

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

7

VOLUME 43
PRAHA
JULY 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. RNDr. h. c. Leopold Pospíšil, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

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

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

Jilové u Prahy, Czech Republic

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

Editor-in-Chief – Vedoucí 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).

ANTIBIOTIC RESISTANCE WITH BACTERIAL CAUSATIVE AGENTS ISOLATED FROM DAIRY COW MASTITIS

REZISTENCIA K ANTIBIOTIKÁM PRI BAKTERIÁLNYCH PŮVODCOCH IZOLOVANÝCH Z MASTITÍD DOJNÍC

M. Vasil

Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: During 1993–1997, the sensitivity to antibiotics was studied in 648 strains of the mastitis bacterial causative agents by the disk-agar diffusion test. Of them, *Streptococcus* sp. represented 40.4%, *Staphylococcus aureus* 21.3%, coagulase-negative staphylococci 15.7%, and other agents 22.5%. In 1995–97, there was a good sensitivity in the bacteria *Streptococcus* sp.: *Streptococcus dysgalactiae* showed 3.7% resistance against penicillin, oxacillin and chloramphenicol and 74% resistance against erythromycin and oxytetracycline; *Streptococcus uberis* showed 2.6% resistance against penicillin, oxacillin and oxytetracycline; „beta-hemolytic streptococci“ showed 1.9 % resistance against oxytetracycline and 3.7% resistance against penicillin, chloramphenicol, oxacillin and erythromycin. *Staphylococcus aureus* was well sensitive to oxacillin in 96.9% and to chloramphenicol, erythromycin and oxytetracycline in 95.3%, whereas it was highly resistant to penicillin (31.3%). Substantial improvement in chemosensitivity occurred in *Streptococcus uberis* at erythromycin (from 87.2% to 94.9%) and oxytetracycline (from 91.5% to 97.4%). A high resistance to tetracycline was recorded in *Escherichia coli* (28.6% and 26.1%) and *Pseudomonas aeruginosa* (42.9% and 30.4%). In 1995–1997, a pronounced decrease in the resistance, especially to oxacillin occurred in coagulase-negative staphylococci (from 19.3% to 8.3%), to erythromycin and oxytetracycline (from 10.5% to 4.2%). In *Corynebacterium pyogenes*, the resistance of 15.0% to penicillin and erythromycin as well as 20.0% to chloramphenicol is high. Our results have proved that the need for setting up surveys of the sensitivity of bacterial pathogens of mastitis to antibiotics, together with implementation of the principles of a rational therapy appears to be inevitable.

resistance and susceptibility to antibiotics; bacterial causative agents of mastitis; penicillin; chloramphenicol; oxacillin; erythromycin; oxytetracycline

ABSTRAKT: V priebehu rokov 1993 až 1997 bola agar-difúznym testom sledovaná citlivosť k antibiotikám na 651 kmeňoch bakteriálnych pôvodcov mastitíd, pričom 40,4 % tvorili baktérie s rodu *Streptococcus*, 21,3 % *Staphylococcus aureus*, 15,7 % koagulazo-negatívne stafylokoky a ostatní pôvodcovia predstavovali 22,5 %. V rokoch 1995 až 1997 v *Streptococcus dysgalactiae* vykázal 3,7% rezistenciu k penicilínu, oxacilínu a chloramfenikolu a 7,4% rezistenciu k erytromycínu a oxytetracyklínu, *Streptococcus uberis* vykázal 2,6% rezistenciu k penicilínu, oxacilínu a oxytetracyklínu a 5,1% rezistenciu k chloramfenikolu a erytromycínu, „betahemolytické streptokoky“ vykázali 1,9% rezistenciu k oxytetracyklínu a 3,7% rezistenciu k penicilínu, chloramfenikolu, oxacilínu a erytromycínu. *Staphylococcus aureus* bol dobre citlivý k oxacilínu v 96,9 % a v 95,3 % bol citlivý k chloramfenikolu, erytromycínu a k oxytetracyklínu, ale vysoko rezistentný k penicilínu (31,3 %). Podstatné zlepšenie citlivosti nastalo u *Streptococcus uberis* pri erytromycíne (z 87,2 na 94,9 %) a oxytetracyklíne (z 91,5 na 97,4 %). Vysoká rezistencia k tetracyklínu bola zaznamenaná pri *Escherichia coli* (28,6 a 26,1 %) a *Pseudomonas aeruginosa* (42,9 a 30,4 %). V rokoch 1995 až 1997 pri koagulazo-negatívnych stafylokokoch nastal významný pokles rezistencie najmä k oxacilínu (z 19,3 na 8,3 %), k erytromycínu a oxytetracyklínu (z 10,5 na 4,2 %). Rezistencia 15,0 % k penicilínu a erytromycínu, ako aj 20,0 % k chloramfenikolu u *Corynebacterium* spp. je vysoká. Výsledky dokazujú, že potreba zostavovania prehľadov citlivosti zárodok bakteriálnych pôvodcov mastitíd k antibiotikám v súčinnosti s uplatňovaním zásad racionálnej terapie sa javí ako nevyhnutnosť.

rezistencia a citlivosť k antibiotikám; bakteriálni pôvodcovia mastitíd; penicilín; chloramfenikol; oxacilín; erytromycín; oxytetracyklín

ÚVOD

Väčšina subklinických a klinicky zjavných foriem mastitíd je spôsobená bakteriálnymi pôvodcami, pričom ich zvládnutie je možné iba terapeuticky a to účin-

nou antimikrobiálnou terapiou (Thornsberry a i., 1997). Skutočnosť, že bakteriálni pôvodcovia sú schopní nadobúdať rezistenciu voči používaným antibiotikám nás núti sledovať jej vývoj. Citlivosť k deviatim antibiotikám u *Klebsiella* sp. a *E. coli* sa venujú

Nomura a i. (1994). Výskyt rezistencie pri 105 kmeňoch *Staphylococcus aureus* k 11 antibiotikám sledovali Aarestrup a i. (1995). Adesiyum (1995) sledoval citlivosť k antimikrobikám u 250 kmeňov *Staphylococcus aureus*, z ktorých bolo celkom rezistentných 85 (24,0 %) kmeňov, najviac rezistentných kmeňov bolo k penicilínu 59 (23,6 %) a ampicilínu 44 (17,6 %), pričom len tri (1,2 %) kmene vykazovali rezistenciu k methicilínu. Citlivosť k antibiotikám u *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *Klebsiella pneumoniae* a *E. coli* izolovaných zo subklinických mastitíd dojnic opisujú Adyn a i. (1995), pričom najviac izolátov bolo citlivých k enrofloxacinu, kanamycínu a gentamycínu. Messier a i. (1994) udávajú, že pri testovaní citlivosti k viacerým antibiotikám bol *Streptococcus agalactiae* 100,0% citlivý k erytromycínu a penicilínu. Honkanen-Buzalski a i. (1994) sledovali citlivosť k antibiotikám celkom u 168 kmeňov koagulazo-negatívnych stafylokokov, pričom väčšinu izolátov tvorili *Staphylococcus hyicus*, *S. simulans* a *S. epidermidis*. Vasil (1994) opisuje výskyt rezistencie za obdobie 1984 až 1992 u kmeňov *Staphylococcus aureus*, kolagulazo-negatívnych stafylokokov, *Streptococcus uberis*, *S. dysgalactiae*, *E. coli* a *Pseudomonas aeruginosa* izolovaných z mastitíd dojnic. Šimko a Bártko (1996) sa venujú výskytu rezistencie k antimikrobikám u kmeňov *Staphylococcus aureus* izolovaných z mastitíd oviec. Owens a i. (1997) sa venujú určeniu citlivosti k penicilínu a novobiocínu u kmeňov *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* sp., *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* izolovaných zo subklinických mastitíd dojnic. V súčasnosti takmer neexistuje antibiotikum, u ktorého nie je pri kmeňoch *Staphylococcus aureus* opísaná rezistencia (Vasil, 1995). Pri študovaní prác rôznych autorov (Havelka, 1975, 1976; Federič a i., 1977; Živ, 1980; Gedeck, 1984; Kotowski, 1991; Malinowski a i., 1992) venovaných výskytu rezistentných kmeňov k antibiotikám u bakteriálnych pôvodcov mastitíd môžeme konštatovať, že *Streptococcus* spp., čo sa týka nadobúdania rezistencie k antibiotikám, sú považované za menej plastické mikroorganizmy, ako napríklad *Staphylococcus aureus*, resp. zárodok z čeľade *Enterobacteriaceae*.

Cieľom práce bolo sledovať citlivosť, resp. rezistenciu bakteriálnych kmeňov pôvodcov mastitíd dojnic v chovoch, v ktorých sa vykonalo neselektívne ošetrovanie mliečnej žľazy antibiotikami a chemoterapeutikami pri poslednom dojení v laktácii, prípadne liečba klinicky zjavných foriem mastitíd počas laktácie.

MATERIÁL A METÓDA

Sledovaná bola citlivosť, resp. rezistencia 651 kmeňov majoritných a minoritných patogénnych zárodokov bakteriálnych pôvodcov mastitíd, ktoré boli izolované zo sekrétu mliečnej žľazy dojnic vyšetrených na výskyt

sekrečných porúch vemena v priebehu rokov 1993 až 1997 v rámci chovov na východnom Slovensku. Odber a spracovanie vzoriek boli vykonané podľa IDF, Bulletin No. 132 (1981). Agar-difúzný test citlivosti k piatim antibiotikám bol vykonaný podľa Bauer-Kirbyovej metódy (Bauer a i., 1966) na Miller-Hintonovom (MH) agare (Imunna, Š. Michafany) v Petriho miskách o priemere 90 až 100 mm a hrúbke 4 mm. Inokulum pre sledovanie citlivosti testovaných kmeňov patogénnych zárodokov k antibiotikám bolo pripravené podľa autorov Urbášková a i. (1985) tak, aby výsledný zákal zodpovedal hustote 0,5 McFarlandovej základovej stupnice. Inokulácia bola vykonaná rozterom za pomoci upravených sterilných vatových tampónov. Odčítanie výsledkov testov sa vykonalo po 18hodinovej inkubácii platní v termostate pri teplote 37 °C.

Kontrola kvality používaných pód a testačných diskov bola vykonaná podľa autorov Urbášková a i. (1985), a to referenčnými kmeňmi: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* CNCTC 133/71 a *Escherichia coli* CCM 3954. Posúdenie citlivosti k antibiotikám u jednotlivých sledovaných bakteriálnych kmeňov bolo vykonané na základe priemernej inhibičných zón opísaných autormi Owens a i. (1990) a Urbášková a i. (1985). Sledovanie citlivosti bolo vykonané u piatich antibiotík. Boli použité testačné antibiotické disky Lachema Brno, a to:

penicilín (PNC)	– 10 m.j.
chloramfenikol (CHF)	– 30 µg
oxytetracyklín (OTTE)	– 30 µg
oxacilín (OXAC)	– 1 µg
erytromycín (ERYT)	– 15 µg

Hodnotenie časovej dynamiky vývoja rezistencie analýzou početnosti výskytu rezistentných a citlivých kmeňov v sledovaných rokoch sme vykonali χ^2 testom (Červenka, 1975).

VÝSLEDKY

V tab. I je uvedený prehľad počtu vyšetrených vzoriek mlieka a bakteriologicky pozitívnych nálezov, ktoré pochádzali z chovov, v ktorých sa vykonávalo neselektívne ošetrovanie mliečnej žľazy antibiotikami pri poslednom dojení v laktácii, ale aj liečba mastitíd pri laktujúcich dojnicami. Z 2 346 vyšetrených vzoriek mlieka boli bakteriálni pôvodcovia izolovaní v 648 prípadoch. *Streptococcus* sp. boli izolované v 40,4 %, *Staphylococcus aureus* v 21,3 %, koagulazo-negatívne stafylokoky v 15,7 % a ostatní pôvodcovia tvorili 22,5 %. Porovnanie výskytu citlivých a rezistentných kmeňov v rokoch 1993 až 1994 a v rokoch 1995 až 1997 (tab. I) bolo štatisticky nevýznamné.

V tab. II je uvedený percentuálny výskyt rezistencie testovaných kmeňov v rokoch 1993 až 1994. Výsledky hovoria, že výskyt rezistentných kmeňov *Streptococcus uberis* pri erytromycíne a pri oxytetracyklíne je vyšší, pričom pri *Streptococcus dysgalactiae* a „betahemoly-

I. Prehľad počtu vyšetrených vzoriek mlieka a bakteriologických nálezov – The number of milk samples examined and bacteriological findings

Rok ¹	1993–1994		1995–1997		Celkom ²	
Počet vyšetrených vzoriek ³	1 248		1 098		2 346	
Počet bakteriologicky pozitívnych ⁴	351		297		648	
Počet rezistentných k antibiotikám ⁵	110		83		193	
Počet citlivých k antibiotikám ⁶	241		214		455	
Bakteriálny pôvodca ⁷	Počet kmeňov ⁸		Počet kmeňov ⁸		Počet kmeňov ⁸	
	Pozitívnych ⁹	Rezistentných ¹⁰	Pozitívnych ⁹	Rezistentných ¹⁰	Pozitívnych ⁹	Rezistentných ¹⁰
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	29	5	27	6	56	11
<i>Streptococcus uberis</i>	47	12	39	6	86	18
..Betahemolytické streptokoky ¹¹	66	9	54	6	120	15
<i>Staphylococcus aureus</i>	74	21	64	22	138	43
Koagulázo-negatívne stafylokoky ¹²	54	28	48	20	105	48
<i>Escherichia coli</i>	21	8	22	7	43	15
<i>Corynebacterium</i> spp.	25	9	20	6	45	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35	18	23	10	58	28

¹year, ²total, ³number of the samples examined, ⁴number of bacteriologically positive, ⁵number of resistant of antibiotics, ⁶number of sensitive to antibiotics, ⁷bacterial etiological agents, ⁸number of strains, ⁹number of positive, ¹⁰number of resistant, ¹¹„beta-haemolytical streptococci“, ¹²coagulase-negative staphylococci

II. Percentuálny výskyt rezistencie testovaných kmeňov (1993 až 1994) – Percentage of resistance of the strains tested (1993 to 1994)

Pôvodca ¹	Počet kmeňov ²	Výskyt rezistencie ³ (v %)				
		PNC	CHF	OXAC	ERYT	OTTE
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	29	3,5	3,5	3,5	6,9	6,9
<i>Streptococcus uberis</i>	47	4,3	2,1	4,3	12,8	8,5
..Betahemolytické streptokoky ⁴	66	6,1	1,5	4,6	4,5	1,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	74	24,3	4,1	4,1	2,7	5,4
Koagulázo-negatívne stafylokoky ⁵	57	35,1	5,3	19,3	10,5	10,5
<i>Escherichia coli</i>	21	–	14,3	–	–	28,6
<i>Corynebacterium</i> spp.	25	16	20,0	12,0	8,0	20,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35	–	34,9	–	–	42,9

¹agent, ²number, ³resistance occurrence, ⁴„beta-haemolytical streptococci“, ⁵coagulase-negative staphylococci

tických streptokokoch“ bola citlivosť dobrá. Dobrá citlivosť *Streptococcus* sp. k testovaným antibiotikám pretrvávala aj v ďalších rokoch, t.j. v rokoch 1995 až 1997 (tab. III), keď sme zaznamenali zlepšenie citlivosti u *Streptococcus uberis* pri erytromycíne a oxytetracyklíne. Pri *Staphylococcus aureus* bol výskyt rezistentných kmeňov v rokoch 1993 až 1994 voči penicilínu 24,3 %, ktorý v ďalších rokoch 1995 až 1997 stúpol na 33,4 % (tab. III). Nepriaznivý stav bol zaznamenaný vo výskyte kmeňov rezistentných k antibiotikám u *Pseudomonas aeruginosa* a *Escherichia coli*.

V tab. III je percentuálne vyjadrená frekvencia výskytu rezistencie testovaných kmeňov za posledné tri roky sledovania (1995 až 1997). Ako vyplýva z výsledkov, nastal pokles vo výskyte kmeňov patogénov rezistentných k testovaným antibiotikám, ale výskyt rezistentných kmeňov *Staphylococcus* sp. k penicilínu je vysoký. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a *Corynebacterium* spp. dokumentujú svoju slabú citli-

vosť k testovaným antibiotikám, podobne ako aj v prechádzajúcich rokoch, a to i napriek tomu, že u kmeňov *Escherichia coli* bol výskyt rezistencie k chloramfenikolu len 8,7 %.

DISKUSIA

Získané výsledky rezistencie k penicilínu a ďalším sledovaným antibiotikám sa pri *Staphylococcus aureus* do značnej miery zhodujú s výsledkami, ktoré dosiahli Havelka (1975, 1976), Federič a i. (1988) a Vasil (1992), pričom Malinowski a i. (1992) pri *Staphylococcus aureus* udávajú 48,6% rezistenciu k penicilínu a Šimko a Bártko (1996) udávajú až 60,0% výskyt rezistentných kmeňov *Staphylococcus aureus* k penicilínu, keď tieto izolovali z klinicky zjavných mastitíd oviec.

