Vědecký výbor výživy zvířat

Hygienické aspekty pastevního chovu drůbeže

III. Problematika kokcidií rodu Cryprosporidium u slepic (Gallus gallus f. domestica) v různých systémech ustájení

Ing. Ivan Pavlásek, DrSc.
Doc. MVDr. Eva Skřivanová, Ph.D.

Praha, listopad 2017

VÚŽV
Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.

OBSAH

	str.
1. ÚVOD	**4**
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	**5**
2.1. Historie studia kryptosporidií v období let 1907 – 1970	**5**
2.2. Studium kryptosporidií po roce 1970	**6**
2.3. Kryptosporidie u drůbeže, volně žijících a exotických ptáků	**7**
3. HOSTITELSKÉ SPEKTRUM KRYPTOSPORIDIÍ U DRŮBEŽE A PTÁKŮ V NAŠICH PODMÍNKÁCH	**11**
4. PRŮBĚH, KLINICKÉ PŘÍZNAKY A DOSAVADNÍ POZNATKY O VLIVU KRYPTOSPORIDIOVÝCH INFEKCÍ NA UŽITKOVOST DRŮBEŽE	**20**
5. STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA ŽIVOTNÍHO CYKLU CRYPTOSPORIDIUM	**21**
6. DIAGNOSTIKA PTAČÍCH KRYPTOSPORIDIÍ	**24**
7. MATERIÁL A METODIKA	**29**
8. VÝSLEDKY	**32**
8.1. Vliv pastvy na kvalitu masa kuřat	**32**
8.2. Výsledky koprologických vyšetření pěti plemen	**32**
8.3. Výsledky vyšetření slepic 1. skupiny genotypu HISEX HNĚDÝ při chovu v obohacených klecích	**32**
8.4. Výsledky koprologických vyšetření 2. a 3. skupiny slepic	**34**
8.5. Výsledky postmortálních vyšetření slepic při chovu v obohacených klecích	**36**
8.6. Výsledek postmortálního vyšetření dvou slepic 3.skupiny	**36**
8.7. Výsledek vyšetřování seškrabů povrchu skořápek vajec znečištěných exkrementy slepic	**37**
8.8. Výsledek koprologických a postmortálních vyšetření slepic ve velkochovu ve Středočeském kraji	**37**

9. DISKUSE **40**

10. ZÁVĚR **44**

11. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY **46**

1. ÚVOD

Parazitičtí prvoci – Cryptosporidium spp. systematicky patří do kmene Apicomplexa. U vnímavých hostitelů vyvolávají onemocnění označované jako kryptosporidióza. V závislosti na druhu nebo typu kryprtosporidie a především na stupni imunity daného hostitele je patogenita těchto prvoků různá. Může probíhat bez zjevných klinických příznaků nebo chronicky a dlouhodobě zvláště u plazů, nejčastěji však akutně a časově omezeně s příznaky těžkých poruch v převážné většině trávicího traktu, které mohou končit u hostitelů s potlačenou imunitou letálně.

Jednotlivé druhy a genotypy Cryptosporidium infikují bohaté spektrum hostitelů a sice ryby, obojživelníky, plazy, ptáky a savce. Zvláštní pozornost je pochopitelně věnována těm druhům a izolátům kryptosporidií, které způsobují onemocnění u člověka. V úvahu přicházejí zejména děti do 2 let, infekce se často vyskytují také u dětí do 5 let, životu nebezpečné jsou u lidí se sníženou obranyschopností a pacientů HIV pozitivních. Zdrojem nákaz jsou tzv. oocysty, velmi malé parazitární zárodky značně odolné proti faktorům vnějšího prostředí. V životním prostředí se vyskytují v různých substrátech, známé jsou epidemie, které byly zaznamenány po konzumací pitné vody znečištěné povrchovými vodami po povodních, ale i poruchách filtračních systémů v zařízeních pro úpravu pitné vody apod. Obecně se kryptosporidie považují za prvoky s velmi nízkou hostitelskou specifitou a jsou řazeny mezi zoonózy. I z těchto důvodů je proto těmto parazitům věnována velká pozornost nehledě na to, že doposud není k dispozici žádné účinné antiparazitikum, které by efektivně infekci tlumilo nebo likvidovalo.

V počátcích zájmu a studií Cryptosporidium spadající do období let 1907 až cca 1997 byly zveřejněny pouze ojedinělé publikace. V současné době bylo v populárně naučných, odborných a ve vědecké literatuře zveřejněno obrovské množství článků. Endoparazitem se dnes v různých zemích světa zabývají početné týmy specialistů.

Předložená studie je zaměřena na problematiku kryptosporidií u užitkové drůbeže, především slepic, ve venkovních systémech chovu a výsledky jsou dále porovnány se systémem klecového chovu a na hluboké podestýlce. Její součástí jsou základní informace o současných poznatcích jejich životního cyklu, několik údajů a výsledků o výskytu prvoků u volně žijících ptáků u nás, předloženy jsou metodiky diagnostiky při spontánních nákazách a shrnutí vlastních výsledků z dosavadních parazitologických vyšetření.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Historie studia kryptosporidií v období let 1907-1970

V žaludku myší byly již v roce 1895 (Clarke,1895) detekovány „roje spór“ a není vyloučeno, že náležely prvoku (Sporozoa), kterého v roce 1907 nalezl Ernest Edward Tyzzer právě ve sliznici žaludku u laboratorních myší (Mus musculus). V roce 1910 jej pojmenoval Cryptosporidium muris (gen. et. sp. nov.) jakožto extracelulární kokcidii. V roce 1912 popsal tento autor další druh, Cryptosporidium parvum (sp. nov.), v tenkém střevě (ileum) laboratorních myší. Ve své práci, kterou publikoval před více než 100 lety detailně popisuje endogenní vývojová stadia v průběhu celého životního cyklu a ilustruje je velmi precizní perokresbou. Charakteristika jednotlivých fází vývoje a již zmíněných stadií prvoka byla v zásadě postupně potvrzována mnoha autory až po roce 1970 pomocí různých mikroskopických technik včetně elektronové mikroskopie při studiu kryptosporidií diagnostikovaných u zvířat a člověka.

Při studiu různých druhů kokcidií rodu Eimeria u kuřat nalézal Tyzzer (1929) v barvených histologických řezech slepých střev relativně malé struktury, které se podobaly schizontům C.parvum. Uvádí však, že klece, do kterých byla kuřata umístěna, nebyly náležitě izolovány od okolního prostředí a předpokládal, že především krmivo k nim přitahovalo myši. Nicméně autor považoval příležitostný výskyt kryptosporidi u kuřat za pravděpodobně náhodnou infekci vyvolanou druhem C.parvum od myší, i když křížové přenosy prvoka byly neúspěšné. O mnoho let později Levine (1961) se domníval, že C.parvum z kuřete je odlišný od stejného druhu z myší a pojmenoval jej na počest E.E.Tyzzera jako nový kuřecí druh C. tyzzeri. Z dnešních poznatků druhového spektra kryptosporidií se nabízí, že již v té době mohl Tyzzer skutečně detekovat ve slepých střevech nový ptačí druh kryptosporidie, který Slavin (1955) pojemoval C.meleagridis v dolních partiích tenkého střeva krůťat (Meleagridis gallopavo).

Až do roku 1970 bylo v literatuře některými autory popsáno minimálně pět dalších druhů kryptosporidií většinou u plazů C. ameivae (ještěr), C. crotali (chřestýš), C. ctenosauris (ještěrka) C. lampropetltis (korálovka prérijní), ale také u lišky C. vulpis. Vetterling a kol. (1971, Levine, 1984) však uvádějí, že druhy kryptosporidií z těchto plazů, ale i jiných divokých šelem jsou neplatné, protože jejich endogenní stadia nebyla známa a nalezené sporocysty mohly náležet rozpadlým oocystám rodu Isospora nebo Sarcocystis.

2.2. Studium kryptosporidií po roce 1970

Z výše uvedeného literárního přehledu je zřejmé, že kromě druhu C. meleagridis, po dobu delší než 60 let, nebyla kryptosporidiím po jejich prvním objevení v roce 1907 věnována prakticky žádná pozornost. Zájem o tohoto prvoka však výrazně vzrostl počátkem 70. a 80. let minulého století. Již v roce 1971 popsali Vetterling a kol. (1971) nový druh střevní kryptosporidie Cryptosporidium wrairi sp.n. u morčat (Cavia porcellus).

Obrovský zlom ve studiu Cryptosporidium však nastal po roce 1971. Impulzem k intenzívnímu a cílenému výzkumu prvoka byl první pozitivní nález zaregistrovaný Pancierou a kol. (1971) u uhynulé 8měsíční jalovičky. Hlavním klinickým příznakem onemocnění byl průjem a celkové oslabení organismu. Histologický nález tenkého střeva byl charakterizován atrofií klků a různá vývojová stadia kryptosporidie byla lokalizována v mikrovilech slizničního epitelu. Autoři se domnívali, že průběh onemocnění a nakonec úhyn jalovičky mohl být způsoben právě kryptosporidiemi. Práce těchto autorů kromě jiného podstatnou měrou přispěla v té době i k tomu, že odhalila dalšího možného enteropatogena parazitárního původu, který se spolupodílí společně s bakteriálními a virovými infekcemi na průjmových onemocněních novorozených telat rozšířených ve všech státech světa. Postupně se začaly v literatuře objevovat informace o nálezech kryptosporidií u telat, jehňat, kůzlat i volně žijících zvířat, autoři popisovali průběh infekcí vždy spojených s poruchami trávicího traktu v mnoha případech, zvláště mláďat, spojených s úhyny. V bývalém Československu jsme poprvé Cryptosporidium parvum detekovali u telat v roce 1979 (Pavlásek, 1981) a až do současné doby jsme shromáždili dostatečné množství informací o výskytu, rozšíření biologii apod. v našich chovech telat, jehňat, kůzlat, volně žijících i exotických zvířat chovaných v zoologických zahradách.

Pozornost celé řady autorů byla pochopitelně věnována rovněž studiu patogenity, hostitelsko-parazitárním vztahům pomocí tradičního histologického vyšetření, transmisní a řádkovací elektronové mikroskopie. Obecně lze konstatovat, že zájem o tohoto parazita pokračuje v různých směrech i v současné době a jsou k dispozici možná tisíce publikací autorů z celého světa. Zvláštní pozornost je nyní věnována druhovému spektru kryptosporidií a různým izolátům získaných z mnoha zvířat a člověka s využitím molekulárních analýz k jejich typizaci, jejichž výsledky odhalují cirkulaci prvoků v životním prostředí z hlediska epizootologického a epidemiologického.

Zájem o kryptosporidie upoutala velkou pozornost sdělení Nime a kol. (1976), Meisela a kol. (1976), kteří poprvé informují o nálezech Cryptosporidium sp. u tříletého děvčátka, které onemocnělo vážnou akutní enterokolitidou a u 39letého muže s úpornými vodnatými průjmy v jejunální a ileální biopsii. Nálezy Cryptosporidium sp. u lidí s AIDS, zařazení této protozoózy mezi potenciální zoonózy a určité souvislosti s možností přenosu nákazy z infikovaných telat na ošetřující personál (Anderson a kol., 1982) ještě více zdůraznily význam studia tohoto prvoka i v humánní medicíně. Touto problematikou se humánní parazitologové a další specialisté ve zdravotnictví rovněž v současné době také u nás velmi intenzívně zabývají. V literatuře jsou uváděny epidemie kryptosporidiových infekcích po povodních, poruchách filtračních zařízeních v úpravnách pitné vody apod. Obecně je možné konstatovat, že přítomnost kryptosporidií v organismu jakéhokoliv hostitele včetně člověka je většinou spojena s nedostatečnou imunitou. Konkrétně můžeme uvést nedávný případ jedné osoby po transplantaci kostní dřeně. Byli jsme požádáni o provedení koprologického vyšetření s podezřením na kryptosporidiózu. Po dobu 4 měsíců jsme v intervalech 2 až 4 dnů vyšetřovali vodnatou stolici s cáry odloupané střevní sliznice. Po celé období až do úmrtí jsme detekovali obrovské množství oocyst připomínající svými morfometrickými parametry C. parvum nebo jiný humánmí genotyp. Zdroj nákazy se nepodařilo zjistit a typizace kryptosporidie bude provedena. Tento nález je v souladu s mnoha publikacemi ze zahraničí a je potvrzením, že tato protozoóza je pro člověka velmi nebezpečná a její původce se vyskytuje v našem životním prostředí.

2.3. Kryptosporidie u drůbeže, volně žijících a exotických ptáků

V úvodním historickém přehledu jsme již zmínili, že Tyzzer (1929) nacházel ve slepých střevech kuřat organismy (zřejmě schizonty) připomínající C. parvum u myší. Levine (1961) poznamenal, že kryptosporide z kuřete vzhledem k určitým odlišnostem není C. parvum a pojmenoval ji C. tyzzeri. Slavin (1955) detekoval v tenkém střevě kryptosporidii u krůťat a pojmenoval ji **C.meleagridis**. Fletcher a kol. (1975) nalezli kryptosporie u kuřat v burse Fabricii. O respirační kryptosporidiové infekci s přítomností parazitů v epiteliální mukóze trachey a vnitřním povrchu slizničních žláz u kuřecích brojlerů informují Dhillon a kol

(1981). Tham a kol. (1982) diagnostikovali kryptosporidiovou nákazu v hejnu 4 týdenních křepelek polních (Coturnix coturnix). Vývojová stadia nalezli v bronších, trachey, nosní dutině, ve slinných a jícnových žlázách. Tsai a kol. (1983) prokázali kryptosporidie u pěti 18denních kachňat, u nichž se projevovaly klinické příznaky profuzních průjmů a slabost. Vývojová stadia autoři nacházeli v epitelu bursy Fabricii. Itakura a kol. (1984) uvádějí, že kryptosporidiovou infekci zjistili u brojlerů ve věku 40 – 80 dnů v 11 hejnech ze 6 drůbežích farem. V jedné farmě se infekce vyskytovala po dobu 2,5 let. Kryptosporidiemi byla v 85 % pozitivních případů infikována bursa Fabricii, ve 41 % orgány respiratorního traktu (nosní dutina, infraorbitální siny, hrtan a trachea) a v 11 % se kryptosporidie vyskytovaly ve slepém střevě. Epiteliální buňky infikovaných tkání byly hypertrofovány a objevila se hyperplazie. Autoři proto považovali Cryptosporidium sp. za primárního patogena respiratorního onemocnění brojlerů.

Cryptosporidium sp. se vyskytovaly také u jiných ptáků, např. v koprodeu papouška druhu Amazona autumnalis (Doster, Mahaffey (1979). Mason, Hartley (1980) popisují případy respiratorní kryptosporidiové nákazy u 2 týdenního kuřete páva, u kterého byla nalezena různá vývojová stadia přichycená k povrchu spojivkových, nosních a tracheálních epiteliálních buněk. Klinickými příznaky onemocnění u pávčete bylo ztížené dýchání, kašlání a kýchání. Zajímavé je zjištění, že podobné klinické příznaky se objevily také u dalších pávčat, která s ním byla v kontaktu, infikovala se kryptosporidií a nakonec uhynula.

Kryptosporidiová infekce respiratorního traktu byla zjištěna také u bažantů (Whittington, Wilson, 1985). Gardiner a kol. (1984) nalezli v lumenu tubulů ledvin černokrké pěnkavy (Poephila cincta) kulovité, 1 - 5 µm velké parazity a pomocí elektronové mikroskopie je zařadili ke Cryptosporidium sp. Nalezli i oocysty se 4 sporozoity, z nichž některé byly fagocytovány makrofágy.

V bývalém Československu jsme poprvé diagnostikovali Cryptosporidium u 22denního kuřete ve slizničním epitelu sinus infraorbitalis v jednom velkochovu určeném k výkrmu brojlerů (Pavlásek, 1985). V několika našich dalších publikacích (Pavlásek, Palkovič, 1986, Pavlásek a kol., 1986, Pavlásek, 1987) uvádíme, že se nám podařilo izolovat z trusu spontánně nakažených kuřat oocysty Cryptosporidium sp., morfometricky se lišících od bovinního druhu C. parvum z telat a doposud známého druhu C. meleagridis z krůťat. Byl vysloven předpoklad, že oocysty patří novému druhu ptačí kryptosporidie, který může

vyvolávat infekci u různých ptáků. Na základě experimentálních nákaz kuřat jsme prostudovali endogenní vývoj prvoka, popsali a předložili nové rychlé metodiky detekce oocyst kryptosporidií při tzv. „bursální, kloakální a respiratorní“ infekci (Pavlásek, 1987).

