemocnění vyvolující se snížením lokální nebo celkové rezistence, dochází k uplatnění *M. kansasii* jako etiologického agens. *M. kansasii* může být rovněž příčinou kožních a urogenitálních onemocnění, byly popsány také artritidy, synovitidy, krční lymfadenitidy, osteomyelitidy a disseminované infekce po hemodialýze (H o r á k aj., 1980; K a u s t o v á aj., 1995).

Nejběžnějším onemocněním vyvolávaným *M. kansasii* jsou plicní infekce s chronickým onemocněním plic u starších lidí. Kožní infekce vyvolané těmito bakteriemi zahrnují verukózní papule, sporotrichoidní eruce, celulitidu, granulomatózní plaky, záněty a nekrózy (M e d e k aj., 1979; V o l á k aj., 1980; M á l k o v á aj., 1982).

Onemocnění plic vyvolaná *M. xenopi*, ve vztahu k jejich výskytu u užitkové vodě, popsali W r i g h t aj., 1985; H o r á k aj., 1986; S t e j s k a l a B u r j a n o v á., 1986; F u c h s o v á aj., 1990; K a d l e c a H o r á k., 1990; K a u s t o v á aj., 1993; Š l o s á r e k aj., 1993. Na rozdíl od infekcí *M. kansasii*, kde je podíl infikovaných a onemocnělých vyšší než 50 %, je u *M. xenopi* podíl infikovaných a onemocnělých podstatně nižší (méně než 10 %). Infekce však mají závažnější průběh a efekt léčby často neodpovídá poměrně dobré citlivosti na antituberkulotika i jiné antibakteriální léky prokazované *in vitro*. Také relapsy jsou poměrně časté. *M. xenopi* bylo popsáno nejen jako původce plicních, ale také disseminovaných onemocnění, lymfadenitid a epididymitidy.

5.6.4. Charakteristika onemocnění vyvolaných rychle rostoucími druhy mykobakterií

M. fortuitum a *M. chelonae* jsou popisovány nejčastěji jako příčina infekcí vznikajících v souvislosti s poraněním, nesterilně provedenými chirurgickými zákroky a s implantací kontaminovaných organických nebo umělých náhrad srdečních chlopní, mammaplastů a s transplantací ledvin. Zahraniční odborná literatura uvádí tyto druhy jako příčinu kožní, podkožní nebo fatální disseminované infekce po nesterilní aplikaci léků, jako příčinu komplikací u pacientů s dlouhodobě zavedenými katetry nebo umělými očními čočkami, u pacientů po hemodialýze nebo peritoneální dialýze (G r i f f i t h aj., 1993; L o w y aj., 1990; H o y aj., 1987; H e i r o n i m u s aj., 1984; D r a b i c k aj., 1990; W e n g e r aj., 1990; H a k i m aj., 1993; C a r s o n aj., 1988; K o l m o s aj., 1989).

Poděkování

Za cenné připomínky a poskytnutou literaturu bychom chtěli poděkovat Mgr. L. D v o r s k é, Mgr. P. Š v á s t o v é, MVDr. Z. V a s i l o v é a MVDr. J. J a h o d o v i. Za technickou spolupráci děkujeme panu J. H y k y š o v i a pracovnícím knihovny Výzkumného ústavu veterinárního lékařství paní A. M a š l a ň o v é, L. M u t y a b o v é a Z. G r e g o r o v é.

6. LITERATURA

- ABERNETHY, C. S. – LUND, J. E. (1978): Mycobacteriosis in mountain white-fish (*Prosopium williamsoni*) from the Yakima River, Washington. *Wildlife Dis.*, **14**, 333–336.
- ALLEN, B. W. (1987): Excretion of viable tubercle bacilli by *Blatta orientalis* (the oriental cockroach) following ingestion of heat-fixed sputum smears: a laboratory investigation. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **81**, 98–99.
- AMERICAN THORACIC SOCIETY (1992): Control of tuberculosis in the United States. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **146**, 1623–1633.
- AMLACHER, R. E. (1961): Taschenbuch der Fischkrankheiten. Jena, Gustav Fischer Verlag. 286 pp.
- ARAKAWA, C. K. – FRYER, J. L. – SANDERS, J. E. (1986): Serology of *Mycobacterium chelonae* isolated from salmonid fish. *J. Fish. Dis.*, **9**, 269–271.
- ARONSON, J. D. (1926): Spontaneous tuberculosis in salt-water fish. *J. Infect. Dis.*, **39**, 315–320.
- AYLWARD, G. W. – STACEY, A. R. – MARSH, R. J. (1987): *Mycobacterium chelonae* infection of corneal graft. *J. Ophthalmol.*, **71**, 690–693.
- BAKER, J. – HAGAN, W. (1942): Tuberculosis of Mexican platyfish (*Platycoecilus maculatus*). *J. Infect. Dis.*, **70**, 248–252.
- BANERJEE, R. – BANERJEE, B. D. – CHAUDHURY, S. – HATI, A. K. (1991): Transmission of viable *Mycobacterium leprae* by *Aedes aegypti* from lepromatous leprosy patients to the skin of mice through interrupted feeding. *Lepr. Rev.*, **62**, 21–26.
- BATAILLON, E. – TERRE, L. (1897): La form saprophytique de la tuberculose humaine et de la tuberculose aviaire. *Comp. Rend.*, **124**, 1399–1400.
- BATAILLON, E. – DUBARD, R. – TERRE, U. (1897): Un nouveau type de tuberculose. *C. R. Soc. Biol.*, **49**, 446–449.
- BEERWERTH, W. (1973): Mykobakterien in Viehränken und Oberflächengewässern. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, **80**, 398–401.
- BEERWERTH, W. – KESSEL, U. (1976): Aviäre Mykobakterien im Kot von Wild- und Zoovögeln. *Prax. Pneumol.*, **30**, 374–377.
- BEJŠOVEC, J. (1962): Rozšířování zárodků helmintů pasáží zaživacím traktem adekvátních pčenašců. *Českoslov. Parasitol.*, **9**, 95–109.
- BERLIN, O. G. W. – ZAKOWSKI, P. – BRUCKNER, D. A. – CLANCY, M. N. – JOHNSON, B. L. (1984): *Mycobacterium avium*: A pathogen of patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **2**, 213–218.
- BÍLÝ, S. – ŠTĚRBA, J. – DYKOVÁ, I. (1978): Results of an artificial feeding of eggs of *Taenia saginata* Goeze, 1782 to various beetle species. *Folia Parasitol.*, **25**, 257–260.
- BONNET, E. – MASSIP, P. – BAURIAUD, R. – ALRIC, L. – AUVERGNAT, J. C. (1996): Disseminated *Mycobacterium gordonae* infection in a patient infected with human immunodeficiency virus. *Clin. Infect. Dis.*, **23**, 644–645.
- BÖTTGER, E. C. – TESKE, A. – KISCHER, P. – BOST, S. – CHANG, H. R. – BEER, V. – HIRSCHER, B. (1992): Disseminated *Mycobacterium genavense* infection in patients with AIDS. *Lancet*, **340**, 76–80.
- BROWNSTEIN, D. G. (1978): Reptilian mycobacteriosis. In: MOUNTALI, R. J. (ed.): *Proc. Mycobacterial Infections in Zoo Animals*. Washington D.C. Smithsonian Institution Press, s. 265–268.
- CARSON, L. A. – BLAND, L. A. – CUSICK, L. B. – FAVERO, M. S. – BOLAN, G. A. – REINGOLD, A. L. – GOOD, R. C. (1988): Prevalence of nontuberculous mycobacteria in water supplies of hemodialysis centers. *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 3122–3125.
- CHINABUT, S. – LIMSUWAN, C. – CHANRATCHAKOL, P. (1990): Mycobacteriosis in the snakehead, *Channa striatus* (Fowler). *J. Fish Dis.*, **13**, 531–535.
- CLARK, R. B. – SPECTOR, H. – FRIEDMAN, D. M. – OLDRATI, K. Y. – YOUNG, C. L. – NELSON, S. C. (1990): Osteomyelitis and synovitis produced by *Mycobacterium marinum* in a fisherman. *J. Clin. Microbiol.*, **28**, 2570–2572.
- CLOTHIER, R. H. – BALLS, M. (1973): Mycobacteria and lymphoreticular tumors in *Xenopus laevis*, the South African clawed toad. *Oncology*, **28**, 445–457 et *ibid.* **28**, 458–480.
- COLLINS, C. H. – GRANGE, J. M. – YATES, M. D. (1984): Mycobacteria in water. *J. Appl. Bact.*, **57**, 193–211.
- CONROY, D. A. (1967): Tuberculosis of poikilotherms. *Fish Pathol. (Japan)*, **2**.
- COOPER, J. E. (1981): 6. Bacteria. In: COOPER, J. E. – JACKSON, O. F. (eds.): *Diseases of the Reptilia*. Vol. 1. London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco. Academic Press. 167–191.
- DIPEOLU, O. O. (1974): Field and laboratory investigations into the role of the *Musca species* in the transmission of *Taenia saginata* eggs in Nigeria. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, **21**, 209–214.
- DRABICK, J. J. – DUFFY, P. E. – SAMLASKA, C. P. – SCHERBENSKE, J. M. (1990): Disseminated *Mycobacterium chelonae* subspecies *chelonae* infection with cutaneous and osseous manifestations. *Arch. Dermatol.*, **126**, 1064–1067.
- DUIJN, C. Van (1967): *Diseases of Fishes*. London, Cox and Wyman Ltd., Reading and Fakenham. 309 pp.
- FOTEDAR, R. – BANERJEE, U. – SINGH, S. – VERMA, A.K. (1992): The housefly (*Musca domestica*) as a carrier of pathogenic microorganisms in a hospital environment. *J. Hospital Infect.*, **20**, 209–215.
- FRASER, D. W. – BUXTON, A. E. – NAJI, A. – BAKER, C. F. – RUDNICK, M. – WEINSTEIN, A. J. (1975): Disseminated *Mycobacterium kansasii* infection presenting as cellulitis in a recipient of a renal homograft. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **112**, 125–129.
- FRÖMMING, E. (1958): Die Rolle unserer Landschnecken bei der Stoffwandlung und Humusbildung. *Z. Angew. Zool.*, **45**, 341–350.
- FUCHSOVÁ, M. – ZIMA, Z. – HORÁK, Z. – KUBÍN, M. (1990): Nosokomiální výskyt *Mycobacterium xenopi* u hospitalizovaných nemocných. *Stud. Pneumol. Phthisiol. Cechoslov.*, **50**, 557–562.
- GOLYSHEVSKAYA, V. I. (1991): The role of coccoid ultrafine forms of mycobacteria in the transmission of the mycobacterial infection. *Pneumoftiziologia*, **40**, 11–13.
- GOODWIN, M. A. – WALTMAN, W. D. (1996): Transmission of *Eimeria*, viruses, and bacteria to chicks: darkling

- beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens. J. Appl. Poult. Res., 5, 51–55.
- GOUBY, A. – BRANGER, B. – OULES, R. – RAMUZ, M. (1988): Two cases of *Mycobacterium haemophilum* infection in a renal-dialysis unit. J. Med. Microbiol., 25, 299–300.
- GRIFFITH, D. E. – GIRARD, W. M. – WALLACE, R. J. Jr. (1993): Clinical features of pulmonary disease caused by rapidly growing mycobacteria. Am. Rev. Respir. Dis., 147, 1271–1278.
- HAKIM, A. – HISAM, N. – REUMAN, P. (1993): Environmental mycobacterial peritonitis complicating peritoneal dialysis: Three cases and review. Clin. Infect. Dis., 16, 426–431.
- 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. B, 180, 505–514.
- HAVLIK, J. A. – HORSBURG, C. R. – METCHOCK, B. – WILLIAMS, P. P. – FANN, S. A. – THONSON, S. E. (1992): Disseminated *Mycobacterium avium* complex infection: clinical identification and epidemiologic trends. J. Infect. Dis., 165, 577–580.
- HEIRONIMUS, M. J. D. – WINN, M. R. E. – COLLINS, C. B. (1984): Cutaneous nonpulmonary *Mycobacterium chelonae* infection. Arch. Dermatol., 120, 1061–1063.
- HEJLÍČEK, K. – TREML, F. (1993): Epizootologie a patogenéze aviární mykobakterií z hrdličky (*Streptopelia* sp.). Vet. Med.–Czech, 38, 619–628.
- HEJLÍČEK, K. – TREML, F. (1994): Epizootologie a patogenéze aviární mykobakterií racka chechtavého (*Larus ridibundus*). Vet. Med.–Czech, 39, 271–278.
- HEJLÍČEK, K. – TREML, F. (1995a): Srovnání patogenéze a epizootologického významu aviární mykobakterií různých druhů domestikovaných a volně žijících synantropních ptáků. Vet. Med.–Czech, 40, 187–194.
- HEJLÍČEK, K. – TREML, F. (1995b): Patogenéze aviární mykobakterií krocana domácího (*Melagrís gallopavo* f. *domestica*) a perličky domácí (*Numida melagrís* f. *domestica*). Vet. Med.–Czech, 40, 123–127.
- HEJLÍČEK, K. – TREML, F. (1995c): Patogenéze aviární mykobakterií husy domácí (*Anser anser* f. *domestica*) a kachny domácí (*Anas platyrhynchos* f. *domestica*). Vet. Med.–Czech, 40, 117–121.
- HORÁK, Z. – HÁLOVÁ, R. – ZEMANOVÁ, D. (1980): Plicní mykobakterií vyvolané *M. kansasii* u zaměstnanců chemických závodů a nálezy těchto mykobakterií ve vodě. Stud. Pneumol. Phtheol. Czechoslov., 40, 387–393.
- HORÁK, Z. – POLÁKOVÁ, H. – KRÁLOVÁ, M. (1986): Water-borne *Mycobacterium xenopi* – a possible cause of pulmonary mycobacteriosis in man. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol., 30, 405–409.
- HORVÁTHOVÁ, A. – KAZDA, J. – BARTL, J. – PAVLÍK, J. (1997): Výskyt podmínečně patogenních mykobakterií v prostředí a ich vplyv na živý organismus. Vet. Med.–Czech, 42, 191–212.
- HOY, J. F. et al. (1987): *Mycobacterium fortuitum* bacteremia in patients with cancer and long-term venous catheters. Am. J. Med., 83 (2), 213–217.
- ICHIYAMA, S. – SHIMOKATA, K. – TSUKAMURA, M. (1988): The isolation of *Mycobacterium avium* complex from soil, water, and dust. Microbiol. Immunol., 32, 733–739.
- IPPEN, R. (1964): Vergleichende pathologische Untersuchungen über die spontane und experimentelle Tuberkulose der Kaltblüter. Berlin, Akademie Verlag GmbH, 90 pp.
- JADIN, J. B. (1975): Amibes „Limax“ vecteurs possibles des mycobactéries et de *Mycobacterium leprae*. Acta Leprologica, 59–60, 37–67.
- JAHNEL, J. (1940a): Spontaninfektionen mit säurefesten Stäbchen bei Fischen. Wien. Tierärztl. Mschr., 27, 289–302.
- JAHNEL, J. (1940b): Die Fischtuberkulose. Wschr. f. Aquarien- u. Terrarienk., 37, 317–321.
- JAHODA, J. – PAVLÍK, I. (1991): Mykobakterií plazů. In: Sbor. II. Konf. Veterinární problematika chovu plazů v zajetí. Brno, Vysoká škola veterinární, s. 29–38.
- JOHNSTONE, J. (1913): Disease conditions of fishes (Tubercular lesions in a cod). Rept. Lanc. Sea-Fish Lab., 21, 20–23.
- JURÁŠEK, V. – DUBINSKY, P. (1996): Veterinární parazitologie. Bratislava, Příroda, 382 s.
- KADLEC, V. – HORÁK, Z. (1990): Přežívání podmíněně patogenních mykobakterií přenášených měňavkami. Stud. Pneumol. Phtheol. Czechoslov., 50, 330–334.
- KAUSTOVÁ, J. – OLŠOVSKÝ, Ž. – KUBÍN, M. – ZATLOUKAL, O. (1981): Endemic occurrence of *Mycobacterium kansasii* in water-supply systems. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol., 25, 24–30.
- KAUSTOVÁ, J. – CHARVÁT, B. – MUDRA, R. – HOLENDOVÁ, E. (1993): Ostrava – A new endemic focus of *Mycobacterium xenopi* in the Czech Republic. Cent. Eur. J. Publ. Hlth, 1, 35–37.
- KAUSTOVÁ, J. – CHMELÍK, M. – ETTLOVÁ, D. – HUDEC, V. – LAZAROVÁ, H. – RICHTROVÁ, S. (1995): Disease due to *Mycobacterium kansasii* in the Czech Republic: 1984–89. Tuberc. Lung. Dis., 76, 205–209.
- KAZDA, J. – HOYTE, R. (1972): Zur Ökologie von *Mycobacterium intracellulare* serotype Davis. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A, 222, 506–509.
- 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 Moorbiotope für die Ökologie von Mykobakterien. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B, 165, 323–334.
- KAZDA, J. (1990): Acid-fast bacilli found in sphagnum vegetation of coastal Norway containing *Mycobacterium leprae* specific glycolipid. Int. J. Leprosy, 58, 353–358.
- KLAPPER, S. R. – PATRINELY, J. R. – KAPLAN, S. L. – FONT, R. L. (1995): Atypical mycobacterial infection of the orbit. Ophthalmology, 102, 1536–1541.
- KNOTEK, Z. (1993): Nemoci obojživelníků. Veterinářství, 43, 281–283.
- KNOTEK, Z. – ČÍZEK, A. – MODRÝ, D. – JAHODA, J. – PAVLÍK, I. (1992): Veterinární péče v chovu plazů IV – infekční nemoci. Veterinářství, 42, 179–182.
- KOLMOS, H. J. – BRAHM, M. – BRUUN, B. (1989): Peritonitis with *Mycobacterium fortuitum* in a patient on conti-