Pôvodca ¹	Počet kmeňov ²	Výskyt rezistencie ³ (v %)				
		PNC	CHF	OXAC	ERYT	OTTE
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	27	3,7	3,7	3,7	7,4	7,4
<i>Streptococcus uberis</i>	39	2,6	5,1	2,6	5,1	2,6
„Betahemolytické streptokoky“ ⁴	54	3,7	3,7	3,7	3,7	1,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	64	31,3	4,7	3,1	4,7	4,7
Koagulázo-negatívne stafylokoky ⁵	48	33,4	6,2	8,3	4,2	4,2
<i>Escherichia coli</i>	22	–	8,7	–	–	26,1
<i>Corynebacterium</i> spp.	20	15,0	20,0	5,0	15,0	5,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	–	34,8	–	–	30,4

¹agent, ²number, ³resistance occurrence, ⁴„beta-haemolytické streptokoky“, ⁵coagulase negative staphylococci

Ak berieme do úvahy, že stav vo výskyte rezistencie kmeňov *Streptococcus* spp., pokiaľ nepresiahne 10,0% úroveň, je možné v súlade s dlhodobými prehľadmi citlivosti považovať za bežný (Vasiľ a Federič, 1990), potom prezentované výsledky citlivosti k antibiotikám pri *Streptococcus* spp. umožňujú konštatovať, že táto je u daných patogénov relatívne dobrá.

Kotowski (1991) udáva pri 24 kmeňoch *Streptococcus agalactiae* izolovaných z klinických mastitíd dojnic citlivosť k penicilínu 91,7 %, ďalej u streptomycínu 50,0% citlivosť, u oxytetracyklínu 62,5%, u neomycínu 79,2% a u erytromycínu 66,6% citlivosť. Autor ďalej konštatuje, že u kmeňov *Staphylococcus aureus* bola rezistencia k penicilínu a neomycínu 62,5 %, k streptomycínu, oxytetracyklínu a erytromycínu 25,0 %. U kmeňoch *Escherichia coli* zaznamenal 30,8% rezistenciu voči oxytetracyklínu, 20,0% rezistenciu voči streptomycínu, pričom voči erytromycínu udáva 11,2% necitlivosť. Malinowski a i. (1992) pri sledovaní citlivosti k antibiotikám u 218 kmeňov *Staphylococcus aureus* udávajú citlivosť k neomycínu 87,0 %, k chloramfenikolu 85,8 % a k erytromycínu 84,7 %, pričom 22 testovaných kmeňov *Escherichia coli* bolo najlepšie citlivých k streptomycínu (78,9 %) a k neomycínu (75,0 %).

Minoritné patogénne zárodky *Corynebacterium* spp. preukázali vysoký stupeň rezistencie k testovaným antibiotikám až na 5,0% rezistenciu k oxacilínu a oxytetracyklínu, pričom výsledky sú podobné, ako udávajú Körmeny (1977) a Vasiľ (1994).

Výsledky naznačujú, že výskyt rezistencie k sledovaným antibiotikám pri *Pseudomonas aeruginosa* a *Escherichia coli* až na chloramfenikol v posledných rokoch je nepriaznivý, ale je šťastím, že títo pôvodcovia mastitíd sú v našich podmienkach skutočne minoritnými a ich zastúpenie v etiológii tejto choroby nepredstavuje viac ako 2,0 %.

Malí by sme mať na zreteli, že v nových chovateľských podmienkach chovu dojnic nastupujú kvalitatívne nové epizootologicko-zoohygienické väzby (Vasiľ, 1992; Pačajová a Venglovský, 1997) a z týchto dôvodov sledovanie výskytu rezistencie bakteriálnych pôvodcov mastitíd nadobúda na význame.

Potrebu sledovania rezistencie bakteriálnych pôvodcov k antibiotikám umocňuje aj množstvo intramamárnych prípravkov používaných v liečbe mastitíd, avšak je potrebné poznamenať, že podľa publikovaných výsledkov je najúčinnejšia taká liečba mastitíd, pri ktorej voľba prípravku vychádza z dlhodobých prehľadov citlivosti k antibiotikám u pôvodcov zápalov mliečnej žľazy.

LITERATÚRA

- AARESTRUP, F. M. – WEGENER, H. C. – ROSDAHL, V. L. (1995): Evaluation of phenotypic and genotypic methods for epidemiological typing of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in Denmark. *Vet. Microbiol.*, 45, 139–150.
- ADYN, F. – LELOGLU, N. – SAHIN, M. – COLAK, A. – OTLU, S. (1995): Identification and antibiotic sensitivity of microorganisms causing clinical and subclinical mastitis in dairy cows in the Kars district. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 26, 55–65.
- ADESIYUN, A. A. (1995): Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis milk: Bacteriophage and antimicrobial agent susceptibility, and enterotoxigenicity. *J. Vet. Med. B*, 42, 129–139.
- BAUER, A. W. – KIRBY, W. M. – SERRIS, J. C. – TURCK, M. (1966): Antibiotic susceptibility by a standardized single disc. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45, 439.
- ČERVENKA, J. (1975): Základy štatistiky. Bratislava, Osveta, 70–79.
- FEDERIC, F. a i. (1977): Príspevok k štúdiu výskytu rezistencie voči antibiotikám a chemoterapeutikám u kmeňov *Staphylococcus aureus* izolovaných z mlieka dojnic vyšetovaných na mastitidy. *Folia Vet.*, 21, 201–212.
- FEDERIC, F. a i. (1988): Stafylokokové mastitidy prežúvavcov. [Výskumná správa.] Košice, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, 73 s.
- GEDEK, W. (1984): Chemoterapeutika – Rezistenz gram-negativer mastitis-erreger. *Tierärztl. Umsch.*, 39, 513–518.
- HAVELKA, B. (1975): Citlivosť *Streptococcus agalactiae* a *Staphylococcus aureus* v SSR za rok 1974. *Vet. Med. (Praha)*, 20, 455–461.

- HAVELKA, B. (1976): Citlivost kmeňov *Streptococcus agalactiae* a *Staphylococcus aureus* na antibiotiká v SSR. Vet. Med. (Praha), 21, 723–728.
- HONKANEN-BUZALSKI, T. – MYLLS, V. – PYÖRÄLÄ, S. (1994): Bovine clinical mastitis due to coagulase-negative staphylococci and their susceptibility to antimicrobials. J. Vet. Med. B, 41, 344–350.
- KÖRMENDY, B. (1977): Gentamycin terápiai lehetőség a togygyulladás kezelésében. Magy. Allatorv. Lap., 28, 279–282.
- KOTOWSKI, K. (1991): Czesotliwość występowania klinicznych przypadków mastitis u korow w chowie wielkostatnym. Med. Wet., 47, 555–556.
- MALINOWSKI, E. – KLOSSOWSKA, A. – KUZMA, K. – KRUKOWSKI, H. (1992): Wrażliwość na antybiotyki bakterii wyisobnionych z wydzielin zapalnej gruczołu mlekowego krów. Med. Wet., 48, 366–367.
- MESSIER, S. – NADEAU, M. – HIGGINS, R. (1994): Sensitivity of *Streptococcus agalactiae* to different antimicrobials. Méd. Vét. (Québec), 24, 70–72.
- NOMURA, T. – USAMI, Y. – KIKUCHI, N. – TAKAHASHI, T. – HIRAMUNE, T. – YANAGAWA, R. (1994): Antibiotic susceptibility of *Klebsiella* and *Escherichia coli* strains isolated from milk of cows affected with clinical mastitis. J. Rakuno Gukuen University, Natur. Sci., 19, 169–172.
- OWENS, W. E. – WATTS, J. T. – GREENE, D. B. – RAY, C. H. (1990): Minimum inhibitory concentrations and disc diffusion zone diameter for selected antibiotics against *Streptococci* isolated from bovine intramammary infections. J. Dairy Sci., 73, 1225–1231.
- OWENS, W. E. – RAY, C. H. – WATTS, J. L. – YANCEY, R. J. (1997): Comparison of success of antibiotic therapy during lactation and results of antimicrobial susceptibility tests for bovine mastitis. J. Dairy Sci., 80, 313–317.
- PAČAJOVÁ, Z. – VENGLOVSKÝ, J. (1997): Vplyv rôznych dávok zeolitov na počty salmonel, koliformných a fekálnych koliformných mikroorganizmov v hnojovici ošípaných za laboratórných podmienok. Vet. Med. – Czech, 42, 161–164.
- ŠIMKO, Š. – BÁRTKO, P. (1996): Rezistencia na antibiotiká u *Staphylococcus aureus* pri mastitídach oviec, v ovčom mlieku a výrobkoch z neho. Vet. Med. – Czech, 41, 241–244.
- THORNSBERRY, C. – BURTON, P. J. – YEE, Y. C. – WATTS, J. L. – YANCEY, R. J. (1997): The activity of a combination of penicillin and novobiocin against bovine mastitis pathogens: development of a disk diffusion test. J. Dairy Sci., 80, 413–421.
- URBÁŠKOVÁ, P. a kol. (1985): Vyšetření pro antimikrobiální terapii. In: SCHINDLER, J. a kol.: Mikrobiologické vyšetřovací metody. Sv. 2. Praha, Avicenum. 152 s.
- VASIL, M. (1992): Sledovanie vplyvu dlhodobého uplatňovania protimastitídneho programu na výskyt sekrečných porúch mliečnej žľazy dojníc. Biopharm, 2, 109–122.
- VASIL, M. (1994): Výskyt rezistencie k antibiotikám pri bakteriálnych pôvodcoch mastitíd dojníc. Vet. Med. – Czech, 39, 503–509.
- VASIL, M. – FEDERIČ, F. (1990): Využitie semisyntetických penicilínov pri liečbe infekčných mastitíd dojníc v zasušení. Vet. Med. – Czech, 35, 155–164.
- ZIV, G. (1980): Practical pharmacokinetic aspects of mastitis therapy. Vet. Med. (Small Anim. Clin.), 657–670.

Received: 98–02–27

Accepted after corrections: 97–04–28

Contact Address:

MVDr. Milan Vasil, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A, 040 01 Košice, Slovak Republic
Tel. +421 95 633 20 11–12, fax +421 95 633 18 53

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. TUK 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

METABOLIC EFFECT OF IODINE ADDITION IN LAYING HENS*

METABOLICKÁ ODEZVA ADITIVNÍHO PŘÍJMU JODU U NOSNIC

V. Kroupová¹, P. Kratochvíl¹, S. Kaufmann², J. Kursá¹, J. Trávníček¹

¹ University of South Bohemia, Faculty of Agriculture, České Budějovice, Czech Republic

² University Munich, Institute for Physiology, Physiological Chemistry and Animal Nutrition Munich, Germany

ABSTRACT: The objective of this study was to reveal potential production and metabolic risks in laying hens with targeted production of consumer eggs with high iodine content. A trial lasted 74 days and was conducted in four groups of hens ($n = 11$) of laying type Hisex Brown. All groups of hens had a free choice of complete feed mixture for laying hens – N₁. These iodine additions per 1 kg of feed mixture were applied to experimental groups: 3.5 mg to group B, 1.3 and 10.0 mg to group C, 7.0 and 15.0 mg to group D. Hen weight (Tab. I), and feed and water intake (Tab. II) were determined during the trial. Iodine content in yolk (Tab. III) was determined colorimetrically after alkaline digestion. These methodical principles were used to determine blood parameters: hemoglobin content in blood as hemoglobin cyanide (Fig. 1), leukocyte counts in blood – microscopically in Bürker chamber (Fig. 2), plasma cholesterol – reaction with acetic anhydride (Fig. 4), total protein – biuret reaction (Fig. 3), protein fractions – electrophoresis on cellulose acetate foils (Tab. IV), triiodothyronine – RIA (Tab. IV). Iodine supplements significantly ($P < 0.01$) stimulated an increase in iodine concentration in yolk, ranging from $2\,303 \pm 691$ in control group A to $23\,592 \pm 9\,436$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ of fresh matter after an addition of 15 mg I/kg of feed. Significantly higher feed consumption ($P < 0.01$) in groups C and D receiving the highest additions of iodine was accompanied by a significant decrease in water intake ($P < 0.01$). Iodine load was followed by a significant decrease in hemoglobin content ($P < 0.01$) only at the intake of 15 mg I per kg of feed. The character of changes in leukocyte counts and protein content in blood plasma in experimental groups did not differ very much from the control group under iodine load. A significant increase in gamma-globulin content ($P < 0.01$) was observed after additions of more than 7 mg I per kg of feed. Plasma cholesterol content increased significantly ($P < 0.01$) only after an addition of 15 mg I per kg of feed. Triiodothyronine content in blood plasma was increasing after additive iodine intake while the difference from control group was significant ($P < 0.01$) after additions of more than 7 mg I per kg of feed. A significant decrease in hemoglobin content and an increase in cholesterol content in blood plasma following an addition of 15 mg of iodine, accompanied by higher of gamma-globulin and triiodothyronine concentrations after the additive intake of 7–15 mg iodine per kg of feed, suggest a metabolic action of iodine that should be studied in greater detail with respect to production of iodine-enriched eggs.

iodine surplus; egg yolk; feed consumption; blood parameters

ABSTRAKT: U čtyř skupin nosnic ($n = 11$) byl sledován po dobu 74 dnů vliv přísadků jodu (1,3; 3,5; 7,0; 10,0 a 15,0 mg/kg kompletní krmné směsi pro nosnice – N₁) na hmotnost zvířat, spotřebu krmiva, snášku, obsah jodu ve žloutku a na krevní parametry (hemoglobin, leukocyty, cholesterol, celková bílkovina, bílkovinné frakce a trijodtyronin). Použité přísadky jodu se významně odrazily ($P < 0.01$) na vzestupu koncentrace jodu ve žloutku od $2\,303 \pm 691$ u kontrolní skupiny A až do $23\,592 \pm 9\,436$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ čerstvé hmoty při přísadku 15 mg I/kg krmné směsi. Významně vyšší spotřeba krmné směsi ($P < 0.01$) u skupin C a D s nejvyššími přísadky jodu byla provázena významným poklesem příjmu vody ($P < 0.01$). Po zátěži jodem došlo k významnému poklesu hemoglobinu ($P < 0.01$) pouze při příjmu 15 mg I/kg krmné směsi. Charakter změn počtu leukocytů a obsahu bílkovin v krevní plazmě se u pokusných skupin během jodové zátěže významně nelišil od skupiny kontrolní. K významnému vzestupu zastoupení γ -globulinů ($P < 0.01$) došlo při aditivním přísadku jodu nad 7 mg/kg krmné směsi. Obsah cholesterolu v krevní plazmě se významně zvýšil ($P < 0.01$) pouze při dávce 15 mg I/kg krmné směsi. Obsah trijodtyroninu v krevní plazmě při aditivním příjmu jodu narůstal a významného rozdílu ($P < 0.01$) oproti kontrolní skupině dosahoval u přísadků nad 7 mg I/kg krmné směsi. Významný pokles hemoglobinu a nárůst cholesterolu v krevní plazmě při přísadku 15 mg jodu, provázený vyšší úrovní gamaglobulinů a trijodtyroninu při aditivním příjmu 7 až 15 mg jodu v 1 kg směsi, signalizuje metabolické uplatnění jodu, které je nutné podrobněji prostudovat při zavedení produkce jodem obohacených vajec.

nadbytek jodu; vaječný žloutek; spotřeba krmiva; krevní parametry

* Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Grant No. 524/96/0853).

Řešení nedostatku jodu v mnoha zemích světa, mezi nimi i v České republice, (Zamrazil, 1989; Delange, 1994) je spojeno se zvýšeným zájmem o obohacení krmných dávek hospodářských zvířat jodem (Sommer aj., 1994) s cílem nabídnout lidské populaci bohaté zdroje jodu v podobě mléka, masa a vajec (Körber aj., 1985; Anke aj., 1994; Herziga a Kurša, 1997). Ve vejcích lze obsah jodu v bílku a zvláště ve žloutku mnohonásobně zvýšit (Richter, 1995; Kaufmann, 1997; Kroupová aj., 1997). Širší využití vajec jako zdroje jodu je omezeno vysokým obsahem cholesterolu ve žloutku. Z tohoto hlediska je žádoucí cíleně zvýšit obsah jodu ve žloutku nad 20 000 µg/kg čerstvé hmoty. Při této koncentraci pokrývá příjem jednoho vejce tří- až čtyřdenní potřebu jodu u člověka. Pro dosažení více než 20 000 µg jodu v kg čerstvé hmoty žloutku je nutné obohatit krmnou směs o více než 10 mg I/kg. S ohledem na možné důsledky nadbytku jodu u zvířat a u člověka je Evropskou normou 96/7/EWG obsah 10 mg I/kg krmiva udáván jako maximální. Názory na úroveň nadbytku jodu, při níž jsou pozorovány příznaky toxicity, se u různých druhů zvířat liší (Phillips aj., 1988). U nosnic dochází při koncentraci 40 mg I/kg směsi k poklesu snášky, k retardaci ovulace a k zánětům vejcovodu (Richter, 1995).

Předložená práce je zaměřena na odhalení případných metabolických a produkčních rizik u nosnic s nadbytečným příjmem jodu v souvislosti s produkcí „jodem obohacených vajec“.

MATERIÁL A METODY

Pokusná zvířata

Pro pokus byly zvoleny čtyři skupiny nosnic (n = 11) nosného typu Hisex hnědý na počátku prvního snáškového cyklu v září 1996. Nosnice byly ustájeny v boxech na hluboké podestýlce, průměrná denní a noční teplota 20 °C a 24hodinové osvětlení.

Všechny skupiny přijímaly *ad libitum* kompletní krmnou směs N₁ s obsahem jodu 0,3 mg/kg. Pokusným skupinám byl do směsi N₁ přidán premix jodidu draselného dle rozpisu:

skupina	aditivní přídavek jodu mg/kg směsi N ₁	
	1 až 34 dnů pokusu	35 až 74 dnů pokusu
A – kontrolní	0	0
B – pokusná	3,5	3,5
C – pokusná	1,3	10
D – pokusná	7	15

Uplatnění zátěže jodem bylo otestováno stanovením jodu ve vaječném žloutku.