V souladu s výsledky z našich studií uvedenými výše popsali vlastně téhož roku Current a kol. (1986) vývojový cyklus kryptosporidie infikující kuřata a druhově ji označili **C. baileyi.** Autoři uskutečnili experimentální přenosy pomocí oocyst tohoto druhu na různá zvířata s cílem zjistit jeho hostitelskou specifitu. Podle nich C. baileyi nevyvoval nákazu sajících myší a koz, ani u křepelek. Jeden ze šesti experimentálně nakažených krocanů vykázal střední stupeň infekce a asexuální vývojová stadia byla lokalizována pouze v burse Fabricii. Nákazu se podařilo autorům přenést na jednodenní kachny a dvoudenní husy, u nichž se vyskytovala všechna známá vývojová stadia prvoka v burse Fabricii. Porovnáváme-li naše izoláty oocyst kryptosporidie (viz výše) s C. baileyi, o kterých se domníváme, že jsou shodné s C. baileyi popisované zmíněnými autory. V našich sledováních probíhal za určitých okolností vývoj prvoka souběžně i v jednotlivých částech složitého dýchacího aparátu ptáků, o kterém v té době Current a kol. (1986) neinformovali.

U volně žijících ptáků, racka chechtavého (Larus ridibundus) - nového hostitele, jsme C.baileyi diagnostikovali vůbec poprvé v roce 1991 (Pavlásek, 1993).

C.meleagridis jsme v České republice poprvé detekovali u krůťat (Meleagris gallopavo f.dom.), brojlerových kuřat (Gallus gallus f.dom.) a papouška (Cacatua moluccensis) v roce 1991 (Pavlásek, 1994). Podrobně jsme prostudovali lokalizaci endogenních vývojových stadií této kryptosporidie a upozornili na fenomén poměrně nízké hostitelské specifity tohoto druhu umožňující vzájemnou směnu prvoka mezi různými druhy ptáků v životním prostředí (Pavlásek, 1994).

V lednu 1999 jsme ve směsných vzorcích exkrementů od skupiny více než 200 kusů stehlíků obecných (Carduelis carduelis), importovaných do České republiky, v období jejich karantény opakovaně nacházeli oocysty morfometricky podobných savčímu druhu C. muris. Téhož roku jsme z různých malo- a velkochovů ve Středočeském kraji vyšetřili 120 žláznatých žaludků uhynulé hrabavé drůbeže a 35 žaludků různých druhů volně žijících a exotických ptáků soukromých chovatelů a ze zoologické zahrady v Praze. V tabulce 1 uvádíme přehled pozitivních nálezů při vyšetřování exkrementů ptáků a kura domácího. Na základě postmortálních vyšetření slepic a volně žijících ptáků jsme tedy v roce 1999 popsali

nový druh ptačí kryptosporidie **Cryptosporidium galli Pavlásek, 1999** s popisem a charakteristikou oocyst a endogenních vývojových stadií lokalizovaných ve žláznatém žaludku (ventriculus glandularis) a lišícím se od výše uvedených druhů – C.meleagridis a C.baileyi (Pavlásek, 2001).

U papouška kakariki červenočelého (Cyanoramphus novaezealandiae) byl popsán druh **Cryptopsporidium avium n.sp.** Holubová a kol. (2016). Bylo zjištěno, že prvok je lokalizován v ileu a caecu, spontánní ani experimentální nákaza nevyvolala žádné klinické příznaky. Úspěšný byl přenos na andulku vlnkovanou (nejčastěji chovaný papoušek ve světě) i na slepice s velmi nízkou intenzitou vylučovaných oocyst v průběhu infekce. Oocysty detekovali 12. -16. den po nákaze. Nepodařilo se nakazit 8týdenní SCID a BALB/c myši.

Z výše uvedeného tedy vyplývá, že u drůbeže, případně volně žijících a exotických ptáků parazitují následující druhy kryptosporidií:

Cryptosporidium meleagridis Slavin, 1955

Cryptosporidium baileyi Current, Upton, Haynes, 1986

Cryptosporidium galli Pavlásek, 1999

Cryptosporidium avium Holubová a kol., 2016

Podle nejrůznějších literárních údajů dále existuje nejméně pět dalších genotypů (I – IV) ptačích kryptosporidií, které byly zjišťovány především u různých exotických ptáků a ojediněle v Kanadě u husy kanadské (Zhou a kol., 2004). Pro zajímavost uvádíme, že genotyp IV byl izolován z kruhoočka japonského (Zosterops japonica) pocházejícího ze Zoo Praha (Ng a kol., 2006). Nový genotyp Cryptosporidium (Cryptosporidium Woodcock) byl identifikován u uhynulé sluky lesní (Scolopas rusticola), kterou jsme vyšetřovali v naší parazitologické laboratoři SVÚ v Praze z lokality v Západočeském kraji (Ryan a kol., 2003).

Zoonotický charakter má podle některých autorů (např. Morgan a kol., 2000, Alves a kol., 2003, Xiao a kol., 2001, Cama a kol., 2003, Xiao a kol., 2004, Gatei a kol. 2006, Leoni a kol., 2006) pouze C. meleagridis. Obecně se uvádí, že nákaza je doprovázena poruchami trávicího traktu s výskytem průjmů. V této souvislosti pokládám za zajímavé výsledky z našich experimentálních infekcí laboratorních myší prováděných různými izoláty oocyst C. meleagridis z krůťat a kuřat v letech 1991 a 1992. V některých případech byl přenos nákazy

na laboratorní myši úspěšný, ve většině případů však nikoliv. Není tedy vyloučeno, že také u tohoto druhu může existovat genotypová odlišnost.

Považovali jsme za užitečné představit ve stručnosti tuto historii počátků studia ptačích kryptosporidií. Po roce 1986 se objevila řada publikací prohlubující především znalosti druhu C. baileyi, zabývajících se jejich rozšířením, patogenitou, ekonomickým významem infekcí zejména v chovech brojlerových kuřat, vnímavostí k parazitu u ostatních druhů užitkové drůbeže, volně žijících a exotických ptáků, přičemž schéma detailních studií s rozvojem nových metodik diagnostiky byla v podstatě shodná jako v případě nálezů savčích kryptosporidií nebo z plazů. Podobně se začaly ve větší míře objevovat publikace týkající se C. meleagridis, prozatím sporadické jsou informace o výskytu druhu C. galli, který je spojen ve větší míře s volně žijícími a exotickými ptáky chovanými v zoologických zahradách.

3. HOSTITELSKÉ SPEKTRUM KRYPTOSPORIDIÍ U DRŮBEŽE A PTÁKŮ V NAŠICH PODMÍNKÁCH

V této části textu uvádíme dosavadní přehled výskytu Cryptosporidium spp. vycházející z rutinních parazitologických vyšetřování (koprologických a postmortálních) uskutečněných v parazitologické laboratoři SVÚ Praha. Lze konstatovat, že údajů o prevalenci a rozšíření těchto prvoků v našich chovech drůbeže není bohužel mnoho. Přitom je nám známo, že se v některých chovech u nás kryptosporidie vyskytují a jsou často diagnostikovány v období, kdy chovatelé zaznamenávají zvýšený počet úhynů. V těchto případech je požadováno většinou pouze bakteriologické vyšetření, parazitologické často provádíme z vlastní iniciativy a zájmu a proto můžeme s určitým politováním konstatovat, že naše znalosti o rozšíření těchto prvoků jsou i v současné době velmi omezené. Podobná je ale také situace v zahraničí, takže možnost porovnávání výskytu kryptosporidií v chovech s našimi podmínkami je malá.

V následující části uvádíme konkrétní přehled o výskytu kryprtosporidií u jednotlivých druhů u nás chované drůbeže. Je vlastně určitým shrnutím dosažených výsledků získaných systematickým studiem problematiky kryptosporidiových nákaz ptáků.

Kryptosporidie u kura domácího (Gallus gallus f.domestica)

Zjistili jsme, že u kura domácího se v našich chovech vyskytují tři různé formy kryptosporidiové infekce a sice střevní – vyvolaná druhem C. meleagridis, kloakální/bursální a respiratorní – způsobená C.baileyi a nově i žaludeční forma, jejímž původcem je C.galli.

V chovech brojlerových kuřat je nejrozšířenější C. baileyi. Tímto druhem jsou infikována 20 – 63denní kuřata, nejčastěji však ve věku 25 – 35 dnů. V případě, že v daném chovu je tento prvok diagnostikován, jsou jím většinou nakažena kuřata stoprocentně, přičemž nejrozšířenější je bursální a kloakální typ infekce, ojediněle i respiratorní. Podle našich zkušeností se vyskytuje tato forma kryptosporidiové infekce jak při chovu kuřat na podestýlce, tak i při klecovém způsobu chovu. Za velmi zajímavé považujeme naše zjištění, že respiratorní formu infekce, jejímž původcem byl C. baileyi, jsme diagnostikovali již dříve u uhynulých slepic při klecové technologii.

C. meleagridis se může sporadicky vyskytovat v některých chovech brojlerových kuřat během posledního týdne jejich výkrmu. Častější jsou však nálezy tohoto druhu prvoka u kuřic, u nosnic byly prozatím výsledky vyšetřování negativní.

Rozšíření C. galli u kura domácího je prozatím zcela neznámé. V ojedinělých případech jsme výskyt tohoto druhu zaznamenali u uhynulých slepic v několika soukromých chovech s tradiční technologií s výběhem.

Kryptosporidie u krocana domácího (Meleagris gallopavo f.domestica)

Ve velkochovech krůt se u nás vyskytuje střevní druh kryptosporidie C. meleagridis. Infikována jsou především 25 až 45denní krůťata, u nichž je toto protozoární onemocnění doprovázeno průjmem, může končit i úhyny. Maximum pozitivních nálezů (40 až 70 %) je obvykle u krůťat ve věku 33 až 39 dnů. V jednom velkochovu jsme zaznamenali zajímavý případ. V jedné hale se odchovávala krůťata, ve druhé hale vzdálené cca 50 m brojlerová kuřata. Při vyšetřování žlutě zpěněných a kašovitých exkrementů (obsah slepých střev) 30denních krůťat jsme v 70 % detekovali typické „malé“ oocysty C. meleagridis. Ošetřující personál byl stejný jak v hale pro krůťata, tak kuřata. Přibližně jeden týden před ukončením výkrmu brojlerů hynulo více než 250 kuřat denně. Detailním parazitologickým vyšetřováním jsme zjistili velmi silnou infekci druhem C. meleagridis. Učinili jsme závěr, že nákaza se

v daném velkochovu rozšířila s největší pravděpodobností přenosem oocyst z haly pro krůťata do haly brojlerů prostřednictvím ošetřovatelů, kteří se ani nepřevlékali ani nepřezouvali.

Kryptosporidie u husy domácí (Anser anser f.domestica)

Informací o rozšíření kryptosporidií v chovech husí je prozatím rovněž velmi málo. Pokud jsme v chovu prvoka diagnostikovali, bylo infikováno až 80 % 25 - 42denních housat. Při postmortálních vyšetřeních jsme endogenní vývojová stadia detekovali v kloace a burse Fabricii, orgány respiratorního ústrojí, jednotlivé úseky tenkého a slepá střeva byla negativní. Na základě morfometrických parametrů a lokalizace endogenních vývojových stadií jsme prvoka druhově označili C. baileyi. Zcela nedávno jsme postmortálním vyšetřováním z jednoho chovu husí se zvýšeným počtem úhynů housat v průměrném věku 30 dnů potvrdili infekce tímto prvokem, a tudíž by jim měla být věnována pozornost.

Kryptosporidie u kachny domácí (Anas platyrhynchos f.domestica)

Druhem C. baileyi, kloakální a bursální formou onemocnění, jsou u nás nakažena také 15 až 30 denní kachňata. Téměř po dobu 2 let jsme měli možnost sledovat v jednom velkochovu ve Východočeském kraji chov několika turnusů. Koprologicky jsme vyšetřovali 10 až 23denní kachňata ustájená v hale s roštovou technologií. Ve věku cca 17 až 23 dnů byla vypouštěna na rybník, přičemž prevalence prvoka byla 100% a intenzitu vylučovaných oocyst v trusu kachňat jsme hodnotili čtyřmi křížky, případně i více (!!!). Informace o výskytu u tohoto hostitele jsou také minimální.

Kryptosporidie u pštrosa dvouprstého (Struthio camelus)

Ve faremních chovech kuřat a mladých pštrosů jsou za hlavní považovány čtyři následující polyfaktoriální onemocnění: zánět tenkého střeva (enteritis), onemocnění dýchacích (respiratorních) orgánů, poruchy žaludku a končetin. Na jejich vzniku se spolupodílejí infekce bakteriálního a virového původu, různé faktory vnějšího prostředí včetně kvality výživy, úrovně ošetřovatelské péče, zoohygieny, ale také parazitární nákazy, které prozatím nejsou dostatečně prostudovány, i když obecný přehled o spektru endo- a ektoparazitů je samozřejmě k dispozici. V počátcích rozvoje chovu pštrosů u nás v devadesátých letech minulého století byl zájem chovatelů o parazitologická vyšetření především mláďat značný, postupně začal klesat a v současné době je počet vyšetřovaných zvířat nebo jejich exkrementů minimální a to

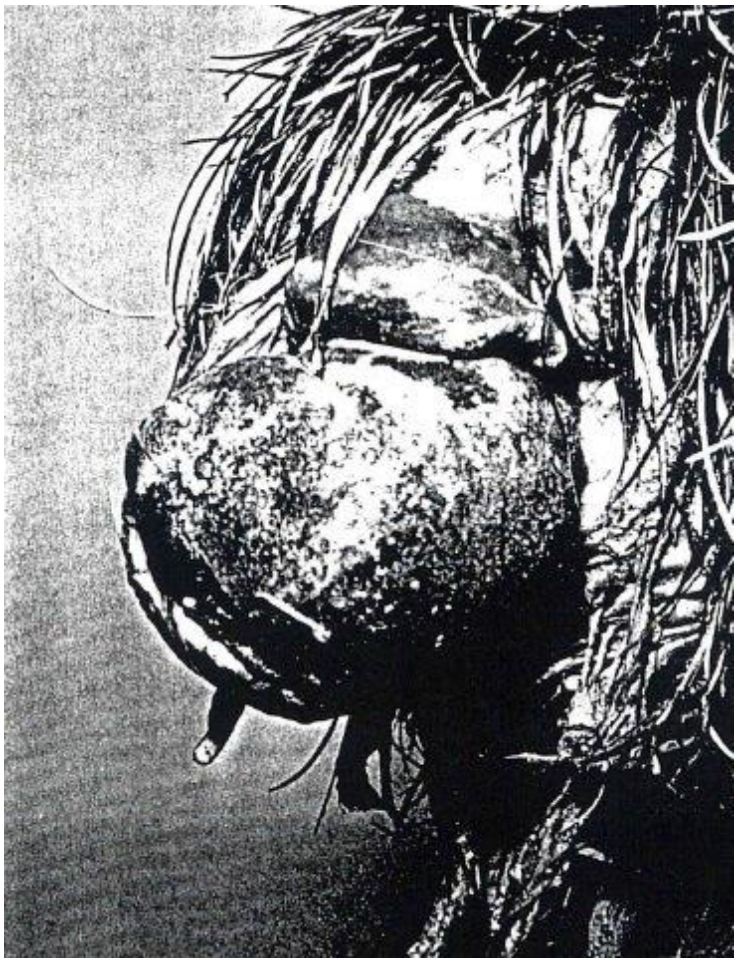
přesto, že infekce vyvolané u těchto hostitelů např. giardiemi, kokcidiemi rodu Eimeria a některými hlísticemi gastrointestinálního traktu jsou z našich zkušeností časté.