- nuous ambulatory peritoneal dialysis. *Scand. J. Infect. Dis.*, 24, 801–803.
- KUBÁLEK, I. – KOMENDA, S. (1995): Seasonal variations in the occurrence of environmental mycobacteria in potable water. *APMIS*, 103, 327–330.
- KUBÁLEK, I. – MYŠÁK, J. (1996): The prevalence of environmental mycobacteria in drinking water supply systems in a demarcated region in Czech Republic, in the period 1984–1989. *Eur. J. Epidemiol.*, 12, 471–474.
- KUBÍN, M. (1980): Ekologie potenciálně patogenních mykobakterií. *Stud. Pneumol. Phtiseol. Cechoslov.*, 40, 491–499.
- KUBÍN, M. – STAŇKOVÁ, M. – DOLEČKOVÁ, V. – HOROVÁ, B. – ŠLOSÁREK, M. (1990): Mycobacterioses associated with the Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). *Studia Pneum. Phtiseol. Cechoslov.*, 50, 699–708.
- 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. (Sao Paulo)*, 19, 354–359.
- LEVINE, B. – CHAISSON, R. E. (1991): *Mycobacterium kansasii*: a cause of treatable pulmonary disease associated with advanced human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.*, 114, 861–868.
- LINELL, F. – NORDEN, A. (1954): *Mycobacterium balnei*: new acid-fast bacillus occurring in swimming-pools and capable of producing skin lesions in humans. *Acta Tuberc. Scand. (Suppl.)*, 33, 1–84.
- LONC, E. (1980): The possible role of the soil fauna in the epizootology of cysticercosis in cattle. I. Earthworms – the biotic factor in a transmission of *Taenia saginata* eggs. *Angew. Parasitol.*, 21, 133–139.
- LOWELL, S. Y. (1988): *Mycobacterium avium complex* infection. *J. Infect. Dis.*, 157, 863–867.
- LOWRY, P. W. – BECK-SAGUE, C. M. – BLAND, L. A. – AGUERO, S. M. – ARDUINO, M. J. – MINUTH, A. N. – MURRAY, R. A. – SWENSON, J. M. – JARVIS, W. R. (1990): *Mycobacterium chelonae* infection among patients receiving high-flux dialysis in a hemodialysis clinic in California. *J. Infect. Dis.*, 161, 85–90.
- LÜFTENEGGER, K. (1982): Zur Vorkommen und zur Lebensweise von Weidefliegen an Rindern im Lungau (Salzburg). *Wien. Tierärztl. Mschr.*, 69, 259.
- LUNN, H. F. – CONNOR, D. H. – WILKS, N. E. – PARNLEY, G. R. – KAMONVY, F. – CLANCEY, J. K. – BEE, J. D. A. (1965): Buruli (mycobacterial) ulceration in Uganda. *E. Afr. Med. J.*, 42, 275.
- LYSENKO, O. (1958): Mikroflóra některých našich much. *Cechoslov. Mikrobiol.*, 3, 51–53.
- LYSENKO, O. – POVOLNÝ, D. (1961): The microflora of synanthropic flies in Czechoslovakia. *Folia Microbiol.*, 6, 27–32.
- MACHICAO, N. – LA PLACA, E. (1954): Lepra-like granulomas in frogs. *Lab. Invest.*, 3, 219–227.
- MÁLKOVÁ, V. – KAUSTOVÁ, J. – DOLEŽEL, F. – LAZAROVÁ, H. – ETTLOVÁ, D. (1982): Studie výskytu onemocnění vyvolaných *Mycobacterium kansasii* v Severomoravském kraji v letech 1971 až 1980. *Stud. Pneumol. Phtiseol. Cechoslov.*, 42, 225–233.
- MARCUS, L. C. (1981): *Veterinary Biology and Medicine of Captive Amphibians and Reptiles*. Philadelphia, Lea and Febiger.
- MARCUS, L. C. – STOTTMEIER, K. D. – MORROW, R. H. (1975): Experimental infection of Anole lizards (*Anolis carolinensis*) with *Mycobacterium ulcerans* by the subcutaneous route. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 24, 649–655.
- MEDEK, B. – KUBÍN, M. – HUDEC, V. – CHOBOT, S. – OLŠOVSKÝ, Z. – PELIKÁN, M. – RICHTRVÁ, S. – ŠVANDOVÁ, E. – MALIS, J. (1979): Endemický výskyt onemocnění vyvolaných *M. kansasii* v karvinské průmyslové aglomeraci. *Čas. Lék. Českoslov.*, 118, 307–314.
- MEISSNER, G. – ANZ, W. 1977: Sources of *Mycobacterium avium* complex infection resulting in human diseases. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 116, 1057–1064.
- MONFORTE, A. D. – GORI, A. – VAGO, L. – FRANZETTI, F. – ANTINORI, S. – MORONI, R. – ESPOSITO, R. (1995): Atypical mycobacterial disease findings at autopsy in a cohort of 350 AIDS patients in Italy. *J. Infect. Dis.*, 172, 901.
- MONNO, L. – CARBONARA, S. – COSTA, D. – APPICE, A. – ROLLO, M. – COPPOLA, S. – ANGARANO, G. (1996): Cerebral lesions in two patients with AIDS: The possible role of *Mycobacterium kansasii*. *Clin. Infect. Dis.*, 22, 1130–1131.
- MÜLLER, J. – KAZDA, J. (1988): Zum Vorkommen von Mykobakterien in der Sphagnum-Vegetation von Paramo-Moore Südkolumbiens. *Telma (Hannover)*, 17, 221–229.
- MÜLLER, J. – MÜLLER, K. – KAZDA, J. – SCHRÖDER, K. H. (1991): Zum Vorkommen von Mykobakterien in der Sphagnum-Vegetation von Madagaskar. *Telma (Hannover)*, 21, 213–219.
- MUŠKA, M. (1987): Sezónní dynamika synbovilních much (*Diptera: Muscidae*) během pastevního období v lokalitě Jarov. *Vet. Med. (Praha)*, 32, 681–688.
- NARAYANAN, E. – SREEVATSA, R. A. D. – KIRCHHEIMER, W. F. – BEDI, B. M. (1978): Persistence and distribution of *Mycobacterium leprae* in *Aedes aegypti* and *Culex fatigans* experimentally fed on leprosy patients. *Lepr. India*, 50, 26–37.
- NIEDECKEN, H. W. (1984): Das Schwimmbadgranulom – eine atypische Mykobakteriose. *Hautarzt*, 35, 373–376.
- NIGRELLI, R. F. – VOGEL, H. (1963): Spontaneous tuberculosis in fishes and in other cold-blooded vertebrates with special reference to *Mycobacterium fortuitum* Cruz from fish and human lesions. *Zoologica (New York)*, 48, 131.
- NOGA, E. J. – WRIGHT, J. F. – PASARELL, L. (1990): Some unusual features of mycobacteriosis in the cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *J. Comp. Pathol.*, 102, 335–344.
- NUORTEVA, P. (1959): Studies on the significance of flies in the transmission of poliomyelitis. *Ann. Entomol. Fennici*, 25, 121–162.
- OSTAŠOV, S. N. (1956): Muchi – přenašeči infekcionnych zabojevanij sel'skochozjajstvennych životnych. *Veterinarija*, 33, 75–76.
- PARENT, L. J. – SALAM, M. M. – APPELBAUM, P. C. – DOSSETT, J. H. (1995): Disseminated *Mycobacterium ma-*