Fyziologická sledování

Denní spotřeba krmné směsi na kus byla přepočítána na kg hmotnosti slepice při 100% snášce. Spotřeba vody byla měřena denně a byla přepočítána na 100 g spotřebované krmné směsi. Hmotnost slepic byla zjišťována vážením individuálně každý týden. Intenzita snášky a průměrná hmotnost vajec byla zaznamenávána denně.

Jod ve vaječném žloutku byl stanoven po alkalické dýgesci kolorimetricky dle Sandella a Kolthoffa (1937) v modifikaci Bednáře aj. (1964).

Krev pro vyšetření byla odebrána v intervalech jednoho až dvou týdnů z loketní žíly. Hodnoty krevních parametrů představují průměry vyšetření provedených v časovém úseku 1. až 34. a 35. až 74. den pokusu. Jako protisrážlivého činidla bylo použito heparinu. Při stanovení krevních parametrů byly použity klasické metody (hemoglobin v krvi jako hemoglobincyanid, počet leukocytů v krvi – mikroskopicky v Bürkerově komůrce, cholesterol v krevní plazmě – reakce s acentanhydridem, celková bílkovina – biuretova reakce, bílkovinné frakce – elektroforéza na celulózoacetátových fóliích, trijodtyronin – RIA souprava firmy Immuno-tech).

Statistické zhodnocení výsledků pozorování bylo provedeno na počítačovém programu Statplus. Významnost rozdílů průměrných hodnot sledovaných parametrů byla posouzena T-testem.

VÝSLEDKY

Při průběžném pozorování kondice a zdravotního stavu nosnic nebyly ani při maximální jodové zátěži pozorovány klinické projevy onemocnění, nedošlo ke zhoršení kondice ani k úhynům.

Hmotnost nosnic se u pokusných skupin mezi sebou významně nelišila a v tab. I je uveden jejich celkový průměr. Během pokusu došlo jak u kontrolní, tak u pokusných skupin k poklesu hmotnosti (95,5 a 96,4 % výchozího stavu) souvisejícího s průběhem snášky. Snáška klesala během pokusu u skupiny A a C na 80 %, u skupin B a D na 84 a 86 %. Jodová zátěž se významně neuplatnila na průměrné hmotnosti vajec (53,3 až 56,2 g).

I. Hmotnost nosnic (g) při aditivním příjmu jodu – Live weight of laying hens (g) at additive iodine intake

	Kontrolní skupina – A ³ (n = 11)		Pokusné skupiny – B, C, D ⁴ (n = 33)	
	\bar{x}	s_x^2	\bar{x}	s_x^2
Před pokusem ¹	1 613	126	1 684	157
Během pokusu ²	1 540	151	1 624	154

¹before trial, ²during trial, ³control group – A, ⁴experimental groups B, C, D

II. Spotřeba krmné směsi N₁ a vody při aditivním příjmu jodu v průběhu 74 dnů – Consumption of feed mixture N₁ and water at additive iodine intake within 74 days

Skupina ¹	Příjem jodu ² (mg/kg N ₁)	Denní spotřeba N ₁ na kg hmotnosti při 100% snáče ³ (g)		Spotřeba vody na 100 g N ₁ ⁴ (ml)	
		\bar{x}	s_x	\bar{x}	s_x
A	0	90,2	22,5	181,2	19,7
B	3,5–3,5	93,0	31,8	183,0	18,3
C	1,3–10,0	113,0**	20,6	136,0**	26,4
D	7,0–15,0	97,1	51,1	157,0**	24,0

** $P < 0,01$

¹group, ²iodine intake, ³daily consumption per kg of live weight at 100% egg production, ⁴water intake per 100 g N₁

III. Průměrný obsah jodu ve vaječném žloutku u nosnic zatížených aditivním příjmem jodu – Average iodine content in egg yolk in laying hens with a load of additive iodine intake

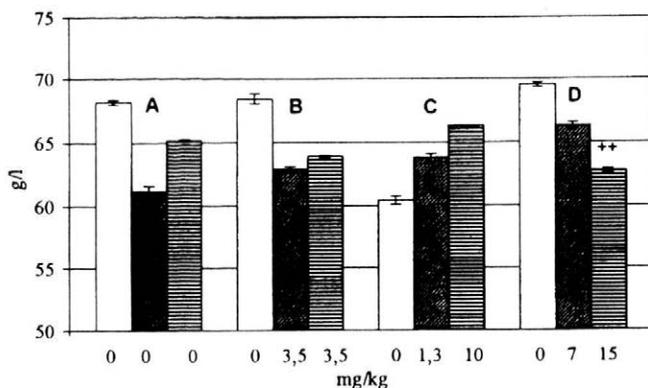
Přídavek jodu v mg/kg směsi N ₁ ¹		0	1,3	3,5	7,0	10,0	15,0
Průměrný obsah jodu v $\mu\text{g/kg}$ čerstvé hmoty žloutku ²	\bar{x}	2 303	3 743**	4 762**	7 534**	16 614**	23 592**
	s_x	691	325	799	3 013	5 359	9 436
	n	55	20	15	25	17	30

** $P < 0,01$

¹iodine addition in mg/kg of feed mixture N₁, ²average iodine content in g/kg of fresh yolk matter

I. Průměrná koncentrace hemoglobinu (g/l) v krvi nosnic během aditivního podávání jodu v dávkách od 1,3 do 15 mg/kg krmné směsi N₁; skupina A = kontrolní, skupiny B, C, D = pokusné – Average hemoglobin concentrations (g/l) in the blood of laying hens at additive applications of iodine at doses from 1.3 to 15 mg per kg of feed mixture N₁; group A = control, groups B, C, D = experimental

- 0. den – day 0
- ▨ 1. až 34. den podávání jodu – days 1 to 34 of iodine application
- ▩ 35. až 74. den podávání jodu – days 35 to 74 of iodine application



Spotřeba krmné směsi (tab. II) byla významně vyšší u skupiny C ($P < 0,01$) při příjmu jodu 1,3 a 10 mg/kg. Spotřeba vody byla u této skupiny naopak významně nižší ($P < 0,01$).

Průměrný obsah jodu ve žloutcích vajec (tab. III) významně narůstal ($P < 0,01$) s nárůstem přídavku jodu až na $23\,592 \pm 9\,436 \mu\text{g/kg}$.

Obsah hemoglobinu v krvi (obr. 1) byl vesměs nižší než 70 g/l. Během pokusu klesal hemoglobin jak u kontrolní skupiny, tak u skupin B a D. U skupiny C s nejnižší počáteční hodnotou hemoglobinu 60,4 g/l postupně narůstal, a to i při dávce 10 mg I/kg směsi N₁. Ve skupině D zatížené jodem nejvíce, došlo na rozdíl od skupin A, B a C k významnému poklesu ($P < 0,01$).

Rozdílů v počtu leukocytů (obr. 2) mezi skupinami dosahovaly ještě před zahájením experimentu 9 G/l

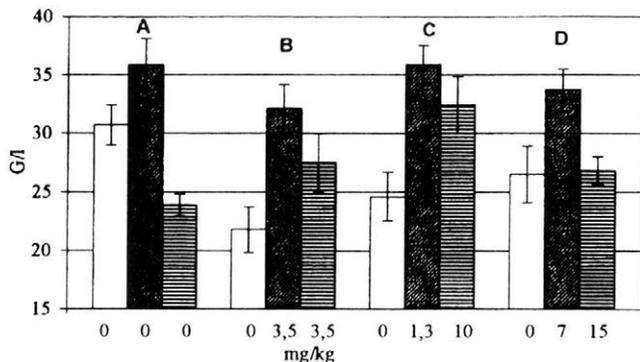
(skupina A a B). V dalším období došlo k významnému nárůstu ($P < 0,01$) počtu leukocytů bez ohledu na vyšší přídavku jodu. Také v následujícím období nebyly změny v počtu leukocytů ovlivněny příjmem jodu.

Charakter změn stavu celkové bílkoviny v krevní plazmě (obr. 3) se u nosnic zatěžovaných jodem a u skupiny kontrolní od sebe významně nelišily.

Percentuální zastoupení frakcí krevních bílkovin (tab. IV.) se ve všech skupinách vyznačovalo širokou individuální variabilitou. Nejnižší zastoupení γ -globulinů bylo v kontrolní skupině A a v pokusné skupině B při přídavku 3,5 mg I/kg směsi N₁. Při zkrmování směsí s přídavkem více než 3,5 mg I/kg přesahovalo již průměrné zastoupení γ -globulinů 20 % a u přídavku 15 mg I/kg krmné směsi dosáhlo 29,8 % ($P < 0,01$). Toto zvýšení je v porovnání s kontrolní skupinou významné ($P < 0,05$). Vzestup γ -globulinů byl provázen

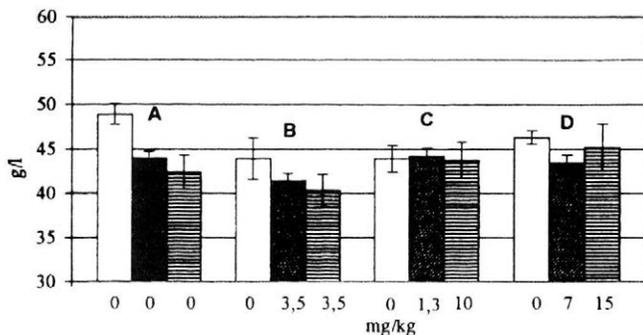
2. Průměrný počet leukocytů (G/l) v krvi nosnic při aditivním podávání jodu v dávkách od 1,3 do 15 mg/kg krmné směsi N₁; skupina A = kontrolní, skupiny B, C, D = pokusné – Average leukocyte counts (G/l) in the blood of laying hens at additive applications of iodine at doses from 1.3 to 15 mg per kg of feed mixture N₁; group A = control, groups B, C, D = experimental

□ 0. den – day 0
 ▨ 1. až 34. den podávání jodu – days 1 to 34 of iodine application
 ▩ 35. až 74. den podávání jodu – days 35 to 74 of iodine application



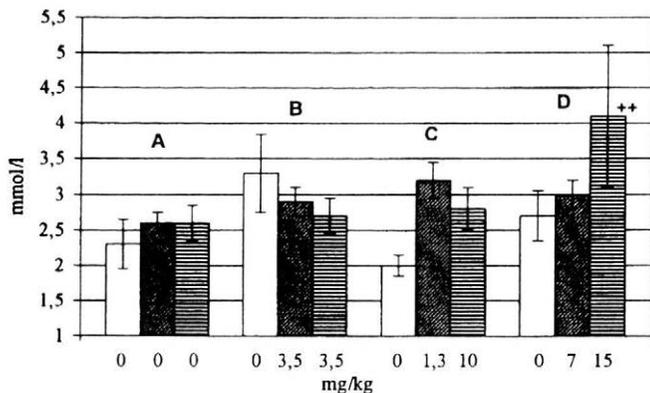
3. Průměrný obsah celkových bílkovin (g/l) v krevní plazmě nosnic při aditivním podávání jodu v dávkách od 1,3 do 15 mg/kg krmné směsi N₁; skupina A = kontrolní, skupiny B, C, D = pokusné – Average content of total proteins (g/l) in the blood plasma of laying hens at additive applications of iodine at doses from 1.3 to 15 mg per kg of feed mixture N₁; group A = control, groups B, C, D = experimental

□ 0. den – day 0
 ▨ 1. až 34. den podávání jodu – days 1 to 34 of iodine application
 ▩ 35. až 74. den podávání jodu – days 35 to 74 of iodine application



4. Průměrná koncentrace cholesterolu (mmol/l) v krevní plazmě nosnic při aditivním podávání jodu v dávkách od 1,3 do 15 mg/kg krmné směsi N₁; skupina A = kontrolní, skupiny B, C, D = pokusné – Average cholesterol concentrations (mmol/l) in the blood plasma of laying hens at additive applications of iodine at doses from 1.3 to 15 mg per kg of feed mixture N₁; group A = control, groups B, C, D = experimental

□ 0. den – day 0
 ▨ 1. až 34. den podávání jodu – days 1 to 34 of iodine application
 ▩ 35. až 74. den podávání jodu – days 35 to 74 of iodine application



většinou poklesem α_1 -globulinů a při dávce 15 mg/kg i poklesem α_2 -globulinů ($P < 0,01$).

Koncentrace cholesterolu (obr. 4) vykazovala po celou dobu stabilní úroveň. Pouze u skupiny D došlo k vysoce významnému vzestupu ($P < 0,01$) při zkrmování směsí obohacené o 15 mg I/kg.

Trijodtyronin v krevní plazmě se významně zvyšoval v porovnání s kontrolní skupinou již od přídatku 3,5 mg/kg N₁ ($P < 0,05$), při přídatku 15 mg/kg N₁

vzrostla jeho hodnota významně ($P < 0,01$) na $4,6 \pm 1,3$ nmol/l.

DISKUSE

Nadbytečným příjmem jodu lze u nosnic během několika dnů cíleně zvýšit jeho obsah ve vejcích odstupňovaně dle požadavků spotřebitele (Richter, 1995;

Frakce krevních bílkovin ¹	Aditivní příjem jodu mg ² (mg/kg N ₁)											
	0		1,3		3,5		7,0		10,0		15,0	
	\bar{x}	s_x	\bar{x}	s_x	\bar{x}	s_x	\bar{x}	s_x	\bar{x}	s_x	\bar{x}	s_x
Albumin (%)	43,2	11,6	49,4	10,7	47,2	6,1	39,2	8,5	43,8	4,7	48,4	6,6
α_1 – globulin (%)	8,6	2,7	6,4	3,1	5,1**	2,5	7,7	2,3	4,8**	0,7	3,8**	1,3
α_2 – globulin (%)	8,7	4,7	6,9	4,2	6,1	1,7	7,2	2,8	8,2	1,6	3,0**	2,0
β – globulin (%)	23,8	8,6	20,3	6,8	20,8	6,8	19,1	8,3	22,5	4,2	15	12,8
γ – globulin (%)	16,5	7,9	17,0	5,4	20,8	6,1	26,8**	6,1	20,7	5,6	29,8**	9,8
Trijodtyronin ³ (nmol/l)	2,7	1,4	3,3	0,8	3,0	0,8	4,2**	0,6	4,5**	1,2	4,6**	1,3

** $P < 0,01$

¹blood protein fractions, ²triiodothyronine, ³additive iodine intake

Kroupová aj., 1997; Kaufmann, 1997). Jodem obohacená vejce představují cenný zdroj jodu. Vzhledem k vysokému obsahu cholesterolu ve vejcích se jako zajímavá varianta jeví i produkce speciálního sortimentu vajec s obsahem jodu ve žloutku nad 20 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ čerstvé hmoty. Takto obohacené vejce pokrývá tři- až čtyřdenní potřebu jodu pro člověka. Spotřeba jednoho až dvou vajec v týdnu jako zdroje jodu je únosná i při dietách zaměřených na omezení příjmu cholesterolu.

Nárůst obsahu jodu ve žloutku v závislosti na úrovni jeho přidavku ke krmné směsi N₁ (tab. III) je v souladu se zjištěním Richtera (1995) i Kaufmannové (1997). Koncentrace 20 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ čerstvého žloutku lze docílit teprve při přidavku více než 10 mg I/kg krmné směsi, což je horní hranice Evropské normy 96/7/EWG pro obsah jodu v krmivech. Rozsah zdravotních a metabolických důsledků při zkrmování krmiv s vyšším obsahem jodu není zatím přesně vymezen. Rambeck aj. (1997) nepozorovali u prasat ani při dávkách 30 mg I/kg sušiny krmiva významné změny v jatečné hmotnosti, ve využití krmiva a v kvalitě masa. Nevýznamné rozdíly mezi skupinou kontrolní a skupinami zatěžovanými jodem v hmotnosti (tab. I) a v produkčních parametrech odpovídá nálezům Kaufmannové (1997). Vysvětlení pro vyšší spotřebu krmiva a nižší příjem vody u skupin C a D s nejvyššími dávkami jodu (tab. II) lze spatřovat v možných změnách energetického metabolismu pod vlivem vysoké zátěže štítné žlázy jodem. Na skutečnost, že dávka nad 10 mg I/kg směsi již ovlivňuje činnost štítné žlázy poukazují i nálezy autorů Groppele aj. (1991). Při přidavku 10 mg I/kg sušiny krmiva u kuřecích brojlerů bylo zaznamenáno významné zvětšení štítné žlázy. Na základě tohoto nálezu pak lze očekávat i některé změny u ukazatelů souvisejících přímo s intenzitou látkové přeměny.

V kontrolní i pokusných skupinách byl stav hemoglobinu v krvi vesměs nižší (obr. 1), než se uvádí v obecné normě pro drůbež (Richter aj., 1983). Lze předpokládat, že tato mírná anemie mladých nosnic souvisela se snížením, případně s nižší biologickou kva-

litou použité krmné směsi. Za významnou lze považovat skutečnost, že teprve při přidavku 15 mg jodu byl zaznamenán významný pokles hemoglobinu v porovnání s kontrolní a ostatními pokusnými skupinami.

Srovnatelné změny počtu leukocytů (obr. 2) bez ohledu na aplikovaný přírůstek jodu svědčí o tom, že luxusní příjem jodu nepůsobil iritačně ani inhibičně na stav leukocytů v periferní krvi.

Statisticky významný vzestup cholesterolémie při podávání 15 mg I/kg směsi N₁ ($P < 0,01$) poukazuje na často diskutované uplatnění vyšší úrovně jodu v tukovém metabolismu (Garber aj., 1992; Garwin aj., 1992). Zjištěný vzestup cholesterolu (obr. 4) neodpovídá názoru autorů Garwin aj. (1992) o příznivém vlivu jodu na redukci cholesterolémie. K vysvětlení tohoto nesouladu bude nutné upřesnit, zda při extrémně vysokých dávkách jodu nedochází ke změně jeho účinku v souvislosti s hypothyreoidním stavem.

