Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra zoologie a rybářství

Výzkumný ústav živočišné výroby v. v. i.
Oddělení technologie a techniky chovu hospodářských zvířat

Postup helmintologické pitvy a postmortální detekce helmintů vyskytujících se u domácích přežvýkavců v České republice

Autoři:

Ing. Sylva Lanková
prof. Ing. Iva Langrová, CSc.
prof. Ing. Ivana Jankovská, Ph.D.
doc. Ing. Ivana Knížková, CSc.
doc. Ing. Petr Kunc, Ph.D.
doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, Ph.D.

Česká zemědělská univerzita v Praze

Výzkumný ústav živočišné výroby v. v. i. Praha Uhříněves

2018

Oponenti:

prof. MVDr. Daniela Lukešová, CSc.
Fakulta tropického zemědělství
Česká zemědělská univerzita v Praze

Ing. Jan Vodička
Odbor živočišných komodit
Ministerstvo zemědělství

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu č QJ1510038 s názvem:
„Využití rostlinných extraktů jako bioantiparazitik u hospodářských zvířat“

ISBN 978-80-7403-208-0

Ministerstvo zemědělství
Těšnov 65/17
110 00 Praha 1

v y d á v á

O S V Ě D Č E N Í

č. 17210/2018 – 6

o uznání metodiky v souladu s podmínkami Metodiky hodnocení výzkumných organizací a programů účelové podpory výzkumu, vývoje a inovací, schválené usnesením vlády dne 8. února 2017, číslo 107 a její samostatné přílohy č. 4 schválené usnesením vlády dne 29. listopadu 2017 č. 837.

Název metodiky: **Postup helmintologické pitvy a postmortální detekce helmintů vyskytujících se u domácích přežvýkavců v České republice**

Autoři: Ing. Sylva Lanková, prof. Ing. Iva Langrová, CSc., prof. Ing. Ivana Jankovská, Ph.D., doc. Ing. Ivana Knížková, CSc., doc. Ing. Petr Kunc, Ph.D., doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, Ph.D.

Názvy organizací: **Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Katedra zoologie a rybářství**
Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhříněves, Oddělení technologie a techniky chovu hospodářských zvířat

Místo vydání: **Praha**
Rok vydání: **2018**

Metodika byla vypracována v rámci výzkumného projektu č. **NAZV QJ1510038.**

Využívá projekt „*Pravidla pro odvětví zemědělství, lesnictví, rybolov*“? **ANO**

V případě, že projekt využívá „Pravidla pro odvětví zemědělství, lesnictví a rybolovu“, je výsledek typu N_{met} zdarma k dispozici všem zájemcům na webové stránce:
https://vuzv.cz/wp-content/uploads/2018/11/2018_Metodika-k-certifikaci_CZU_VUZV.pdf

V Praze dne 7. 12. 2018

Ministerstvo zemědělství České republiky -155-

.....
Razítko a podpis zástupce odborného útvaru státní správy

Jméno zástupce odborného útvaru státní správy: Ing. Jiří Hojer
Funkce zástupce odborného útvaru státní správy: ředitel Odboru živočišných komodit MZe

Souhlas ředitelky Odboru vědy, výzkumu a vzdělávání MZe:

V Praze dne 17 -12- 2018

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ Těšnov 65/17 110 00 Praha 1- Nové Město -33-

.....
Ing. Pavlína Adam, Ph.D.

Obsah

I. Cíl metodiky……...- 1 -

II. Vlastní popis metodiky ……..- 1 -

1. Současný stav - metodická část.....- 1 -

1.1 Helmintologická pitva - makroskopické vyšetření povrchu orgánů .....- 1 -

1.2 Helmintologická pitva - separace orgánů a postup pitvy .....- 1 -

1.2.1 Pitva slezu a střev.....- 2 -
1.2.2 Pitva jater .....- 4 -
1.2.3 Pitva respiračního traktu .....- 5 -
1.3 Fixace vzorků.....- 5 -

1.4 Skladování vzorků.....- 6 -

2 Významní helminti vyskytující se u domácích přežvýkavců na území České republiky..- 7 -

2.1 Hlístice (Nematoda) .....- 7 -

2.1.1 Hlístice lokalizované ve slezu.....- 7 -
2.1.2 Hlístice lokalizované ve střevech.....- 9 -
2.1.3 Systém pro určení intenzity parazitární gastroenteritidy .....- 12 -
2.1.4 Hlístice lokalizované v respiračním traktu.....- 13 -
2.1.5 Ostatní zástupci hlístic .....- 15 -
2.2 Tasemnice (Cestoda).....- 15 -

2.2.1 Adultní stádia tasemnic.....- 15 -
2.2.2 Larvální stádia tasemnic.....- 16 -
2.3 Motolice (Trematoda) .....- 16 -

III. Srovnání novosti postupů ……...- 18 -

IV. Popis uplatnění metodiky……....- 19 -

V. Ekonomické aspekty…….- 19 -

VI. Seznam použité související literatury……..- 21 -

VII. Seznam publikací, které předcházely metodice ……..- 24 -

VIII. Dedikace ……..- 27 -

I. Cíl metodiky

Infekce způsobené endoparazity mají u domácích přežvýkavců negativní vliv na jejich kondici, schopnost reprodukce a tím i na celkovou užitkovost. V některých případech jsou letálního charakteru a způsobují ekonomické ztráty farmářům. K tomu, aby mohlo být tlumení helmintóz smysluplně řešeno, ať už formou efektivních preventivních opatření či korektních terapeutických postupů, je nezbytné dokázat jednotlivé druhy parazitů v jejich hostitelích nalézt. Jednou z diagnostických metod, sloužících k detekci adultních helmintů či jejich vývojových stádií, je helmintologická pitva uhynulých či poražených zvířat a jejich orgánových soustav.

Cílem metodiky je popsat efektivní postupy, pomocí nichž lze u kadáverů nebo poražených zvířat parazity nalézt a manipulovat s nimi tak, aby bylo možné je využít nejen ke správné postmortální diagnostice, ale i k dalším analýzám, jež napomáhají ke zvýšení efektivity preventivních programů, terapeutických metod a celkové snaze výskyt parazitů snížit na subklinickou úroveň.

II. Vlastní popis metodiky

1. Současný stav - metodická část

Helmintologická pitva slouží k přesné postmortální diagnostice parazitárních onemocnění a zároveň ke stanovení intenzity infekce vyvolané jednotlivými druhy helmintů. U uhynulých / poražených zvířat se zjišťují dospělí helminti v orgánech a tkáních jejich obvyklé lokalizace (SVÚ Praha, 2018).

1.1 Helmintologická pitva - makroskopické vyšetření povrchu orgánů

Pitva je zahájena vyjmutím všech orgánových soustav a důkladným makroskopickým ohledáním povrchu orgánů. Pozornost věnujeme povrchovému výskytu uzlíků, cyst, hypertrofickým a krvácivým ložiskům sliznic.

1.2 Helmintologická pitva - separace orgánů a postup pitvy

Před vlastním detailním rozborem musíme jednotlivé orgány a jejich segmenty od sebe oddělit. Aby nedošlo během separace orgánů k vytečení jejich obsahu, provedou se ligatury počátečních i koncových meziorgánových úseků pomocí provázku či peánu (obrázek č. 1).

Provedeme ligaturu konce jednoho úseku, posuneme prsty obsah a cca po 2 cm provedeme druhou ligaturu. Mezi nimi tkáň přestřihneme, čímž se zabrání vytečení obsahu při následné manipulaci. Tračníky tlustého střeva opatrně odpreparujeme od společného okruží, kyčelníku, slepého střeva a

Obr. 1: Trávicí trakt kozy bezoárové připravený k helmintologické pitvě (foto: kolektiv autorů)

konečníku. Každou separovanou část traktu a jednotlivé orgány umístíme do čisté samostatné nádoby a řádně popíšeme.

Pitva slezu a střev

Slez rozstřihneme podél velkého zakřivení, aby jeho obsah spadal na podložní tác (obrázek č. 2) a následně vymýváme vodou či fyziologickým roztokem, který je pro některé druhy hlístic šetrnější. Získaný obsah přelijeme z tácu do nádoby. Sliznici slezu vložíme do připravených misek naplněných fyziologickým roztokem. Misky vložíme na 24 hodin do inkubátoru nastaveného na teplotu 28 °C. Během tohoto procesu dojde k uvolnění všech larev v histotropní fázi vývoje

Obr. 2: Rozstřižení slezu kozy bezoárové (foto: kolektiv autorů)

(hypobióze), které jsou lokalizované ve vnější vrstvě sliznice orgánu. Hypobiózou označujeme zpomalení a inhibici vývoje náležícího k základním epizootologickým jevům ovlivňujícím výskyt a šíření hlístic. Jde o běžný fenomén zejména u hlístic čeledí Trichostrongylidae, Strongylidae a Chabertiidae. Mnoha experimenty s velkým druhovým spektrem parazitů bylo zjištěno, že jde o geneticky podmíněnou vlastnost, kdy určitá část populace hlístic překonává nepříznivé podmínky vnějšího prostředí, zůstane v určitém stádiu endogenního vývoje ve střevní stěně a nepřijímá potravu (Langrová et Jankovská, 2004).