V roce 1998, nám byla do parazitologické laboratoře SVÚ Praha předávána z různých farem 1 – 3 měsíční uhynulá kuřata pštrosa dvouprstého a vůbec poprvé jsme zaregistrovali u těchto ptáků chovaných v České republice výskyt Cryptosporidium. První pozitivní nález byl u uhynulého 30denního kuřete. Detailním studiem morfometrických parametrů oocyst a lokalizace endogenních vývojových stadií byl prvok určen jako C. baileyi. Po dohodě s chovateli jsme provedli nejprve orientační koprologická vyšetření směsných vzorků exkrementů a zjistili, že oocysty C. baileyi jsme detekovali u ptáků ve věku 14 – 30, 25 – 35 a 30 – 60 dnů. Prvoka jsme nacházeli také u pštrosů starších a sice ve věku 65 – 69 dnů, nejstaršímu pozitivnímu bylo 79 dnů. Z výsledků vyšetřování kuřat pštrosů různých věkových kategoriích vyplynulo, že v jednom chovu nákaza lineárně narůstala od 20 – 24 denních kuřat od 20 % až do maximální hodnoty 100 % u 40 až 44 denních ptáků a poklesem na 50 % ve stáří 55 – 59 dnů (Pavlásek, 1998).

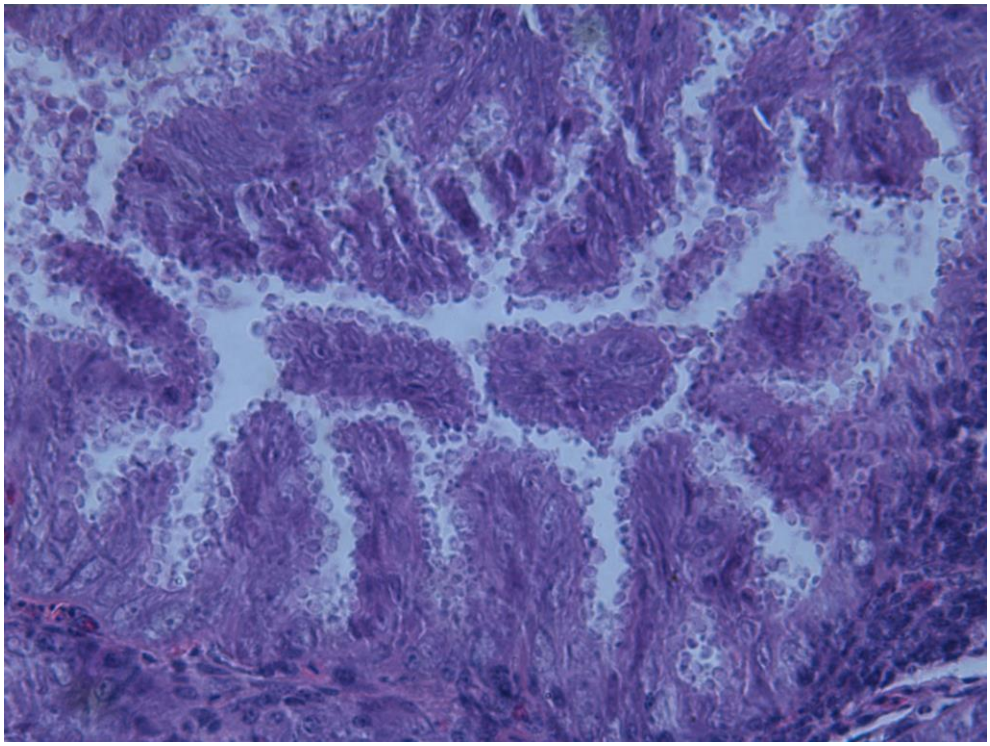
Rutinní parazitologická postmortální vyšetřování prokázala přítomnost vývojových stadií C. baileyi v kloace a burse Fabricii, ojediněle jsme nacházeli oocysty po celé délce tenkých, slepých a tlustého střeva, ale i v seškrabech z nosní a podočnicové dutiny (sinus infraorbitalis). Za velmi zajímavé považujeme u některých pštrosat stadia prvoka ve sliznici slinivky břišní (pankreas).

Z výše uvedeného je zřejmé, že kryptosporidiová infekce se může v některých našich pštrosích farmách vyskytovat zvláště u 1 až 2 měsíčních kuřat, tj. v období, ve kterém často dochází ke zvýšenému počtu úhynů, objevují se poruchy trávicího traktu, především zácpy doprovázené vychlípením vnější komory kloaky (urodaeum) – prolapsus (obr.1, 2, 3, 4).

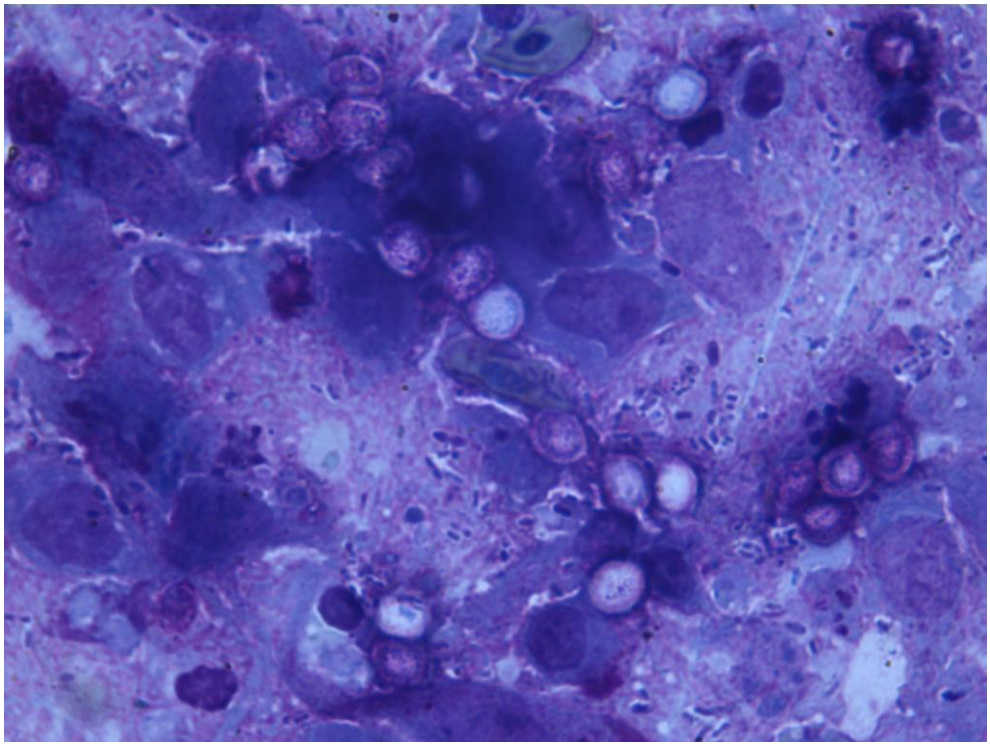
Obr. 1. Spontánně nakažené 43denní kuře pštrosa (Strutio camelus) C.baileyi s výhřezem kloaky.



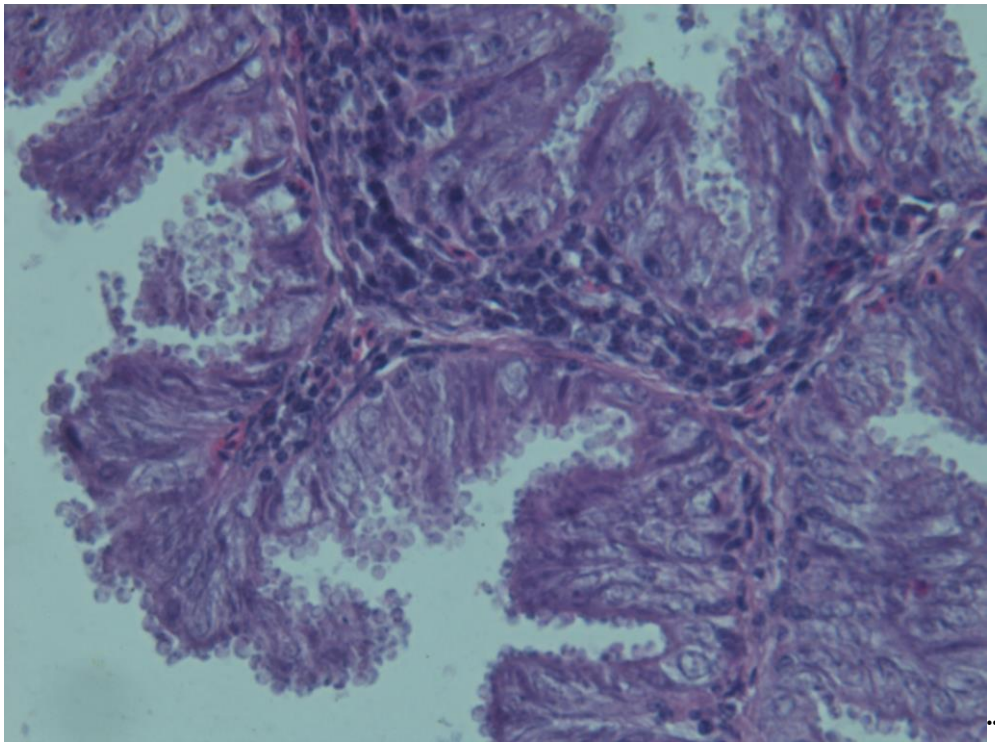
Obr. 2. Detail vyhřezlé kloaky velikosti slepičího vejce s krvavým edémem a povrchovým zánětem sliznice.



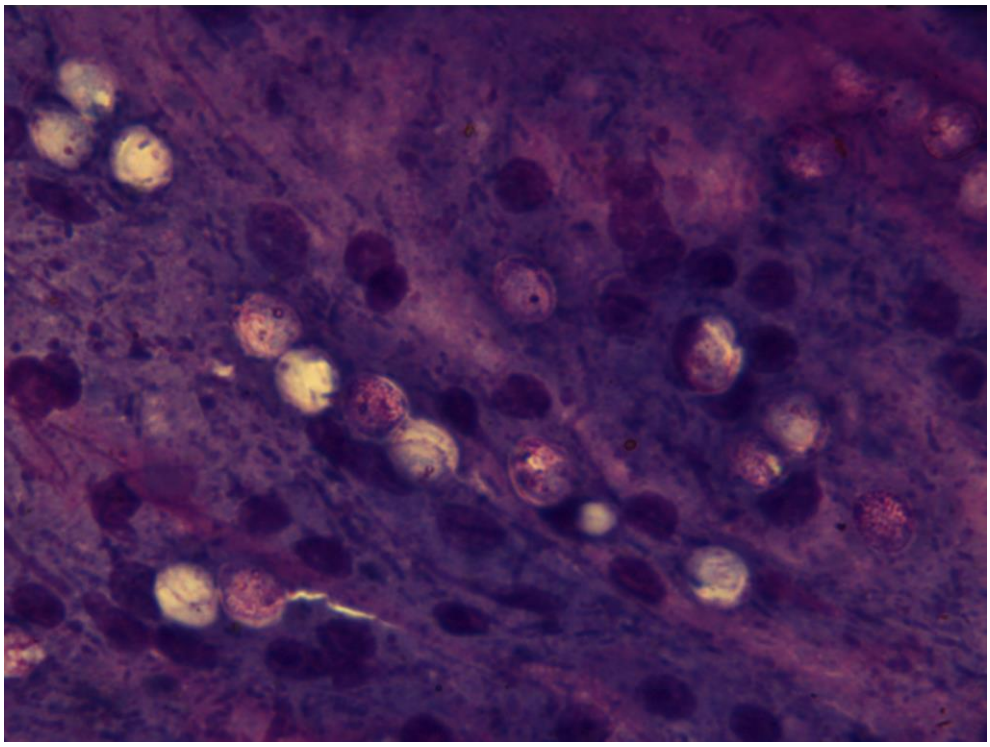
Obr. 3. Masívní infekce C.baileyi. Endogenní vývojová stadia v histologickém řezu sliznice bursy Fabricii. (Barveno vlhkou metodou podle Giemsy).



Obr. 4. Vývojová stadia C. baileyi v seškrabu slizničního epitelu kloaky spontánně nakaženého pštrosa. (Barveno podle Giemsy).



Obr. 5. Velmi intenzívní spontání nákaza koroptve polní C. baileyi. Histologický řez, s vývojovými stadii v burse Fabricii na povrchu sliznice. (Barvenou vlhkou metodou podle Giemsy)



Obr. 6. Spontánní nákaza koroptve polní C. galli. Seškrab slizničního epiteluze žláznatého žaludku. Kulovité struktury jsou různá endogenní vývojová stadia. (Brveno metodou podle Giemsy).

V tabulce 1 uvádíme přehled nálezů kryptosporidií u volně žijících a exotických ptáků vyšetřovaných koprologicky a postmortálně (střevní trakt a různé orgány), ve kterých lze očekávat přítomnost endogenních vývojových stadií prvoků. Materiál byl získáván z voliérových chovů bažantů, koroptví (obr. 5, 6) a orebic, exotů od soukromých chovatelů a ze zoologických zahrad především v Praze. Koprologické vyšetřování pozitivních ptáků z daného chovu bylo několikrát opakováno, aby byla vyloučena případná pasáž parazitárních zárodků z okolního prostředí.

Tabulka 1. Aktuální přehled výskytu Cryptosporidium spp. u volně žijících a exotických ptáků (parazitologická laboratoř SVÚ Praha)

DRUH	C R Y P T O S P O R I D I U M		
	C.baileyi	C.meleagridis	C.galli
Bažant obecný (Phasianus colchicus)	+	+	+
Koroptev polní (Perdix perdix)	+	+	+
Orebice rudá (Alectoris rufa)	+	+	
Křepelka obecná (Coturnix coturnix)	+	+	
Vlaštovkaobecná (Mirunda rustica)	+		
Jiřička obecná (Delichon urbica)	+		
Holub (Columba spp.	+		
Hrdlička zahradní (Streptopelia decaocto)	+		
Vrabec domácí (Passer domesticus)	+		
Stehlík obecný (Carduelis carduelis)			+
Kardinál dominikánský (Paraoria dominikana)			+
Vlhovec černohřbetý (Cacicus haemorrhous)			+

Vlhovec chocholatý (Psaracolins decumanus)			+
Hýl křivčí (Pinicola enucleator)			+
Tetřev hlušec (Tetrao urogallus)			+
Tetřívek obecný (Lyrurus tetrix)			+
Jeřábek lesní (Tetrastes bonasia rupestris)			+
Krkavec velký (Corvus corax)			+
Koroptev korunkatá (Rolulus roul roul)	Genotyp C.andersoni		
Jeřáb bělošíjí (Grus vipio)	+		
Snovač jacksoni (Ploceus jacksoni)	**+ (?)**	Genotyp neidentifikován	
Bulbul spp. (Pycnonotus spp.	+		
Lelkoun soví (Podargus strigoides)	C. muris, genotyp neidentifikován		
Kruhoočko japonské (Zosteropos japonica)	Ptačí genotyp IV		
Dvojzoborožec velký (Buceros rhinoceros)			+
Plameňák kubánský (Phoenicopterus ruber ruber)			+
Kakadu molucký (Cacatua moluccensis)		+	
Tukan bělolící (Ramphastos vitellinus)		+	
Alexandr malý (Psittacula krameri)		+	
Alexandr čínský (Psittacula derbiana)	+		
Volavčík člunozobý (Cochlearius cochlearius)			+

4. PRŮBĚH, KLINICKÉ PŘÍZNAKY A DOSAVADNÍ POZNATKY O VLIVU KRYPTOSPORIDIOVÝCH INFEKCÍ NA UŽITKOVOST DRŮBEŽE

Podobně jako u jiných onemocnění, průběh a klinické příznaky nákaz kryptosporidiemi závisí na infekční dávce (počet pozřených parazitárních zárodků – oocyst) daného druhu, kvalitě výživy, úrovni zoohygieny v daném chovu a speciálně u kryptosporidií na obranyschopnosti hostitele (přirozené imunitě). Zdrojem infekcí jsou tzv. oocysty, kterými se zvířata nakazí jejich pozřením potravou, kontaminovaným krmivem, vodou a vzájemným kontaktem. Podrobně se o zvláštnostech biologie kryptosporidií s obecnou charakteristikou životního cyklu, který bezprostředně souvisí se vznikem spontánních nákaz ptáků, budeme zabývat v další kapitole.