- rinum* infection and bacteremia in a child with severe combined immunodeficiency. Clin. Infect. Dis., 21, 1325–1327.
- PARISOT, T. J. (1958): Tuberculosis of fish. A review of the literature with a description of the disease in salmonoid fish. Bact. Rev., 22, 240–245.
- PAVLAS, M. – PATLOKOVÁ, V. (1985): Occurrence of mycobacteria in sawdust, straw, hay and their epizootological significance. Acta Vet. (Brno), 54, 85–90.
- PELIKÁN, M. – MIKOVÁ, Z. – KAUSTOVÁ, J. – KUBÍN, M. (1973): Aerosol z užitkové vody jako pravděpodobný faktor přenosu při infekci atypickými mykobaktériemi. Českoslov. Hyg., 18, 316–323.
- PELLETIER, P. A. – DU MOULIN, G. C. – STOTTMEIER, K. D. (1988): Mycobacteria in public water supplies: comparative resistance to chlorine. Microbiol. Sci., 5, 147–148.
- PETERS, M. – MULLER, C. – RUSCHGERDES, S. – SEIDEL, C. – GOBEL, U. – POHLE, H. D. – RUF, B. (1995): Isolation of atypical mycobacteria from tap water in hospitals and homes: Is this a possible source of disseminated MAC infection in AIDS patients? J. Infect., 31, 39–44.
- POVOLNÝ, D. (1974): Střevní infekce a mouchy. Vesmír, 53, 77–80.
- RADFORD, A. J. (1975): *Mycobacterium ulcerans* in Australia. Aust. N. J. Med., 5, 162–169.
- REICHENBACH-KLINKE, H. – ELKAN, E. (1965): The principal diseases of lower vertebrates. New York, Academic Press, 398 pp.
- RHODIN, A. G. – ANVER, M. R. (1977): Mycobacteriosis in turtles: Cutaneous and hepatosplenic involvement in a *Phrynosoma hilari*. J. Wild. Dis., 13, 180–183.
- ROBERTS, R. J. (1975): Melanin-containing cells of teleost fish and their relation to disease. In: RIBELIN, W. E. – MIGAKI, G. (eds.): The Pathology of Fishes. Madison, University of Wisconsin Press, s. 399–428.
- ROSS, A. J. (1970): Mycobacteriosis among Pacific salmonid fishes. In: Symp. Diseases of Fishes and Shellfishes. Snieszko, S. F. (ed.), Washington, American Fisheries Society, pp. 279–283.
- ROSYPAL, S. – HODÁK, K. – MARTINEC, T. – KOCUR, M. (1981): Obecná bakteriologie. Praha, SPN, 749 s.
- RUPPRECHT, J. (1904): Über säurefeste Bazillen nebst Beschreibung eines Falles von spontaner Froschtuberkulose. [Inaugurations Dissertation.] Freiburg.
- SCHLIESSER, T. H. (1965): Infektionen bei Tieren mit „atypischen“ Mykobakterien der Gruppen I, II and IV nach Runyon. Prax. Pneumol., 19, 544–550.
- SCHRÖDER, K. H. – KAZDA, J. – MÜLLER, K. – MÜLLER, H. J. (1992): Isolation of *Mycobacterium simiae* from the environment. Zbl. Bakt., 277, 561–564.
- SCHULZE-RÖBBECKE, R. – BUCHHOLTZ, K. (1992): Heat susceptibility of aquatic mycobacteria. Appl. Envir. Microbiol., 58, 1869–1873.
- SCHULZE-RÖBBECKE, R. – FISCHER, R. (1989): Mycobacteria in biofilms. Zbl. Hyg., 188, 385–390.
- SCHULZE-RÖBBECKE, R. – JANNING, B. – FISCHER, R. (1992): Occurrence of mycobacteria in biofilm samples. Tuberc. Lung. Dis., 73, 141–144.
- SELWYN, P. A. – HARTEL, D. – LEWIS, V. A. (1989): A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. N. Engl. J. Med., 320, 545–550.
- SHAFER, R. W. – CHIRGWIN, K. D. – GLATT, A. E. – DAHDOUH, M. A. – LANDESMAN, S. H. – SUSTER, B. (1991): HIV prevalence, immunosuppression and drug resistance in patients with tuberculosis in an area endemic for AIDS. AIDS, 5, 399–405.
- SHIVELY, J. N. – SONGER, J. G. – PRCHAL, S. – KEASEY, M. – THOEN, C. O. (1981): *Mycobacterium marinum* infection in *Bufo* spp. J. Wildlife Dis., 17, 3–7.
- SIBLEY, W. K. (1889): Über Tuberkulose bei Wirbeltieren. Virchows Arch. Pathol. Anat., 116, 104–115.
- SIDDIGI, S. H. – LASZLO, A. – BUTLER, W. R. – KILBURN, J. O. (1993): Bacteriologic investigation of unusual mycobacteria isolated from immunocompromised patients. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 16, 321–323.
- SMITH, M. B. – BOYARS, M. C. – WOODS, G. L. (1996): Fatal *Mycobacterium fortuitum* meningitis in a patient with AIDS. Clin. Infect. Dis., 23, 1327–1328.
- SNEATH, P. H. (1986): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, 1. ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 1599 s.
- SNYDER, R. L. (1978): Historical aspects of tuberculosis in the Philadelphia Zoo. In: Proc. Symp. Mycobacterial Infections in Zoo Animals. MONTALI, R. J. (ed.), Washington, D.C., Smithsonian Institution Press, 33–44.
- SOEFFING, K. (1988): The importance of mycobacteria for the nutrition of larvae of *Leucorhinia rubicunda* L. (*Anisoptera: Libellulidae*). Odonatologica, 13, 227–233.
- SOEFFING, K. (1990): Verhaltensökologie der Libelle *Leucorhinia rubicunda* L. unter besonderer Berücksichtigung nahrungsökologischer Aspekte. Diss. Univ. Hamburg.
- SOEFFING, K. – KAZDA, J. (1993): Die Bedeutung der Mykobakterien im Torfmoosrasen bei der Entwicklung von Libellen in Moorgewässern. Telma (Hannover), 23, 261–269.
- SREEVATSA, G. B. K. – IPE, I. M. – DESIKAN, K. V. (1992): Can sandflies be the vector for leprosy? Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis., 60, 94–96.
- STAŇKOVÁ, M. – ROZSYPAL, H. – KUBÍN, M. – ŠLO-SÁREK, M. – HOROVÁ, B. – BRŮČKOVÁ, M. (1994): Mycobacterial infections in patients with AIDS in a low HIV prevalence area. Centr. Eur. J. Publ. Hlth., 2, 100–102.
- STEJSKAL, J. – BURJANOVÁ, B. (1986): Epidemický výskyt ochorení vyvolaných *Mycobacterium xenopi*. Stud. Pneumol. Phthiscol. Czechoslov., 46, 275–279.
- STREET, M. L. – UMBERT-MILLET, I. J. – ROBERTS, G. D. – SU, W. P. D. (1991): Nontuberculous mycobacterial infections of the skin. J. Am. Acad. Dermatol., 24, 208–215.
- SUPPERER, R. – HEIMBUCHER, J. (1982): Zur Biologie und Bekämpfung der Stallfliegen in Rinder- und Schweineställen. Wien. Tierärztl. Mschr., 69, 229–236.
- SWETTER, S. M. – KINDEL, S. E. – SMOLLER, B. R. (1993): Cutaneous nodules of *Mycobacterium chelonae* in an immunosuppressed patient with preexisting pulmonary colonization. J. Am. Acad. Dermatol., 28, 352–355.
- ŠLOSÁREK, M. – JANOTA, J. (1990): Účinnost voděrenského procesu na odstranění podmíněně patogenních mykobakterií. Vod. Hospod., 1, 40–42.