Po 24 hodinách misky vyjmeme a získanou „natrávenou“ sliznici orgánu fixujeme (viz kapitola fixace vzorků). Vzorek je připraven k mikroskopické analýze.

Tenké střevo (*intestinum tenue*) začíná dvanáctníkem (*duodenum*), za nímž pokračuje lačník (*jejunum*). Název vychází ze skutečnosti, že tuto část nacházíme při pitvě prázdnou či jen málo naplněnou řídkou tráveninou. Jde o nejdelší úsek tenkého střeva a vytváří husté kličky. Hranici mezi lačníkem a koncovou částí tenkého střeva, kyčelníkem (*ileum*), tvoří začátek řasy poutající kyčelník ke slepému střevu (obrázek č. 3). Kyčelník je nejkratším úsekem a nevytváří kličky.

Obr. 3: Separované slepé střevo jelena evropského po odstranění ligatury (foto: kolektiv autorů)

Tenké střevo podélně rozstřihneme. Střevní sliznici obrátíme, propláchneme nad nádobou se střevním obsahem a důkladně prohlédneme. Nalezneme-li zástupce tasemnic, opatrně vyjmeme a každého detekovaného jedince samostatně fixujeme (viz kapitola fixace vzorků). Střevní obsah v nádobách naředíme, promícháme a promýváme přes síta, nejprve s velikostí ok 0,5 mm a následně

0,125 mm. Obsah v sítech promýváme pod tekoucí vodou, poté přemístíme do kónických nádob a necháme několik hodin dekantovat. Supernatant odsajeme a sediment fixujeme (viz kapitola fixace vzorků). Takto zpracovaný vzorek je připraven k mikroskopickému vyšetření. Do připravených misek naplněných fyziologickým roztokem umístíme tenké střevo vnitřní výstelkou směrem dolů a vložíme do inkubátoru nastaveného na teplotu 28 °C. Opět dojde k uvolnění larev lokalizovaných ve sliznici. Po 24 hodinách vyjmeme, sliznici protáhneme přes prsty a tento obsah opět fixujeme (viz kapitola fixace vzorků). Takto je vzorek připraven k mikroskopické analýze. Tračníky tlustého střeva rozstřihneme, pečlivě prohlédneme, nalezené hlístice vyjmeme a každého zástupce jednotlivě fixujeme. Stejně postupujeme u slepého střeva.

1.2.1 Pitva jater

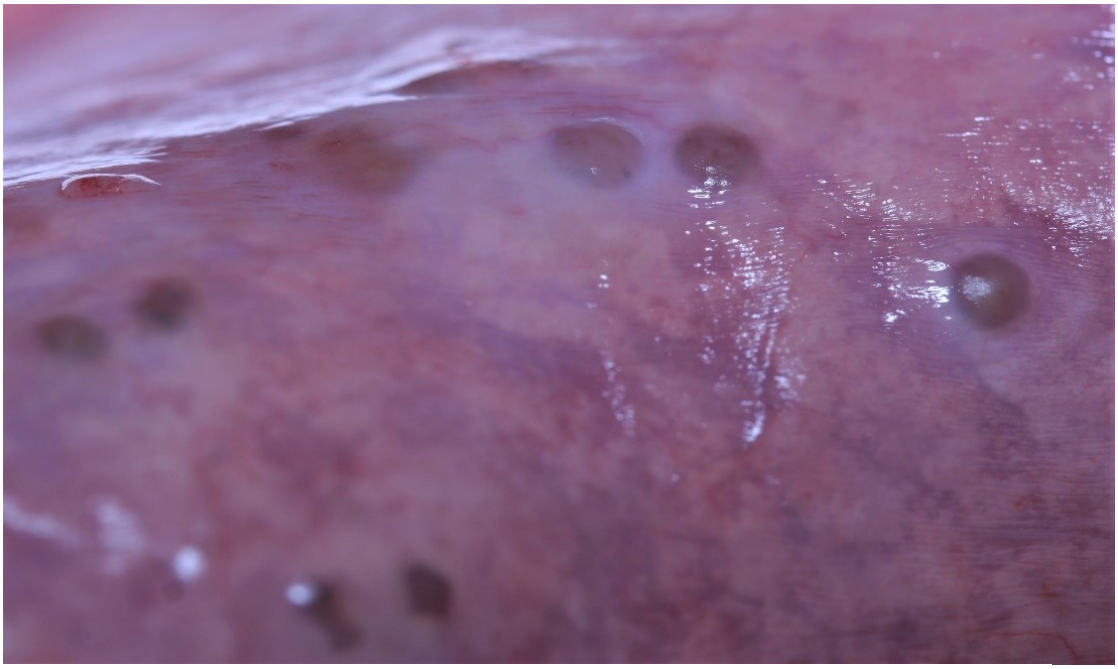
Povrch a barvu jater prohlédneme. Jaterní parenchym rozdělíme na malé segmenty (obrázek č. 4), které následně důkladně promýváme. Nalezené parazity vyjmeme a fixujeme ve vhodném

fixačním činidle. Detekovat můžeme motolici jaterní (*Fasciola hepatica*), motolici obrovskou (*Fascioloides magna*) a motolici kopinatou (*Dicrocoelium dendriticum*). Nalézt můžeme i larvocysty tasemnic (Cestoda), především cysticerky *Cysticercus tenuicollis* druhu *Taenia hydatigena* a *Cysticercus cervi* (*Taenia cervi*), stejně jako hydatidy měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*).

Obr. 4: Revize jaterního parenchymu kozy bezoárové (foto: kolektiv autorů)

1.2.2 Pitva respiračního traktu

Dýchací orgány ovcí a koz mohou být napadeny hlísticemi čeledí Protostrongylidae a Dictyocaulidae. Subpleurální povrch plic i parenchym, bronchy a tracheu nejprve důkladně prohlédneme a pak kompresí vyšetříme noduly (obrázek č. 5), jež jsou typické pro infekce vyvolané malými plicnivkami. Parenchym plic po rozdělení na menší úseky opět důkladně promyjeme. Nalezené hlístice vyjmeme a fixujeme ve vhodném fixačním činidle.



Obr. 5: Noduly na plicích kozy infikované muelleriózou (foto: kolektiv autorů)

1.3 Fixace vzorků

Samotné fixaci má vždy předcházet důkladné promytí fixovaného organismu, ideálně ve fyziologickém roztoku s cílem odstranění nečistot a obsahu gastrointestinálního traktu hostitele, udržujících se na povrchu těla helmintů či v jejich dutinách (ústní kapsula, burza aj.) Na místě je vysoká opatrnost, aby během promývání nedošlo k mechanickému poškození a znehodnocení získaného materiálu.

Cílem fixace vzorků je eliminace / oddálení autolytických tkáňových procesů. Existuje mnoho fixačních činidel i metod a vždy je potřeba zvolit taková, která nevylučují následné použití vzorku pro budoucí plánované analýzy. V parazitologii se obvykle používají chemická fixační činidla.

Jelikož se získaný materiál čím dál častěji využívá k molekulárním analýzám, je velmi důležité, aby metody sběru, preparace a uchovávání biologického materiálu byly maximálně šetrné k DNA a materiál tak mohl ke studiu sloužit v současnosti i budoucnosti (Carter, 1999).

Nástroje, jimiž odebíráme vzorky (skalpely, pinzety apod.) je nutné dekontaminovat od cizorodé DNA ideálně vyžíháním nad plamenem (Holec et al., 2015).

Vhodným fixativem hlístic je 70% – 96% CH_3CH_2OH p.a. (EtOH, etanol). Nikdy se nesmí použít denaturovaný etanol, neboť aditiva používaná k denaturaci degradují DNA. Další možností je hluboké zmrazení (Holec et al., 2015). Pro následnou morfologickou determinaci motolic a zejména tasemnic je vhodným fixačním činidlem horký 4% formalín.

Vzorky, u nichž se předpokládá následné provedení molekulárních analýz, není vhodné fixovat formalínem. Ten způsobuje hydrolýzu N-glykosidické vazby, čímž dochází k uvolňování dusíkatých bází z molekul DNA a hydrolýzu fosfodiesterové vazby vedoucí k následné fragmentaci DNA, což může výrazně komplikovat až znemožnit amplifikaci genu při využití metody PCR (Srinivasan et al., 2002; Howat et Wilson, 2014). Formalín (obvykle 4%) se užívá především pro fixaci vzorků určených k morfologickému studiu.

Ze sedimentu získaného z jednotlivých částí gastrointestinálního traktu hlístice vybereme, očistíme a následně fixujeme etanolem (EtOH) v kvalitě *pro analysi* (p.a.). Makroskopicky detekované helminty uchováváme v uzavřených nádobkách ve vhodném fixačním činidlu (viz výše). Je-li plánováno provedení molekulárních analýz, ukládáme a fixujeme vzorky jednotlivě, tedy do každé nádobky pouze jednoho zástupce. Důvodem je zamezení vzájemné kontaminace vzorků, která by mohla zapříčinit nepřesnosti molekulárních analýz.