Kontinuální nárůst trijodtyroninu při jodové zátěži (tab. IV), který byl při dávkách 7 až 15 mg I/kg směsi statisticky významný ($P < 0,01$), poukazuje v souladu se zjištěním Groppele aj. (1991) na změny činnosti štítné žlázy pod vlivem vysokého příjmu jodu. Při pitvě námi sledovaných nosnic (Kratochvíl aj., 1998) byl při nejvyšším zatížení jodem pozorován, na rozdíl od údajů Groppele aj. (1991), významný pokles hmotnosti štítné žlázy a snížení výšky tyrocytů. Také tento náleznaznačuje spíše tendenci ke vzniku hypothyreozy pod vlivem poměrně dlouhodobé (74 dnů) a vysoké zátěže jodem. Do tohoto komplexu změn je možné zařadit i statisticky významný nárůst γ -globulinů (tab. IV) při luxusním příjmu jodu. Lze předpokládat, že při náhlém zvýšení příjmu jodu po jeho předchozím nedostatku je efekt luxusního příjmu jodu v imunitním systému ještě výraznější a může přispět k rozvinutí zánetu štítné žlázy a autoimunitních reakcí.

V souladu s vymezeným cílem práce z dosažených výsledků vyplývá, že 74denní zátěž nosnic nadbytečným příjmem jodu až do úrovně 15 mg I/kg směsi nepředstavuje akutní riziko ohrožení zdraví a snásky nosnic při produkci konzumních, jodem obohacených vajec.

Významný vzestup trijodtyroninu, cholesterolu a procentuálního zastoupení γ -globulinů v krevní plazmě při aditivním příjmu jodu nad 7 mg/kg krmné směsi je podnětem pro podrobnější studium parametrů provádějících tyreopatie v souvislosti s nadbytkem jodu.

LITERATURA

- ANKE, M. – GROPP, B. – SCHOLZ, E. – HENNIG, U. (1994): Die Bedeutung des Jodgehalts der Milch, Molke-reierzeugnisse und des Fleisches für die Jodversorgung des Menschen in Deutschland. REKASAN J., 1, 19–20.
- BEDNÁŘ, J. – RÖHLING, S. – VOHNOUT, S. (1964): Příspěvek ke stanovení proteinového jodu v krevním séru. Českoslov. Farm., 13, 203–209.
- DELANGE, F. (1994): The disorders induced by iodine deficiency. Thyroid, 4, 107–128.
- GARBER, D. W. – HENKIN, Y. – OSTERLUND, L. C. – DARNELL, B. E. – SEGREST, J. P. (1992): Plasma lipoproteins in hyperlipidemic subjects eating iodine-enriched eggs. J. Am. Coll. Nutr., 11, 294–303.
- GARWIN, J. L. – MORGAN, J. M. – STOWELL, R. L. – RICHARDSON, M. P. – WALKER, M. C. – CAPUZZI, D. M. (1992): Modified eggs are compatible with a diet that reduces serum cholesterol concentrations in humans. J. Nutr., 122, 2153–2160.
- GROPP, B. – RAMBECK, W. A. – GROPP, J. (1991): Iodanreicherung in Organen und Geweben von Mastküken nach Iodsupplementation des Futters. In: ANKE, M. aj.: Mengen- und Spurenelemente. 11. Arbeitstagung. Jena, Verlag MTV Hammerschmidt, pp. 300–308.
- HERZIG, I. – KURSA, J. (1997): Současný stav zásobení hospodářských zvířat jodem. Krmivářství, 4, 31–32.
- KAUFMANN, S. (1997): Ergänzende Strategien zur Bekämpfung von Jodmangel in Deutschland und Südostasien. [Dissertation TU München, Fakultät für Landwirtschaft und Gartenbau, 95 pp.
- KÖRBER, R. – ROSSOW, N. – OTTA, J. (1985): Beitrag zum Jodmangelsyndrom der landwirtschaftlichen Nutztiere Rind, Schaf und Schwein. Mh. Vet.-Med., 40, 220–224.
- KRATOCHVÍL, P. – TRÁVNÍČEK, J. – KROUPOVÁ, V. – KRABAČOVÁ, I. (1998): Vliv příjmu jodu na stav štítné žlázy slepic. In: Sbor. Aktuální problémy chovu, zdraví a produkce drůbeže. České Budějovice, Zemědělská fakulta JU, s. 151–152.
- KROUPOVÁ, V. – KURSA, J. – KRATOCHVÍL, P. – TRÁVNÍČEK, J. (1997): Produkce vajec obohacených o jod. Agrotegion 97. II. České Budějovice, Zemědělská fakulta JU, s. 281–282.
- PHILLIPS, D. I. W. – NELSON, M. – BARKER, D. J. P. – MORRIS, J. A. – WOOD, T. J. (1988): Iodine in milk and the incidence of thyrotoxicosis in England. Clin. Endocrinol., 28, 61–66.
- RAMBECK, W. A. – KAUFMANN, S. – FENG, J. – HOLLWICH, W. – ARNOLD, R. (1997): Verbesserung der Jodversorgung des Menschen durch Jodierung von Schweinefutter. Tierärztl. Praxis, 25, 312–315.
- RICHTER, G. (1995): Einfluss der Jodversorgung der Legehennen auf den Jodgehalt im Ei. In: ANKE, M. – BERGMANN, H. – BITSCH, R. – DORN, W. – FLACHOWSKY, G. – GLEI, M. – GROPP, B. – GRÜN, M. – HÜRTLER, H. – LOMBECK, I. – LUCKAS, B. – MEISSNER, D. – MERBACH, W. – MÜLLER, M. – SCHNEIDER, H. J. (Hrsg.): Mengen- und Spurenelemente. 15. Arbeitstagung, Leipzig, Verlag Harald Schubert, pp. 457–464.
- RICHTER, W. – WERNER, E. – BÄHR, H. (1983): Zdraví zvířat. 1. vyd. Praha, SZN, 200 s.
- SANDELL, E. B. – KOLTHOFF, I. M. (1937): Microdetermination of iodine by a catalytic method. Mikrochim. Acta, 9–25.
- SOMMER, A. – ČEREŠŇÁKOVÁ, Z. – FRYDRYCH, Z. – KRÁLÍK, O. – KRÁLÍKOVÁ, Z. – KRÁSA, A. – PAJTÁŠ, M. – PETRIKOVIČ, P. – POZDIŠEK, J. – ŠIMEK, M. – TRINÁCTÝ, J. – VENCL, B. – ZEMAN, L. (1994): Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro přežvýkavce. 1. vyd. Pohořelice, ČZV, 196 s.
- ZAMRAZIL, V. (1989): Prevalence of thyroid diseases in two samples of Czech population. Endocrinol. Exp., 23, 97–104.

Received: 98-02-19

Accepted after corrections: 98-05-06

Kontakní adresa:

Prof. RNDr. Ing. Vlasta Kroupová, CSc., Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Česká republika
Tel. +420 38 777 26 20, fax +420 38 777 26 21

MICROBIAL CONTAMINATION OF VETERINARY MEDICAMENTS AND DRUGS IN THE CZECH REPUBLIC 1993 TO 1996

MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE VETERINÁRNÍCH PREPARÁTŮ A LÉČIV V ČESKÉ REPUBLICĚ V LETECH 1993 AŽ 1996

L. Pokludová, A. Hera

Institute for State Control of Veterinary Biologicals and Medicaments, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: A survey of results of microbiological quality control of veterinary pharmaceutical preparations were checked up in the Institute for State Control of Veterinary Biologicals and Medicaments in Brno from 1993 to 1996 is given. The basic aim was to suggest new limits for Pharmacopoeia Bohemica 1997 including the total count of micro-organisms in the category "Pulveres praemixti pro usu veterinario" and to incorporate specified veterinary preparations in the strict category of microbial quality. For this aim, it was necessary to carry out the quality control of these preparations and to carry out the monitoring of the occurrence of micro-organism species. The practical result was the elimination of preparations containing pathogenic, opportune pathogenic or toxicogenic micro-organisms and/or the elimination of preparations containing an amount of micro-organisms larger than is admissible. A review of literature especially includes the comparisons of views on the evaluation of microbial quality control by current Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1987 and current European Pharmacopoeia 1997. In this study, the obligatory method for microbiological quality control of pharmaceutical preparations in the Czech Republic, which proceeds from Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1987 and its Addendum 1991, and from other microbiological methods especially European Pharmacopoeia 1997 and the standardised methods of Czech Norms ISO, was followed. The computer image analysis was used for the identification of micromycetes and colony counting. The results are based on the examination of the total 651 samples. 260 samples were examined for sterility and 391 for microbial contamination. In the category "Test for Sterility" the total of 3.85% and in the category "Microbial Contamination Tests" the total of 8.70% preparations did not comply with this criteria. In this examination 227 strains from 16 genera and 26 species of bacteria and 96 strains from 10 genera and 15 species of micromycetes, were isolated. The conclusions are limits and changes which were advanced as a suggestion to Pharmacopoeia Commission for the assessment and approval into new Pharmacopoeia Bohemica 1997.

veterinary drugs; microbial contamination and sterility tests; bacterial contamination; micromycetes contamination; image analysis

ABSTRAKT: V práci je podán přehled výsledků kontroly mikrobiologické kvality veterinárních léčiv (vyjma biopreparátů), které byly zkoušeny v Ústavu pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv v Brně v letech 1993 až 1996. Jednalo se zejména o přípravky ze skupiny léčiv registrovaných v České republice. Základním cílem studie bylo navrhnout pro Český lékopis 1997 nové limity zahrnující: celkový počet zárodků mikroorganismů v kategorii "Pulveres praemixti pro usu veterinario" a zařadit specifické veterinární přípravky do přesné kategorie mikrobiologické čistoty. Pro tyto závěry bylo nutné uskutečnit kontrolu přípravků a zmonitorovat výskyt a druhovou diverzitu mikroorganismů. Praktickým závěrem pak bylo vyloučení přípravků obsahujících patogenní, oportunně patogenní nebo toxinní mikroorganismy, anebo překračujících povolený limit zárodků mikroorganismů.

veterinární léčiva; testy mikrobiologické nezávadnosti a sterility; kontaminace bakteriemi; kontaminace plísněmi; analýza obrazu

INTRODUCTION

Microbiological analytical methods are a necessary part of quality control for substances, preparations, pharmacological ingredients and articles which, according to the Pharmacopoeia are required to be tested in veterinary pharmaceutical products. Microbiological

analytical methods are used for sterility and microbial contamination tests, for efficacy of antimicrobial substance tests or in the evaluation of residues of antimicrobial substances in food for human consumption.

The Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1987 (1) and its Addendum 1991 (2) were under obligatory regulation until 1997, in which were defined the standard methods

and evaluation of microbial quality of pharmaceutical preparations in the Czech Republic. In 1996 new European Pharmacopoeia 1996 (3) was published, which contained parts for microbial quality control and its evaluation and special monographs for some veterinary drugs. At about the same time the new Pharmacopoeia

Bohemica was created. But there are some differences between the criteria which are specified in European Pharmacopoeia 1997 (3) and obligatory Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1987 (1) and its Addendum 1991 (2). The most important differences are in Table below:

Pharmacopoeia Bohemoslovaca IV (1987) Addendum (1991)	European Pharmacopoeia 3rd edition 1996
CATEGORY I	
<p>parenteral preparations</p> <p>ophthalmic preparations</p> <p>preparations for use on wounds and burns</p> <p>preparations for use and application into body cavities, which are physiologically sterile</p> <p>Comment:</p> <p>Pharmacopoeia Bohemoslovaca does not contain ear preparations in this category</p> <p>European pharmacopoeia does not contain monograph for intrauterine preparations and for pulveres for wounds and burns</p> <p>some problems were with intramammary preparations, but European Pharmacopoeia 3rd ed. contains this monograph</p>	<p>preparations required to be sterile by the relevant monograph on the dosage form and other preparations labelled sterile</p>
CATEGORY II	
<p>Comment:</p> <p>important difference is between the presence of enterobacteria.</p> <p>Pharmacopoeia Bohemoslovaca 0 enterobacteria (in 1 g or 1 ml)</p>	<p>European Pharmacopoeia 10^1 enterobacteria (in 1 g or 1 ml)</p>
CATEGORY III	
<p>Comment:</p> <p>important difference is between the absence of enterobacteria</p> <p>Pharmacopoeia Bohemoslovaca 0 enterobacteria (in 1 g or 1 ml)</p>	<p>European Pharmacopoeia 10^2 enterobacteria (in 1 g or 1 ml)</p>
CATEGORY IV	
<p>Comment:</p> <p>Pharmacopoeia Bohemoslovaca</p> <p>Therapeutic and additive substances: 10^6 bacteria, 10^2 yeast, 10^2 moulds, absence of pathogenic and specified species micro-organisms (it means <i>Enterobacteriaceae</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Enterococcus faecalis</i> and anaerobic bacteria)</p>	<p>European Pharmacopoeia</p> <p>A. Herbal remedies to which boiling water is added before use: 10^7 aerobic bacteria, 10^5 fungi, 10^2 <i>E. coli</i></p> <p>B. Other herbal remedies: 10^5 aerobic bacteria, 10^4 fungi 10^3 enterobacteria, absence of <i>Salmonella</i>, <i>E. coli</i></p>

MATERIAL AND METHODS

For microbiological testing of veterinary and human pharmaceutical preparations obligatory methods are included in:

1. Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1987 (1)
2. Addendum to Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1991 (2)
3. European Pharmacopoeia 1996 (3)
4. Czech Norm ISO (Tests for specified micro-organisms) (4–15) new
5. Pharmacopoeia Bohemica 1997 (from 1998)

The methods include :

- A. The preparation primary testing (including sterility testing and microbial contamination testing):
 - A I. Preparation
 - A II. Examination of the product
 - A II. I. Membrane filtration or direct inoculation
 - A II. II. Plate count for bacteria, yeast and moulds
 - A III. Inoculation of control micro-organisms and quality control of suitability of culture media used in test
 - A IV. Incubation
 - A V. Observation and interpretation of results

B. Tests for specified micro-organisms:

B I. qualitative

According to the Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1987 (1)

B I. I. Sterility is an absence of any viable micro-organisms

B I. II. Microbial contamination of products not required to comply with the test for sterility – drugs must not contain micro-organisms of *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, pathogenic aerobic and anaerobic micro-organisms

B II. quantitative

According to the Pharmacopoeia Bohemoslovaca No 1987 (1) examination, determination and enumeration of the total viable non pathogenic microorganisms found within the product.

C. Identification of microorganisms:

- C I. Cultivation of solution and culture media which have been found satisfactory for the purposes for which they are prescribed in the test for microbial contamination and sterility tests in the Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1987 (1) or (if for special microorganisms the tests not specified in Pharmacopoeia Bohemoslovaca) European Pharmacopoeia 1996 (3)
- C II. Confirmation tests required to be carry out according to the Czech Norm ISO (4–15)
- C III. Other biochemical and serological tests
- C IV. Identification of fungi (microscopic morphology observation and interpretation using the computer image analysis).

RESULTS

Between 1993 and 1996 a total of 651 samples of pharmaceutical products were tested for microbial quality. Microbial quality testing has two essential categories: sterility (there were tested 260 samples) and microbial contamination (there were tested 391 samples tested). Tests were carried out according to methods included in Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1987 (1), Addendum to Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1991 (2) specified above, in part materials and methods.

There were a total of 6.76% i.e. 44 samples of pharmaceutical preparations which did not comply with the microbial quality tests (from the total 651 samples).

In Tab. I are the total number of samples which were tested for microbial quality in the category of sterility and microbial contamination and the number of samples which did not comply with these tests. The last table column shows the total number of samples in these categories (together for the years 1993–1996) which complied and did not comply with this test.

In Tab. II are the results, which show that the largest quantity of samples not complying with the test of mic-

robial contamination were in 1994. This increase was brought about by the greater number of samples in dosage form pulvis, pulvis solubile and pulveres praemixti pro usu veterinario.

There were 3.85% i.e. 10 samples, which did not comply with the tests of sterility (from a total of 260 samples examined for sterility). In Tab. II is the review of dosage form of preparations, which were examined for sterility.

There were 8.70%, i.e. 34 samples, which did not comply with the microbial contamination tests (from a total of 391 samples examined for microbial contamination). These samples contained pathogenic and opportune pathogenic micro-organisms and/or the amount of micro-organisms was larger than is admissible by limits in Pharmacopoeia Bohemoslovaca 1987 (1). The most important is the amount of samples from the dosage form pulvis and pulveres praemixti pro usu veterinario which did not comply with the microbial contamination tests. The review of dosage forms and results of microbial contamination tests are in Tab. III.

227 strains were identified from 16 genera and 26 species of bacteria (Tab. IV) and 96 strains from 10 genera and 15 species of fungi (Tab. V) in the samples tested for the sterility and microbial contamination.