- ŠLOSÁREK, M. – JANOTA, J. – MAIXNER, J. – ČÍŽIN-
SKÁ, S. (1987): Výskyt mykobakterií v systému mecha-
nicko-biologické čistírny odpadních vod SEPAŠ Štětí. Vod.
Hospod. (B), 37, 183–185.
- ŠLOSÁREK, M. – KUBÍN, M. – JAREŠOVÁ, M. (1993):
Water-borne household infections due to *Mycobacterium xenopi*. Centr. Eur. J. Publ. Hlth., 1, 78–80.
- ŠLOSÁREK, M. – KUBÍN, M. – POKORNÝ, J. (1994):
Water as a possible factor of transmission in mycobacterial
infections. Centr. Eur. J. Publ. Hlth., 2, 103–105.
- TERRE, L. (1902): Essai sur la tuberculose des vertébrés
à sang froid. Étude de pathologie expérimentale et comparée.
These. Lyon. Zbl. Bakt. Parasitenk. Abt. I, Ref., 33, 210.
- TESCHNER, D. (1958): Die Dipterenfauna an menschlichen
Fäkalien. Z. Angew. Zool., 45, 153–199.
- THOEN, CH. O. – SCHLIESSER, T. A. (1984): Mycobac-
terial infections in cold-blooded animals. In: KUBICA, G. P.
– WAYNE, L.G. (eds.): The Mycobacteria. Part B. New
York and Basel, s. 1297–1311.
- TOLSTJAK, I. E. (1956): Peredača roži sviněj čerez ukus
muchi-žigalki. Veterinarija, 33, 73–75.
- TORTOLI, E. – BARTOLONI, A. – BOZZETTA, E. – BUR-
RINI, C. – LACCHINI, C. – MANTELLA, A. – PENATI,
V. – SIMONETTI, M. T. – GHITTINO, C. (1996): Identifi-
cation of the newly described *Mycobacterium poriferæ* from
tuberculous lesions of snake-head fish (*Channa striatus*).
Comp. Immunol., Microbiol. Infect. Dis., 19, 25–29.
- VASILOVÁ, Z. (1988): Záchyt atypických mykobaktérií
u akvarijných ryb. In: Sborník z odborného semináře mladých
pracovníků veterinární laboratorní a klinické diagnostiky.
Praha, 7.–8. 9. 1988. ÚSVU, s. 11–12.
- VILÁGIOVÁ, I. – PETKO, B. (1994): Synantropné muchy
(Diptera) urbánu a suburbánu Košic. Slov. Vet. Čas., 19,
126–128.
- VOLÁK, J. – HERLÍK, J. – KOS, S. – JIRÁSEK, J. (1980):
Výskyt onemocnění vyvolaných *Mycobacterium kansasii*
v o.p. Škoda v Plzni a na ostatním území města Plzně. Stud.
Pneumol. Phtiseol. Czechoslov., 40, 462–467.
- WANG, H. C. – LIAW, Y. S. – YANG, P. C. – KUO, S. H.
– LUH, K. T. (1995): A pseudoepidemic of *Mycobacterium chelonæ*
infection caused by contamination of a fiberoptic
bronchoscope suction channel. Eur. Respir. J., 8, 1259–1262.
- WAYNE, L.G. (1985): The „Atypical“ mycobacteria. Recog-
nition and disease association. Crit. Rev. Microbiol., 12,
185–222.
- WEBER, J. – METTANG, T. – STAERZ, E. – MACHLE-
IDT, K. U. (1989): Pulmonary disease due to *Mycobacterium xenopi*
in a renal allograft recipient. Rev. Infect. Dis., 11,
964–969.
- WELLMANN, G. (1955): Die Übertragung der Schweinerot-
laufinfektion durch die Stubenfliege (*Musca domestica*). Zbl.
Bakt. I. Orig., 162, 261–264.
- WENDT, J. R. – LAMM, R. D. – ALTMAN, D. I. et al.
(1986): A usually aggressive *Mycobacterium marinum* hand
infection. J. Hand. Surg., 11A, 753–755.
- WENGER, J. D. – SPIKA, J. S. – SMITHWICK, R. W. – et
al. (1990): Outbreak of *Mycobacterium chelonæ* infection
associated with use of jet injectors. JAMA, 18, 373–376.
- WOLKE, R. E. (1975): Pathology of bacterial and fungal
diseases affecting fishes. In: RIBELIN, W. E. – MIGALI, G.
(eds.): The Pathology of Fishes. Madison, Wisconsin, Uni-
versity of Wisconsin Press, s. 33–116.
- WOLKE, R. E. – STROUD, R. K. (1978): Piscine mycobac-
teriosis. In: Proc. Symp. Mycobacterial Infections in Zoo
Animals. MONTALI, R. J. (ed.). Washington D.C., Smith-
sonian Institution Press, s. 269–275.
- WOOD, J. W. – ORDAL, E. J. (1958): Tuberculosis in Pa-
cific salmon and steelhead trout. Oreg. Fish Comm. Contrib.,
25, 1.
- WOODS, G. L. – WASHINGTON, J. A. (1987): Mycobac-
teria other than *Mycobacterium tuberculosis*: Review of mic-
robiologic and clinical aspects. Rev. Infect. Dis., 9, 275–294.
- WRIGHT, E. P. – COLLINS, C. H. – YATES, M. D. (1985):
Mycobacterium xenopi and *Mycobacterium kansasii* in a hos-
pital water supply. J. Hosp. Infect., 6, 175–178.
- YATES, M. D. – POZNIAK, A. – GRANGE, J. M. (1993):
Isolation of mycobacteria from patients seropositive for the
human immunodeficiency virus (HIV) in south-east England:
1984–92. Thorax, 48, 990–995.
- YOUNG, L. S. (1988): *Mycobacterium avium* complex infec-
tion. J. Infect. Dis., 157, 863–867.
- ZAUGG, M. – SALFINGER, M. – OPRAVIL, M. – LÜTHY,
R. (1993): Extrapulmonary and disseminated infections due
to *Mycobacterium malmoense*: Case Report and Review.
Clin. Infect. Dis., 16, 540–549.