1.4 Skladování vzorků

Nádoby s fixovaným sedimentem popíšeme: číslo vzorku, hostitelský druh, specifikovaná část traktu, z něhož byl materiál získán, název a koncentrace konzervačního činidla (např.: č. 258, jelen sika, tenké střevo, 70% EtOH). Označené nádoby vložíme do popsaného boxu (druh hostitele a jeho identifikační číslo) a uložíme ve skladovacích prostorech, ideálně v temnu a chladu.

Nádobky obsahující jednotlivé zástupce nalezených helmintů skladujeme zásadně v temnu (UV záření poškozuje DNA). Vzorky v mikrozkumavkách (např. typ Eppendorf 1,5 ml) lze skladovat v širokém teplotním rozpětí od -80 °C až po pokojovou teplotu nepřekračující + 30 °C. I z dobře těsnících zkumavek však dochází k neustálému odparu, proto platí, že čím nižší teplota, tím lépe, neboť se rychlost odparu zpomaluje. Nezbytné je vzorky pravidelně kontrolovat a případné úbytky etanolu doplňovat (Holec et al., 2015).

2 Významní helminti vyskytující se u domácích přežvýkavců na území České republiky

2.1 Hlístice (Nematoda)

Hlístice vyskytující se v gastrointestinálním traktu přežvýkavců jsou druhově nejpočetnější skupinou hlístic a parazitická gastroenteritida je jednou z hlavních příčin ztráty produktivity u ovcí a koz (Torina et al., 2004). Nejvíce jsou postižena mláďata, jedinci s poruchou imunity, v rekonvalescenci a zvířata vystavená stresu (Elsheikha et Khan, 2011). Mezi nejzávažnější endoparazity hospodářských zvířat způsobující ročně vysoké ekonomické ztráty patří hlístice čeledi Trichostrongylidae.

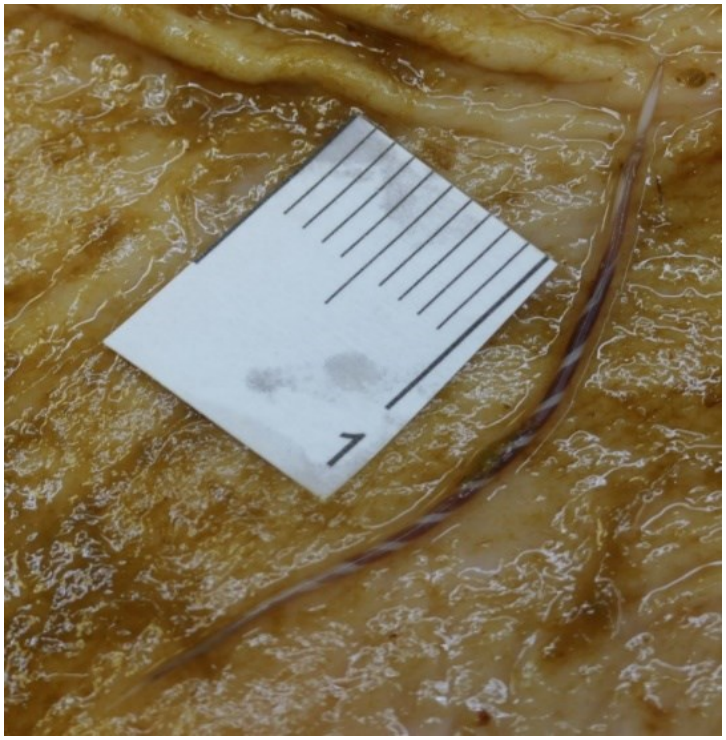
2.1.1 Hlístice lokalizované ve slezu

Je na místě zmínit dva velmi patogenní zástupce rodu *Haemonchus*. Hematofágní vlasovku slezovou (*Haemonchus contortus*) ♀ 20 – 27 mm, ♂ 10 – 17 mm, infikující sliznici slezu ovcí (*Ovis aries*) i dalších přežvýkavců a *Haemonchus placei* (♀ 20 – 30 mm, ♂ 10 – 22 mm), parazitující u skotu (*Bos taurus*) i jiných druhů přežvýkavců včetně ovcí. *H. contortus* se původně z antilop v Africe rozšířil do celého světa, kde infikuje domácí i divoce žijící přežvýkavce.

Napadená zvířata jsou skleslá, omezují až odmítají příjem předkládaného krmiva, což vede k hubnutí, snížení produkce mléka i vlny. Pozorujeme otoky tělních dutin, hypertrofii lymfatických uzlin a bledost sliznic svědčící o anémii. Primárním mechanismem patogeneze je poranění žaludeční mukózy při sání krve hostitele. Důsledkem jsou morfologické i fyziologické změny organismu hostitele, nejčastěji ve slezu. Dochází ke vzniku anémie a zhoršení trávicích a absorpčních schopností. Vyšetření krve prokáže eosinofilii, pokles hodnot hemoglobinu a hematokritu, což je zapříčiněno hemoragií a rozkladem erytrocytů. Prokázání výskytu dospělého parazita je možné pouze helmintologickou pitvou (Kauffmann, 1996; Angulo - Cubilán et al., 2007; Vadlejch et al., 2014; Taylor et al., 2016).

Jedním z patofyziologických indikátorů určených pro diagnostiku anémie u ovcí a koz přímo na farmách s vysokou prevalencí hematofágních hlístic, zejména *H. contortus*, je systém FAMACHA ©, jehož název je odvozen od jména autora Dr. Faffa Malan (FAffa MAlan CHArt). Systém je založen na porovnání zbarvení oční sliznice se standardizovanou sadou pěti barev, které odpovídají rozdílným hodnotám hematokritu. Dle této metody jsou cíleně léčena zvířata vykazující těžké známky anémie s hodnotou skóre tři až pět (Bath et Wyk, 2009; Rinaldi et Cringoli, 2012; Cintra et al., 2018).

Významným druhem je hematofágní hlístice *Ashworthius sidemi* (♀ 34 – 44 mm, ♂ 24 – 26 mm), primárně parazitující v gastrointestinálního traktu asijských jelenovitých, zejména jelenů sika (*Cervus nippon*). Spolu s nimi byl tento parazit (obrázek č. 6) introdukován na území Ukrajiny, Slovenska, Polska, Francie i České republiky. Obvyklé jsou infekce u zubra (*Bison bonasus*), největšího evropského býložravce, který byl v Polsku v roce 1998 uznán jako nový hostitel této nepůvodní, invazivní hlístice, jejíž prevalence se od té doby zvýšila nejen u zubrů, ale i u dalších divokých přežvýkavců. Je však možná i nákaza hospodářských zvířat, zejména skotu a ovcí, využívajících pastviny společně se zvěří.



Obr. 6: Hematofágní hlístice *A. sidemi* na sliznici slezu srnce obecného (foto: kolektiv autorů)

Z tohoto důvodu lze pozorovat histopatologické změny, zejména otoky a překrvení na stěně slezu a duodena způsobené silnou parazitární infekcí nejen u divokých přežvýkavců, ale i u hospodářských zvířat. U jedinců čeledi Cervidae se obvykle nevyskytuje více než několik set těchto krev sajících hlístic a nedochází k významným patologickým změnám. Naopak u zubrů infekce dosahuje až několika desítek tisíc hlístic, což již může způsobovat záněty gastrointestinálního traktu, chronické průjmy, kachexii a zhoršení krevních parametrů, především pokles erytrocytů, hemoglobinu, hematokritu a retikulocytózu. Infekce mladých zvířat může být letální (Osińska et al., 2010; Demiaszkiewicz et al., 2013; Moskwa et al., 2014; Kołodziej-Sobocińska et al., 2016; Demiaszkiewicz et al., 2017; Vadlejch et al., 2017).

Ostertagia ostertagi (♀ 8 – 11 mm ♂ 6 – 8 mm) infikuje skot, přežvýkavou spárkatou zvěř a příležitostně kozy. Silné infekce (≥ 40 tisíc adultních hlístic v organismu) vedou k rozsáhlým

patologickým a biochemickým změnám, zejména vzestupu pH žaludečních šťáv až na hodnotu 7, což vede k deaktivaci procesu přeměny pepsinogenu na pepsin a poruchám metabolismu proteinů. Zároveň dochází ke ztrátě bakteriostatického účinku sliznice slezu.

Ostertagióza skotu se vyskytuje ve dvou formách:

1. u telat během první pastevní sezóny v letních měsících. Není-li zahájena vhodná anthelmintická terapie, dosahuje mortalita více než 75 %.
2. na podzim a v zimě po ukončení první pastevní sezóny. U této formy bývá postižena jen část stáda. Dochází k hypoalbuminémii, submandibulárním otokům a bez zahájení terapie stoupá mortalita infikovaných kusů.

Hlavním klinickým příznakem u obou typů onemocnění je vodnatý průjem, v případě onemocnění 1. typu u telat, která se pásla, má průjem zelenou barvu. Dále anorexie, žíznivost a úbytek hmotnosti až o 20 % během 7 – 10 dnů. Makroskopicky při pitvě kadáveru pozorujeme zvětšené regionální lymfatické uzliny, sliznice slezu je zbytnělá, pokrytá nekrotickými lézemi a jeví známky deskvamace (Taylor et al., 2016).