Nejrychleji probíhá u ptáků úplný životní cyklus při spontánních infekcích (od pozření infekceschopných oocyst do jejich prvního objevení ve vyloučených exkrementech) u C. meleagridis a trvá, v závislosti na věku, infekční dávce, 3 až 5 dnů (tzv. prepatentní perioda). Doba vylučování oocyst (tzv. patentní perioda) je v průměru 12 dnů, v některých případech jsme zjistili, že může být mnohem kratší, 4 - 6 dnů. Onemocnění se projevuje především v chovech 2 až 4týdenních krůťat. Způsobuje záněty krčků slepých střev a dolních partií ilea. Hlavním klinickým příznakem této protozoózy je průjem, nažloutlé výměšky obsahů slepých střev jsou zpěněné a velmi řídké, obsahují obrovské množství oocyst, kterými je kontaminováno okolní prostředí. Nákaza je doprovázena snížením příjmu krmiva, skleslostí a celkovou apatií. Uvedli jsme již výše, že v některých chovech brojlerových kuřat (G.gallus) byl tento prvok hlavní příčinou úhynů, neboť žádný jiný významný enteropatogen nebyl prokázán. C. meleagridis je v naší laboratoři v ojedinělých případech diagnostikován také v některých chovech kuřic v souvislosti s blíže neobjasněnými příčinami jejich úhynů.

Nejrozšířenějším druhem kryptosporidie u užitkové drůbeže i pernaté zvěře chované uměle ve voliérách je u nás C. baileyi. Prepatentní doba je 4 až 10 dnů a infekce trvá většinou 10 až 20 dnů a opět záleží na věku, infekční dávce a individuální vnímavosti hostitele. Pokud je vývoj parazita omezen pouze na bursu Fabricii a kloaku probíhá onemocnění subklinicky, avšak při bližším pozorování hejna jsou na první pohled zjevné určité známky oslabení, letargie apod. S výraznými klinickými projevy však probíhá respiratorní forma onemocnění, která se může vyskytovat buď společně s bursální/kloakální 7. až 11. den po nákaze nebo zcela samostatně. Hlavními symptomy respiratorní nákazy je ospalost, ztížené a chroptivé

dýchání slyšitelné na vzdálenost až několika metrů, kýchání, výtoky z očí, ze zobáku a nosních otvorů jako důsledek výrazného poškození slizničních epitelů orgánů horních dýchacích cest a dále především hrtanu, trachey, bronchů, plic a vzdušných vaků v průběhu endogenního vývoje C. baileyi. S typickými projevy klinických příznaků poruch dýchání se často setkáváme při nákaze bažantů a koroptví hlísticí Syngamus trachea, která u nich může probíhat při smíšené infekci těchto parazitů. Zkušený chovatel však může odlišit původ chroptivého dýchání u těchto ptáků, jejichž příčinou jsou zmínění parazité. Při zvláště silných infekcích brojlerových kuřat, stejně jako bažantů, koroptví a křepelek může být respiratorní typ infekce C. baileyi příčinou zvýšených úhynů. Tento druh je s největší pravděpodobností odpovědný také za infekce diagnostikované v ojedinělých případech v ledvinách a močových cestách slepic i u některých volně žijících ptáků.

Prozatím ojedinělé jsou údaje a informace o působení C. galli na dospělou drůbež, především slepice. Při spontánní nákaze slepic v jednom tradičním malochovu probíhala infekce bez zjevných klinických příznaků. Při postmortálním vyšetřovaní jsme zjišťovali ztluštělou sliznici žláznatého žaludku, charakteristická byla také nadměrná tvorba hlenu. Délka prepatentní periody je relativně dlouhá (20 až 25 dnů), stejně jako patentní, kdy u slepic trvala spontánní infekce v jednom malochovu více než 35 dnů. Žádné jiné podrobnější údaje o průběhu a klinických příznacích nákazy vyvolané tímto druhem ptačí kryptosporidie nejsou k dispozici. Lze zmínit, že C. galli byl diagnostikován u většiny uhynulých tetřevů hlušců, vlhovců, kardinálů a v jedné bažantnici zejména v podzimním období u bažantů.

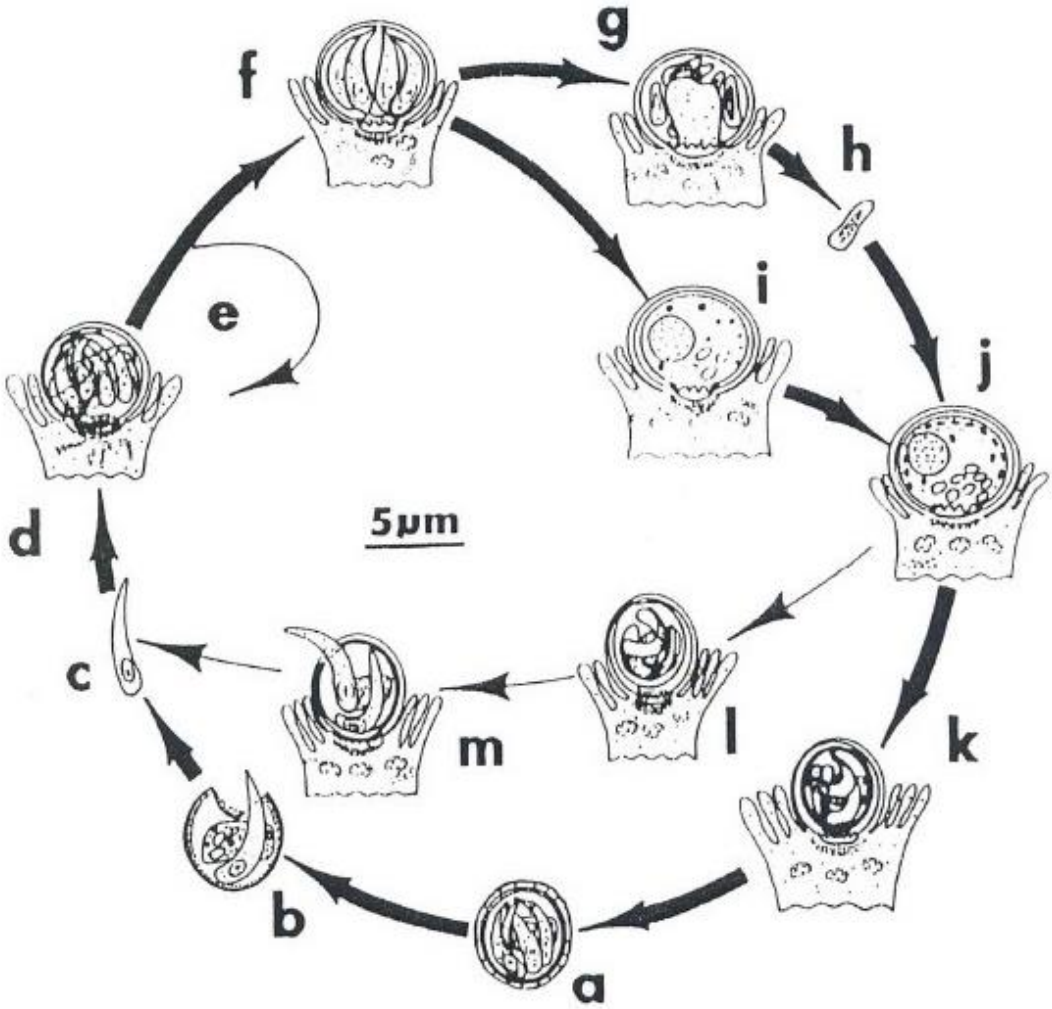
5. STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA ŽIVOTNÍHO CYKLU CRYPTOSPORIDIUM

Tyzzer (1910,1912) poprvé velmi detailně popsal vývojový cyklus C. muris v žaludku a C. parvum v tenkém střevě myší. Teprve až v období let 1971 – 1982 byly při studiu ultrastruktury Cryptosporidium spp. u morčat (Vetterling a kol., 1971, telat (Pohlenz a kol., 1978), koček (Iseki,1979) a člověka (Bird, 1981) a u myší (Goobel, Brandler, 1982) získány další podrobnosti o vývojových stadiích těchto malých parazitů. Velmi důležitým zjištěním bylo, že infikované kočky (Iseki, 1979), stejně jako telata (Anderson, 1981, Heine, Boch, 1981, Pavlásek, 1981) vylučují exkrementy do vnějšího prostředí oocysty, i když o tom částečně informoval již výše zmíněný Tyzzer. V té době to bylo zásadní poznání nejen pro diagnostiku prvoka, ale i k prohloubení poznatků o životním cyklu, kdy izoláty oocyst od

spontánně nakažených hostitelů byly použity k modelovým pokusům na laboratorních zvířatech, telatech, jehňatech, selatech apod. Sporozoitů získaných excystací oocyst in vitro bylo využito k infekcím kuřecích embryi a ke studiu jednotlivých fází endogenního vývoje na tkáňových kulturách pomocí světelné a elektronové mikroskopie.

Obecně je životní cyklus Cryptosporidium podobný jako u ostatních prvoků třídy SPOROZOEA. Endogenní stadia mají prakticky stejná pojmenování a vývoj probíhá v šesti hlavních fázích: excystace oocyst (uvolnění sporozoitů uvnitř organismu hostitele), merogonie (asexuální množení), gamogonie (tvorba pohlavních buněk), oplodnění, tvorba stěn oocyst a závěrečná fáze – sporogonie. Přesto však mají kryptosporidie ve svém vývoji některé významné rozdíly. Patří mezi ně především tzv. intracelulární – extracytoplasmatická lokalizace vývojových stadií (Goebel, Brandler, 1982). Vývojová stadia jsou uzavřena uvnitř parazitoforní vakuoly, nikdy nepronikají do buněčné cytoplasmy ani do lamina propria, takže kryptospopridie jsou často označovány jako „mikrovilární“ parazité. Charakteristickým znakem je adhezní terč, který zabezpečuje těsný kontakt s membránou epiteliálních buněk prvoka a vnější vrstvou jeho membrány umístěné nad ním. Podrobně je schéma vývojového cyklu kryptosporidií znázorněno na obr. 7 podle Currenta (1984). Ve výzkumu životního cyklu a jednotlivých vývojových stadií se pokračuje i v současné době. Přispívají k tomu nejen nejrůznější biologické studie, ale zejména molekulární analýzy, které prokázaly schopnost Cryptosporidium uskutečnit úplný životní cyklus bez hostitele s tvorbou nových extracelulárních stadií podobných gamontům známých u prvoků rodu Gregarina. Na základě těchto poznatků z nedávné doby navrhují Ryan a kol. (2016) převod Cryptosporidium z podtřídy COCCIDIA do nové podtřídy CRYPTOGREGARINA.

Zajímavým fenoménem ve vývoji kryptosporidií v organismu hostitele je kromě dalších zvláštností tzv. „autoinfekce“. Current (1984) jej vysvětluje jednak existencí cyklického vývoje merontů typu I a jednak dosažením většího reprodukčního potenciálu sporozoity uvolněnými z „autoinfekcí“ – tenkostěnných oocyst, které opět zahajují vývoj, aniž by opouštěly nakaženého hostitele. Z hlediska epizootologického a epidemiologického je významná i další skutečnost, že totiž na rozdíl od kokcidií rodu Eimeria (u teplokrevných obratlovců) jsou oocysty kryptosporidií v okamžiku vyloučení exkrementy infikovaných hostitelů do vnějšího prostředí již vysporulované a mohou tudíž ihned vyvolat u vnímavého hostitele novou nákazu.



Obr. 7. Schéma vývojového cyklu prvoků Cryptosporidium spp. (podle Currenta, 1984)

Vysvětlivky:

a - oocysta
b - excystace
c - sporozoit
d, e - merogonie I.
f - zralý meront II.
g - mikrogamont
h - mikrogameta
i - makrogamont
j - zygóta
k - silnostěnná oocysta (sporogonie uvnitř hostitelské buňky)
l - tenkostěnná oocysta
m - excystace (autoinfekce)

6. DIAGNOSTIKA PTAČÍCH KRYPTOSPORIDIÍ

Na obr. 8 je znázorněn určovací klíč jednotlivých druhů ptačích kryptosporidií s uvedením velikostí oocyst a lokalizací endogenních vývojových stadií, který jsme vypracovali pro účely diferenciální diagnostiky při rutinních vyšetřováních ve veterinárních parazitologických laboratořích.

U živých ptáků jsou to koncentrační, flotačně-centrifugační koprologické metody určené k průkazu přítomnosti parazitárních zárodků - oocyst ve vzorcích exkrementů. Ve veterinárních laboratořích je nejrozšířenější již tradiční metoda podle Brezy (1957). S úspěchem používáme námi vyvinutou velmi rychlou, levnou, jednoduchou metodu nativních preparátů s využitím glycerínu (Pavlásek, 1991) určenou k orientačnímu vyšetření speciálně k detekci oocyst kryptosporidií. Na základě podrobných studií lokalizace endogenních vývojových stadií C. baileyi u kuřat a krůťat jsme vypracovali také metodu rychlé detekce oocyst (Pavlásek, 1987). Je založena na šetrném provedení výplachů kloaky (9 A – D) následně zobákové dutiny fyziologickým roztokem nebo převařenou vodovodní vodou. Několik kapek odebrané tekutiny se přenese na podložní sklíčko a po přiložení krycího sklíčka se potom přímo prohlíží pomocí mikroskopu při zvětšení 100 až 400krát. Přítomnost oocyst ve vzorku z kloaky svědčí pro kloakální/bursální kryptosporidiovou infekci a ze zobáku (obr. 10 A, 10 B, 11) pro respiratorní formu onemocnění (Obr. 12). Kryptosporidie způsobují v průběhu svého vývoje výraznou destrukci a odlupování slizničních epitelů. Při vyšetřování nativních preparátů z výplachů je možné proto kromě oocyst detekovat velmi snadno také jednotlivá vývojová stadia přichycená k povrchům sliznic.

Diferenciální diagnostiku C. meleagridis, jehož vývoj probíhá zejména ve slizničním epitelu krčků slepých střev a v dolních partiích ilea, doporučujeme kromě vyloučených exkrementů vyšetřit při jejich odběru nejprve odděleně žlutavě zbarvené a kašovité obsahy slepých střev, které jsou vylučovány většinou v ranních a dopoledních nebo v pozdějších odpoledních hodinách. Volíme výše uvedené koprologické metody včetně způsobu orientačního vyšetření s použitím glycerínu.

Postmortálně je v nativních nebo speciálně barvených roztěrových a histologických preparátech zjišťována přítomnost endogenních vývojových stadií v tkáních a orgánech jak je znázorněno na schématu (obr. 8). Pokládáme za nutné zdůraznit a upozornit, že právě u ptačích kryptosporidií je z hlediska jejich správné a objektivní diagnostiky věnovat zvýšenou

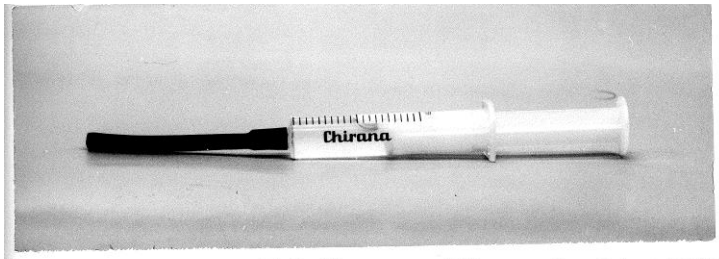
Obr.8. Schéma oocyst, (jejich velikost) a lokalizace endogenních vývojových stadií (formy infekce) jednotlivých druhů Cryptosporidium u ptáků

Vysvětlivky: **JE** - jejunum, **IL** - ileum, **CA** - caecum, **T** - colon, **KL** - kloaka, **C** - coprodaeum, **U** - urodaeum, **P** - proctodaeum, **BF** - bursa Fabricii, **K** - kloakální otvor, **LC** - larynx cranialis, **TR** - trachea, **SI** - saccus interclavicularis, **SC** - saccus cervicalis, **S** - saccus thoracicus cranialis, **ST** - saccus thoracicus caudalis, **SA** - saccus abdominalis, **OE** - oesophagus, **VG** - ventriculus glandularis, **VM** - ventriculus muscularis

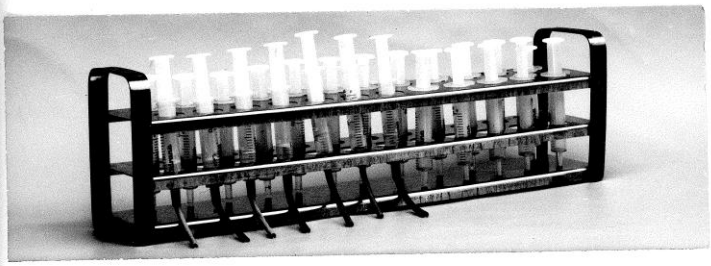
pozornost vlastnímu odběru vzorků od uhynulých kusů. Z praktických zkušeností víme, že pokud nebude například parazitologicky vyšetřena u uhynulých kuřat, krůťat, housat, kachňat a jiných mláďat ptáků kloaka a bursa Fabricii a odběr se provede pouze z obsahu tenkých střev nebo z přední části tlustého střeva je výsledek takového vyšetření neúplný a nedostatečný proto, že právě v těchto místech parazituje C. baileyi. Na tuto skutečnost dále

upozorňujeme proto, že do parazitologické laboratoře posílají chovatelé mnohdy pouze části střevního traktu, čímž nelze zaručit úplnost zjištěných nálezů.