I. Comparison of the total number of testing samples and the number of samples which did not comply with the sterility and microbial contamination tests

Category	1993			1994			1995			1996			1993–1996		
	total	n. com.	% n.c.	total	n. com.	% n.c.									
Sterility	88	3	1.38	66	5	3.14	67	1	0.54	39	1	1.14	260	10	1.53
Microbial contamination	130	9	4.12	93	18	11.32	119	5	2.69	49	2	2.27	391	34	5.22
Total	218	12	5.50	159	23	14.46	186	6	3.23	88	3	3.41	651	44	6.76

Notes:

total – the total number of testing samples

n. com. – the number of samples, which did not comply with the sterility and microbial contamination tests

% n.c. – % samples, which did not comply with the sterility and microbial contamination tests

II. Samples tested for sterility from 1993 to 1996

	Injections		Intramammary		Intrauterine		Others		Total	Total
	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%
Total 1993-1996	181	100	12	100	12	100	55	100	260	100
Comply	177	97.8	12	100	11	91.7	50	90.9	250	96.15
Not comply	4	2.2	0	0	1	8.3	5	9.1	10	3.85

III. Samples tested for microbial contamination from 1993 to 1996

	Powders		Tablets		Liquids		Ointments		Premixes		Others		Total	Total
	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%
Total 1993-1996	160	100	99	100	52	100	32	100	41	100	7	100	391	100
comply	139	86.9	95	96.0	51	98.1	30	93.8	35	85.4	7	100	357	91.30
not comply	21	13.1	4	4.0	1	1.9	2	6.3	6	14.6	0	0	34	8.70

Notes:

- powders – preparations pulvis and pulvis solubile
- tablets – preparations tablets, coated tablets, capsules, dragée
- liquids – preparations solutio, liquid
- ointments – preparations suspension, unguentum
- premixes – pulveres praemixti pro usu veterinario

IV. The survey of bacterial genera diversity in veterinary pharmaceutical preparations

Genus	Occurrence in samples	Occurrence in samples (%)
<i>Bacillus</i>	116	59.49
<i>Enterobacter</i>	31	15.90
<i>Staphylococcus</i>	13	6.67
<i>Escherichia</i>	6	3.08
<i>Micrococcus</i>	6	3.08
<i>Citrobacter</i>	4	2.05
Enteric group 69	4	2.05
<i>Enterococcus</i>	3	1.54
<i>Klebsiella</i>	3	1.54
<i>Serratia</i>	3	1.54
<i>Clostridium</i>	1	0.51
<i>Edwardsiella</i>	1	0.51
Enteric group 64	1	0.51
<i>Burkholderia</i>	1	0.51
<i>Flavobacterium</i>	1	0.51
<i>Proteus</i>	1	0.51
Total	195	100

DISCUSSION

The main aim of this work was to give suggestions of new limits and interpretation of results for examined veterinary preparations which will be able to be incorporated into The Pharmacopoea Bohemica 1997:

Veterinary products which must comply with the tests for sterility; ear preparations*

V. The survey of micromycetes genera diversity in veterinary pharmaceutical preparations

Genus	Occurrence in samples	Occurrence in samples (%)
<i>Aspergillus</i>	47	47.47
<i>Mucor</i>	19	19.19
<i>Penicillium</i>	13	13.13
<i>Paecilomyces</i>	6	6.06
<i>Scopulariopsis</i>	4	4.04
<i>Cladosporium</i>	3	3.03
<i>Mycelia sterilia</i>	3	3.03
<i>Rhizopus</i>	2	2.02
<i>Fusarium</i>	1	1.01
<i>Ulocladium</i>	1	1.01
Total	99	100.00

intramammary preparations*

intrauterine preparations

intramammary* and intrauterine applicators

In the part of "Praemixta medicata pro usu veterinario"

Limits for microbiological contamination:

pathogenic microorganisms – not present, a maximally acceptable count of aerobic and anaerobic microorganisms 1×10^5 CFU/g, a maximally acceptable count of yeast 100 CFU/g and moulds 100 CFU/g. In the case of the presence of toxinogenic fungi the tests for mycotoxins must be carried out.

REFERENCES

- (1) Pharmacopoea Bohemoslovaca I, II, III, 4th ed. Praha, Avicenum 1987.

- (2) Pharmacopoea Bohemoslovaca, Addendum. 4th ed. Praha, Avicenum 1991.
- (3) European Pharmacopoeia. 3rd ed. Strasbourg, France, 1996.
- (4) Czech Norm ISO 7667. Microbiology. Standard Layout for Methods of Microbiological Examination. Praha, Český normalizační institut 1994.
- (5) Czech Norm ISO 7218. Mikrobiology. General Guidance for Microbiological Examinations. Praha, Český normalizační institut 1994.
- (6) Czech Norm ISO 6887. Microbiology. General Guidance for the Preparation of Dilutions for Microbiological Examination. Praha, Český normalizační institut 1994.
- (7) Czech Norm ISO 4833. Microbiology. General Guidance for the Enumeration of Micro-organisms. Colony count technique at 30 °C. Praha, Český normalizační institut 1994.
- (8) Czech Norm ISO 7932. Microbiology. General Guidance for Enumeration of *Bacillus cereus*. Colony count technique at 30 °C. Praha, Český normalizační institut 1994.
- (9) Czech Norm ISO 6888. General Guidance for Enumeration of *Staphylococcus aureus*. Colony count technique. Praha, Český normalizační institut 1994.
- (10) Czech Norm ISO 4832. General Guidance for Enumeration of Coliforms. Colony count technique. Praha, Český normalizační institut 1994.
- (11) Czech Norm ISO 6579. General Guidance of Methods for Detection of *Salmonella*. Praha, Český normalizační institut 1995.
- (12) Czech Norm ISO 7402. General Guidance for Enumeration of *Enterobacteriaceae* without Resuscitation. MPN technique and colony count technique. Praha, Český normalizační institut 1995.
- (13) Czech Norm ISO 7251. General Guidance for Enumeration of Presumptive *Escherichia coli*. Most probable number technique. Praha, Český normalizační institut 1995.
- (14) Czech Norm ISO 7937. General Guidance for Enumeration of *Clostridium perfringens*. Colony count technique. Praha, Český normalizační institut 1994.
- (15) Czech Norm ISO 7954. General Guidance for Enumeration of Yeasts and Moulds. Colony count technique at 25 °C. Praha, Český normalizační institut 1994.

Received: 97-11-26

Accepted after corrections: 98-05-11

Contact Address:

Mgr. Lucie Pokludová, Dr., Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Hudcova 56a, 612 00 Brno, Česká republika
Tel. +420 5 41 21 00 22, fax +420 5 41 21 26 07, e-mail: uskvbl-brno@telecom.cz

The second edition of the Eurovet Guide is out now !

This second, completely updated edition of the *Eurovet Guide* (680 pages) contains over **6000 names and addresses**. Some **560 veterinary professional and specialist associations** (over 40 disciplines) from all over Europe are presented, with their current board members and contact addresses. The *Eurovet Guide* also gives an overview of veterinary **specialisation** today in the various countries and on European level.

The *Eurovet Guide 1998-1999* also presents Europe's **76 veterinary schools**, each with full details, including the name, telephone, fax and e-mail number of all heads of departments, but also of the dean, librarian, student and exchange representatives.

Detailed information on the **veterinary structure** of the European Union is also supplied (including changes which have occurred since the Commission's post-BSE reshuffle) **Erasmus** exchanges, and the administrative steps to undertake in order to **register** as a veterinary surgeon in another EU country.

For every European country, the most recent veterinary and livestock **statistics** are presented, followed by a short presentation on the current situation of the profession.

Addresses of the **state veterinary services** and **major research institutes** are also given, as well as names, functions and contact numbers of the scientific staff, while the main veterinary **journals** are also listed for each country.

Suppliers to the veterinary profession of European scope (pharmaceutical and pet food companies, diagnostic laboratories, veterinary instruments...) are listed in the "yellow pages" section. Over **40 referral clinics** throughout Europe are also presented — on a strictly voluntary basis — with their specialties, equipment and languages spoken.

Finally, over forty pages of **calendar** announce some **170 dates** of forthcoming events, courses and congresses of European importance, while an illustrated section on **veterinary history** gives a peek into our common heritage and lists Europe's associations and museums devoted to this subject.

NEW in the second edition:

- Over 1000 new entries*
- Veterinary and animal statistics for *all* European countries**
- The new organisation of the EU Commission's veterinary units
- An illustrated section on veterinary history

*Two hundred pages MORE than its first edition !

**Albania, Austria, Belgium, Bosnia-Herzegovina, Bulgaria, Croatia, Czech republic, Denmark, Estonia, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Iceland, Ireland, Italy, Latvia, Lithuania, Luxemburg, Macedonia (FYROM), Netherlands, Norway, Poland, Portugal, Rumania, Slovakia, Slovenia, Spain, Sweden, Switzerland, United Kingdom, Yugoslavia.

The Eurovet Guide 1998-1999 (ISBN 2-86326-141-X) is a publication of the Editions du Point Vétérinaire, and copies (at 310 FF each) may be ordered at the postal book shop :

**Zoothèque, BP 14, F-94701 Maisons-Alfort cedex, France
fax + [33] 1 48 93 44 33 - <http://www.pointveterinaire.com>**

• For further information, please contact Karin de Lange, Éditions du Point Vétérinaire,
tel + [33] 1 45 17 02 25, fax + [33] 1 45 17 02 74 e-mail : kdelange.pointvet@invivo.edu

EPIDEMIOLOGY OF AVIAN INFLUENZA A (H5N1)

EPIDEMIOLOGIE PTAČÍ CHŘIPKY A (H5N1)

A. M. Čelko¹, J. Rosina²¹ Center of Preventive Medicine, Department of Epidemiology, 3rd Medical Faculty, Charles University, Praha, Czech Republic² Department of Medical Biophysics, 3rd Medical Faculty, Charles University, Praha, Czech Republic

ABSTRACT: Description of basic epidemiologic characteristics of avian influenza A (H5N1), disease of birds known as fowl plague, which is not new but abruptly emerged in connection with human outbreak in Hong-Kong. The probable mechanisms of virus circulation, reservoirs, routes of transmission with possible risks also for humans are presented. Established control measures taken to prevent spreading of infection and to protect animal and human health are described.

avian influenza A (H5N1); epidemiological characteristics; control measures

ABSTRAKT: Základní epidemiologické charakteristiky ptačí chřipky A (H5N1) – onemocnění známého jako mor drůbeže, které není nové, ale v centru pozornosti kvůli výjimečnému přenosu na člověka. Práce shrnuje mechanismy cirkulace viru v přírodě, popisuje rezervoár i cesty přenosu nákazy s možným rizikem přenosu na člověka. Uvádí známá opatření k zábráně šíření infekce a k ochraně zdraví zvířat a lidí.

ptačí chřipka A (H5N1); epidemiologické charakteristiky; kontrolní opatření

Charakteristika: Viry chřipky typu A byly izolovány z řady divoce žijících i domestikovaných teplokrevných zvířat (ptáků a savců). Účinek infekce tímto typem viru je do značné míry závislý na druhu hostitele, cestě přenosu a specifitě cílových tkání, které virus napadá. Divoce žijící stěhovavé vodní ptactvo, zejména kachny a husy, hrají významnou roli jako rezervoár chřipkového viru. Přednostně bývají infikovány mladé kachny bez protektivní imunity proti chřipce a tento imunologicky vnímavý terén umožňuje cirkulaci viru v průběhu celého roku na nové generace ptáků. Vodní ptactvo nemívá žádné klinicky manifestní projevy infekce chřipkovým virem. Virus má u nich primární afinitu k střednímu traktu a infikovaný pták vylučuje po dobu dvou až čtyř týdnů virus trusem. Chronické infekce nebo latentní přežívání chřipkového viru nebylo dosud prokázáno u žádného živočicha. V lidské populaci, ale také u prasat a koní dochází k cirkulaci chřipkových virů v pravidelných intervalech (tj. v chladném období roku), zejména v mírném a subarktickém klimatickém pásmu. V tropickém a subtropickém pásmu nebývá tato sezónnost cirkulace chřipkových virů pozorována a lze je prokázat v respiračním traktu výše zmíněných živo-

čišných druhů během celého roku. Výrazná afinita chřipkových virů k epitelialním buňkám respiračního traktu má za následek klinické projevy akutního respiračního onemocnění, případně bronchooelonie nebo pneumonie. U hrabavých ptáků, mořských savců a dobytka propukají chřipkové epizoozie zřídka, ale nepředvídatelně, často se značně vysokým úhynem. Díky tomu virus v těchto zvířecích populacích nepřežívá a epizoozie spontánně vyhasíná.

Infekční agens: Orthomyxovirus influenzae typy A subtyp H5N1. Selektivně ptačí subtyp chřipkového viru vysoce infekční a extrémně virulentní, zejména pro kuřata a krůty. Poprvé izolován v roce 1961 po rozsáhlém úhynu mořských vlaštovek v Jižní Africe.

Výskyt: Kosmopolitní, původce řady epizoozií v chovech kuřat a krůt. V poslední době byl chřipkový virus typu A (H5N1) izolován pouze u ptáků v jižní Asii a Hong-Kongu.

Přenos nákazy: Stěhovavé vodní ptactvo je největším známým rezervoárem chřipkových virů. Jejich způsob života usnadňuje přenos viru mezi oblastmi, zeměmi či kontinenty. Vyčerpání ptáků a stres při překonávání velkých vzdáleností výrazně zvyšují vyluč-

čování viru exkrety. Nedostatek potravy je pravděpodobně nutí hledat zdroje v blízkosti chovů drůbeže. Přenos infekce se predominantně realizuje přímým kontaktem s domestikovanou drůbeží prostřednictvím kontaminovaného trusu, zejména ve venkovních chovech. Do uzavřených chovů se virus dostává nepřímo aktivitami člověka – kontaminací obuvi a oděvu, krmiwa a různých předmětů. Hmyz a hlodavci mohou být také významným lokálním vektorem šíření viru.

Inkubační doba: Jeden až čtyři dny.

Období nakažlivosti: Ptáci, u kterých se chřipka klinicky nemanifestuje vylučují virus pod dobu dvou až čtyř týdnů exkrety. U člověka nebyl interhumánní přenos dosud prokázán.

Vnímavost a rezistence: Vnímavost je vysoká pro hrabavou drůbež (s vysokou morbiditou a letalitou přesahující 90 %), ale také pro mořské savce (mrože, tuleně).

Pro člověka je zatím velmi nízká. Dosud bylo prokázáno 18 onemocnění (smrtnost 33 %), všechny případy se vyskytly na území Hong-Kongu mezi květnem a prosincem 1997.

Kontrolní opatření k ochraně zdraví zvířat:

- Okamžitá diagnóza potvrzená izolací a identifikací viru a veterinární surveillance
- Eliminace viru ze země utracením infikovaných chovů, dobře organizovanými karanténními opatřeními a omezením importu, zejména z oblastí nedávno pozorovaného výskytu (Jižní Asie)
- Dodržování hygienických a protiepidemických opatření k zábráně rozšíření infekce na další chovy

Kontrolní opatření k ochraně zdraví lidí:

- Stejná jako k ochraně zdraví zvířat
- Řádná tepelná úprava drůbežního masa
- Imunoprevence: Očkovací látka není dosud k dispozici. Virus usmrcuje kuřecí embrya, na kterých se konvenční chřipkový virus typu A (H3N2, H1N1) kultivuje. Pracuje se na senzitivních tkáňových kulturách, na kterých by virus chřipky A (H5N1) mohl být kultivován
- Chemoprofylaxe: Stejně jako proti ostatním virům chřipky typu A se předpokládá profylaktický a terapeutický účinek Amantadinu nebo Rimantadinu

Kontaktní adresa:

MUDr. A. M. Čelko, CSc., 3. Lékařská fakulta UK, Centrum preventivního lékařství, Oddělení epidemiologie, Ruská 87, 100 00 Praha 10, Česká republika
Tel. +420 2 67 10 23 36

OCCURRENCE OF BOVINE TUBERCULOSIS IN ANIMALS AND HUMANS IN THE CZECH REPUBLIC IN THE YEARS 1969 TO 1996***VÝSKYT BOVINNÍ TUBERKULÓZY U ZVÍŘAT A LIDÍ V ČESKÉ REPUBLICE V LETECH 1969 AŽ 1996****I. Pavlík¹, J. Bartl¹, I. Parmová², M. Havelková³, M. Kubín³, J. Bažant⁴**¹*Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic*²*State Veterinary Institute, Praha, Czech Republic*³*State Health Institute, Praha, Czech Republic*⁴*State Veterinary Administration, Praha, Czech Republic*

ABSTRACT: As of 10 October, 1968, bovine tuberculosis in cattle was eliminated in the Czech Republic within the framework of national elimination programme (1959 to 1968). The postelimination period (1969 to 1996) was typical by vanishing of infection source reservoirs during several following years. Currently only sporadic cases are recorded. In the period of the years 1969 to 1996 bovine tuberculosis was newly detected in 369 farms of cattle (42 small farms with up to 9 dairy cows and 327 larger farms with more than 10 dairy cows). No occurrence of bovine tuberculosis was found in the years 1981, 1987 to 1990, 1993 and 1996. In the remaining years of the period between 1980 and 1996, there were always maximum 3 outbreaks of bovine tuberculosis in cattle detected per year. The rate of infected animals out of the total size of herds was very low and did not exceed 5 to 10% of animals. In the years 1970 to 1996 the infection with *Mycobacterium bovis* was also diagnosed in total of 119 animals (zoological gardens, wild animals, small farms) and in 10 samples of milk. In the sense of OIE definition (International Animal Health Code) the territory of the Czech Republic is free from bovine tuberculosis (prevalence up to 0.2% of infected herds of cattle). In human population in the years 1969 to 1996 the spread of *M. tuberculosis* was recorded in totally 77 739 newly infected persons and the infection with *M. bovis* in 476 patients. In 1981 to 1996 the prevalence of bovine tuberculosis ranged in absolute figures between 4 and 20 patients of higher age groups – above 50 years (0.04 to 0.20 per 100 000 inhabitants). The incidence of this disease in absolute figures was 3 to 19 patients (0.05 to 0.18 per 100 000 inhabitants).