Trichostrongylus axei (♀ 4 – 8 mm, ♂ 3 – 6 mm) parazituje u domácích i divokých přežvýkavců. Při silných infekcích je povrch sliznice slezu pokryt šedobílými lézemi o průměru až 2 cm, majícími kruhovitý tvar a vystupujícími nad povrch sliznice. Patologické změny vyvolané těmito hlísticemi jsou podobné jako u ostertagiózy, včetně zvýšené hodnoty pH, zvýšené permeability sliznice vedoucí k vzestupu koncentrace pepsinogenu a k hypoalbuminémii. Při slabých infekcích trpí zvířata nechutenstvím, zaostávají v růstu a výkaly jsou měkké konzistence. Závažné infekce jsou doprovázeny rychlým úbytkem hmotnosti a silným průjmem.

2.1.2 Hlístice lokalizované ve střevech

V tenkém, tlustém a slepém střevě domácích přežvýkavců lze detekovat široké spektrum hlístic. Nejvýznamnější zástupci, včetně jejich patologického působení na střeva a klinického obrazu infikovaných zvířat, jsou uvedeni v tabulce č. 1.

Tabulka 1: Klinický obraz a patologie infekcí způsobených hlísticemi s lokalizací ve střevech
(Demiaszkiewicz et al., 2012; Bowman et al., 2014; Vadlejch, 2015; Taylor et al., 2016)

druh	lokalizace	klinický obraz	patologie
Cooperia curticei ♀ 6,0 – 8,0 mm ♂ 4,5 – 6,0 mm	tenké střevo	anorexie, poruchy trávení, opožděný růst	nepenetrují do střevního epitelu, ale stáčí se kolem klků → atrofie
Nematodirus battus ♀ 15 – 25 mm ♂ 11 – 16 mm	tenké střevo	akutní enteritida, žlutavě zelený průjem, dehydratace, žíznivost, u neléčených zvířat vysoká mortalita. Koinfekce s patogenními druhy kokcídií → zhoršení stavu	narušení sliznice ilea následkem požití velkého množství L3 larev, vývoj L4 a L5 je provázen erozí a atrofií střevní sliznice. Sliznice je pokryta hlenem, přítomnost navzájem propletených hlístic (podobné chomáči vaty)
Nematodirus filicollis ♀ 15 – 25 mm ♂ 15 – 24 mm	tenké střevo	průjmy a dehydratace juvenilních zvířat	L3 larvy penetrují hluboko do střevní sliznice, L4 a L5 larvy vyčnívají kaudálními konci do lumen střeva. Velké množství hlístic → atrofie.
Nematodirus spathiger ♀ 15 – 25 mm ♂ 10 – 15 mm	tenké střevo	viz infekce *N. filicollis*	viz infekce *N. filicollis*
Trichostrongylus colubriformis ♀ 5,5 – 7,5 mm ♂ 4,0 – 5,5 mm	tenké střevo	tmavé průjmy, hypoproteinémie, hypoalbuminémie, poruchy metabolismu Ca, P → osteoporóza a osteomalacie; úbytek hmotnosti může mít letální charakter	larvy penetrují střevní sliznici – výrazné léze, hemoragie, edém (zejména v oblasti duodena), velké množství hlenu
Trichostrongylus vitrinus ♀ 4 – 6 mm ♂ 5 – 8 mm	tenké střevo	průjmy, úbytek hmotnosti, poruchy metabolismu proteinů a minerálů (viz infekce *T. colubriformis*)	méně rozsáhlé léze střevní sliznice než u infekce *T. colubriformis;* mělké, zarudlé, stlačené oblasti tvaru „otisku prstu“, přítomnost hlístic přichycených na sliznici
Bunostomum trigonocephalum ♀ ♂ 10 – 30 mm	tenké střevo	100 – 500 hlístic u jedince → anémie, hypoalbuminémie, edémy (submandibulární), vyčerpání, anorexie, úbytek hmotnosti, příležitostně tmavé průjmy, suchá kůže 600 hlístic → riziko kolapsu až úhynu ovcí	ascites; edém střevní sliznice, velké množství hlenu, léze a hemoragie způsobené ústní kapsulou - často nález dosud přichycených hlístů na sliznici nebo volně ve střevním lumen

Chabertia ovina ♀ ♂ 13 – 20 mm	tlusté střevo	> 300 hlístic u jedince → průjem s příměsí krve, hlenu i hlístic, anémie, hypoalbuminémie, úbytek hmotnosti	zánětlivé edematózní změny střev způsobené mechanickým poškozením zuby hlístic při přisátí ke sliznici, zesílení stěny střeva, hemoragie
Oesophagostomum columbianum ♀ 15 – 22 mm ♂ 12 – 17 mm	tlusté střevo	průjem tmavě zeleného zbarvení, rychlý úbytek hmotnosti, vyčerpání, anémie, u mladých zvířat letální charakter	střevní sliznice zesílená, pokrytá hlenem obsahujícím hlístice, výskyt nodulů 0,5 – 3 cm obsahujících larvy
Oesophagostomum radiatum ♀ 16 – 22 mm ♂ 12 – 17 mm	tlusté střevo	vysoká míra infekce ≥ 200 hlístic u telat a ≥ 1000 u dospělého skotu → anémie, hypoalbuminémie, průjmy	zánětlivé změny střeva, výskyt nodulů až 0,5 cm, hemoragie
Trichuris ovis ♀ 35 – 70 mm ♂ 50 – 80 mm	tlusté/slepé střevo	průjem (někdy krvavý), anorexie, slabost, úbytek hmotnosti, anémie	silná infekce – zánětlivé změny tlustého / slepého střeva, sliznice pokryta hlenem, hemoragie
Trichuris globulosa ♀ 40 – 60 mm ♂ 40 – 70 mm	tlusté/slepé střevo	velké množství hlístic může vést k zánětu sliznice slepého střeva	při silných infekcích zánět tlustého střeva, ulcerace, hemoragie

2.1.3 Systém pro určení intenzity parazitární gastroenteritidy

V případě podezření na parazitární gastroenteritidu jako příčinu úhynu ve stádě se doporučuje provést postmortální vyšetření alespoň u dvou či třech zvířat. Jelikož definitivní diagnózu parazitární gastroenteritidy nám poskytuje počet nalezených hlístic, byl vyvinut systém jako nástroj pro interpretaci počtu hlístic u ovcí (tabulka č. 2) a skotu (tabulka č. 3) ve vztahu k intenzitě infekce. Uváděné počty hlístic vyskytujících se v organismu infikovaných zvířat mají v tabulkách informativní charakter, v individuálních případech se počty hlístic ve vztahu k rozvoji infekce mohou lišit. Za každý v tabulce uvedený počet hlístic je přiřazen jeden bod. U dospělých ovcí lze v případě dvou bodů předpokládat ztrátu produktivity, ale rozvoj klinických příznaků a úmrtí lze očekávat až při infekci odpovídající třem bodům. Je důležité si uvědomit, že u některých druhů hlístic, např. *Nematodirus battus*, vykazují larvální stádia mnohem vyšší patogenitu než adultní hlístice (Taylor, 2010; Abbott et al., 2012).

Tabulka 2: Bodový systém využívaný u ovcí podle Abbott et al.(2012)

Teladorsagia spp.	3000 hlístic u infikovaného jedince	1 bod
Trichostrongylus spp.	4000 hlístic u infikovaného jedince	1 bod
Haemonchus contortus	500 hlístic u infikovaného jedince	1 bod
Nematodirus spp.	4000 hlístic u infikovaného jedince	1 bod
larvální stádia	4000 hlístic u infikovaného jedince	1 bod

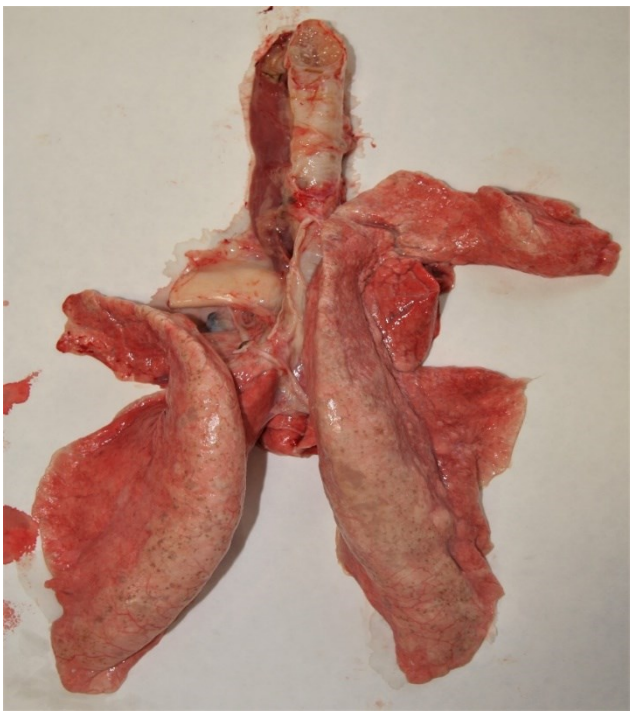
Tabulka 3: Systém využívaný u skotu - počty jednotlivých hlístic vyvolávající konkrétní typ infekce (Taylor, 2010)

	odhadovaný počet hlístic		
	lehká infekce	střední infekce	silná infekce
celkově ve slezu	< 1000	5000	> 10000
Ostertagia ostertagi	< 1000	1000 - 2000	> 2000
Trichostrongylus axei	1 - 10000	10000 - 30000	> 30000
Haemonchus placei	1 - 500	500 - 1000	> 5000
celkově v tenkém střevě	< 5000	15000	> 30000
Trichostrongylus spp.	< 5000	5000 - 20000	> 20000
Cooperia spp.	1 - 5000	5000 - 10000	> 10000
Bunostomum phlebotomum	1 - 50	50 - 200	> 200
Oesophagostomum spp. (tlusté střevo)	1 - 100	100 - 1000	> 1000