V současné době není rutinní diagnostika nejen kryptosporidií, ale některých dalších parazitů snadná co se týče určení druhu podle morfometrických parametrů oocyst a dalších parazitárních zárodků (cyst, vajíček, larev apod.). Poněkud je snazší u ptačích kryptosporidií, oproti savčím včetně u člověka. Speciálně u těchto prvoků se v souvislosti s jejich nízkou hostitelskou specifitou a zoonotickým charakterem stále častěji uplatňuje požadavek genotypové identifikace pozitivních nálezů a z těchto důvodů bude proto nezbytně nutné tyto nové metody co nejrychleji zavádět i do veterinárních parazitologických laboratoří.

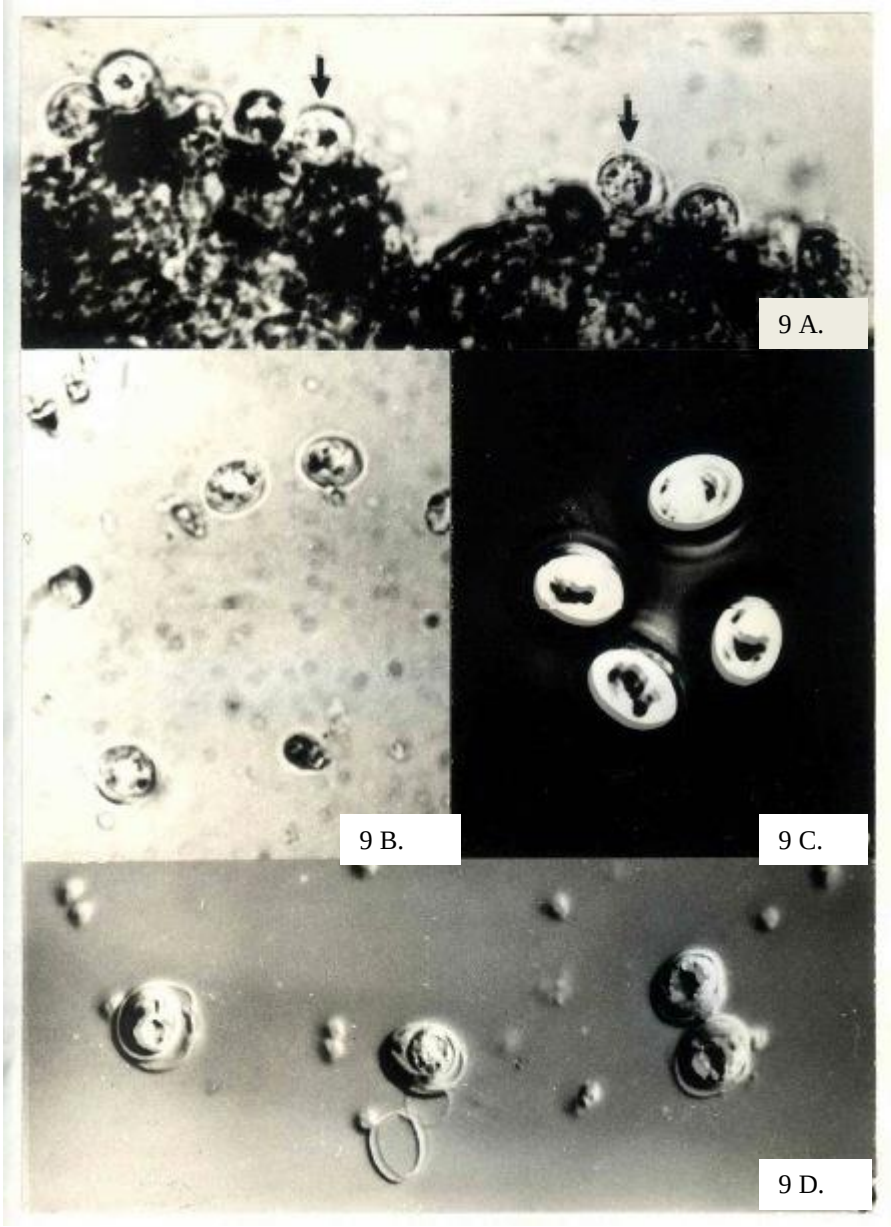


Obr. 10 A. Injekční stříkačka s gumičkou určená k odběru vzorku tekutiny ze zobáku ptáků.

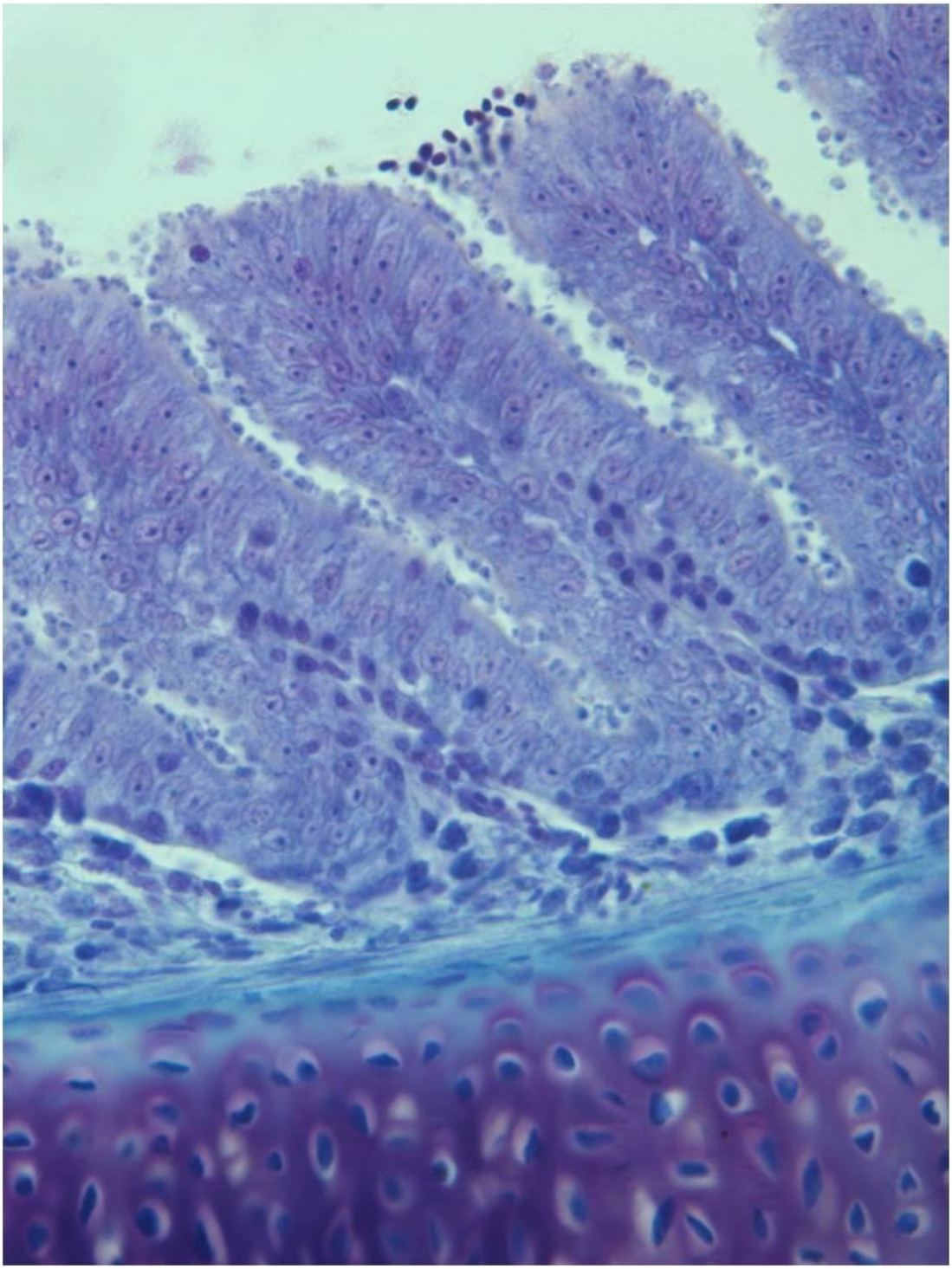


Obr. 10 B. Stojan s připravenými injekčními stříkačkami před odběrem tekutiny k detekci oocyst C. baileyi spoór "bursální, kloakální a respiratorní" nákaze ptáků metodou výplachů.

Obr. 11. Výplach zobákové dutiny při diagnostice respiratorní kryptosporidiové nákazy ptáků.



Obr. 9 A – D. Detekce endogenních vývojových stadií a oocyst C.baileyi v nativním preparátu při výplachu kloaky ptáků. A – vývojová stadia pevně přichycená k odloupané sliznici kloaky, nativní preparát. B – izolované oocysty a některá uvolněná stadia. C – Oocysty ve fázovém kontrastu. D – Oocysty v Nomarského fázovém kontrastu.



Obr. 12. Histologický řez trachey a endogenními stadii C. baileyi. (Barveno vlhkou metodou podle Giemsy).

7. MATERIÁL A METODIKA

Cílem této studie je vyhodnotit problematiku infekcí vyvolaných prvoky Cryptosporidium spp. u slepic při výběhovém chovu. Podrobně je problematika odběrů vzorků trusu, počtu vyšetření a použité metodiky pro detekci Cryptosporidium uvedena ve studii „Základní spektrum endoparazitárních infekcí u kuřat a slepic „Gallus gallus f.domestica) při výběhovém chovu“, Pavlásek a Skřivanová, VÚŽV, 2016. Technologie volného chovu 2. a 3. skupiny slepic je na obr.13 až 16. .

Dynamika výskytu Cryptosporidium spp. byla zjišťována:

1. **U 14 až 55denních pomalu rostoucích kuřat Hubbard JQA 757.**
2. **U pěti plemen slepic různého stáří a způsobu chovu.**
3. **U skupiny slepic (1) ustájených v obohacených klecích v provozních podmínkách Podniku pro výrobu vajec ve Východočeském kraji.**
4. **U skupiny slepic (2) v technologii volného chovu (pevný výběh s dlažebními kostkami) v účelovém hospodářství VÚŽV v Uhříněvsi.**
5. **U skupiny slepic (3) v technologii volného chovu s trvalým travním porostem.**
6. **U slepic ustájených na hluboké podestýlce v jednom velkochovu ve Středočeském kraji.**
7. **Ve vyšetřovaných směsných vzorcích trusu odebíraných „z pásu a papíru“ u skupiny slepic (1).**
8. **Při postmortálních vyšetřováních slepic (1).**
9. **V seškrabech skořápek vajec znečištěných exkrementy slepic (skupina 1).**

Obr. 13 – Skupina slepic č. 2 – pevný výběh (foto Oldřich Mach).

Obr. 14 – Hala s podestýlkou a snáškovými hnízdy slepic 2. skupiny (foto Oldřich Mach).

Obr. 15 – Travnatý výběh slepic 3. skupiny (foto Oldřich Mach).

Obr. 16 – Hala s podestýlkou a snáškovými hnízdy slepic 3. skupiny (foto Oldřich Mach).

8. VÝSLEDKY

8.1. Vliv pastvy na kvalitu masa kuřat

V tomto sledování byla 14 – 28 denní kuřata HUBBARD JA 757 v počtu 270 ustájena ve třech boxech, v každém 90 kusů, v hale s betonovou podlahou na podestýlce, stejně jako 35 – 55denní, z nichž jedna skupina (90 kusů) zůstala v boxu v hale, druhá ve stejném počtu na pastvě, zbývající (90 kusů a 2x po 45 kuřatech) na pastvě v ohrádkách. Vzorky exkrementů byly vyšetřovány v týdenních intervalech. Koprologické vyšetření 320 vzorků bylo negativní a oocysty Cryptosporidium nebyly zjištěny.

8.2. Výsledky koprologických vyšetření pěti plemen slepic

Po dobu 84 dnů byly v týdenních až 14 denních intervalech vyšetřovány slepice plemene česká zlatá kropenka (stáří 1 rok), bílá dominant sasex (nosní hybridi, stáří 3 roky), červená isa brown (stáří 1 rok) a zdrobnělé australky černé a nosní hybridi (stáří 3 roky). Slepice uvedených plemen byly v různém způsobu ustájeny na pastvě s travnatým povrchem nebo jeho zbytky, na ploše s hlinitým podložím nebo betonovými dlaždicemi. Oocysty C. baileyi jsme během tohoto sledování, v intenzitě hodnocené + až ++ křížky, nacházeli u slepic plemen bílá dominant sasex (3 roky na pastvě) a červená isa brown (1 měsíc na pastvě) s trvalým výběhem a kurníkem po dobu 28 dnů. Druhým plemenem, u kterého jsme tento typ kryptosporidie, v intenzitě hodnocenou jedním křížkem detekovali, byly slepice česká zlatá kropenka. Slepice byly 1 rok na pastvě, byly umístěny v ohrádce (3 x 3 m) s pojízdným kurníčkem s možností jeho přemísťování z místa na místo. Celkem bylo vyšetřeno 112 vzorků trusu.

8.3. Výsledky vyšetření slepic 1. skupiny genotypu HISEX HNĚDÝ při chovu v obohacených klecích

Sledování bylo uskutečněno v Podniku pro výrobu vajec v Královéhradeckém kraji u 20 až 44týdenních slepic po dobu 168 dnů. V intervalech 14 dnů až 1 měsíce jsme koprologicky vyšetřili celkem 95 směsných vzorků trusu, orientačně v daném chovu dále 35 směsných vzorků od slepic ve věku 31 až 44 dnů.

Výsledky uvedené v tabulce 2 ukazují, že procento výskytu oocyst C.baileyi bylo u 25 až 34týdenních slepic ve směsných vzorcích trusu 100, 0%, pokleslo na 30,0 % u 44týdenních slepic v den ukončení sledování.

U 31 až 44týdenních slepic jsme v tomto chovu uskutečnili ještě doplňující vyšetření způsobem, kdy jsme vyšetřili 35 směsných vzorků exkrementů „z kartonového papíru“ umístěném po dobu 24 hodin pod dvě klece a „z oběžného pásu“ od sousedních klecí (v každé 60 slepic), ze kterých byly po celou dobu sledování odebírány exkrementy v množství 200 až 300 gramů. Oocysty C. baileyi jsme nacházeli opět v obrovské intenzitě (++++ až !!!) v obou způsobech odebraných vzorků trusu. Poprvé jsme v systému obohacených klecí v daném chovu zaznamenali druh C. meleagridis u 38 – 42týdenních slepic ve výrazně nižší intenzitě výskytu (+ - ++).

Tabulka 2. Výsledky koprologických vyšetřování 1. skupiny slepic v obohacených klecích. (PP – počet pozitivních, % - procento pozitivních)

STÁŘÍ SLEPIC (Týdny)	POČET VYŠETŘENÝCH VZORKŮ	C. meleagridis		C. baileyi	
		PP	%	PP	%
20	20	negativní		negativní	
25	20			20	100,0
27	5			5	100,0
28	5			5	100,0
30	5			5	100,0
34	20			20	100,0
38 – 42	20	5	25,0	20	100,0
44	20	2	10,0	6	30,0

8.4. Výsledky koprologických vyšetření 2. a 3. skupiny slepic

Slepice 2. a 3. skupiny byly stejného genotypu (HISEX HNĚDÝ) jako první skupiny, původem byly z Podniku pro výrobu vajec a byly chovávány v technologii volného chovu v účelovém hospodářství VÚŽV v Uhříněvsi. Nosnice 2. skupiny byly chovány v pevném výběhu, podloží s dlaždicovými kostkami. Třetí skupina slepic byla umístěna v travnatém výběhu. V každé věkové kategorii, s výjimkou slepic ve věku 28 týdnů (vyšetřeno 10 vzorků trusu), bylo vždy vyšetřováno 20 směsných vzorků trusu (7 – 10 individuálních exkrementů). V průběhu celého sledování to bylo u obou skupin slepic celkem 960.