Received: 97–11–12

Accepted after correction: 98–01–21

Kontakní adresa:

L. Mátllová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno, Česká republika
Tel. +420 5 41 32 12 41, fax +420 5 41 21 12 29, e-mail: kahr@vuvel.anet.cz

THE IMPORTANCE OF SCIENTIFIC PUBLICATIONS IS INCREASING

The significance of national scientific journal is very important if the demands on its authors are comparable to those common in the international periodicals. For this reason an exacting peer review of manuscripts is necessary. Publishing the papers in English is important not only for the distribution of information but for the possibility to use reviewers from abroad. The author is not defenceless against the reviewers' decision because he/she has the possibility either explain his/her statement or to publish the paper in another periodical. The importance of national journal lies especially in the rapidity of publishing research achievements.

The outcome of research result is usually its publication in a scientific periodical which decides, through a demanding peer review, whether the manuscript is suitable for publication without modifications or after being completed and improved. Such shortcomings as unsuitably-selected methods or incorrect experimental design cannot be corrected and lead to the rejection of the manuscript. The authors must express their opinion on the reports of the reviewers and state how they used it or why they disagree with the peer reviewers' points of view. If several reviewers assess the manuscript, the authors must provide an separate explanation for each review. The original manuscript is returned to the editor because the possibility of comparison between the original and the modified text facilitates the reviewers' work. The authors are seemingly defenceless against the reviewers' „arbitrary decisions“. However, the author has the right to defend his opinion and the responsible reviewer is usually capable of accepting justified arguments. In a well-managed periodical, the editorial board is able to determine whether the reviewer is biased against the author and to draw adequate conclusions. Anyway, the author always has the possibility for publishing his rejected paper in another periodical, thereby validating the correctness of his opinions.

The importance of a scientific periodical is often assessed by the response to the articles published in it. This response is, in our era of computing, expressed by the so-called impact factor. This criterion is being overestimated and repudiated uncritically. It is not suitable for comparison of completely different disciplines such as e.g. analytical chemistry and parasitology, or for comparison of periodicals differing greatly in their circulation and orientation as do the journals *Science* and the *Veterinární medicína* (Vet. Med. – Czech). The *Science* is a periodical which has been published for one hundred years, covering general problems of science and publishing top research achievements. It is publish-

ed in English which is today's principal language of international communication in the sphere of science. It has a high circulation because every library of importance and thousands of individuals subscribe to it. A national periodical with a circulation of 400 which publishes achievements of veterinary research cannot compete with such a rival.

Sometimes we are asked whether the publishing of a national periodical is of any importance. I am convinced that it is of great importance if the demands on its authors are comparable to those common in the international periodicals. For this reason an exacting peer review of manuscripts by its own as well as by reviewers from abroad is necessary. We are very much interested in publishing the papers in English, because it allows the manuscripts to be assessed by the reviewers from abroad, which has great significance for both the authors and for the periodical itself. The authors can increase the number of citations of own publications as well as the impact factor of the periodical by sending separate copies to their colleagues working on similar problems. A small circulation is not decisive for the spread of published information because titles and summaries of published papers are stated in various data bases, especially in the Current Contents (Agriculture, Biology and Environmental Sciences edition), and in the PubMed/MEDLINE data base which comprises information from nearly 4000 periodicals and which is accessible on the Internet (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>). This data base already includes nearly 2200 articles published in *Vet. Med. – Czech*. The most recent of them were published only two months ago, which means this source provides very updated information. Another source of information on our periodical can be found at the home page of the Veterinary Research Institute on the Internet (<http://www.clark.cz/vri>). Links to the Veterinary Research Institute web site can be found in most of the world www directories. The importance of the *Vet. Med. – Czech* periodical does not lie in the size of its circulation but in the rapidity of publishing research achievements, which is influenced especially by the quality of received essays. If manuscripts need not be revised, they can be published within 3 to 6 months.