2.1.4 Hlístice lokalizované v respiračním traktu

Tyto hlístice - plicnivky - patří spolu s hlísticemi gastrointestinálního traktu celosvětově mezi nejčastější parazity ovcí a koz. U malých přežvýkavců vyvolávají onemocnění, která souhrnně nazýváme verminózní pneumonie. Onemocnění způsobená jednotlivými druhy plicnivek se v mnoha ohledech liší, je proto vhodné používat v konkrétních případech specifické názvy, jež odpovídají původci onemocnění: diktyokaulóza (*Dictyocaulus* sp.), muellerióza (*Muellerius* sp.), protostrongylóza (*Protostrongylus* sp.) atd. V České republice vlivem mírného klimatu, kvalitní výživy a dobré úrovně veterinární péče nepatří verminózní pneumonie k onemocněním vážně ohrožujícím zdraví malých přežvýkavců. Negativní dopad na zdravotní stav a produkci však mají časté koinfekce jinými parazity, především gastrointestinálními hlísticemi (Vadlejch et Kyriánová, 2017).

Malé plicnivky čeledi Protostrongylidae jsou hlístice s nepřímým vývojovým cyklem (biohelminti), vyžadující pro svůj vývoj mezihostitele. V České republice byly zaznamenány druhy *Protostrongylus rufescens* (♀ až 65 mm, ♂ až 45 mm) vyvolávající onemocnění nazývané protostrongylóza a *Muellerius capillaris* (♀ 19 - 35 mm, ♂ 12 - 24 mm) způsobující muellerióza (obrázek č. 7) Vadlejch et Kyriánová (2017).



Obr. 7: Část respiračního traktu kozy infikované muellerióza (foto: kolektiv autorů)

Mezi malé plicnivky se řadí i druhy *Cystocaulus ocreatus* (♀ až 90 mm, ♂ až 50 mm), *Varestrongylus schulzi* (♀ 22 - 25 mm, ♂ 12 - 15 mm) a *Neostrongylus linearis* (♀ 13 - 15 mm, ♂ 5 - 8 mm) Taylor et al. (2016). Velké plicnivky čeledi Dictyocaulidae mají přímý vývoj

bez mezihostitele (geohelminti). U ovcí a koz v České republice byl detekován druh *Dictyocaulus filaria* (♀ 60 - 100 mm, ♂ 40 - 80 mm), avšak s podstatně nižší prevalencí než u malých plicnivek. Jelikož v hostiteli proniká během endogenního vývoje do rozsáhlé části respiračního ústrojí, kde iniciuje zánětlivou reakci, patří *D. filaria* potenciálně k nejvíce patogenním druhům plicnivek ovcí a koz. Silná diktyokaulóza důsledkem kumulace hlístic a hlenu v bronších vede k pulmonální insuficienci až kolapsu plic (Vadlejch et Kyriánová, 2017). K infekci jsou vnímavější kozy, ovce se infikují při společné pastvě. Infekce vedou k bronchitidě, v případě koinfekce gastrointestinální trichostrongylózou nebo fasciolózou se přidává průjem i anémie. Velcí přežvýkavci mohou být infikováni druhem *Dictyocaulus viviparus* (♀ 60 - 80 mm, ♂ 40 - 55 mm) (Taylor et al., 2016).

Tabulka 4: Klinický obraz a patologie infekcí způsobených hlísticemi s lokalizací v respiračním traktu (Taylor et al., 2016; Vadlejch et Kyriánová, 2017; Kyriánová et al., 2018)

druh	lokalizace	patologie	klinický obraz
Dictyocaulus filaria	bronchy, trachea	bronchiolitis, bronchitis, pneumonie, hyperplazie respiračního epitelu	kašel, dyspnoe, tachypnoe, výtok z nozder. Koinfekce gastrointestinální trichostrongylózou / fasciolózou → průjem a anémie
Protostrongylus rufescens	bronchioly, plíce	zánětlivé změny; deskvamace alveolárního a bronchiálního epitelu + neprůchodnost okolních cév + proliferace pojivové tkáně → šedavě žluté léze kuželovitého tvaru obvykle na kaudálních plicních lalocích. Intenzita infekce je přímo úměrná množství nodulů vystupujících z plicního povrchu, ty jsou velikostí, tvarem i palpačně odlišné od lézí způsobených muelleriózou.	průběh obvykle asymptomatický, neléčená zvířata dlouhodobě kontaminují prostředí larvami

Muellerius capillaris	plicní povrch (s rostoucí intenzitou infekce hlouběji v parenchymu)	kulovité, postupně kalcifikující noduly ≤ 2 mm obsahují larvy, adultní hlístice, exsudát i buněčnou drť; Intenzita infekce je přímo úměrná množství a lokalizaci nodulů (slabá infekce - kaudální laloky, silná infekce - i ostatní laloky).	kašel, dyspnoe, imunodeficience, pokles produkce. Starší kozy silnější infekce = klinické příznaky častěji než u mladých jedinců

Patologie a klinický obraz infikovaných zvířat jsou shrnuty v tabulce č. 4.

2.1.5 Ostatní zástupci hlístic

V České republice byl u přežvýkavé spárkaté zvěře prokázán výskyt hlístic *Setaria cervi* a *Setaria tundra* dosahujících délky až 15 cm a vyskytují se volně v peritoneální dutině, na povrchu střev, mezenteria, na peritoneální stěně, plicích, játrech, srdci, močovém měchýři, děloze, na povázce i v podkožním vazivu (Davoodi, 2014; Sundar et D´Souza, 2015). Masivní infekce adultními hlísticemi může způsobit chronický zánět gastrointestinálního traktu vedoucí k hubnutí, celkové sešlosti a slabosti postiženého jedince (Nikander et al., 2007; Demiaszkiewicz et al., 2015).

Infekční larvy (mikrofilárie) mohou být dvoukřídlým hmyzem (komáři, muchničky) přenášeny i na nepřirozené hostitele jako jsou ovce a kozy, u nichž často migrují do centrálního nervového systému a vedou k závažným a mnohdy fatálním neuropatologickým poruchám známým jako epizootická cerebrospinální setarióza a mozkomíšní nematodóza (Anderson, 2000; Tung et al., 2003; Bazargani et al., 2008; Sundar et D´Souza, 2013; Singh et al., 2015).

2.2 Tasemnice (Cestoda)

Mezi časté endoparazity ovcí v České republice i ve světě patří také tasemnice čeledi Anoplocephalidae, rodu *Moniezia* (Truněčková et al., 2013). Prokázány byly rovněž u losa evropského (*Alces alces*) a soba polárního (*Rangifer tarandus*) čeledi Cervidae (Haukisalmi et al., 2018).

2.2.1 Adultní stádia tasemnic

Dospělé zástupce tasemnic nacházíme během pitvy v tenkém střevě hostitele. V Evropě se u ovcí a koz nejhojněji vyskytuje tasemnice ovčí *Moniezia expansa* a u skotu *Moniezia benedeni,* dosahující délky 200 cm i více. Vývojový cyklus těchto tasemnic probíhá přes mezihostitele, kterými jsou půdní roztoči z čeledi Oribatidae. Tasemnice svým hostitelům odebírají živiny, což vede k jejich oslabení. Přísavkami a háčky traumatizují sliznici střeva. U

mláďat vedou ke zpomalení růstu, vyvolávají průjmy, často krvavé, náhlé hubnutí, křeče a střevní obstrukce. Sekundárně vedou k porušení střevní bariéry, rozvoji bakteriálních infekcí (enterotoxémie ovcí) a v ojedinělých případech až k úhynům. Slabá infekce probíhá obvykle asymptomaticky, masivní infekce však mohou způsobit střevní obstrukci i výše zmíněné symptomy (Truněčková et al., 2013; Taylor et al., 2016).

2.2.2 Larvální stádia tasemnic

Dospělé tasemnice se vyskytují pouze ve střevě, jejich vývojová stádia však lze nalézt i v jiných orgánech. V tom spočívá jejich nebezpečí zejména pro mezihostitele. Vyvolávají onemocnění cysticerkózu. Larvocysty tasemnic, především cysticerky c*ysticercus tenuicollis* druhu *Taenia hydatigena* se lokalizují u malých i velkých přežvýkavců v dutině břišní, obvykle na mesenteriu a v játrech, kde pozorujeme hemoragické léze. Výskyt je možný i v jiných orgánech. Larvocysta je zavěšena na různě dlouhé stopce, dosahuje velikosti lískového ořechu až vejce a je vyplněna čirou tekutinou. Stěna je průhledná, obsahuje jeden vchlípený skolex, dobře viditelný, se zřetelnými přísavkami a háčky. Masivní infekce mohou vyvolat traumatickou hepatitidu (Bowman et al., 2014; Taylor et al., 2016).