Vzhledem k rozsahu získaných výsledků jsme nálezy z jednotlivých týdenních intervalů shrnuli do věkového rozsahu 5 týdnů, přičemž maxima nálezů uvádíme v daném věku samostatně. Konkrétní výsledky jsou uvedeny v tabulkách.

Tabulka 3. Výsledky koprologických vyšetření 2. skupiny slepic
(PP – počet pozitivních od – do, % - průměrné procento pozitivních)

STÁŘÍ SLEPIC (Týden)	POČET VYŠETŘENÝCH VZORKŮ	C. meleagridis		C. baileyi	
		PP	%	PP	%
18 - 22	100	-	-	-	-
23 – 27	100	-	-	-	-
28 – 32	90	0 - 7	7,8	-	-
32	20	7	35,0	-	-
33	20	2	20,0	1	5,0
33 – 37	100	0 - 2	20,0	0 - 1	5.0
38 – 42	100	0 - 1	1,0	0 - 18	38,0
42	20	1	5,0	18	90,0

Z výsledků vyšetření uvedených v tabulce 3 vyplývá, že velmi „malé“ oocysty druhu C. meleagridis, parazitující ve slepých střevech, jsme poprvé diagnostikovali v sedmi vzorcích trusu 32týdenních slepic, což bylo 99. den po zahájení sledování. Frekvence výskytu potom postupně klesala až na 5,0 % u 42týdenních slepic, u starších byl výsledek negativní. C. baileyi jsme poprvé detekovali u 33týdenních slepic a maximum pozitivních (90,0 %) bylo u 42týdenních slepic, tedy dva týdny před dokončením sledování.

Tabulka 4. Výsledky koprologických vyšetřování 3. skupiny slepic.

(PP – počet pozitivních od – do, % -průměrné procento pozitivních)

<table>
<tr><th rowspan="2">STÁŘÍ SLEPIC (Týdny)</th><th rowspan="2">POČET VYŠETŘENÝCH VZORKŮ</th><th colspan="2">C. meleagridis</th><th colspan="2">C. baileyi</th></tr>
<tr><th>PP</th><th>%</th><th>PP</th><th>%</th></tr>
<tr><td>18 – 22</td><td>100</td><td colspan="2" rowspan="5">Negativní</td><td colspan="2" rowspan="3">negativní</td></tr>
<tr><td>23 – 27</td><td>100</td></tr>
<tr><td>28 – 32</td><td>90</td></tr>
<tr><td>35</td><td>20</td><td>1</td><td>5,0</td></tr>
<tr><td>33 – 37</td><td>100</td><td>0 - 13</td><td>19,0</td></tr>
<tr><td>38</td><td>20</td><td>1</td><td>5,0</td><td>12</td><td>60,0</td></tr>
<tr><td>39</td><td>20</td><td>3</td><td>15,0</td><td>20</td><td>100,0</td></tr>
<tr><td>38 - 44</td><td>100</td><td>0 – 2</td><td>3,0</td><td>0 - 20</td><td>40,0</td></tr>
<tr><td>43</td><td>20</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td></tr>
</table>

U slepic 3. skupiny jsme detekovali rovněž C. meleagridis, poprvé až v jednom vzorku trusu u 38týdenních slepic s maximem výskytu (15,0 % o týden starších slepic. Jak je uvedeno v tabulce 4. první oocysty C. baileyi se objevily v trusu 35týdeníích slepic. Postupně, téměř lineárně, vzrůstalo procento od 19,0 % až do 100 % u 39týdenních slepic. V dalším období došlo k výraznému poklesu na 40,0 % a u 43 týdenních byly nálezy negativní.

8. 5. Výsledky postmortálních vyšetření slepic při odchovu v obohacených klecích

V tabulce 5 uvádíme nálezy C. baileyi při postmortálním vyšetřování tří slepic 1. skupiny. Výsledky korespondují s koprologickým vyšetřováním slepic dané věkové kategorie. Oocysty prvoka a jeho endogenní vývojová stadia byla detekována pouze v nativních preparátech a roztěrech slizničních epitelů barvených metodou podle Giemsy v kloace. Detailní vyšetření ostatních orgánů a tkání bylo negativní.

Tabulka 5 . Výsledky postmortálních vyšetření slepic 1. skupiny (obohacené klece)

	S T Á Ř Í S L E P I C (Týdny)		
	31	32	44
Cryptosporidium	Ú H Y N		UTRACENÍ V DEN UKONČENÍ SLEDOVÁNÍ
	POČET VYŠETŘENÝCH SLEPIC		
	10	5	6
	POČET POZITIVNÍCH / %		
C. baileyi	4 / 40	3 / 60	2 /33,3

8.6. Výsledek postmortálního vyšetření dvou slepic 3. skupiny

Při koprologickém vyšetřování 42týdenních slepic odchovávaných na travnatém výběhu byla prevalence C. baileyi 40%. Po utracení slepic jsme detekovali u obou oocysty prvoka v obsahu kloaky v nativním preparátu s použitím glycerínu a také metodou flotačně-centrifugační. Potvrzením tohoto pozitivního nálezu byla také přítomnost vývojových stadií C. baileyi opět pouze v roztěrech slizničního epitelu kloaky barvených metodou podle Giemsy. Intenzita jak oocyst, tak vývojových stadií byla v tomto věku slepic již relativně nízká a byla v souladu s nálezy oocyst ve vyšetřovaných směsných vzorcích trusu živých slepic.

8.7. Výsledek vyšetřování seškrabů povrchu skořápek vajec znečištěných exkrementy slepic

Od 1. skupiny 32týdenních slepic v obohacených klecích v době, kdy byla prevalence C. baileyi 100% a intenzita vylučovaných oocyst obrovská, vyšetřovali jsme postupně 10 vajec, jejichž skořápka byla značně znečištěna zaschlými exkrementy. Zcela nepoškozené jsme oocysty C. baileyi detekovali v seškrabech 3 vajec. Přítomnost ojedinělých oocyst C. baileyi jsme prokázali také v seškrabech povrchu znečištěné skořápky vajec (ve třech případech z 10 vyšetřených) u 39týdenních slepic 3. skupiny odebraných ze snáškového hnízda v době, kdy prevalence prvoka byla při vyšetřování exkrementů 100%.

8.8. Výsledky koprologických a postmortálních vyšetření slepic ve velkochovu ve Středočeském kraji

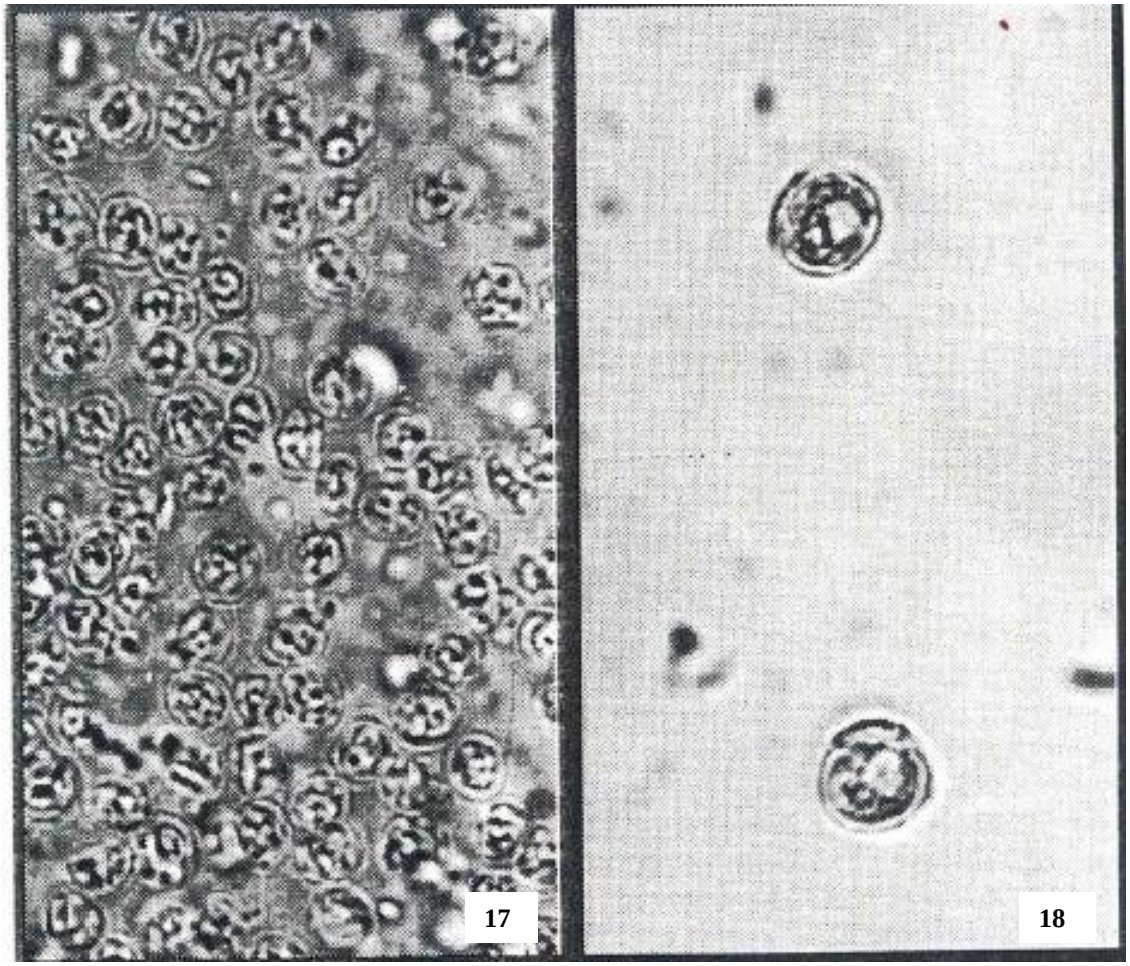
Pro zajímavost zařazujeme do textu této studie také výsledky vyšetřování slepic z jednoho velkochovu přesto, že nebyl objektem sledování pracovníky VÚŽV v Uhříměvsi. Kuřata plemene ROSS 308 jsou od prvního dne do 17 – 20 týdnů ustájena na podestýlce v jiné lokalitě a potom převedena do haly v koncentraci 5200 až 5500 slepic rovněž na podestýlce po dobu 7 až 10 měsíců.

V souvislosti s řešením příčin zvýšených úhynů v jedné hale nám byly předány do parazitologické laboratoře 4 uhynulé 39týdenní slepice. U všech jsme detekovali v zažitině tenkého a slepých střev kokcidie rodu Eimeria (+ - ++). U dvou jsme ve slepých střevech diagnostikovali C. meleagridis a u všech v kloace oocysty C. baileyi. Vzhledem k tomuto nálezu jsme požádali chovatele a příslušného veterinárního lékaře o možnost provést v tomto chovu opakovaná koprologická vyšetření. Výsledky uvádíme v tabulce 6.

Tabulka 6. Výsledky vyšetření slepic ve velkochovu ve Středočeském kraji. (PP – počet pozitivních vzorků, % - procento pozitivních vzorků)

STÁŘÍ SLEPIC (Týdny)	POČET VYŠETŘENÝCH VZORKŮ	C. meleagridis		C. baileyi	
		PP	%	PP	%
39,5	100	15	15,0	82	82,0
40	100	7	7,0	62	62,0
41	100	1	1,0	62	62,0
42	30	-	-	18	60,0
43	30	-	-	8	26,7

Ve věku 39,5 týdnů jsme postmortálně vyšetřili kromě 100 směsných vzorků čerstvě vyloučených exkrementů odebraných z podestýlky (koprologicky) dvě uhynulé slepice. Oocysty kryptosporidií jsme detekovali u obou v kloace, u jedné také v obsahu zažitiny ve slepých střevech. Negativní byly nálezy oocyst prvoků v jednotlivých úsecích tenkého střeva po celé délce v úsecích 10 – 12 cm, v trachee, žlučovém měchýři a pankreatu. V barvených roztěrových preparátech sliznice kloaky po fixaci metodou podle Giemsy jsme u obou slepic detekovali endogenní vývojová stadia v kloace, u jedné ojediněle v krčících slepých střev, což odpovídá nálezům „větších“ (C. baileyi) a „menších“ (C. meleagridis) oocyst při koprologických vyšetřeních. Intenzitu výskytu oocyst jsme při koprologických vyšetřeních uvedených v tabulce 6 v prvním případě, v závislosti na věku slepic, hodnotili ++ až ++++. Ve druhém případě byla intenzita hodnocena + až ++.



Obr. 17. Oocysty C. meleagridis při vyšetřování obsahů krčku a zažitiny slepých střev. Nativní preparát, s použitím glycerínu (Pavlásek, 1991).

Obr. 18. Oocysty C.baileyi, nativní preparát.

9. DISKUSE

Technologické systémy volného ustájení drůbeže různých věkových kategorií se nejen u nás, ale i v zahraničí používají stále častěji. Nejsou to již tradiční, které známe z minulého století, ale uplatňují se nové a moderní přístupy s maximálním využitím techniky při odchovu a současných poznatků týkající se výživy a krmení, výběru vhodných plemen včetně zajištění optimálního způsobu ošetřování a zoohygieny. Vnější prostředí je mnohdy limitujícím faktorem pro úspěšný chov k dosažení maximální užitkovosti. Volné výběhy se však stávají zdrojem nejrůznějších onemocnění drůbeže, mezi které lze zařadit samozřejmě také parazitární infekce. Jejich zárodky (cysty, oocysty, vajíčka, přítomnost potenciálních mezihostitelů apod.) mají ve vnějším prostředí různých typů výběhů, především v travnatých, většinou optimální podmínky pro vývoj a po dlouhou dobu udržení jejich životaschopnosti a infekceschopnosti. Tuto skutečnost je třeba mít vždy na paměti zejména tehdy, kdy se na tyto plochy přemísťují nové turnusy drůbeže, které jsou k prvním nákazám, především helmintózním, velmi vnímavé.

Původním záměrem předložené studie bylo zjistit parazitofaunu slepic ve dvou typech volných výběhů – pevného a travnatého. V průběhu získávání konkrétních výsledků vyšetřování jsme považovali řešenou problematiku rozšířit o sledování výskytu endoparazitů u slepic ustájených v obohacených klecích z chovu, ze kterého pocházely v pokusu v chovném zařízení VÚŽV v Uhříněvsi. Do výsledků jsme zařadili dále kapitolu, která uvádí zcela nové poznatky o nálezech kryptosporidií u slepic v chovu na podestýlce.

Z literárního přehledu je zřejmé, že problematika Cryptosporidium je i v současné době stále velmi aktuální. Vzrůstající zájem je o tyto prvoky v posledních letech u chovatelů plazů, protože zejména jejich farmový chov se zdá být pro šíření infekcí příznivý a infekce (žaludeční a střevní) mnohdy končí úhyny i vzácných exemplářů. Již tradičně je Cryptosporidium významným parazitem mláďat našich užitkových přežvýkavců. Infekce člověka jsou také předmětem mnoha studií a pozitivní nálezy přispívají k rozvoji molekulárních metod k typizaci jednotlivých izolátů při hledání zdrojů nákaz. V současné době existují tisíce publikací, monografie apod., ze kterých je možné poznatky čerpat.

Problematikou Cryptosporidium se u nás zabýváme u různých druhů hostitelů od roku 1979. V samých počátcích výzkumu jsme pozornost těmto prvokům věnovali především u telat v souvislosti s průjmovými onemocněními několik dnů po jejich narození (Pavlásek,

1981) - první nález). V dalších letech potom u mláďat všech druhů užitkových hospodářských zvířat, volně žijícím a exotickým.

Pokud jde o ptačí kryptosporidie, informací doposud není mnoho. Autoři čerpají např. z publikací Goodwin, Brown (1989), Goodwin (1989), Trampel a kol. (2000), Ng a kol. (2006), Wang a kol. (2010), Nakamura, Meireles (2015), Helmy a kol. (2017). Současné publikace např. Laatamna a kol. (2017) informují o nálezech ptačích kryptosporiích u domácí drůbeže (mladších věkových kategorií) a divoce žijících ptáků.