Mycobacterium bovis; Mycobacterium tuberculosis; prevalence; incidence; control; prevention

ABSTRAKT: Bovinní tuberkulóza skotu byla v České republice utlumená v rámci ozdravovacího celostátního programu (1959 až 1968) 10. 10. 1968. Postelimináční období (1969 až 1996) bylo v několika následujících letech charakterizováno vymizením rezervoárů zdrojů. V současné době jsou zaznamenávány pouze sporadické případy. V letech 1969 až 1996 byla boviní tuberkulóza nově zjištěna v 369 chovech skotu (42 malých chovů do devíti dojnic a 327 velkých farem s více než 10 dojnicemi). V letech 1981, 1987 až 1990, 1993 a 1996 nebyl zjištěn žádný výskyt boviní tuberkulózy. Přitom v ostatních letech v období 1980 až 1996 byla vždy zjištěna nejvýše tři ohniska boviní tuberkulózy u skotu. Podíl infikovaných zvířat v jednotlivých stádech byl velmi nízký a nepřesahoval 5 až 10 % zvířat. V letech 1970 až 1996 byla infekce *Mycobacterium bovis* diagnostikována také celkem u dalších 119 zvířat (zoologické zahrady, příroda, malé chovy) a v 10 vzorcích mléka. Ve smyslu definice O.I.E. (International Animal Health Code) je území České republiky prosté boviní tuberkulózy (prevalence do 0,2 % infikovaných stád skotu). V lidské populaci bylo v letech 1969 až 1996 vylučováno *M. tuberculosis* evidováno celkem u 77 739 nově infikovaných osob a infekce *M. bovis* u 476 pacientů. V letech 1981 až 1996 se prevalence boviní tuberkulózy pohybovala v absolutních hodnotách v rozmezí čtyři až 20 pacientů vyšších věkových kategorií, tj. starších 50 let (0,04 až 0,20 na 100 000 obyvatel). Incidence tohoto onemocnění se v absolutních číslech rovnala tři až 19 nemocných (0,05 až 0,18 na 100 000 obyvatel).

Mycobacterium bovis; Mycobacterium tuberculosis; prevalence; incidence; ozdravování; prevence

* Partially supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Grant No. 7172/97).

CONTENTS

1. Introduction
2. Bovine tuberculosis in animals in the Czech Republic in the years 1969 to 1996
 - 2.1. System of diagnostics of bovine tuberculosis in animals
 - 2.2. Overview of examination results
 - 2.3.1. Bovine tuberculosis in cattle in the years 1969 to 1996
 - 2.3.2. Sources of infection with *M. bovis* for cattle
 - 2.4.1. Bovine tuberculosis in other animals
 - 2.4.2. Sources of bovine tuberculosis for other animals
 - 2.5.1. Prospects of development of epidemiological situation in cattle and other animals
 - 2.5.2. Risks of new outbreaks of bovine tuberculosis in animals
3. Bovine tuberculosis in humans in the Czech Republic in the years 1969 to 1996
 - 3.1. Organization of diagnostics of tuberculosis in humans in the Czech Republic
 - 3.2.1. Nation-wide evaluation of diagnostic results
 - 3.2.2. Information in the Register of tuberculosis
 - 3.3. Tuberculosis in humans caused by *M. tuberculosis*
 - 3.4.1. Occurrence of bovine tuberculosis in humans
 - 3.4.2. Clinical signs of bovine tuberculosis in the years 1979 to 1983
 - 3.4.3. Epidemiological importance of bovine tuberculosis in humans
 - 3.5. Comparison of rates of *M. tuberculosis* and *M. bovis* in human infections
 - 3.6.1. Protection of humans against tuberculosis by vaccination
 - 3.6.2. Postvaccination complications in children
 - 3.7. Prospects of occurrence of bovine tuberculosis in human population
 - 3.8.1. HIV/AIDS infection and expected worldwide development of epidemiological situation
 - 3.8.2. HIV/AIDS infection in patients in the Czech Republic
 - 3.8.3. Mycobacterial infections in HIV/AIDS patients in the Czech Republic
4. Conclusion
5. References

OBSAH

1. Úvod
2. Bovinní tuberkulóza zvířat v České republice v letech 1969 až 1996
 - 2.1. Systém diagnostiky bovinní tuberkulózy zvířat
 - 2.2. Přehledné zpracování výsledků vyšetření
 - 2.3.1. Bovinní tuberkulóza skotu v letech 1969 až 1996
 - 2.3.2. Zdroje infekce *M. bovis* pro skot
 - 2.4.1. Bovinní tuberkulóza u ostatních zvířat
 - 2.4.2. Zdroje bovinní tuberkulózy pro ostatní zvířata
 - 2.5.1. Perspektivy vývoje nakažové situace u skotu a ostatních zvířat
 - 2.5.2. Rizika vzniku nových ohnisek bovinní tuberkulózy u zvířat
3. Bovinní tuberkulóza lidí v České republice v letech 1969 až 1996
 - 3.1. Organizace diagnostiky lidské tuberkulózy v České republice
 - 3.2.1. Celostátní vyhodnocování výsledků diagnostiky
 - 3.2.2. Informace v Registru tuberkulózy
 - 3.3. Tuberkulóza lidí vyvolaná *M. tuberculosis*
 - 3.4.1. Výskyt bovinní tuberkulózy u lidí
 - 3.4.2. Klinické příznaky bovinní tuberkulózy v letech 1979 až 1983
 - 3.4.3. Epidemiologický význam bovinní tuberkulózy u lidí
 - 3.5. Srovnání podílu *M. tuberculosis* a *M. bovis* na lidském onemocnění
 - 3.6.1. Ochrana lidí proti tuberkulóze vakcinací
 - 3.6.2. Postvaccinační komplikace u dětí
 - 3.7. Perspektivy ve výskytu bovinní tuberkulózy v lidské populaci
 - 3.8.1. Infekce HIV/AIDS a očekávaný celosvětový vývoj epidemiologické situace
 - 3.8.2. Infekce HIV/AIDS u pacientů v České republice
 - 3.8.3. Mykobakteriální infekce u pacientů HIV/AIDS v České republice
4. Závěr
5. Literatura

1. INTRODUCTION

Tuberculosis in humans does not belong among completely eradicated diseases worldwide, and recently we are witnesses of the increase of its importance. The number of deaths in this decade (1990–1999) is estimated by WHO at 8.8 million people worldwide. It is not known what is the percentage rate of infection with *Mycobacterium bovis* within the cases of tuberculosis in humans. The information on current trends in epidemiology and research of this important zoonosis is important also for maintaining the current favorable status of infection of animals with bovine tuberculosis in the Czech Republic (Thoen and Steele, 1995; Grange, 1996).

Extensive programmes of the countries with developed agriculture, including the Czech Republic, based on the principle "test-and-slaughter" were mostly successful. After the elimination of bovine tuberculosis in cattle the occurrence of this disease decreased also in other animals and subsequently in humans as well. Nevertheless, the sources of infection with *M. bovis* remain in these countries in wild animals, and they are very difficult to control. The diagnostics of bovine tuberculosis in wild animals, e.g. in Europe (deer – *Cervus elaphus*, wild boar – *Sus scrofa*, badger – *Meles meles*) or in New Zealand (possum – *Trichosurus vulpecula*) is practically impossible (Thoen and Steele, 1995; Grange, 1996).

One of the objectives of the present article is therefore to inform Czech and foreign readers about the current epidemiological situation of bovine tuberculosis both in animals and in man in the Czech Republic. Another aim is the analysis of risks and identification of threats that exist not only for domestic animals, but also for farm animals, animals in zoological gardens and wild animals.

2. BOVINE TUBERCULOSIS IN ANIMALS IN THE CZECH REPUBLIC IN THE YEARS 1969 TO 1996

The current incidence and prevalence of bovine tuberculosis in animals and humans in the Czech Republic is very favorable from the point of view of trends in all epidemiological parameters. The essential reason for this status is mainly the elimination of bovine tuberculosis, which was officially declared nation-wide on 10 October, 1968, within the framework of the Programme for nation-wide elimination of bovine tuberculosis (1959 to 1968) – Polák (1969), Stráka (1985), Kouba (1988). This situation meant a change in the significance of infection with *Mycobacterium bovis* for humans and animals. The postelimination period was typical by vanishing of infection source reservoirs during several following years. In the following period the occurrence of *M. bovis* was further decreased in such a way that in several recent years we are witnessing only quite sporadic detection both in the

population of cattle and other animals (Rossi and Dokoupil, 1969; Chloupek, 1981; Hejlíček and Chloupek, 1982; Pavlas and Mezenský, 1982; Kovařík et al., 1995; Pavlík et al., 1995), and in human population (Víznerová and Polánecký, 1974; Truksová et al., 1978; Pavlas and Mezenský, 1982; Kubín et al., 1984; Havelková et al., 1987; Havelková and Pavlík, 1995; Pavlík et al., 1998).

2.1. System of diagnostics of bovine tuberculosis in animals

The main diagnostic method for the elimination of bovine tuberculosis in cattle was intradermal tuberculation, which is applied in cattle overall and nation-wide once a year until now. Long-term experience with its use, especially after 1969, and explanations of reasons for complications in allergen diagnostics in the Czech Republic, were presented by Pavlas (1990). The approach towards diagnostic slaughter was changed as well, because many reactions found after tuberculation in cattle were caused by mycobacteria that occur in the external environment (Šaloun, 1970). The position of laboratory diagnostics, specialized in bovine tuberculosis, was changed as well.

During the long period after elimination of bovine tuberculosis, the number of animals with suspect pathological changes in lymph nodes and parenchymatous organs, which were examined in a laboratory, significantly decreased. Therefore the number of laboratories specialized in diagnostics of bovine tuberculosis decreased as well (Kruček, 1973; Kovařík et al., 1995). During the first half of the observation period altogether 10 State Veterinary Laboratories were engaged in this diagnostics. Due to decreasing occurrence of bovine tuberculosis it was possible to decrease the number of specialized laboratories, which ensure the bacteriological examination of samples for the detection of *M. bovis* from the whole territory of the Czech Republic, to the following three: 1. Reference laboratory for tuberculosis of the State Veterinary Institute in Prague (Dr. Ilona Parmová), 2. Laboratory for mycobacteria of the State Veterinary Institute in Brno (Doc. Dr. Milan Pavlas, Dr. Karel Kovařík), and 3. Methodological and reference center for tuberculosis, paratuberculosis and other mycobacterial infections of animals of the Veterinary Research Institute in Brno (Dr. Ivo Pavlík).

2.2. Overview of examination results

The results of the examinations were annually summarized: in the years 1969 to 1970 in the State Veterinary Institute in Prague, in the years 1971 to 1989 in the bulletin Surveillance of zoonoses, and in the years 1990 to 1996 in the Annual reports on the activities in veterinary laboratory and clinical diagnostics. The data were also taken from the works that survey the results of examinations for bovine tuberculosis after 1969 in

cattle (Rossi and Dokoupil, 1969; Beneš et al., 1970; Hejlíček et al., 1970; Chloupek, 1981; Hejlíček and Chloupek, 1982; Pavlas and Mezenský, 1982; Pavlík et al., 1995; Dočekal et al., 1995), and in other animals (Kruc-ký, 1981a, b; Čeleda, 1995; Pavlík et al., 1998). In order to obtain easier understanding of the extent of affection with bovine tuberculosis in cattle in the Czech Republic, Tab. I presents total numbers of cows in elimination and postelimination periods.

I. Numbers of cows in the Czech Republic in years 1960 to 1996

Year	Number of cows (mil.)
1960*	1.430
1965*	1.388
1970	1.392
1975	1.249
1980	1.288
1985	1.246
1990	1.236
1995	0.768
1996	0.750

* elimination period

2.3.1. Bovine tuberculosis in cattle in the years 1969 to 1996

In the years 1969 to 1996 (Tab. II) bovine tuberculosis was newly found in 369 cattle farms: in 42 small farms (with up to 9 dairy cows) and 327 larger farms (with more than 10 dairy cows). No occurrence of bovine tuberculosis was found in the years 1981, 1987 to 1990, 1993 and 1996. In remaining years of the period between 1980 and 1996, there were always maximum 3 outbreaks of bovine tuberculosis in cattle detected per year. The rate of infected animals out of the total size of herds was very low and did not exceed 5 to 10% of animals.

Only at one farm, during its winding-up in 1995, the infection was found in all 32 animals of different age groups. The source was a clinically ill cow, at least 17 years old, which did not react to allergen. In the period of 2 to 3 months after parturition emaciation was manifested with subsequent diarrhoea and cough. After emergency slaughter the tuberculous changes were found not only in pulmonary tissue, but also on pleura (pearl-like changes). Subsequently the cow became in the barn the source of infection for other cattle of all age groups and also for four pigs, kept in the immediate neighborhood.

2.3.2 Sources of infection with *M. bovis* for cattle

Especially in the years 1969 to 1979 the cause for new outbreaks was mostly the activation of the process in latently infected animals, which could not be diagno-

sed by regular tuberculation. Since 1980 the occurrence of bovine tuberculosis in cattle has been quite sporadic. In the years 1980, 1984, 1986 and 1995 it was found that the sources of infection were old cows that long-term did not react to allergen. In 1983 two outbreaks were registered on small farms, caused by mutual sale of infected animals immediately before bovine tuberculosis was diagnosed. Infected farm personnel was source of bovine tuberculosis for cattle in two cases (in 1976 and 1977).

2.4.1. Bovine tuberculosis in other animals

During the same period (except for 1969, for which no data were available from the archives), bovine tuberculosis was diagnosed besides cattle also in 119 other animals and in 10 samples of milk (Tab. III). In the years 1970 to 1974, *M. bovis* was isolated from 82 animals other than cattle (31 pigs, 1 lioness, other animals are not specified, and there is also no data on locations and districts). During the following period of 1975 to 1996 *M. bovis* was isolated in six different zoological gardens from 22 animals (cheetah, orangutan, manded wolf, antelope, Abyssinian guereza, tiger, red deer, chimpanzee, tapir, capybara, cassowary, and American bison). *M. bovis* was furthermore isolated in a circus from camel, in wild animals from red deer, and in game-park from wild goat. It has to be noted that in the years 1982, 1984, 1985, 1986, 1988 and 1990 *M. bovis* was not diagnosed in the Czech Republic in any other animal.

2.4.2. Sources of bovine tuberculosis for other animals

Only in two cases in infected animals in zoological gardens it was possible find the origin of the infection, which was introduced through the purchase of infected animals. In other cases in animals in zoological gardens it is possible to search for the sources of infection with *M. bovis* in the infected environment, and it is not possible to rule out completely the possibility of infection by an infected human. Repeated occurrence of bovine tuberculosis in several zoological gardens may suggest a persisting infection in some individuals. In some cases the infection was introduced into the zoological garden with animals purchased from abroad (e.g. two tapirs from Poland).

2.5.1. Prospects of development of epidemiological situation in cattle and other animals

No detections of *M. bovis*, both in cattle in the years 1981, 1987 to 1990, 1993 and 1996, and in other animals in the years 1982, 1984 to 1986, 1988 and 1990, suggest a favorable epidemiological situation in the area of bovine tuberculosis in the Czech Republic. In the sense of O.I.E. definition the territory of the Czech Republic is free from bovine tuberculosis (prevalence up to 0.2% of infected herds of cattle).

II. Bovine tuberculosis in animals and man in the Czech Republic (1969–1996)

Year	Number of outbreaks	Cattle farms		Other infected animals	Number of infected humans		
		large >10	<9		<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	%
1969	49	44	5	?	6 694	39	0.6
1970	59	55	4	45	6 276	48	0.8
1971	61	61	0	20	5 843	29	0.5
1972	20	17	3	5	5 265	46	0.9
1973	36	31	5	9	4 932	36	0.7
1974	36	30	6	3	4 350	23	0.5
1975	41	33	8	5	3 949	24	0.6
1976	13	13	0	1	3 904	32	0.8
1977	12	12	0	2	3 740	26	0.7
1978	15	12	3	3	3 172	24	0.8
1979	9	8	1	7	2 781	19	0.7
1980	1	1	0	2	2 760	14	0.5
1981	0	0	0	1	2 458	11	0.4
1982	3	3	0	0	2 256	19	0.8
1983	3	1	2	1	2 016	13	0.6
1984	1	0	1	0	1 985	12	0.6
1985	1	1	0	0	1 711	3	0.2
1986	2	0	2	0	1 485	7	0.5
1987	0	0	0	2	1 358	4	0.3
1988	0	0	0	0	1 328	8	0.6
1989	0	0	0	1	1 361	7	0.5
1990	0	0	0	0	1 333	6	0.5
1991	2	2	0	2	1 297	6	0.5
1992	2	1	1*	1	1 177	5	0.4
1993	0	0	0	1	1 035	5	0.5
1994	2	2	0	2	1 093	4	0.4
1995	1	0	1**	4	1 030	3	0.3
1996	0	0	0	2	1 150	3	0.3
Total	369	327	42	119	77 739	476	0.6

Explanations:

? data not available

<9 cattle farms with up to 9 cows

>10 cattle farms with more than 10 cows

* *M. bovis* isolated also from milk of infected old cow

** infection of cattle in a small farm with 31 heads of cattle of all age groups

2.5.2. Risks of new outbreaks of bovine tuberculosis in animals

Systematic analysis of epidemiological situation on the whole territory of the Czech Republic according to the available information during the period of 1969 to 1996 enabled the risk evaluation concerning the occurrence of new outbreaks of bovine tuberculosis. The risks can be considered from the following aspects:

Persistently infected animals. With advancing time and rapid turnover in cattle herds (culling rate up to 30%), the probability of clinical outbreak of the disease in persistently infected animals, which are older and do not react to allergen, is constantly decreasing. Due to the aspect of longevity, certain risk is in the animals kept in zoological gardens.