Larvocysty (hydatidy) měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) se u přežvýkavců vyvíjejí především v játrech a plicích, méně často v jiných orgánech. Rostou pomalu (několik let) a dosahují velikosti až 10 cm. Obrovské množství skolexů leží volně v tekutině a u dna larvocysty se hromadí jako tzv. hydatidózní písek. U domácích přežvýkavců nevyvolává přítomnost hydatid v játrech a plicích obvykle žádné symptomy, odhaleny bývají až po porážce nebo během pitvy. V případě vývoje v centrálním nervovém systému, ledvinách či pankreatu se objevují klinické příznaky odpovídající lokalizaci hydatidy.

Po pozření fertilního boubele se u definitivního hostitele (psovité šelmy) vyvíjejí stovky až tisíce dospělých tasemnic (5 - 6 mm) a ve střevě dochází v důsledku traumatizace háčky k těžkým změnám nekrotického charakteru. Cystická echinokokóza se řadí mezi nejvýznamnější světové zoonózy (Bowman et al., 2014; Dore et al., 2014; Taylor et al., 2016).

2.3 Motolice (Trematoda)

Motolice patří mezi hematofágní konzumenty poškozující svou migrací jaterní parenchym hostitele. Způsobují silné zánětlivé procesy jater i žlučovodů, vedoucí až ke kalcifikaci žlučových cest. U ovcí a koz se vyskytují nezralá stádia, která se nedokáží vyvinout v dospělého jedince. Přítomnost migrujících nezralých jedinců v jaterním parenchymu vede k hemoragiím, hepatitidě a fibróze. Pitva prokáže charakteristické fibrózní cysty v jaterním parenchymu, výskyt cyst

je možný i v plicích a peritoneu. U ovcí a koz může být infekce letální (Bowman, 2014; Taylor et al., 2016).

Fascioloides magna (motolice velká) dosahující délky 100 mm a šířky až 30 mm byla introdukována na území Evropy ve druhé polovině 19. století společně s jelenci běloocasými (*Odocoileus virginianus*) a jeleny wapiti (*Cervus canadensis*) importovanými z oblastí Severní Ameriky zejména v důsledku rozvoje šlechtických oborních chovů. Na našem území byl první nález infekce tímto druhem motolice zaznamenán v roce 1930 u daňka evropského (*Dama dama*). Parazituje zejména v játrech divokých i domácích přežvýkavců. V Evropě je jejím nejčastějším mezihostitelem běžný plž bahnatka malá (*Galba truncatula*) Kašný et al.(2010); Štefka (2016).

Při silných infekcích můžeme v játrech postiženého zvířete nalézt až několik desítek jedinců přežívajících v pseudocystách, které jsou rozeznatelné jako boule na povrchu jater.

Obr. 8: *Fasciola hepatica* na játrech daňka skvrnitého (foto: Kyriánová, KZR, ČZU)

Množství infikovaných zvířat se zvyšuje i kvůli omezeným možnostem správné diagnostiky a tedy i vhodné léčby. Diagnostika fascioloidózy je doposud založena především na postmortálním vyšetření jater uhynulých nebo poražených zvířat (Horák et al., 2011).

Fasciola hepatica (motolice jaterní) dosahuje délky 35 mm a šířky 10 mm (obrázek č. 8). U svého definitivního hostitele je lokalizována v játrech a žlučovodech. Patogeneze se liší dle počtu pozřených metacerkárií, fázi vývoje v játrech a druhu hostitele.

Fasciolóza u ovcí může být akutní, subakutní nebo chronická:

- akutní forma - nástup 2 až 6 týdnů po pozření > 2000 metacerkárií a je provázena rozsáhlou destrukcí jaterního parenchymu. Tato forma fasciolózy může být komplikována koinfekcí anaerobní bakterií *Clostridium novyi*, vedoucí k nekrotické hepatitidě.

- subakutní forma - nástup 6 až 10 týdnů po pozření 500 - 1500 metacerkárií, v podzimním a zimním období. Silné hemoragie vedou k anémii a hypoalbuminémii a bez včasné terapie vede k vysoké mortalitě. Mezi typické klinické příznaky patří ascites, hepatomegalie, zduřelé až kalcifikované žlučovody, submandibulární edém, bledé sliznice a anorexie.
- chronická forma - nástup 4 až 5 měsíců po pozření 200 - 500 metacerkárií, na konci zimy a brzy na jaře. Tuto formu provází progresivní zhoršení kondice, anorexie, anémie, eozinofilie a hypoalbuminémie. Vajíčka motolic lze prokázat ve výkalech. Při lehkých infekcích nemusí být klinické příznaky patrné, ale přítomnost motolic může mít významný dopad na produkci vlivem snížení apetitu a poruch metabolismu proteinů, sacharidů a minerálních látek (Taylor et al., 2016). Malí i velcí přežvýkavci se mohou na pastvinách infikovat motolicí kopinatou (*Dicrocoelium dendriticum*) dosahující délky těla 6 - 10 mm a šíře 1,5 - 2,5 mm. Jedná se o zoonotickou nákazu se složitými mezihostitelskými cykly. Juvenilní stádia se vyvíjejí ve žlučových cestách. Ačkoli se v nich běžně vyskytuje několik tisíc motolic, stav jater je relativně nezměněn zřejmě kvůli absenci migrace vývojových stádií. Přesto je u silnějších infekcí drážděn povrch žlučových cest, dochází k fibróze menších žlučovodů a rovněž k cirhóze (Taylor et al., 2016; Papoula - Pereira et al., 2017).

D. dendriticum nezpůsobuje u jehňat ani mladých ovcí žádné klinické symptomy, ale tato trematoda žijí dlouhou dobu a patologické změny na játrech narůstají přímo úměrně délce trvání infekce. Proto u starších infikovaných ovcí dochází k jaterní cirhóze, která se klinicky manifestuje kachexií, sníženou produkcí vlny, poklesem laktace a předčasným stárnutím. Stručně řečeno, *D. dendriticum* způsobuje ekonomické ztráty tím, že snižuje reprodukční schopnost stáda (Bowman, 2014).

III. Srovnání novosti postupů

Metodika obsahuje nové informace a podrobné, výzkumně ověřené metodické postupy helmintologické pitvy a postmortální detekce helmintů, vyskytujících se u domácích přežvýkavců. Takovéto informace a postupy nebyly doposud uceleně předloženy chovatelské veřejnosti.

V metodice jsou uvedeny efektivní postupy, pomocí nichž lze u uhynulých a poražených zvířat nalézt parazity a manipulovat s nimi tak, aby bylo možné je využít nejen ke správné postmortální diagnostice, ale i k dalším analýzám, jež napomáhají ke zvýšení efektivity preventivních programů, terapeutických metod a celkové snaze výskyt parazitů snížit na subklinickou úroveň. Výše uvedené informace a postupy jsou výsledkem výzkumné činností autorů a výsledkem systematického studia vědecké parazitologické literatury s cílem zpřístupnit tyto nové informace a metodické postupy chovatelské praxi pro správný management stád a zlepšení zdraví a welfare chovaných zvířat.

IV. Popis uplatnění metodiky

Publikace je určena pracovníkům v oblasti chovu domácích přežvýkavců. Cílovými skupinami jsou zejména pracovníci v zemědělství, chovatelé/farmáři, jejichž cílem je vlastnit rentabilní a zdravý chov; dále řídící pracovníci, poradní orgány, veterinární lékaři a laboratorní pracovníci. Publikace je využitelná rovněž v pedagogické činnosti a vzdělávání studentů zemědělsky zaměřených středních škol a univerzit.

V. Ekonomické aspekty

Investice vložené do odborné postmortální helmintologické diagnostiky jsou zanedbatelné ve srovnání s následky zavlečení endoparazitárních infekcí do chovů domácích přežvýkavců a neadekvátně vedenou anthelmintickou léčbou. Náklady na anthelmintika nejsou zanedbatelné a znalost konkrétního napadení vybraných jedinců ve stádě umožní výběr vhodného anthelmintika či jiného léku v případě, že je helmintologické napadení není velkého rozsahu. V případě aplikace neúčinného léčiva budou finanční ztráty mnohem větší – nejen, že zbytečně chovatel vynaloží finanční prostředky na léčivo (pro jedno zvíře počítáme dle přípravku a účinné látky 5 – 30 Kč), ale rovněž se okamžitě zvyšuje nebezpečí úhynů mladých kusů a samozřejmě se snižuje užitkovost produkčních kusů.