Poprvé jsme kryptosporidie u drůbeže, kuřecích brojlerů (v sinus infraorbitalis) detekovali u nás v roce 1984 (Pavlásek, 1985) a studovali jsme jejich životní cyklus (Pavlásek, 1987, 1994). Na základě získaných výsledků jsme vypracovali novou a rychlou metodiku diagnostiky při bursální, kloakální a respirační kryptosporidiové infekci u kuřat a ptáků obecně (Pavlásek 1987). V publikaci Tůmová a kol. (1999) uvádíme vyhodnocení vlivu experimentální nákazy C.meleagridis na užitkovost brojlerových kuřat. Infekce ovlivnila růst kuřat. Zejména 7. a 10. den po nákaze a spotřebu krmiva na kus a den vždy po dobu následujících týdnů. Zajímali jsme se také o výskyt kryptosporidií u divoce žijících i exotických ptáků s cílem, zjistit zdroje možných infekcí pro domácí drůbež chovanou ve venkovních podmínkách (Pavlásek 1999, 2004, 2006, Pavlásek, Kozakiewicz, 1989, Pavlásek, Šverma, 2009). Zcela nedávno jsme shrnuli výsledky ze studií rozšíření C. baileyi ve voliérovém chovu bažantů a orebic (Máca, Pavlásek, 2015, 2016) a jsme přesvědčeni, že tito ptáci se mohou uplatnit v šíření kryptosporidiových infekcí právě u drůbeže ve volných výbězích. Ve žláznatém žaludku slepic z jednoho malochovu s venkovním tradičním výběhem jsme popsali nový druh Cryptosporidium galli Pavlásek, 1999 (Pavlásek 1999, 2001). Tento druh jsme nacházeli také u několika druhů volně žijících a exotických ptáků (viz výše v kapitole přehled kryptosdporidií u volně žijících ptáků). Platnost tohoto druhu byla potvrzena molekulárními analýzami jedním centrálním pracovištěm pro výzkum kryptosdporidií v Austrálii vedeném Ryan U. a výsledek publikován v práci Ryan a kol. (2003). Později byly tímto pracovištěm typizovány další ptačí izoláty oocyst kryptosporidií z České republiky a dosažené výsledky z molekulárních analýz shrnuty v práci Ng a kol (2006).

U dospělých slepic zřejmě poprvé diagnostikovali kryptosporidiózu Trampel a kol. (2000) v močových cestách. Jsme přesvědčeni, že tato studie předkládá zcela nová zjištění o nálezech Cryptosporidium v průběhu spontánních nákaz a věkové dynamice u 25 až 44týdenních slepic v různých technologických systémech jejich chovu. Dosažené výsledky

považujeme za významné a u dospělých slepic za prioritní. A to přesto, že podobný nález jsme zjistili již před více než 10 lety při orientačním klecovém chovu slepic v jedné farmě na Čáslavsku v době zvýšených úhynů. Při koprologickém vyšetřování směsných vzorků exkrementů u 1. skupiny slepic v obohacených klecích byly nálezy oocyst vždy 100% (ve věku 25 až 44 týdnů) a ve většině případů jsme jejich intenzitu hodnotili jako velmi vysokou (++++ až !!!), kdy v jednom zorném poli mikroskopu při 400násobném zvětšení jich bylo často 100 i více. U slepic 2. skupiny se oocysty kryptosporidie vyskytovaly ve stáří 33 až 44 týdnů a u 3. skupiny u 35 až 44týdenních.

Podle morfometrických parametrů oocyst a lokalizace endogenních vývojových stadií prvoka při postmortálních vyšetřeních odpovídaly druhu C. baileyi. Detekovali jsme také oocysty C. meleagridis a konkrétní výsledky jsou uvedeny v tabulkách. Poprvé se začaly objevovat u 2. skupiny slepice ve věku 32 týdnů a shodně u 38týdenních slepic 2. a 3. skupiny. Nálezy obou druhů kryptosporidií s odlišnou lokalizací vývojových stadií a morfometrickými parametry oocyst podporují také výsledky postmortálních vyšetření. Z celkového počtu 15 uhynulých 31 až 32týdenních slepic byl C. baileyi diagnostikován u 7 (46,6 %) a u dvou utracených (44týdenních) na konci pokusu. V průběhu celého období našeho sledování jsme shromáždili dostatečné množství izolátů oocyst této kryptosporidie, které budeme zpracovávat postupně molekulárními analýzami za účelem jejich typizace – druhového určení.

Doplňkem k této studii jsou výsledky z rutinních koprologických vyšetřování 39 až 43týdenních slepic ustájených na podestýlce v jednom velkochovu ve Středočeském kraji. Podnětem k opakovaným vyšetřením byly podobně jako v chovu slepic ve výše zmíněném Čáslavsku zvýšené úhyny. Zajímavé je, že oocysty C. baileyi jsme nacházeli v trusu 39,5týdenních slepic v 82 %, u 40 až 41týdenních v 60 až 62 %. Tento výsledek je tedy velmi podobný se zjištěními dosaženými v této věkové kategorii u slepic v obohacených klecích i u 2. a 3. skupiny slepic v technologii volných výběhů.

Zdroj nákaz kryptosporidiemi ve třech různých technologických systémech chovů nám není znám. Je skutečně překvapující, délka období, po kterou jsme oocysty nacházeli. U mladé drůbeže trvá při spontánních nákazách podle našich zkušeností u C. meleagridis v průměru 5 – 10 dnů, u C. baileyi 8 až 14 dnů. Získané výsledky tedy upozorňují na extrémně dlouhé období vylučování oocyst a tím i na možnost intenzívního a permanentního promořování vnějšího prostředí. Pokud se již tito parazité v chovu objeví, potom dochází k jejich velmi rychlému šíření. A to proto, že oocysty jsou okamžitě po vyloučení

infekceschopné. Význam kloakální formy kryptosporidiové infekce nebyl doposud u dospělých slepic prostudován.

Uvažujeme-li dále, při klecovém způsobu chovu slepic byl počátek výskytu kryptosporidií ve věku 25 týdnů. Při orientačním koprologickém vyšetření 20týdenních slepic tj. déle než 14 dnů před jejich přemístěním z „mateřské“ farmy byly výsledky na přítomnost oocyst kryptosporidií negativní. Zřejmě ani přenos nákazy prostřednictvím slepic z klecového chovu do chovného zařízení v Uhříněvsi nepřipadá s největší pravděpodobností v úvahu. Vzájemný přenos infekce mezi slepicemi 2. a 3. skupiny by mohl být do určité míry vysvětlen „zánosem“ oocyst prostřednictvím ulpělých zbytků exkrementů obsahující oocysty např. na podrážkách obuvi ošetřujícího personálu. Nelze vyloučit ani možnost jejich vyplavení z pozitivních vyloučených exkrementů po deštích z pevného výběhu do zpevněné části travnatého výběhu před vstupem slepic do kurníku.

Samozřejmě, že v úvahu přichází spektrum nakažených volně žijících ptáků, kteří mohou exkrementy kontaminovat vnější prostředí ve výbězích, ale i napři krmivo, vodu apod. v uzavřených halách. Pro zajímavost uvádíme v této souvislosti výsledky ze sledování jednodenních až 23denních kachňat ustájených v hale s roštovou podlahou. Počínaje 17. dnem jejich věku byly naše nálezy oocyst C. baileyi v exkrementech 100%, přičemž jejich intenzita byla vysoká. V blízkosti haly byl rybník a koprologicky jsme vyšetřovali vzorky mláďat – nelétavých racků. Přímo v hale byla hnízda vlaštovek a také od nich jsme vyšetřovali exkrementy. Ve všech případech jsme u těchto volně žijící ptáků prokazovali opakovaně oocysty kryptosporidií. Z těchto nálezů tedy usuzujeme na reálnou možnost vzájemných přenosů kryptosporidií. Vezmeme-li v úvahu, že vyskladnění kachňat z haly a jejich převoz na rybník se 100% prevalencí C.baileyi mohlo vytvořit situaci vzniku dalších možných nákaz vnímavými ptáky v daném okolním vnějším prostředí.

Vůbec poprvé jsme při řešení problematiky kryptosporidiových infekcí slepic prokázali, že povrch skořápky snesených vajec znečištěných exkrementy nakažených ptáků byl kontaminován oocystami C. baileyi. Konkrétně jsme tento fakt zjistili při vyšetřování seškrabů exkrementů jak u vajec slepic 1., tak 3. skupiny. V podstatě je to logické, protože prvok je lokalizován v kloace a procházející vajíčka se tak mohou kontaminovat. V případě klování vajec slepicemi při spontánních nákazách může být i tento způsob vzájemného přenosu tedy vysoce pravděpodobný.

Výše uvedená problematika kryptosporidiových infekcí u dospělých slepic není vyřešena a naše získané výsledky není možné s údaji ze zahraničí porovnávat. Tyto nové poznatky by si

podle našeho názoru zasloužily další hlubší studie i v asociaci s jinými patogeny různého původu.

10. ZÁVĚR

1. V pokusech řešených pracovníky VÚŽV v Uhříněvsi v období let 2015 – 2017 jsme poprvé u nás prostudovali dynamiku výskytu Cryptosporidium spp. u kuřat a slepic v různých technologických systémech jejich chovu – na pastvě, v obohacených klecích, volných výbězích (pevný a travnatý) a na podestýlce.

2. V exkrementech slepic vyšetřovaných koprologickou, flotačně-centrifugační metodou podle Brezy (1957) byly detekovány dva morfometricky odlišné typy oocyst. „Menší“, které byly přiřazeny druhu Cryptosporidium meleagridis a „větší“, které prozatím považujeme, vzhledem k lokalizaci endogenních vývojových stadií pouze v kloace uhynulých slepic, za druh Cryptosporidium baileyi.

3. Při postmortálním vyšetřování slepic byla přítomnost oocyst zjišťována v zažitině obsahu po celé délce trávicího traktu metodou podle Pavláska (1991), endogenní vývojová stadia Cryptosporidium potom v roztěrových preparátech slizničních epitelů střev, orgánů a tkání fixovaných metanolem a barvených metodou podle Giemsy.

4. Kryptosporidie C. baileyi byla diagnostikována ve volném chovu u plemen bílá dominant sasex (3 roky na pastvě), červená isa brown (1 měsíc na pastvě) a česká zlatá kropenka (1 rok na pastvě) ze sledování pěti různých plemen. Intenzita vylučovaných oocyst byla hodnocena + až ++ křížky.

5. Extrémně vysoká, 100% prevalence C. baileyi, byla při vyšetřování exkrementů 25 až 42týdenníéch slepic 1. skupiny (obohacené klece) s velmi vysokou intenzitou výskytu oocyst hodnocenou po celé období sledování čtyřmi křížky. K poklesu pozitivních nálezů došlo u 44 týdenních slepic (30,0 %). Procento infikovaných slepic C. meleagridis bylo u 44týdeníích slepic 10,0 až 25,0 %.

6. V exkrementech 2. skupiny slepic se začaly první oocysty C. baileyi objevovat u 33týdenních slepic, C. meleagridis již u 32týdenních slepic s maximem prevalence 35 %, postupně klesala až na 1 % na konci pokusu. Nejvyšší procento pozitivních vzorků (38 %) s přítomností oocyst C. baileyi bylo ve věkové kategorii 38 – 42týdnů, nicméně 42týdenní slepice byly infikovány v 90 %.

7. Poprvé byly zjištěny oocysty C. baileyi v trusu 35týdenních slepic třetí skupiny. Lineárně prevalence vzrůstala až na 100 % (39týdenní slepice), u starších došlo k jejímu poklesu. První

pozitivní nález oocyst C. meleagridis byl zaznamenán u slepic ve věku 38 týdnů, maximum pozitivních vzorků (15,0 %) bylo u 39týdenních slepic, v dalším období došlo k poklesu a negativní byly nálezy u 43týdeních slepic podobně jako v případě C. baileyi.

8. Kryptosporidie byly diagnostikovány také u slepic chovaných na hluboké podestýlce. C. baileyi, s maximální prevalencí 82,0 u 39,5týdenních slepic, s postupným poklesem na 26,0 % u 43týdenních. Poměrně ojedinělé byly nálezy oocyst C. melagridis s maximem 15,0 %, podobně jako u C. baileyi u slepic ve věku 39,5 týdnů. V trusu 40týdenních slepic byla prevalence 7,0%, u 41týdenních 1,0% a až do stáří 42 a 43 týdnů byly výsledky negativní.

9. Při postmortálním vyšetřování slepic 1. skupiny ve věku 31,32 a 44 týdnů v celkovém počtu 21 kusů byl C. baileyi (oocysty a endogenní vývojová stadia pouze v kloace) detekován u devíti slepic (42,9 %).

10. U čtyř uhynulých slepic ve věku 39 týdnů z velkochovu ve Středočeském kraji (hluboká podestýlka) byl diagnostikován druh C. baileyi (oocysty a endogenní vývojová stadia v kloace) a dvou C. meleagridis s průkazem oocyst a vývojových stadií v krčcích slepých střev.

11. Vůbec poprvé byla přítomnost oocyst C.baileyi prokázána v zaschlých exkrementech na povrchu skořápky snesených vajec u 1. skupiny slepic (obohacené klece, věk 32 týdny)) a u 3. skupiny slepic (věk 39 týdnů).

12. Původní zdroj kryptosporidiových infekcí u slepic ve všech technologických systémech jejich odchovu nebyl identifikován.

13. V textu studie je uveden dosavadní přehled výskytu Cryptosporidium spp. u domácí užitkové drůbeže, volně žijících a exotických ptáků z našich rutinních parazitologických vyšetřování. V této souvislosti vzhledem k nízké hostitelské specifity těchto prvoků je to upozornění na možnost vzájemných přenosů infekcí mezi vnímavými ptačími hostiteli.

.

11. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ALVES M., XIAO L.H. SULAIMAN I., LAL A.A., MATOS O., ANTUNES F.: Subgenotype analysis of Cryptosporidium isolates from humus, cattle, and zoo ruminants in Portugal. J.Clin.Microbiol. 41:2744-2747, 2003.

ANDERSON B.C.: Patterns of Sheadding of Cryptosporidial oocysts in Idaho calves. J.Am.Vet.Med.Assoc. 178: 828-829, 1981.

ANDERSON B.C.: Is cryptosporidial infection responsible for diarrhoea? Califor. Vet. 9:9-10, 1982.

BREZA M.: Niekol´ko praktických poznatkov a námetov k helmintokoprologickej diagnostike. Helmintológia 1:57-65, 1957.

CAMA V.A., BERN C., SULAIMAN I.M., GILMAN R.H., TICONA E., VIVAR A., KAWAI V.,VARGAS D., ZHOU L., XIAO L.H.: Cryptosporidium species and genotypes in HIV-positive patiens in Lima, Peru. J.Eukariot.Microbiol., 50:531-533, 2003.

CLARKE J.J.: A study of coccidia met with in mice. Qurterly Journal of Microscopical Science 37:277-302, 1895.

CURRENT W.L.: Human cryptosporidiosis. Microbiology 220-223, 1984.

CURRENT W.L., UPTON S.J., HAYNES T.B.,: The life cycle Cryptosporidium baileyi n.sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting Dickens. J.Protozool. 33:289-296, 1986.DHILLON A.s., THACKER H.L. DIETZEL A.V., WINTERFIELD R.W.: Respiratory cryptosporidiosis in brloiler Dickens. Av.dis. 25: 747-751, 1981.

DOSTER A.R., MAHAFFEY E.A.: Cryptosporidia in teh cloacal coprodeum of red-lored parrots (Amazona autumnalis). Av.Dis. 23:654-661, 1979.

FLETCHER O.J., MUNNELL J.F., PAGE R.K.: Cryptosporidiosis of the bursa Fabricius of Chickens. Av.Dis. 19:630-639, 1975.

GARDINER C.H., GEORG D., IMES H.: Cryptosporidium sp. in the kidneys of black-throated finch. J.Amer.Vet.Med.Assn 185:1401-1402, 1984.

GATEI W., WAMAE C.N., MBAE C., WARURU A., MULTINGE E., WAITHERA T., GATIKA S.M., KAMWATI S.K. REVATHI G., HART C.A.: Cryptosporidiosis, prevalence, genotype analysis, and symptoms associated with infecdtions in chldren in Kenya. Am.J.Trop.Med.Hyg. 75:78-82, 2006.

GOEBEL E., BRANDLER U.: Ultrastucture of Microgametogenesis, Microgametes and gametogamy of Cryptosporidium sp. in the small intestine of mice. Protistologica 3:331-334, 1982.

GOODWIN M.A.: Cryptosporidiosis in birds – A review. Avian Pathology 18:365-384, 1989.

GOODWIN M.A., BROWN J.: Intestinal Cryptosporidiosis in Chickens. Av.Dis33:770-777, 1989.

HEINE J., BOCH J.: Kryptosporidien – Infection biem Kalb. Nachweis, Vorkommen und experimentelle übertragung. Berl.Munch.Tieärztl.Wschr. 94:289-292, 1981.