Persistently infected farm personnel. Certain danger (especially on small farms) may be posed by elderly and persistently infected farm personnel. With advancing age the immunity against the infection may be broken with subsequent spread of *M. bovis*. In such a way they may become a source of bovine tuberculosis for farm animals (especially cattle and swine). A similar danger exists in the farm personnel that is hired from the countries of former Soviet Union. These people (usually with agricultural background) originate from the countries (especially from the Ukraine, Belarus and others) that have the epidemiological background unknown for us (especially concerning tuberculosis in animals and man).

Reservoirs of infection in the nature and possibilities of infection of animals on pastures. Reservoirs

III. *Mycobacterium bovis* in other animals (except for cattle) and from other material (1969–1996)

Year	Animal species	Location	District	number of infected animals
1969	?			
1970	domestic pig	?	?	22
	milk	?	?	10
	lioness	?	?	1
	mink and other unspecified animals	?	?	22
1971	pig	?	?	5
	other animals than cattle or pig, unspecified	?	?	15
1972	pig	?	?	3
	other animals than cattle or pig, unspecified	?	?	2
1973	other animals than cattle, unspecified	?	?	9
1974	pig	?	?	1
	other animals than cattle or pig, unspecified	?	?	2
1975	cheetah	ZOO I(1)	Trutnov	2
	orang-utan	ZOO II(2)	Praha město	1
	antelope	ZOO III(3)	Liberec	2
1976	domestic horse	SF a (4)	Cheb	1
1977	domestic pig	SF b (5)	?	1
	Abyssinian guereza	ZOO II(2)	Praha město	1
1978	domestic pig	SF c (6)	Kolin	1
	domestic pig	SF d (7)	Rakovnik	1
	tiger	ZOO I(8)	Trutnov	1
1979	red deer	ZOO II(2)	Praha město	2
	domestic pig	OVS (6)	Kolin	2
	chimpanzee	ZOO III(3)	Liberec	1
	mink	SF e (9)	České Budějovice	2
1980	cheetah	ZOO I(8)	Trutnov	1
	maned wolf	ZOO I(8)	Trutnov	1
1981	maned wolf	ZOO I(8)	Trutnov	1
1982	<i>M. bovis</i> was not detected in any animal			0
1983	antelope	ZOO I(8)	Trutnov	1
1984	<i>M. bovis</i> was not detected in any animal			0
1985	<i>M. bovis</i> was not detected in any animal			0
1986	<i>M. bovis</i> was not detected in any animal			0
1987	tapir	ZOO IV(10)	Zlin	2
1988	<i>M. bovis</i> was not detected in any animal			0
1989	capybara	ZOO IV(10)	Zlin	1
1990	<i>M. bovis</i> was not detected in any animal			0
1991	red deer	wild animal (11)	Chomutov	1
	wild goat Pálava (12) Břeclav I			
1992	camel	circus (13)	Praha město	1
	milk	infected cow	České Budějovice	1
1993	bison	ZOO II(2)	Praha město	1
1994	tapir	ZOO V(14)	Jihlava	1
	cassowary	ZOO VI(15)	Brno	1
1995	domestic pig	SF f (16)*	Žďár nad Sázavou	4
1996	tapir	ZOO V(14)	Jihlava	2
Total (1970 to 1974)			infected individual animals	82
			infected milk samples	10
Total (1975 to 1996)			infected milk samples	1
			infected individual animals	22
			infected individual animals	15
			infected individual animals in total	53

Explanations:

? data not available

 I–VI number of zoological gardens with confirmed infection with *M. bovis*

 (1–16) number of outbreak location with *M. bovis* infection

SF a–f small farm with up to 5 animal of the species affected by the infection (farmer a–f)

* the pigs were kept in the immediate vicinity of infected cattle at a small farm in year 1995

of *M. bovis* in the nature can exist in the Czech Republic as well as in Slovakia in wild boars (Ka len s k ý, 1992). Game animals (wild boar, red deer, roe deer, mouflon and others), insufficiently treated for tuberculosis in the Czech Republic, then does not enable to rule out safely this risky source of infection. From this point of view grazing of domestic animals is risky for the spread of the disease in the Czech Republic as well, because on the pastures domestic animals can get into contact with infected wild animals.

Animals kept in zoological gardens. Animals kept in zoological gardens with a relatively frequent occurrence of tuberculosis in certain pens can be infected from the contaminated environment, if sanitation is insufficient. In older animals it is also possible to expect breaking of immunity that otherwise prevents an outbreak of infection in persistently infected individuals (G r o c h and Č e r n ý, 1956). In this environment it is also not possible to rule out safely the infection of animals from infected visitors.

Farmed game animals. According to foreign experience, game animals kept at farms (red deer, fallow deer, mouflon, wild boar and others) pose also considerable danger, because of frequent close contact with wild animals. Moreover, the risks of disease introduction are increased with extending trade in farmed deer, capturing of wild ruminants for farming, or purchase of these animals from the countries and continents with the occurrence of bovine tuberculosis (P a v l í k, 1996a,b).

Import of animals from unknown epidemiological conditions or from areas of high risk. The importation of cattle and other animals into the Czech Republic from the areas, where bovine tuberculosis is occurring so far to a larger extent, is also very dangerous. There were some cases recorded in neighboring countries, where for instance cattle infected with bovine tuberculosis was imported from Rumania and Hungary to Slovenia (P a v l í k et al., 1997). Two infected tapirs were imported from Poland to one zoological garden in the Czech Republic in 1996.

3. BOVINE TUBERCULOSIS IN HUMANS IN THE CZECH REPUBLIC IN THE YEARS 1969 TO 1996

The importance of human infection with *M. bovis* was considered in the Czech Republic already before the start of the programme for the elimination of bovine tuberculosis in cattle, i.e. already before 1961 (K ř i v i n k a, 1957; Ř í h a, 1957; Ra š k a, 1959). This knowledge was also one of the reasons, why the programme was adopted. The influence of infection with *M. bovis* on human population was also monitored during the elimination programme in the years 1961 to 1968 (Je ž e k et al., 1963, 1966; Ka č i n et al., 1966; Kl i m š a, 1966; P a v l a s et al., 1966).

The importance of infection with *M. bovis* in humans and animals changed significantly after 1968, when this disease was eliminated within a nation-wide elimination program for of bovine tuberculosis. This

fact has been also confirmed by published results on bovine tuberculosis in humans from the period after 1968 (V í z n e r o v á and P o l á n e c k ý, 1974; Tr u k s o v á et al., 1978; P a v l a s and M e z e n s k ý, 1982; K u b í n et al., 1984; H a v e l k o v á et al., 1987; H a v e l k o v á and P a v l í k, 1995; H a v e l k o v á et al., 1998b).

3.1. Organization of diagnostics of tuberculosis in humans in the Czech Republic

There are currently 41 diagnostic laboratories in the Czech Republic that are engaged in diagnostics of mycobacterial diseases in humans. Out of this number 11 laboratories make identification of isolated strains and determination of sensitivity to basic antituberculous. National reference laboratory for mycobacteria of the State Health Institute in Prague (Head: Dr. Marta Havelková) was appointed to serve with reference activities in mycobacteriology. National reference laboratory for *Mycobacterium kansasii* (Head: Dr. Jarmila Kaustová) at the Regional Hygienic Center in Ostrava was established for monitoring of endemic occurrence of *M. kansasii*.

3.2.1. Nation-wide evaluation of diagnostic results

Test operation of the Information system for bacillary tuberculosis (ISBT) was started in 1973 and routine centralized operation in 1981. The system is operated by the National reference laboratory for mycobacteria in Prague. Based on the reports of laboratories for mycobacteria from the whole country, the aim of the system is to gather and to analyze the information on all persons that spread mycobacteria, which are both obligatory and facultative pathogens. At the same time, through ISBT it is possible to obtain information on the methods of detection and on the results of determination of sensitivity of mycobacterial strains to antituberculous. Using the data from this database it is possible to perform follow-up epidemiological and clinical studies. Summary results are published annually in the form of annual reports on mycobacterial diagnostics in Acta Hygienica, Epidemiologica et Microbiologica, issued by the State Health Institute in Prague.

3.2.2. Information in the Register of tuberculosis

A possibility of regular comparison of ISBT database with the Register of tuberculosis, which is another notification system independent of ISBT, is also useful. The Register gathers information on patients with tuberculosis of all types and locations. The database is filled with obligatory reports on cases of tuberculosis, which are supplied by clinical specialists in tuberculosis and respiratory diseases. All cases of tuberculosis of all forms and locations are recorded in the Register of tuberculosis, i.e. also the cases not confirmed bacteriologically.

3.3. Tuberculosis in humans caused by *M. tuberculosis*

In the years 1969 to 1996 the spread of *M. tuberculosis* was registered totally in 77,739 newly infected persons. The Czech Republic may be considered as an area on the upper limit of low occurrence of tuberculosis according to the following parameters:

1. Mortality of tuberculosis was on average 1 per 100,000 inhabitants in the years 1991 to 1996.
2. The risk of infection (i.e. the rate of individuals, infected during the given time period, which is simultaneously manifested by the conversion of tuberculin reaction) in the individuals from birth till the age of 6 years is low, and at the rate under 0.1% it is comparable with the situation in western Europe.
3. Prevalence of bacillar tuberculosis was 11.5 per 100 000 inhabitants in 1996.
4. Incidence of tuberculosis of all forms and locations (i.e. both bacteriologically confirmed and unconfirmed) was 20 per 100 000 inhabitants.

Prevalence of bacillar tuberculosis showed decreasing trend until 1985. In the period between 1981 and 1985 the yearly decrease rate was on average at 6%. Despite the expectations, however, the rapid decrease was subsequently slowed down (approximately only by 3.3% per year). An important circumstance is especially the fact that the number of patients, in which the diagnose was confirmed not only by cultivation, but also by direct microscopic examination, has been decreasing more slowly. This group of patients is the most significant one from the epidemiological point of view, and they may become a source of uncontrolled spreading of tuberculosis in human population.

3.3.1. Occurrence of bovine tuberculosis in humans

M. bovis was isolated from 476 patients in the Czech Republic in the period 1969–1996. As well as in animals, the incidence of bovine tuberculosis in humans shows clearly decreasing trend. Since 1985, every year bovine tuberculosis has been diagnosed always in less than ten patients of higher age groups (above 50 years).

Reliable data on the occurrence of bovine tuberculosis in human population is however available only since the start of operation of ISBT, and especially since its centralization in 1981. Therefore, Tab. I presents only orientation data from the years 1969 to 1980. In the following years after 1980, *M. bovis* was isolated as the agent of human disease in 136 patients. Especially from 1985 the absolute numbers of patients with bovine tuberculosis were at very low level (3 to 8 persons per year). In the period between 1981 and 1996 the prevalence of bovine tuberculosis was in absolute figures within the interval of 4 to 20 patients (0.04 to 0.20 patients per 100 000 inhabitants) and the incidence in absolute figures ranged between 3 and 19 patients (0.05 to 0.18 patients per 100 000 inhabitants).

3.4.2. Clinical signs of bovine tuberculosis in the years 1979 to 1983

After comparing clinical and X-ray findings and history of different cases, caused by *M. bovis*, it was found that the methods for the diagnostics of the disease, its location, course and prognosis are practically not different at all from tuberculosis caused by *M. tuberculosis*. However, in the group of 71 evaluated patients it was possible to observe more frequently the cavernous forms of pulmonary tuberculosis. At the same time in the ratio of new and relapsed cases in tuberculosis caused by *M. bovis* it was found that the relapses were almost two times more frequent. In the above-mentioned period the extrapulmonary location of bovine tuberculosis was found only very sporadically (Havělková et al., 1987).

According to the results, obtained from ISBT in the State Health Institute in Prague, the same features of the clinical course of the disease were found in the patients with bovine tuberculosis also in the following years.

3.4.3. Epidemiological importance of bovine tuberculosis in humans

From the epidemiological point of view it is especially important that *M. bovis* is found in persons of higher age groups during last fifteen to twenty years. These patients, who lived mostly in rural areas in the time of massive occurrence of bovine tuberculosis until its elimination in 1968, were in contact with the agent of the disease. Most probably these cases can be attributed to endogenous reactivation of persisting infection with *M. bovis* in human organism.

3.5. Comparison of rates of *M. tuberculosis* and *M. bovis* in human infections

The rate of isolated strains of *M. bovis* related to the isolations of *M. tuberculosis* was during the whole monitored period very low (Tab. II). In the years 1981 to 1996 (Tab. IV), the prevalence of tuberculosis, caused by *M. tuberculosis*, ranged in absolute figures in the interval of 1 157 to 2 541 (11.19 to 24.67 per 100 000 inhabitants) with the incidence of 1 030 to 2 458 (10.01 to 23.86 per 100 000 inhabitants). In the period of fifteen years between 1981 and 1995 it was found that the absolute incidence of tuberculosis, caused by *M. tuberculosis*, was 22 923. Only 113 cases were caused by bovine tuberculosis. It is therefore clear that the number of persons with isolation of *M. bovis* represented only 0.49% of all patients with bacteriologically confirmed diagnosis of tuberculosis.

3.6.1. Protection of humans against tuberculosis by vaccination

Vaccination against tuberculosis is obligatory in the Czech Republic since 1953. Currently the basic vacci-

IV. Incidence and prevalence of bacillar human and bovine tuberculosis in the Czech Republic in years 1981 to 1996 (according to the Register of Tuberculosis and the Information System of Bacillar tuberculosis)

Year	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>				<i>Mycobacterium bovis</i>			
	incidence		prevalence		incidence		prevalence	
	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.	abs.	rel.
1981	2 458	23.86	2 541	24.67	11	0.11	14	0.14
1982	2 256	22.02	2 410	23.52	19	0.18	20	0.20
1983	2 016	19.63	2 203	21.34	13	0.12	16	0.15
1984	1 985	19.21	2 182	21.12	12	0.12	14	0.14
1985	1 711	16.55	1 796	17.37	3	0.03	4	0.04
1986	1 485	14.36	1 647	15.93	7	0.07	7	0.07
1987	1 358	13.12	1 521	14.70	4	0.04	5	0.05
1988	1 328	12.82	1 469	14.19	8	0.08	8	0.08
1989	1 361	13.13	1 503	14.50	7	0.07	8	0.08
1990	1 333	12.86	1 498	14.46	6	0.06	7	0.07
1991	1 297	12.73	1 541	14.87	6	0.06	8	0.08
1992	1 177	11.41	1 412	13.69	5	0.05	8	0.08
1993	1 035	10.02	1 216	11.77	5	0.05	6	0.06
1994	1 093	10.59	1 157	11.19	4	0.04	5	0.05
1995	1 030	10.01	1 185	11.47	3	0.03	3	0.03
1996	1 150	10.95	1 183	11.47	3	0.03	3	0.03

nation is done from day 4 after birth by BCG Behring vaccine. In the second and eleventh year of age revaccination is done in the individuals, who do not react to tuberculin.

3.6.2. Postvaccination complications in children

Since the beginning of 80s some postvaccination complications occurred in children (abscesses in the site of injection, regional purulent lymphadenitis, postvaccination arthritis and ostitis), which represent the adverse aspect of vaccination. The increased occurrence of complications after the vaccination with Soviet-made vaccine was commenced was one of the reasons, why in selected districts of the Czech Republic the overall vaccination of newborns was temporarily suspended.

However, this step stopped the decrease of occurrence of tuberculosis in the age group up to 14 years in the following period. In comparison with vaccinated children, in the group of non-vaccinated ones the severe forms of the disease were found more frequently, as well as the cases of non-tuberculous lymphadenitis. Therefore since 1994 the newborns are again vaccinated also in the three regions, where only newborns of risk groups were vaccinated from 1986 (Central Bohemia and East Bohemia) or 1989 (South Bohemia).

3.7. Prospects of occurrence of bovine tuberculosis in human population

The results of the examination of material from cattle for bovine tuberculosis show especially the important cases of detection of *M. bovis* in milk in the years 1970

and 1992. In the case of direct sale of milk from infected cows without heat processing the risk of infection of humans (especially children) is high. In the future it is necessary to expect sporadic occurrence of bovine tuberculosis in the human population in the Czech Republic. The cause is especially the persistence of mycobacteria in the organism of infected persons. The persistence can last in extreme cases even more than 20 to 30 years.

The outlasting of bovine tuberculosis in human population may be also due to the existence of unknown sources of *M. bovis*. Other animals, in which the infection with *M. bovis* was also found in the Czech Republic, as e.g. cats, dogs and others (KONRÁD, 1954; PAVLAS et al., 1965), are not subject to veterinary control. Wild animals can be also infected with *M. bovis*, and they are not under any veterinary control. Especially wild boar is concerned (KALENSKÝ, 1992), and deer (KRUCKÝ, 1981b). Mutual transmission among humans is not completely ruled out either.

3.8.1. HIV/AIDS infection and expected worldwide development of epidemiological situation

Currently we are witnessing dramatic changes in the immunity of human population, which is decreased not only as a result of progressive pollution of the environment, but especially because of HIV infection. According to WHO data, only until 1996 totally 6.9 million people died of AIDS (to compare, e.g. in 19 953.1 million patients died of tuberculosis, and 2.1 million of malaria). People infected with HIV, who later get clinical symptoms of AIDS, are those, who most frequently die of mycobacterial infection, which can be

also caused by the agent of bovine tuberculosis (Havelková et al., 1998a).