Vyšetřování prováděná koprologicky i pitvou prokázala, že silné infekce vyvolané některými druhy endoparazitů způsobují u hospodářsky chovaných přežvýkavců zhoršení kondice a užitkovosti. Negativní vliv mají rovněž na reprodukci a vedou k významnému poklesu samotné plodnosti, laktace i masné užitkovosti. Související je také zvýšená vnímavost k jiným onemocněním. Tyto aspekty vedou ke značným ekonomickým ztrátám v chovech. Např. ztráty v chovech ovcí se odhadují na 20 – 40 tisíc Kč u jehňat a až 200 tisíc Kč u dospělých jedinců), přičemž stáda ovcí v České republice jsou infikována cizopasníky ze 40 – 90% a patří k nejpostiženějším druhům hospodářských zvířat. Helminti jsou pak nejčastější příčinou úhynů, a to zejména jehňat.

Tomu lze předcházet nejen dodržováním striktních zoohygienických zásad a správně vedeným managementem chovu, ale i získáváním odborných znalostí o častých výskytech endoparazitů, dále o schopnosti rozpoznat klinické projevy u postižených zvířat, provádět pravidelná koprologická vyšetření, ale i postmortální vyšetření orgánových soustav. Orientační ceny parazitologických pitev se pohybují u úplné pitvy mezi 80 - 100,- Kč/kus, u pitvy orgánové cca 350,- Kč (tabulka 5).

Tabulka 5: Orientační ceník parazitologické pitvy
(SVÚ, Praha; SVÚ Jihlava, 2018)

Parazitologická pitva úplná	SVÚ, Praha	350,- Kč
Parazitologická pitva úplná	SVÚ, Jihlava	350,- Kč
Parazitologická pitva orgánová	SVÚ, Praha	80,- Kč
Parazitologická pitva orgánová	SVÚ, Jihlava	100,- Kč

Právě helmintologická pitva kadáverů a poražených zvířat umožňuje rozpoznat přítomnost, lokalizaci i množství parazitů a zároveň určit jejich druhovou specifitu a zavést tak okamžitá cílená opatření v chovu, která zabrání vyšší nákladovosti na chov, zejména v oblasti veterinárního ošetření, a to nejen v oblasti preventivních opatření, ale i v oblasti korektní cílené léčby stáda. Lze předpokládat, že se zavedením a využíváním těchto nových znalostí a postupů umožní snížení nákladů v chovech o 8 – 10%.

VI. Seznam použité související literatury

Abbott, K. A., Taylor, M., Stubbings, L. A. 2012. Sustainable worm control strategies for sheep. A Technical Manual for Veterinary Surgeons and Advisors, 4th edition (Sustainable Control of Parasites in Sheep – SCOPS). p. 58. ISBN: 0954744748.

Anderson, R. C. 2000. Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. 2nd Ed. CABI Publishing, Wallingford. p. 635. ISBN: 9780851997865.

Bath, G. F., van Wyk, J. A. 2009. The Five Point Check© for targeted selective treatment of internal parasites in small ruminants. Small Ruminant Research. 86: 6 - 13.

Bazargani, T., Eslamim A., Gholamim G, R., Molaim A, Ghafari-Charati, J., Dawoodi, J., Ashrafi, J. 2008. Cerebrospinal Nematodiasis of Cattle, Sheep and Goats in Iran. Iranian Journal of Parasitology. 3: 16 - 20.

Bowman, D. D. 2014. Georgis´Parasitology for Veterinarians, 10th ed., Elsevier, Philadelphia, USA. ISBN: 9781455740062.

Carter, D. J. 1999. Care and Conservation of Natural History Collections, Butterworth-Heinemann, Kalifornská univerzita. p. 226. ISBN: 0750609613.

Cintra, M. C. R., Ollhoff, R. D., Sotomaior, C. S. 2018. Sensitivity and specificity of the FAMACHA© system in growing lambs. Veterinary Parasitology. 251: 106 - 111.

Davoodi, J. 2014. Prevalence of setariosis in small and large ruminant in Miyaneh city, Northwest of Iran. Scientific Journal of Veterinary Advances. 3: 1 – 5.

Demiaszkiewicz, A. W., Pyziel, A. M., Kuligowska, I., Lachowicz, J., Krzysiak, M. K. 2012. Nematodes of the large intestine of the European bison of the Białowieża National Park. Annals of Parasitology. 58 (1): 9 – 13.

Demiaszkiewicz, A. W., Kuligowska, I., Lachowicz, J., Pyziel, A. M., Moskwa, B. 2013. The first detection of nematodes *Ashworthius sidemi* in elk *Alces alces* (L.) in Poland and remarks of ashworthiosis foci limitations. Acta Parasitologica. 58 (4): 515 - 518.

Demiaszkiewicz, A.W.Kuligowska, I., Pyziel, A. M., Lachowicz, J. 2015. First cases of nematode *Setaria tundra* invasion in elk in Poland. Medycyna Weterynaryjna. 71: 510 - 512.

Demiaszkiewicz, A. W., Merta, D., Kobielsky, J., Filip, K. J., Pyziel, M. 2017. Expansion of *Ashworthius sidemi* in red deer and roe deer from the Lower Silesian Wilderness and its impact on infection with other gastrointestinal nematodes. Acta Parasitologica. 62 (4): 853 - 857.

Dore, F., Varcasia, A., Pipia, A. P., Sanna, G., Pina Parpaglia, M. L., Corda, A., Romig, T., Scala, A. 2014. Ultrasound as a monitoring tool for cystic echinococcosis in sheep. Veterinary Parasitology. 203 (1 - 2): 59 - 64.

Elsheikha, H. M., Khan, N. A. 2011. Essentials of Veterinary Parasitology. Horizon Scientific Press. p. 221. ISBN: 1904455794.

Haukisalmi, V., Laaksonen, s., Oksanen, A., Beckmen, K., Halajian, A., Yanagida, T., Nakao, M. 2018. Molecular taxonomy and subgeneric classification of tapeworms of the genus *Moniezia* Blanchard, 1891 (Cestoda, Anoplocephalidae) in northern cervids (*Alces* and *Rangifer*). Parasitology International. 67 (2): 218 - 224.

Holec, J., Kment, P., Wagner, J., Šmíd, J., Šída, O., Kvaček, J., Sejkora, J., Kuželka, V. 2015. Metodika pro práci s přírodovědeckým typovým materiálem. Certifikovaná metodika. Národní muzeum. Praha. p. 118. ISBN: 9788070364659.

Horák, P., Mikeš, L., Kašný, M. 2011. Je libo játra nebo mozeček? Několik zastavení s motolicemi. Živa. 3: 102 – 104.

Howat, W. J., Wilson, B. A. 2014. Tissue fixation and the effect of molecular fixatives on downstream staining procedures. Methods. 70 (1): 12 – 19.

Kašný, M., Siegelová, V., Siegel, T., Beránková, K. 2010. Aktuální rozšíření motolice velké (*Fascioloides magna*) v České republice. Myslivost. 10: 58.

Kołodziej-Sobocińska, M., Demiaszkiewicz, A. W., Pyziel, A. M., Marczuk, B., Kowalczyk, R. 2016. Does the blood-sucking nematode *Ashworthius sidemi* (Trichostrongylidae) cause deterioration of blood parameters in European bison (*Bison bonasus*)? European Journal of Wildlife Research. 62 (6): 781 – 785.

Kyriánová, I. A., Vadlejch, J., Langrová, I. 2018. Comparison of the lungworm infection in herd of young and dairy goats at an organic farm. Sciencia Agriculturae Bohemica, CULS Prague. („in press“).

Langrová, I., Jankovská, I. 2004. Arrested development of *Trichostrongylus colubriformis* in experimentally infected rabbits. Effect of decreasing photoperiod, low temperature and desiccation. Helminthologia. 41 (2): 85 - 90.

Moskwa, B., Bień, J., Goździk, K., Cabaj, W. 2014. The usefulness of DNA derived from third stage larvae in the detection of *Ashworthius sidemi* infection in European bison, by a simple polymerase chain reaction. Parasites &Vectors. 7: 215

Nikander, S., Laaksonen, S., Saari, S., Oksanen, A. 2007. The morphology of the filaroid nematode *Setaria tundra*, the cause of peritonitis in reindeer *Rangifer tarandus*. Journal of Helminthology. 81: 49 - 55.

Osińska, B., Demiaszkiewicz, A. V., Lachowicz, J. 2010. Pathological lesions in European bison (*Bison bonasus*) with infestation by *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae). Polish Journal of Veterinary Sciences. 13 (1): 63 – 67.

Papoula - Pereira, R., Hancock, B., Mitcehll, S., Semple, H., McGarry, J. W. 2017. Dicrocoeliosis in sheep in England and Wales: under diagnosed and misdiagnosed? Veterinary Record Case Reports. 5 (1): 1 - 3.

Rinaldi, L., Cringoli, G. 2012. Parasitological and pathophysiological methods for selective application of anthelmintic treatments in goats. Small Ruminant Research. 103: 18 - 22.

Singh, H., Singh, N. K., Singh, N. D., Jyoti, Rath, S. S. 2015. Occurence of *Setaria labiatopapillosa* in peritoneal cavity of a crossbred cattle. Journal of Parasitic Diseases. 39 (2): 152 – 154.

Srinivasan, M., Sedmak, D., Jewell, S. 2002. Effect of Fixatives and Tissue Processing on the Content and Integrity of Nucleic Acids. The American Journal of Pathology. 161 (6): 1961 – 1971.