HELMY Y.A., KRÜCKEN J., ABDELWAB E.M., von SQAMSON-HIIELSTJERNA G., HAFEZ H.M.: Molecular diagnosis and characterization of Cryptosporidium spp. in turkeys and chickens in Germany reveals evidence for previously undetected parasite species.Plos One 12(6) 2, 2017.

HOLUBOVÁ N., SAK B., HORČIČKOVÁ M., HLÁSKOVÁ L., KVĚTOŇOVÁ D., MENCHACA S., MCVOY J., KVÁČ M.: Cryptosporidium avium n.sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in birds. Parasitol.Res. 115:2243-2251, 2016.

ISEKI M.: Cryptosporidium felis sp.n. (Protozoa:Eimeriorina) from the domestic cat. Jap.J.Parasit. 28:285-307, 1979.

ITAKURA C., GORYO M., UMEMURA T.,: Cryptosporidial infection in Dickens. AvPathol. 13:487-499, 1984.

LAATAMNA A.E., HOLUBOVÁ N., SAK B., KVÁČ M.: Cryptosporidium meleagridis and C. baileyi (Apicomplexa) in domestic and wild birds in algeria. Folia Parasitologica 64: v tisku 2017.

LEONI F., AMAR C., NICHOLS G., PEDRAZA-DIAZ S., MCLAUCHLIN J.: Genetic analysis of Cryptosporidium from 214 humans with diarrhoea in England between 1985 and 2000. J.Med.Microbiol. 55:703-707, 2006.

LEVINE N.D.: Protozoan parasite of domestic animals and man. Burgess, Minneapolis, pp. 412, 1961.

LEVINE N.D.: The genera Cryptosporidium and Epieimeria in the coccidian Family Cryptosporidiidae (Protozoa:Apicomplexa). Trans.Am.Microsc.Soc. 103:205-206, 1984.

MÁCA O. PAVLÁSEK I. First finding of spontaneous infections with Cryptosporidium baileyi and C. meleagridis in the red-legged partridge Alectoris rufa from an aviary in the Czech Republic. Veterinary Parasitology, 2015, roč. 209, č. 3–4, s. 164-168. ISSN: 0304-4017.

MÁCA O., PAVLÁSEK,I.: Cryptosporidium infection of ring-necked pheasants (Phasianus colchicus) from an intensive artificial breeding programme in the Czech Republic. Parasitol.Res. 115:1915-1922, 2016.

MASON R.W., HARTLEY W.J.: Respiratory cryptosporidiosis in peacock Chin. Av.Dis. 24:771-776, 1980.

MEISEL J.L., PERERA D.R., MELIGRO C., RUBIN C.E., Overwhewlming watery diarrhoea associated with a Cryptosporidium in an immunosuppressed patient. Gastroenterolgy 70:1156-1160, 1976.

MORGAN U.M., XIAOL., LIMOR J., GELIS S., RAIDAL B.L., FAYER R., LAL A.A., ELLIOT A., THOMPSON R.C.:A.: Cryptosporidium meleagridis in an Indian ring-necked parrot (Psittacula krameri. Aust.Vet.J. 78:182-183, 2000.

NAKAMURA A.A., MEIRELES M.V.: Cryptosporidium infections in birds – a review. Rev.Bras.Parasitol.Vet. 24(3): Jaboticabal July/Sept. 2015.

NIME F.A., BUREK J.D., PAGE D.L. HOLSCHER M.A. YARDLEY J.H.: Acute enetrocolitis in human being infected with the protozoan cryptosporidium. Gastroenterolagy 70:592-598, 1976.

NG. J., PAVLÁSEK I., RYAN U.: Identification of novel Cryptosporidium genotypes from avian hosts. Appl.Environ.Microbiol. 72(12):7548-7553, 2006.

PANCIERA R.J., THOMASSEN R.W., GARNER F.M.: Cryptosporidial infection in a calf. Vet.Pathol. 8:479-484, 1971.

PAVLÁSEK I.: First rekord of Cryptosporidium sp. in calves in Czechoslovakia. Folia parasito. (Praha) 28:187-189, 1981.

PAVLÁSEK I.: The finding of Cryptosporidium sp. in sinus infraorbitalis in a chicken. J.Protozool. 30A:94, 1985.

PAVLÁSEK I., PALKOVIČ L.: Spontánní kryptosporidiózní infekce u kuřat. Veterinářství 36:131-132, 1986.

PAVLÁSEK I., PALKOVIČ L., KOPAČKA M.: Prevalence of Cryptosporidium infection in broilers. J.Protozool. 33, Abstracts, 220, 1986.

PAVLÁSEK I., PALKOVIČ L., KOPAČKA M.: Experimental cryptosporidial infection in chickens. J.Protozool. 33, Abstracts 221, 1987.

PAVLÁSEK I.: Studies on the life cycle of cryptosporidium coccidia in experimentally infected chickens. Folia parasitol. 34:193-197, 1987.

PAVLÁSEK I.: Rychlá metoda detekce oocyst kokcidií rodu Cryptosporidium u kuřat. Vet.Med. (Praha)32:509-510, 1987.

PAVLÁSEK I., KOZAKIEWICZ B.:Occurrence and localization of Cryptosporidium sp. in spontaneously infected pheasants (Phasianus colchicus L.). Folia parasitol, 36:287-288, 1989.

PAVLÁSEK I.: Nejvýznamnější endoparazitární nákazy hospodářských zvířat. I. Kryptosporidiwe. II a III. Giardie a smíšené parazitární nálazy. (Doktorská disertace) České Budějovice, Prazitologický ústav ČSAV 599 s., 1989.

PAVLÁSEK I.: Využití glycerínu při detekci oocyst Cryptosporidium parvum a C.baileyi v trusu savců a ptáků. Veter.Med. (Praha) 36:255-256, 1991.

PAVLÁSEK I.: Kryptosporidie: Biologie, diagnostika, hostitelské spektrum, specifita a vztah k životnímu prostředí. Remedia – Klinická mikrobiologie 3 (9):290-301, 1999.

PAVLÁSEK I.: Racek chechtavý (Larus ridibundus L.) nový hostitel Cryptosporidium baileyi (Apicomplexa:Cryptosporidiidae). Vet.Med. – Czech 38(10):629-638, 1993.

PAVLÁSEK I.: Kryptosporidie u ptáků. Veterinářství 7:315-319, 1994.

PAVLÁSEK I.: Kryptosporidóza pštrosů. Sborník referátů z 2.národního semináře o aktuálních otázkách v chovech pštrosů v České republice, Troubelice 12.11.1998.

PAVLÁSEK I.: Kryptosporidie: Biologie, diagnostika, hostitelské spektrum, specifita a vztah k životnímu prostředí. Remedia – Klinická mikrobiologie 3(9):290-301, 1999.

PAVLÁSEK I.: Nálezy kryptosporidií ve žláznatém žaludku u slepic a u volně žijících a exotických ptáků odchycených z volné přírody. Veterinářství 3:103-108, 2001.

PAVLÁSEK I.: Kryptosporidióza u drůbeže. Náš chov 8:16-23, 2004.

PAVLÁSEK I.: První nález kryptosporidiové infekce u křepelek japonských v ČR. Náš chov 7:86-88,2006.

PAVLÁSEK I.:Významní endoparazité drůbeže v alternativních systémech chovů. Náš chov 12:81-85, 2008.

PAVLÁSEK I., ŠVERMA J.: First finding of cryptosporidial infections of grey partridges in aviaries. Náš chov 12:62-64, 2009.

POHLENZ J.F.L., MOON H.W., CHEWILLE N.F., BEMRICK W.J.: Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhoea of calves. JAvMAQ 172:452-457, 1978.

RYAN U., XIAO L., READ C., ZHOU L., LAL A.A., PAVLÁSEK I.: Identification of Novel Cryptosporidium Genotypes from the Czech Republic. Appl.Environ.Microbiol. 69:4302-4307, 2003.

RYAN U.M., XIAO L., READ C., SULAIMAN I.M., MOINS P., LAI A.A., FAYER R., PAVLASEK I.: A redescription of Cryptosporidium galli Pavlásek, 1999 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from birds. J.Parasitol. 89(4):809-813, 2003.

RYAN U.: PAPARINI A., MONIS P., HIJAWI N.: It´s official – Cryptosporidiumis a gregarine: What are the implications for the water industry? Water Research 105:305-313, 2016.

SLAVIN D.: Cryptosporidium meleagridis (sp.nov.), J.Comp.Pathol. 65:262-266, 1955.

THAM J.L., KNIESBERG S., D.I., DIXON B.R.: Cryptosporidiosis in quails. Av.Pathol. 11:619-626, 1982.

TRAMPEL D.W., PEPPER T.M., BLAGBURN B.L.: Urinary tract cryptosporidiosis in commercial laying hens. A.D. 44(2). 479-484, 2000.

TSAI S.S., HO L.F., CHANG C.F., CHU R.M.: Cryptosporidiosis in domestic birds. Chin. J.Microbiol. Immunol. 16:307-313, 1983.

TŮMOVÁ E., PAVLÁSEK I., SKŘIVAN M., LEDVINKA Z.: Vliv experimentální kryptosporidiové nákazy na užitkovost brojlerových kuřat. Czech J.Anim.Sci. 44:69-72, 1999.

TYZZER E.E.: A sporozoan found in the peptic glanc of the common mouse. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 5:12-13, 1907.

TYZZER E.E.: An extracellular coccidium Cryptosporidium muris (gen.te sp.nov.) of the gastrin glanc of the common mouse. J.Med.Res. 23:487-509, 1910.

TYZZER E.E.: Cryptosporidium parvum (sp.nov.) a coccidiumfound in the small intestine of the common mouse. Arch.Protistenkd. 26:394-412, 1912.

TYZZER E.E.: Coccidiosis in gallinaceous bird. Am.J.Hyg. 10: 269-383, 1929.

VETTERLING J.M., TAKEUCHI A., MADDEN P.A.: Ultrastucture of Cryptosporidium wrairi from guinea pig. J.Protozool. 18:248-260, 1971.

WANG R., JIAN F., SUN Y, HU Q., ZHU J., WANG E., NING C., ZHANG L., XIAO L.:

Large-scale surfy of Cryptosporidium spp. in Dickens and Peking ducks (Anas platyrhynchos) in Henan, China: prevalence and moleculart characterization. Avian Pathol 39(6):447-451, 1910.

WHITTINGTON R.J., WILSON J.M.: Cryptosporidiosis of teh respirátory tract in a pheasant. Austral.Vet.J. 62:284-285, 1985.

XIAO L., BERN C., LIMOR J., SULAIMAN I., ROBERTS J., CHECKLEY W., CABRERA L., GILMAN R.H., LAL A.A.: Identification of 5 types of Cryptosporidium parasites in children in Lima, Peru. J.Infect.Dis. 183:492-497, 2001.

XIAO L., RYAN U.M.: Cryptosporidiosis: an update in molecular epidemiology. Curr.Opion.Infect.Dis. 17:783-490, 2004.

ZHOU L., KASSA H., TISCHLER M.L., XIAO L.: Host-adapted Cryptosporidium spp. in Canada geese (Branta canadensis). Appl.Environ.Microbiol. 70:4211-4215, 2004.

.

Souhrn

Výskyt provků Cryptosporidium sp. představuje v chovech drůbeže velmi závažný problém; mimo jiné i z důvodu stále neexistujícího účinného antiparazitika, které by efektivně infekci tlumilo nebo likvidovalo. U drůbeže, případně volně žijících a exotických ptáků parazitují následující druhy kryptosporidií: C. meleagridis, C. baileyi, C. galli a C. galium. Zoonotický charakter má podle některých autorů C. meleagridis. Nákaza je doprovázena poruchami trávicího traktu s výskytem průjmů. Údajů o prevalenci a rozšíření těchto prvoků v našich chovech drůbeže není bohužel mnoho. Přitom je nám známo, že se v některých chovech u nás kryptosporidie vyskytují a jsou často diagnostikovány v období, kdy chovatelé zaznamenávají zvýšený počet úhynů. Na základě rozsáhlého studia výskytu a identifikace kryptosporidií v chovech drůbeže na území České republiky bylo zjištěno, že u kura domácího se v našich chovech vyskytují tři různé formy kryptosporidiové infekce: střevní (C. meleagridis), kloakální/bursální a respiratorní (C.baileyi) a nově i žaludeční forma (C.galli). V chovech brojlerových kuřat je nejrozšířenější C. baileyi. Tímto druhem jsou infikována 20 – 63denní kuřata, nejčastěji však ve věku 25 – 35 dnů. V případě, že v daném chovu je tento prvok diagnostikován, jsou jím většinou nakažena kuřata stoprocentně, přičemž nejrozšířenější je bursální a kloakální typ infekce, ojediněle i respiratorní. C. meleagridis se může sporadicky vyskytovat v některých chovech brojlerových kuřat během posledního týdne jejich výkrmu; rozšíření C. galli u kura domácího je prozatím zcela neznámé. Předložená studie je zaměřena na problematiku kryptosporidií u užitkové drůbeže, především slepic, ve venkovních systémech chovu a výsledky jsou dále porovnány se systémem klecového chovu a chovu na hluboké podestýlce. Její součástí jsou základní informace o současných poznatcích jejich životního cyklu, několik údajů a výsledků o výskytu prvoků u volně žijících ptáků u nás, předloženy jsou metodiky diagnostiky při spontánních nákazách a shrnutí vlastních výsledků z dosavadních parazitologických vyšetření. V období let 2015 – 2017 jsme v experimentech řešených pracovníky VÚŽV v Uhříněvsi poprvé u nás prostudovali dynamiku výskytu Cryptosporidium spp. u kuřat a slepic v různých technologických systémech jejich odchovu – na pastvě, v obohacených klecích, volných výbězích (pevný a travnatý) a na podestýlce. U slepic z volného chovu byla diagnostikována kryptosporidie C. baileyi u tří z pěti hodnocených genotypů (intenzita na + až ++ křížky). Extrémně vysoká, 100% prevalence C. baileyi, byla zjištěna u slepic v obohacených klecích, dále se vyskytovala C. meleagridis. Kryptosporidie byly diagnostikovány také u slepic chovaných na hluboké podestýlce. C. baileyi, s maximální prevalencí 82,0 u 39,5týdenních slepic; poměrně ojedinělé byly nálezy oocyst C. melagridis. Vůbec poprvé byla přítomnost oocyst C.baileyi prokázána v zaschlých exkrementech na povrchu skořápky snesených vajec u 1.skupiny slepic (obohacené klece, věk 32 týdny) a u 3.skupiny slepic (travnatý výběh, věk 39 týdnů).

Summary

The occurrence of Cryprosporidium sp. in poultry has still been considered a significant issue. Among other reasons, for the non-existent efficient anticoccidial agent. Four types of cocciia have been identified in poulty, wild and exotic birds: C. meleagridis, C. baileyi, C. galli a C. galium. In C. meleagridis, zoonotic character has been adressed by some authors. The infection is usually manifested as the digestive disorder with the presence of diarrhoea. In our country, the data on the prevalence of cryptosporidia are scarce. Following the extensive research on the isolation and identification of Cryptosporidium sp., we can summarise that there are three forms of cryptosporidioses in Gallus gallus f. domestica in Czech Republic: intestinal (C. meleagridis) cloacal/bursal and respiratory (C. baileyi) and newly also gastric form (C. galli). In broiler chicken, the highest prevalence was found in case of C. balieyi; the most frequently isolated in 25-35 days old chickens. The incidence is usually 100% in the flock, while the cloacal/ bursal form has been identified in most cases. C. meleagridis can occur in broiler chickens with lower frequency, usually during the last week of their fattening. The occurrence of C. galli has not been identified so far. The objective of this study was to summarize the current knowledge on the agent, its diagnostics in poultry, and the experimental part aims to identify and compare the occurrence of Cryptosporidium spp. in various rearing systems for laying hens. In free-range system, C. baileyi was identified in three, out of five genotypes (+ to ++ intensity). The extremelly high prevalence of C. balieyi was observed in enriched cages (100%), and lower prevalence of C. meleagridis was also observed in this system. In a litter-based housing system, C. balieyi was identified (82% in 35,5weeks old hens), rarely C. meleagridis oocysts were found. The study identified oocysts of C. baileyi in dry excrements on the egg surface of hens housed in both enriched cages (32 weeks) and free ranged hens (pasture, 39 weeks)for the first time.