The question concerning the worth of publishing the *Vet. Med. – Czech* periodical also calls for an explanation of its worth for the Czech professional readership. Original experimental studies must allow for assessment of their attainment and achievement, and they usually only attract the interest of specialists of the same discipline. The *Vet. Med. – Czech*, however, also

publishes concise review articles summarizing published information from some field and the authors' opinions on this topic. These articles provide information on new disciplines and methodological approaches which may be interesting for specialists working in research and in laboratory diagnostics, as well as for university teachers and undergraduate or graduate students. Therefore, we find it exceptionally valuable that The World Veterinary Association has awarded the Vet. Med. – Czech periodical a grant to support specialist education, which will enable us:

- to offer the annual subscription for our periodical to 100 students of the Veterinary and Pharmaceutical University of Brno at a reduced price
- to defray subscription of all members of the veterinary section of the Czech Academy of Agricultural Sciences who published in 1996 or 1997 (also as co-authors) at least one original experimental study or summary in the Vet. Med. – Czech or a periodical with a higher impact factor than this publication
- to provide the other members of the veterinary section with the reprints of review articles, information and contents of individual numbers of Vet. Med. – Czech free of charge.

This grant from the World Veterinary Association enables us to increase the number of copies financed by subscription and thus the periodical will approach its long-standing goal of becoming a member periodical of the veterinary section of the Czech Academy of Agricultural Sciences. The Vet. Med. – Czech periodical aims at promoting a higher professional level of students of the Veterinary and Pharmaceutical University by publishing achievements of original experimental works as well as summaries of literature with commentaries on important subjects of research and information on new disciplines and methodological trends, by diffusing information from research centres and reports from trips abroad, and by introducing a new section – „Glossary“ of terms used in the disci-

plines which influence significantly the development of knowledge of veterinary medicine. We have assigned the following people to the editing of this glossary: Dr. Milan Fránek, DrSc. (biochemistry), RNDr. Ivan Rychlík (molecular biology), Doc. MVDr. Miroslav Toman, CSc. (immunology), MVDr. Jiří Rubeš, CSc. (genetics), and RNDr. Olga Matoušková (statistics).

We would like to invite our authors, reviewers and readers to help us extend all the fields of information which the Vet. Med. – Czech periodical brings to its readers. We expect your original experimental papers, review articles, information from your laboratories and research centres, contributions to the „Glossary“ and letters to the editor. Your critical views, comments on the published articles or queries for terms you would like to find in the glossary would be of great help to us. If you have access to the INTERNET, you will find information on the Vet. Med. – Czech periodical at the URL address <http://www.clark.cz/vri/casopis.htm>. This home page will also enable you to get in touch with the editor („Ing.Z.Radosova“ editor@login.cz) and with the Veterinary Research Institute (kahr@vuvel.anet.cz).

Undergraduate and graduate students and members of the veterinary section of the Czech Academy of Agricultural Sciences can request the application forms for subscription at the Veterinary Research Institute in Brno (telephone +420 5 41 21 24 62, E-mail: kahr@vuvel.anet.cz). The colleagues which have not yet become members of the veterinary section can acquire subscription for the periodical in 1998 if they comply with the stated conditions and they join the section by completing the application form and by paying the member's fee. The applications can be got from the members of the section committee or at the Veterinary Research Institute in Brno. The number of subscribers with reduced subscription price for issues 7/1998 to 6/1999 is restricted; the date of submission of the application form is decisive for the granting of this subscription. The application forms will be accepted till 15th June 1998.

*Prof. MVDr. Karel Hruška, CSc.
Head of the Editorial Board*

VÝZNAM ODBORNÝCH PUBLIKACÍ VZRŮSTÁ

Výsledkem výzkumu je nejčastěji jeho publikace v odborném časopise, který náročným lektorským řízením rozhodne, zda je práce vhodná k uveřejnění bez úprav nebo po provedení požadovaných doplnění nebo upřesnění. Nevhodně zvolená metodika nebo nesprávně uspořádaný pokus nejdou opravit a vedou k odmítnutí práce. K připomínkám v lektorských posudcích se musí autoři vyjádřit a uvést jak byly uplatněny nebo proč s názorem lektora nesouhlasí. Pokud práci posuzovalo více lektorů, musí být odpovědi samostatně pro každého lektora. Původní rukopis se vrací redakci, protože možnost srovnání původního a upraveného textu usnadní práci lektorům. Bezbrannost autorů proti „zvůli“ lektorů je pouze zdánlivá. Autor má právo svůj názor zdůvodnit a odpovědný lektor je většinou schopný jeho oprávněné argumenty přijmout. Redakční rada časopisu je schopná posoudit, zda je lektor proti autorovi zaujatý a vyvodit z toho závěry. Autor má však vždy možnost uveřejnit odmítnutou práci v jiném časopise, a tím doložit správnost svých názorů.

Význam odborného časopisu je často posuzován podle toho, jaký ohlas mají práce v něm uveřejňované. Tento ohlas se v době výpočetní techniky vyjadřuje tzv. impakt faktorem. Toto kritérium bývá nekriticky uctíváno i zatracováno. Nehodí se k srovnávání zcela odlišných oborů, jako je např. analytická chemie a parazitologie, nebo časopisů tak rozdílných nákladů a zaměření, jako je Science a Veterinární medicína. Science je sto let vydávaný časopis pro obecné problémy vědy a pro uveřejňování vrcholných výsledků výzkumu, vycházející v angličtině, která je dnes hlavním jazykem mezinárodní komunikace ve vědě. Vychází ve velkém nákladu, protože je odebírán každou významnější knihovnou a tisíci individuálními předplatiteli. Národní odborný časopis, vycházející v nákladu 400 výtisků a uveřejňující výsledky veterinárního výzkumu, nemůže být s takovým konkurentem srovnáván.

Někdy dostáváme otázku, zda má vydávání národního časopisu vůbec význam. Jsem přesvědčen, že má význam značný, pokud se svými požadavky na autory vyrovná s nároky, které jsou běžné v časopisech mezinárodních. Proto je nutné náročné lektorské posouzení rukopisů nejen našimi, ale i zahraničními lektory. Máme velký zájem o uveřejňování prací v angličtině, protože to umožňuje posouzení rukopisů zahraničními lektory, což má pro autory i pro časopis velký význam. Autoři mohou přispět k zvýšení počtu citací svých publikací a k zvýšení impakt faktoru časopisu zasláním separátních výtisků kolegům, pracujícím na podobných problémech. Malý náklad není pro šíření uveřejněných informací rozhodující, protože názvy a souhrny uveřejněných prací jsou uváděny v různých databázích, zejména v Current Contents v řadě Ag-

riculture, Biology and Environmental Sciences a v databázi PubMed/ MEDLINE, zahrnující informace z téměř 4 000 časopisů a přístupné prostřednictvím Internetu (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>). V této databázi je již zařazeno téměř 2 200 článků uveřejněných v našem časopise. Poslední z nich vyšly před dvěma měsíci, takže tento zdroj poskytuje velmi aktuální informace. Další zdroj informací o našem časopise je na domácí stránce Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Internetu. Odkazy na ústav lze najít ve většině světových adresářů www veterinárních a výzkumných pracovišť. Význam časopisu Veterinární medicína proto nespočívá v jeho nákladu, ale v rychlosti uveřejňování výsledků, která je ovlivňována především kvalitou příspěvků. Pokud není nutné rukopisy upravovat, mohou být uveřejněny během tří až šesti měsíců, a proto začíná být časopis vyhledáván i zahraničními autory.