Státní veterinární ústav Jihlava [cit. 16.03.2018] Dostupné z: http://www.svujihlava.cz/204-diagnosticke-metody.html

Státní veterinární ústav Jihlava [cit. 16.03.2018] Dostupné z: https://www.svupraha.cz/parazitologie/metody-3/

Státní veterinární ústav Jihlava [cit. 16.03.2018] Dostupné z: http://www.svujihlava.cz/204-diagnosticke-metody.html

Státní veterinární ústav Jihlava [cit. 16.03.2018] Dostupné z: http://www.svujihlava.cz/soubory/Cen%C3%ADk%20-%20Odd%C4%9Blen%C3%AD%20parazitologie%20-%20SV%C3%9A%20Jihlava%202017.pdf

Sundar, S.T.B., D´Souza, P. E. 2015. Morphological Characterization of *Setaria* worms collected from cattle. Journal of Parasitic Diseases. 39: 572 - 576.

Štefka, J. 2016. Jak se šíří invazní motolice obrovská? [cit. 01.07.2018] Dostupné z: https://www.prf.jcu.cz/veda/nase-objevy/jak-se-siri-invazni-motolice-obrovska.html

Taylor, M. A. 2010. COWS Control of Worms Sustainably: Sustainable Worm Control Strategies for Cattle. [cit. 22.07.2018] Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/259970358_COWS_Control_of_Worms_Sustainably_Sustainable_Worm_Control_Strategies_for_Cattle

Taylor, M. A., Coop, R. L., Wall, R. L. 2016. Veterinary Parasitology. 4th edition, Oxford Blackwell Publishing. p. 1006. ISBN: 9780470671627.

Torina, A., Dara, S., Marino, A. M. F., Sparagano, O. A. E., Vitale, F., Reale, S., Caracappa, S. 2004. Study of Gastrointestinal Nematodes in Sicilian Sheep and Goats. Annals of the New York Academy of Sciences. 1026 (1): 187 – 194.

Truněčková, J., Hlava, J., Langrová, I., Jankovská, I. 2013. Zjištění kontaminace pastvin ovcí cysticerkoidy tasemnic rodu *Moniezia*. Certifikovaná metodika. Česká zemědělská univerzita. Praha. p. 32. ISBN: 9788021324138.

Tung, K. Ch., Lai, Ch.H., Ooi, H.K., Yang, Ch.H., Wang, J.S. 2003. Cerebrospinal Setariosis with *Setaria marshalli* and *Setaria digitata* infection in Cattle. The Journal of Veterinary Medical Science. 65: 977 – 983.

Vadlejch, J., Lukešová, D., Vašek, J., Vejl, P., Sedlák, P., Čadková, Z., Langrová, I., Jankovská, I., Salaba, O. 2014. Comparative morphological and molecular identification of *Haemonchus* species in sheep. Helminthologia. 51 (2): 130 – 140.

Vadlejch, J. 2015. Gastrointestinální helmintózy ovcí – review. Veterinářství. 65 (5): 361 - 366.

Vadlejch, J., Kyriánová, I. A. 2017. Verminózní pneumonie ovcí a koz. Veterinářství. 67 (8): 632 - 639.

VII. Seznam publikací, které předcházely metodice

Burešová, E., Vadlejch, J., Langrová, I. 2017. Anthelmintická aktivita methanolových extraktů vybraných českých rostlin s využitím testu líhnivosti vajíček. In: 8th Workshop on biodiversity, Jevany, Česká zemědělská univerzita v Praze. 20 - 28. ISBN 9788021327061

Burešová, E., Vadlejch, J., Langrová, I. 2017. Experimentální infekce *Haemonchus contortus* u jehňat. In: 9th Workshop on biodiversity, Jevany, Česká zemědělská univerzita v Praze. 27 - 33. ISBN: 9788021328105

Černá, T., Sloup, V., Jankovská, I. 2015. Vliv hyperakumulující rostliny (*Arabidopsis halleri)* na metabolismus laboratorních potkanů (*Rattus norvegicus* var. alba). In: 7th Workshop of biodiversity, Jevany, Česká zemědělská univerzita v Praze. 5 - 13. ISBN: 9788021326125

Houdková, M., Rondevaldová, J., Doskočil, I., Kokoška, L. 2017. Evaluation of antibacterial potential and toxicity of plant volatile compounds using new broth microdilution volatilization method and modified MTT assay. Fitoterapia, 118: 56 – 62.

Chodová, D., Tůmová, E., Sládková, K., Langrová, I., Jankovská, I. 2018. Effects of subclinical *Eimeria tenella* infection on Pectoralis major muscle in broiler chickens. Italian Journal of Animal Science, 17 (1): 18 - 21.

Knížková, I., Kunc, P., Langrová, I., Vadlejch, J., Jankovská, I. 2018. Thermal profile of broilers infected by *Eimeria tenella*. In: 14th Quantitative InfraRed Thermography Conference, QIRT 2018 Proceedings. Berlin: Federal Institute for Materials Research and Testing, 9 - 12.

Kuděra, T., Rondevaldová, J., Kant, R., Umar, M., Skřivanová, E., Kokoška, L. 2017. In vitro growth-inhibitory aktivity of *Calophyllum inophyllum* ethanol leaf extract against diarrhoea-causing bacteria. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 16 (9): 2207-2213.

Kyriánová, I. A. 2015. Kokcidiózy malých přežvýkavců. In: 7th Workshop of biodiversity, Jevany, Česká zemědělská univerzita v Praze. 90 - 102. ISBN: 9788021326125

Nechybová, S., Vejl, P., Hart, V., Melounová , M., Čílová, D., Vašek, J., Jankovská, I., Vadlejch, J., Langrová, I. 2018. Long-term occurrence of *Trichuris* species in wild ruminants in the Czech Republic. Parasitology Research, 117 (6): 1699 – 1708.

Polesná, L., Vadlejch, J., Langrová, I, Burešová, E., Kokoška, L. 2015. Czech medical plants with anthelmintik properities. In: 7th Workshop of biodiversity, Jevany, Česká zemědělská univerzita v Praze. 103 - 108. ISBN: 9788021326125

Rondevaldová, J., Hummelová, J., Tauchen, J., Kokoška, L. 2018. In Vitro Antistaphylococcal Synergistic Effect of Isoflavone Metabolite Demethyltexasin with Amoxicillin and Oxacillin. Microbial Drug Resistance, 24 (1): 24 - 29.

Sloup, V., Jankovská, I. 2015. Vliv tasemnice na exkreci zinku výkaly u hostitele. In: 7th Workshop of biodiversity, Jevany, Česká zemědělská univerzita v Praze. 49 - 54. ISBN: 9788021326125

Šrámková, M., Langrová, I. 2017. Gastrointestinální hlístice v chovu ovcí na farmě Smolná. In: 9th Workshop on biodiversity, Jevany, Česká zemědělská univerzita v Praze. 113 - 125. ISBN: 9788021328105

Vadlejch, J., Gardiánová, I. 2015. Vyhodnocení účinnosti moxidektinu při léčbě muelleriózy koz – případová studie. In: 7th Workshop of biodiversity, Jevany, Česká zemědělská univerzita v Praze. 103 - 108. ISBN: 9788021326125

Vadlejch, J., Kyriánová, I. A., Rylková, K., Zikmund, M., Langrová, I. (2017). Health risks associated with wild animal translocation: a case of the European bison and an alien parasite. Biological Invasions, 19 (4): 1121 – 1125.

Vejl, P., Nechybová, S., Peřinková, P., Melounová, M., Sedláková, V., Vašek, J., Čílová, D., Rylková, K., Jankovská, I., Vadlejch, J., Langrová, I. 2017. Reliable molecular differentiation of *Trichuris ovis* and *Trichuris discolor* from sheep (*Ovis orientalis aries*) and roe deer (*Capreolus capreolus*) and morphological characterisation of their females: morphology does not work sufficiently. Parasitology Research, 116 (8): 2199 – 2210.

Vadlejch, J., Knížková, I., Kunc, P., Langrová, I. 2017. Médium pro prosvětlování hlístic. Česká zemědělská univerzita v Praze, Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Česká republika. Užitný vzor CZ 31456 U1. 2018-02-13.

VIII. Dedikace

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu č QJ1510038 s názvem: Využití rostlinných extraktů jako bioantiparazitik u hospodářských zvířat.

Vydal: Powerprint Praha

Název: POSTUP HELMINTOLOGICKÉ PITVY A POSTMORTÁLNÍ DETEKCE HELMINTŮ VYSKYTUJÍCÍCH SE U DOMÁCÍCH PŘEŽVÝKAVCŮ V ČESKÉ REPUBLICE

Autoři:
Ing. Sylva Lanková (podíl práce 55 %)
prof. Ing. Iva Langrová, CSc. (podíl práce 10 %)
prof. Ing. Ivana Jankovská, Ph.D. (podíl práce 10 %)
doc. Ing. Ivana Knížková, CSc. (podíl práce 10 %)
doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, Ph.D. (podíl práce 10 %)
doc. Ing. Petr Kunc, Ph.D. (podíl práce 5 %)

ISBN: 978-80-7403-208-0