3.8.2. HIV/AIDS infection in patients in the Czech Republic

According to the data of the National Reference Laboratory for AIDS of the State Health Institute in Prague, there were altogether 298 HIV positive persons registered in the Czech Republic on 31 December, 1996. Totally 89 HIV infected persons were as on the above-mentioned date already in the stage of clinical symptoms of AIDS, and 59 AIDS patients were not any more alive. The number of patients who died of AIDS increased considerably in 1996, and this number is so far the highest number of the dead during one year (15 died). In the same year the number of newly registered cases of HIV infection was highest ever recorded as well (Brůčková et al., 1997).

3.8.3. Mycobacterial infections in HIV/AIDS patients in the Czech Republic

Cases of detected mycobacteria in HIV positive persons or persons with clinical AIDS are systematically monitored by the National reference laboratory for mycobacteria of the State Health Institute in Prague in cooperation with the Clinic of Infectious Diseases of the Faculty Hospital Bulovka in Prague. In the years 1987 to 1996 in the patients of AIDS center the strains of *M. avium* complex were detected in 17 cases (68%), *M. kansasii* in 3 cases (12%), *M. tuberculosis* in two cases (8%) and *M. xenopi* also in two cases (8%). In one patient (4%) *M. fortuitum* was isolated (Šlosárek et al., 1997). No strain was classified as *M. bovis*, and this fact is suggesting a minimum circulation of this agent both in human population and in the environment.

4. CONCLUSION

In conclusion it is necessary to note that the cause for the favorable epidemiological situation in the area of bovine tuberculosis in humans in the Czech Republic is especially the successful elimination of bovine tuberculosis in farm animals. The effective pasteurization of milk and other implemented veterinary hygienic measures in close cooperation of field, hygienic and laboratory veterinary service and human health service contribute to maintain the present low prevalence of bovine tuberculosis.

Acknowledgments

We thank Doc. Dr. M. Pavlas for his remarks on possible causes for new outbreaks of bovine tuberculosis in cattle in postelimination period and for his hint on the sources of information on confirmed bovine tuberculosis in other animals in years 1969–1974. We

thank Dr. J. Šubrt for valuable comments on the risks related to new outbreaks and spread of bovine tuberculosis in postelimination period. Furthermore we thank Dr. V. Štika, Dr. F. Bureš, Dr. P. Janovský, and Dr. J. Bořil for their assistance with obtaining the data from case history.

5. REFERENCES

- BENEŠ, M. – HEJLIČEK, K. – SOUKUP, M. (1970): Epidemiologic problems of bovine tuberculosis in a district after elimination of bovine tuberculosis (in Czech). *Vet. Med. – Czech.* 15, 63–70.
- BRŮČKOVÁ, M. – JEDLIČKA, J. – MALÝ, M. (1997): HIV/AIDS in the Czech Republic – the state in 31. 12. 1996 (in Czech). Reports from the Centre of Epidemiology and Microbiology, SZÚ Praha, 6, 14–17.
- ČELEDÁ, L. (1995): Regional and country status reports – Czech Republic. In: THOEN, C. O. – STEELE, J. H.: *Mycobacterium bovis* Infection in Animals and Humans. Iowa State University Press, pp. 204–206.
- DOČEKAL, J. – KOVARÍK, K. – PAVLAS, M. (1995): To differentiation of PA changes resembling to the tuberculosis observed at hygienic checkings of meat in slaughter house (in Czech). *Veterinářství*, 45, 117.
- CHLOUPEK, B. (1981): To the problems on the occurrence of animals reacting to bovine tuberculosis in the period after its elimination (in Czech). *Veterinářství*, 31, 158–160.
- GRANGE, J. M. (1996): *Mycobacteria and Human Disease*. 2nd ed. London, Arnold, 230 pp.
- GROCH, L. – ČERNÝ, L. (1956): Tuberculosis in some wild animal species kept in zoological gardens (in Slovak). *Veterinářství*, 5, 329–333.
- HAVELKOVÁ, M. – PAVLÍK, I. (1995): Infections caused by *Mycobacterium bovis* in the Czech Republic. In: Conference on Global Lung Health at the 1995. Annual Meeting of the IUATLD/UICTNR. Paris, France, 9–12 September, 1995. Tubercle and Lung Disease, Supplement 2, 76.
- HAVELKOVÁ, M. – ŠULOVA, M. – KUBÍN, M. (1987): Problems of infections caused by *M. bovis* in human population of the Czech Republic in the post-elimination period (in Czech). *Stud. Pneumol. Phthisiol. Czechoslov.*, 47, 174–183.
- HAVELKOVÁ, M. – ŠVÁSTOVÁ, P. – BARTL, J. – PAVLÍK, I. (1998a): The importance of atypical mycobacteria (especially the complex *Mycobacterium avium*) in patients with HIV/AIDS (in Czech). *Veterinářství*, 48, (in press).
- HAVELKOVÁ, M. – KUBÍN, M. – BARTL, J. – PAVLÍK, I. (1998b): Bovine tuberculosis in human population in the Czech Republic during 1969–1996 (in Czech). *Veterinářství*, 48, (in press).
- HEJLIČEK, K. – BENEŠ, M. – SOUKUP, M. (1970): Sources and causes of the incidence of new cases of bovine tuberculosis in a district after elimination of bovine tuberculosis (in Czech). *Vet. Med. – Czech.* 15, 361–367.
- HEJLIČEK, K. – CHLOUPEK, B. (1982): Sources and causes of the incidence of new infection foci of bovine tuberculosis in the Czech Republic during 1977–1979 (in Czech). *Vet. Med. – Czech.* 27, 385–393.
- HEJLIČEK, K. – SOUKUP, M. – GROCH, L. – PROCHÁZKA, L. (1970): Problems of diagnostics of tuberculosis in cattle in a district after elimination of bovine tuberculosis (in Czech). *Vet. Med. – Czech.* 15, 147–155.

- JEZEK, Z. – HEBELKA, M. – ŠVANDOVÁ, E. (1963): Importance of bovine mycobacteria for spreading of tuberculosis in a country population of the district Kolin (in Czech). *Rozhl. Tuberk.*, 23, 454–460.
- JEZEK, Z. – HEBELKA, M. – ŠVANDOVÁ, E. (1966): Analysis of a tuberculous allergy of the population in the district Kolin from the view point of spreading of *Mycobacterium bovis* (in Czech). *Vet. Med. – Czech*, 11, 11–21.
- KAČÍN, J. – PALOUNEK, V. – POPLUHÁR, L. – PAVLAS, M. – KAZDA, J. – JEZEK, Z. – HEBELKA, M. – ŠVANDOVÁ, E. (1966): Epizootologic and epidemiologic monitoring in a cattle herd newly infected with tuberculosis (in Czech). *Vet. Med. – Czech*, 11, 73–83.
- KALENSKÝ, P. (1992): Isolation of mycobacteria from boars (in Slovak). *Veterinářství*, 42, 346–347.
- KLIMŠA, R. (1966): Relationship between human tuberculosis and bovine tuberculosis in the South Moravian region (in Czech). *Veterinářství*, 16, 261–263.
- KOUBA, V. (1988): Twenty years since the eradication of tuberculosis and brucellosis in cattle herds in Czechoslovakia (in Czech). *Vet. Med. – Czech*, 33, 513–516.
- KONRÁD, J. (1954): Tuberculosis of fur animals (in Czech). *Veterinářství*, 4, 233–235.
- KOVÁŘÍK, K. – PAVLAS, M. – PAVLÍK, I. (1995): Current problems in the diagnostics of mycobacterial infections (in Czech). *Veterinářství*, 45, 110–111.
- KRUCKÝ, J. (1973): Activities and goals of the TBC laboratory of the State Veterinary Administration after eradication of bovine tuberculosis (in Czech). *Veterinářství*, 23, 461–463.
- KRUCKÝ, J. (1981a): Occurrence of mycobacteria in the examined samples during 1975–1979 (in Czech). *Veterinářství*, 31, 362–365.
- KRUCKÝ, J. (1981b): Occurrence of tuberculosis in red deer (in Czech). *Veterinářství*, 32, 501–503.
- KŘIVINKA, R. (1957): Relationship between human and animal tuberculosis (in Czech). *Veterinářství*, 8, 232–235.
- KUBÍN, M. – HERALT, Z. – MORONGOVÁ, I. – RUZHOVÁ, B. – VÍZNEROVÁ, A. (1984): Zwei Fälle der wahrscheinlich interhumanen Übertragung von *Mycobacterium bovis*. *Z. Erkrank. Atm.-Org.*, 163, 285–291.
- PAVLAS, M. (1990): Importance of intradermal tuberculation in cattle after elimination of bovine tuberculosis (in Czech). *Veterinářství*, 40, 433–438.
- PAVLAS, M. – MEZENSÝ, L. (1982): Epizootological importance of a positive bacteriological finding of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* in men (in Czech). *Vet. Med. – Czech*, 27, 641–649.
- PAVLAS, M. – HERMAN, K. – VITKOVIČ, L. (1965): Importance of carnivorous animals at spreading of bovine tuberculosis (in Czech). *Veterinářství*, 14, 389–390.
- PAVLAS, M. – STRNAD, M. – PEJŠEK, V. – HALÍŘ, J. (1966): Infektionskette Tier-Mensch-Tier bei *Mycobacterium bovis*. *Praxis der Pneumologie vereinigt mit der Tuberculo-searzt*, 9, 550–559.
- PAVLÍK, I. (1996a): International Symposium on Bovine Tuberculosis in Animals and Men. USA (in Czech). *Veterinářství*, 46, 224.
- PAVLÍK, I. (1996b): Occurrence of bovine tuberculosis in animals of America, Australia, Africa and Asia (in Czech). *Veterinářství*, 46, 354–356.
- PAVLÍK, I. – PAVLAS, M. – KOSKOVÁ, S. – KOVÁŘÍK, K. – PARMOVÁ, I. – HAVELKOVÁ, M. – ŠVANDOVÁ, E. – PŮTOVÁ, I. (1995): Occurrence of Bovine Tuberculosis in the Czech Republic in Animals and Man in 1980–1994. In: *Proc. Int. Symp. Bovine Tuberculosis in Animals and Human Beings*. May 8–10, Maryland, USA (in press).
- PAVLÍK, I. – BARTL, J. – HORVÁTHOVÁ, A. – ŠVÁSTOVÁ, P. (1997): Agriculture and mycobacterial infections of animals in Slovenia (in Czech). *Veterinářství*, 47, 484–485.
- PAVLÍK, I. – BARTL, J. – PARMOVÁ, I. – HAVELKOVÁ, M. (1998): Occurrence of bovine tuberculosis in animals in the Czech Republic during 1969–1996 (in Czech). *Veterinářství*, 48, (in press).
- POLÁK, L. (1969): Eradication of bovine tuberculosis in Czechoslovakia (in Czech). *Veterinářství*, 19, 2–4.
- ROSSI, L. – DOKOUPIL, S. (1969): Causes of new outbreaks of tuberculosis in eradicated herds (in Czech). *Vet. Med. – Czech*, 14, 441–448.
- RAŠKA, K. (1959): To epidemiological problems of bovine tuberculosis in our country (in Czech). *Veterinářství*, 8, 282–287.
- ŘÍHA, V. (1957): Animal tuberculosis – Impact on human health (in Czech). *Veterinářství*, 6, 16–18.
- ŠALOUN, V. (1970): Diagnostic slaughters in the current period of searching for tuberculous infection (in Czech). *Veterinářství*, 20, 302–305.
- ŠLOSÁREK, M. – BRŮČKOVÁ, M. – HOROVÁ, B. – STAŇKOVÁ, M. – ROZSYPAL, H. (1997): Mycobacterial infections in HIV positive persons in the Czech Republic (in Czech). Lecture in the Seminar of the Society for Epidemiology and Microbiology ČLS JEP and Society of Infectious Medicine ČLS JEP „Tuberculosis and Mycobacterioses, Lung Forms and Other Forms. Praha, Lékařský dům.
- STRAKA, J. (1985): Eradication of bovine tuberculosis in Czechoslovakia (in Czech). *Veterinářství*, 35, 243–245.
- THOEN, C. O. – STEELE, J. H. (1995): *Mycobacterium bovis* Infection in Animals and Humans. Iowa State University Press. 355 pp.
- TRUKSOVÁ, B. – KITHIEROVÁ, E. – MIKOVÁ, Z. – ŠVANDOVÁ, E. (1978): Tuberculosis caused by bovine mycobacteria (in Czech). *Čas. Lék. Českoslov.*, 117, 299–302.
- VÍZNEROVÁ, A. – POLÁNECKÝ, F. (1974): Sources of tuberculous infections and incidence of pulmonary tuberculosis in the Central Bohemian Region (in Czech). *Čs. Epidemiol.*, 23, 150–159.

Received: 98–03–27

Accepted after corrections: 98–04–21

Contact Address:

MVDr. Ivo Pavlík, CSc., 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: olma@vuvet.anet.cz

Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.



02.-04.09.1998	Jahrestagung der Fachgruppe " Epidemiologie ", Wusterhausen	
	Dr. Hartmut Schlüter	Tel.: 033979-800
	Bundesforsch.Anst. f. Viruskrankh. d. Tiere	Fax: 033979-80200
	Seestr. 25	
	16868 Wusterhausen	
09.-12.09.1998	30. Int. Kongress "Geschichte" , München	
Kontaktadresse	Prof. Dr. Dr. habil. Johann Schäffer	Tel.: 0511-856-7503
	Geschichte Der Veterinärmedizin	Fax: 0511-856-7676
	Bischofsholer Damm 15	
	30173 Hannover	
19.-20.09.1998	Reg. Arb. Tag Süd " Kleintierkrankheiten ", Innsbruck mit VÖK-Jahrestagung	
Kontaktadresse	Sigrid Steindl	Tel.: 0663-917 1150
	Postfach 74	Fax: 0732-386141
	A-4010 Linz	
22.-25.09.1998	39. Arbeitstagung " Lebensmittelhygiene ", Garmisch-Partenkirchen	
Kontaktadresse	Prof. Dr. A. Stolle	Tel.: 089-2180 2522
	Inst. f. Lebensmittelhygiene	Fax: 089-2180 3872
	Veterinärstr. 13	
	80539 München	
23.-25.09.1998	Arbeitstagung " AVID " über Virologie, Staffelstein (Kloster Banz)	
Kontaktadresse	Dr. K.-H. Bogner	Tel.: 09131-764-635
	Landesuntersuchungsamt für	Fax: 09131-764-601
	Gesundheitswesen Nordbayern	
	Heimerichstr. 31	
	90419 Nürnberg	
9/1998	" Tierschutz in Circus und Zoo ", Münster zus. mit ATF und TVT	
Kontaktadresse	TVT-Geschäftsstelle	Tel.: 040-6430425
	Dr. C. Kimpfel-Neumaier	Fax: 040-6430425
	Illisstieg 5	
	22159 Hamburg	
29.-30.10.1998	55. Fachgespräch "Geflügelkrankheiten" , Hannover	
Kontaktadresse	Prof. Dr. U. Neumann	Tel.: 0511-953-8779
	Dr. Inken Sander	Tel.: 0511-953-8776
	Klinik f. Geflügel der TiHo Hannover	Fax: 0511-953-8580
	Bünteweg 17	
	30559 Hannover	
12.-14.11.1998	30. Int. Tagung " Ethologie ", Freiburg	
Kontaktadresse	Prof. Dr. K. Zeeb	Tel.: 0761-43643
	Am Moosweiher 2	Fax: 0761-4760728
	79108 Freiburg	
19.-22.11.1998	44. JT " Kleintierkrankheiten ", Stuttgart	
Kontaktadresse	Dr. Erich Ernst	Tel.: 0711-2566409
	Bopser Weg 7	Fax: 0711-2578790
	70184 Stuttgart	

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 zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce. Redakce přijímá práce imprimované vedoucím pracoviště nebo práce s prohlášením všech autorů, že se zveřejněním souhlasí.

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

Rukopis má být napsán na papíře formátu A4 (30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky 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.

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

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

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

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

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

Podrobné pokyny pro autory lze vyžádat v redakci.

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

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

VETERINARY MEDICINE – CZECH

Volume 43, No. 7, July 1998

CONTENTS

Vasil M.: Antibiotic resistance with bacterial causative agents isolated from dairy cow mastitis	201
Kroupová V., Kratochvíl P., Kaufmann S., Kursá J., Trávníček J.: Metabolic effect of iodine addition in laying hens	207
Pokludová L., Hera A.: Microbial contamination of veterinary medicaments and drugs in the Czech Republic 1993 to 1996 (in English)	213
SHORT COMMUNICATION	
Čelko A. M., Rosina J.: Epidemiology of avian influenza A (H5N1)	219
REVIEW ARTICLE	
Pavlík I., Bartl J., Parmová I., Havelková M., Kubín M., Bažant J.: Occurrence of bovine tuberculosis in animals and humans in the Czech Republic in the years 1969 to 1996 (in English)	221

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Ročník 43, č. 7, Červenec 1998

OBSAH

Vasil M.: Rezistencia k antibiotikám pri bakteriálnych pôvodcoch izolovaných z mastitíd dojníc	201
Kroupová V., Kratochvíl P., Kaufmann S., Kursá J., Trávníček J.: Metabolická odezva aditivního příjmu jodu u nosnic	207
Pokludová L., Hera A.: Mikrobiální kontaminace veterinárních preparátů a léčiv v České republice v letech 1993 až 1996	213
KRÁTKÉ SDĚLENÍ	
Čelko A. M., Rosina J.: Epidemiologie ptačí chřipky A (H5N1)	219
PŘEHLED	
Pavlík I., Bartl J., Parmová I., Havelková M., Kubín M., Bažant J.: Výskyt bovinní tuberkulózy u zvířat a lidí v České republice v letech 1969 až 1996	221