Odpověď na otázku, týkající se významu vydávání časopisu Veterinární medicína, vyžaduje však i vysvětlení jeho významu pro českou odbornou veřejnost. Původní experimentální práce musí umožňovat posouzení výsledků a způsobu jejich získání. Většinou však vyvolají zájem pouze pracovníků stejného zaměření. Ve Veterinární medicíně jsou však také uveřejňovány přehledné články, které shrnují publikované údaje a názory autorů na aktuální problémy veterinárního lékařství. Tyto články přinášejí informace o nových oborech a metodických přístupech, které mohou zajímat nejen pracovníky výzkumu a laboratorní diagnostiky, ale i vysokoškolské učitele a studenty řádného nebo postgraduálního studia. Proto považujeme za mimořádně významné, že World Veterinary Association udělila časopisu Veterinární medicína grant na podporu odborného vzdělávání, který umožní:

- nabídnout 100 studentům Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně roční předplatné časopisu za sníženou cenu 100 Kč
- uhradit předplatné v plné výši členům odboru veterinárního lékařství České akademie zemědělských věd, pokud v roce 1996 nebo 1997 uveřejnili (i jako spoluautoři) alespoň jednu původní experimentální práci nebo přehled ve Veterinární medicíně nebo v jiném časopise s vyšším impakt faktorem
- ostatním členům odboru veterinárního lékařství České akademie zemědělských věd poskytnout zdarma separáty přehledných článků, informací a obsah jednotlivých čísel časopisu.

World Veterinary Association umožní tímto grantem zvýšit počet vydávaných výtisků zajištěných předplatným a časopis se tak přiblíží svému dlouhodobému cíli stát se členským časopisem odboru veterinárního lékařství České akademie zemědělských věd. Časopis

Veterinární medicína chce přispět k zvyšování odborné úrovně studentů Veterinární a farmaceutické univerzity uveřejňováním výsledků nejen původních experimentálních prací, ale i přehledů literatury s komentovanými informacemi o důležitých tématech výzkumu a o nových oborech a metodických směrech, rozšířením informací z výzkumných pracovišť a z pracovních cest do zahraničí a zavedením nové rubriky „Výkladový slovník“ termínů používaných v oborech, které významně ovlivňují rozvoj poznatků ve veterinárním lékařství. Redakci slovníku byli pověřeni Dr. Milan Fránek, DrSc. (biochemie), RNDr. Ivan Rychlík (molekulární biologie), Doc. MVDr. Miroslav Toman, CSc. (imunologie), MVDr. Jiří Rubeš, CSc. (genetika) a RNDr. Olga Matoušková (statistika).

Vyzýváme naše autory, lektory i čtenáře, aby svými příspěvky pomohli obohatit všechny oblasti informací, které časopis Veterinární medicína svým čtenářům přináší. Očekáváme Vaše původní experimentální práce, přehledy literatury, informace z výzkumných pracovišť, příspěvky do výkladového slovníku i dopisy redakci. Pomohou nám i Vaše kritické připomínky, komentáře k uveřejněným článkům i dotazy na termíny, které byste

rádi našli ve slovníku. Pokud máte možnost přístupu do INTERNETU, najdete informace o časopisu Veterinární medicína na URL adrese <http://www.clark.cz/vri/ca-sopis.htm>. Tato domácí strana Vám usnadní i spojení s redakcí („Ing.Z.Radosova“ editor@login.cz) a s Výzkumným ústavem veterinárního lékařství (kahr@vu-vel.anet.cz).

Studenti řádného i postgraduálního studia a členové odboru veterinárního lékařství ČAZV si mohou vyžádat **příhlášku k zvýhodněnému předplatnému ve Výzkumném ústavu veterinárního lékařství v Brně (telefon +420 5 41 21 24 62, e-mail: kahr@vuvel.anet.cz)**. Kolegové, kteří nejsou dosud členy odboru veterinárního lékařství mohou v roce 1998 získat předplatné časopisu pokud splňují uvedené podmínky a stanou se členy odboru vyplněním přihlášky a úhradou členského příspěvku 100 Kč. Přihlášky lze získat u členů výboru odboru nebo rovněž ve Výzkumném ústavu veterinárního lékařství v Brně. Počet předplatitelů se zvýhodněným předplatným pro čísla 7/1998 až 6/1999 je omezen a pro získání této výhody je rozhodující datum podání přihlášky. Příjem přihlášek bude ukončen 15. června 1998.

*Prof. MVDr. Karel Hruška, CSc.
předseda redakční rady*

POKYNY PRO AUTORY

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

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

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelkem 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 dvojitě mezery). K rukopisu je vhodné přiložit disketu s textem práce, popř. s grafickou dokumentací pořízenou na PC s uvedením použitého programu. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Na zvláštním listě uvádí autor plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PŠC, 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.

CONTENTS

Kummer J., Mašková J., Zralý Z., Čanderle J., Věžník Z.: Histological and functional alterations in the endometrium of cows with persisting ovarian cysts (in English).....	97
Smýkalová Š., Kotrbová A., Trefil P.: Effect of busulphan on growth and development of the chicken embryos.....	105
SHORT COMMUNICATION	
Páčová Z., Urbanová E.: The first isolation of <i>Psychrobacter immobilis</i> from foods in the Czech Republic (in English).....	111
REVIEW ARTICLE	
Mátlová L., Fischer O., Kazda J., Kaustová J., Bartl J., Horváthová A., Pavlík I.: The occurrence of mycobacteria in invertebrates and poikilothermic animals and their role in the infection of other animals and man.....	115
INFORMATION	
Hruška K.: The importance of scientific publications is increasing.....	133

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

OBSAH

Kummer J., Mašková J., Zralý Z., Čanderle J., Věžník Z.: Histopatologické a funkční změny v endometriu krav s perzistujícími ovariálními cystami.....	97
Smýkalová Š., Kotrbová A., Trefil P.: Vliv busulphanu na růst a vývoj drůbežích embryí.....	105
KRÁTKÉ SDĚLENÍ	
Páčová Z., Urbanová E.: První izolace <i>Psychrobacter immobilis</i> z potravin v České republice.....	111
PŘEHLED	
Mátlová L., Fischer O., Kazda J., Kaustová J., Bartl J., Horváthová A., Pavlík I.: Výskyt mykobakterií u bezobratlých a poikilotermních živočichů a jejich význam při infekci zvířat a lidí.....	115
INFORMACE	
Hruška K.: Význam odborných publikací vzrůstá.....	135