

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**  
**FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ**

---

**AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE**

**Využití antiparazitárních a zootechnických postupů pro kontrolu vybraných  
parazitárních infekcí koní a skotu**

**Ing. Mgr. Anna Baštýřová Brutovská**

**České Budějovice  
2024**

## **Autoreferát disertační práce**

<b>Doktorand:</b>	<b>Ing. Mgr. Anna Baštýřová Brutovská</b>
<b>Studijní program:</b>	Zootechnika
<b>Studijní obor:</b>	Speciální zootechnika
<b>Název práce:</b>	Využití antiparazitárních a zootechnických postupů pro kontrolu vybraných parazitárních infekcí koní a skotu
<b>Školitel:</b>	prof. Ing. Martin Kváč, Ph.D.
<b>Oponenti:</b>	doc. Ing. Roman Konečný, Ph.D. doc. Ing. Petr Sláma, Ph.D. Ing. Hana Stránská, PhD.

Obhajoba disertační práce se koná dne 19.4.2024 v pavilonu B v zasedací místnosti ve třetím patře FZT JU.

S disertační prací se lze seznámit na studijním oddělení Zemědělské fakulty JU v Českých Budějovicích.

## **PRÁCE VZNIKLA ZA PODPORY NÁSLEDUJÍCÍCH GRANTŮ**

**GAJU 005/2022/Z** - One Health: genetic, environmental and technological factors affecting animal production, food quality and safety, and animal and human health (2022–2024; členka řešitelského týmu).

**GAJU 028/2019/Z** - Genetics, animal health and biologically and sensory active substances as a prerequisite for quality food and agricultural raw materials (2019–2021; členka řešitelského týmu).

**GAJU 019/2016/Z** - Výživa a technika chovu jako cesta k pohodě zvířat a kvalitě produktů. (2016–2018; studentka - členka týmu)

**PRV 18/006/16210/231/000049** - Inovativní systém aktivního ustájení koní. (2019–2023; studentka – člen týmu)

## Abstrakt

Parazitární infekce koní a skotu představují významný problém ve světovém chovu hospodářských zvířat. Koně a skot jsou přirozeně náchylní k infekcím, zejména v prostředí intenzivního chovu a při koncentraci na omezeném prostoru. Ekonomické ztráty vznikají v důsledku zdravotních problémů a poklesu produkce způsobeného různými druhy parazitů. Klíčovým aspektem je efektivní kontrola a prevence, i když situaci komplikuje rezistence na anthelmintika. Pro zachování zdraví a produktivity hospodářských zvířat je nezbytné uplatňovat udržitelné strategie, zahrnující optimální dávkování a prevenci. Cílem předložené práce bylo hodnotit zatížení koní a skotu endoparazity a posoudit účinnost veterinární léčby včetně vyhodnocení výskytu, prevalence a intenzity infekcí, stanovení účinnosti použitých léčivých přípravků, posouzení vlivu stáří, pohlaví, technologie chovu a péče o pastviny na výskyt parazitů a posoudit možný zoonotický přenos.

V rámci práce bylo opakovaně vyšetřeno 721 koní z různých typů ustájení, 1 724 kusů krav bez tržní produkce mléka, 2 941 kusů krav mléčného skotu a 400 telat mléčného skotu. Koně byly nejčastěji parazitovány gastrointestinálními helminty, zejména strongylidními hlísticemi následované škrkavkou koňskou (*Parascaris equorum*) a hádětem konským (*Strongyloides westeri*). Nejnižší prevalence byla zjištěna u tasemnic (*Anoplocephala* spp.), jejichž vajíčka byla detekována pouze sporadicky. Nejčastější způsob ustájení koní v rámci studie bylo boxové ustájení s přístupem do výběhu. Pastevní chov byl druhým nejčastějším způsobem. Nejméně koní bylo chováno pouze v boxech nebo v systému paddock paradise. Koně, kteří byli chováni bez přístupu na pastvinu nebo do výběhu byli významně méně parazitováni, a to jak strongylidními hlísticemi, tak i škrkavkami. Zatímco péče o pastviny měla pozitivní vliv na nižší výskyt škrkavek, u strongylidních hlístic tento vliv prokázán nebyl. Byla prokázána korelace mezi stářím jedince a parazitárním zatížením. Mladší věkové kategorie koně vykazovali nejvyšší intenzitu infekce. S narůstajícím stářím jedince klesala jak intenzita infekce, tak i druhové zastoupení jednotlivých parazitů, zejména *P. equorum*. Na výskyt tasemnic stáří zvířete vliv nemělo. Neprokázal se vliv pohlaví na výskyt parazitů. Pro sledování účinnosti používaných anthelmintik bylo vybráno 48 chovů koní, přičemž snížená efektivita pohybující se od 0 do 92 % v závislosti na druhu účinné látky byla detekována v 11 chovech. U veterinárně léčivých přípravků na bázi pyrantelu byla detekována rezistence na úrovni FECRT 55 %. U přípravků na bázi fenbendazolu byla zjištěna snížená účinnost o 56–62 %. U stád ošetřovaných ivermectinem byla detekována snížená účinnost o 8–71 %.

Výsledky práce ukázaly dominantní rozšíření *Calicophoron daubneyi* a nízkou abundanci motolice jaterní (*Fasciola hepatica*) u skotu v České republice, což souvisí s běžně používanými anthelmintiky. Antiparazitika na bázi albendazolu, ivermectinu a closantelu nebyla efektivní při léčbě *C. daubneyi*, zatímco jsou účinná proti *F. hepatica*. Pouze přípravky na bázi oxclozanidu byly 100 % účinné proti *C. daubneyi* a jeho rozšířenější používání by mohlo vést ke snížení výskytu této motolice a také *F. hepatica* na farmách s chovem skotu. U telata mléčného skotu byla detekovány téměř 100 % prevalence *Cryptosporidium parvum*. Léčba paromomycinem prokázala pozitivní vliv na významné snížení intenzity infekce a průjmu u zvířat s přirozenou infekcí *C. parvum*, nicméně zatížení prostředí oocystami kryptosporidií je i přes léčbu velmi vysoké a zvířata představovala významný zdroj oocyst. Symptomatická léčba telat neměla významný vliv ani na snížení intenzity infekce, ani na eliminaci klinických příznaků.

Koně jsou hostitelé zoonotických druhů kryptosporidií, zejména *C. parvum* a *C. equi*. Zatímco telata mléčného skotu, u kterých byla infekce druhem *C. parvum* velmi častá (80–100 %), reprezentují významný zdroj infekce pro člověka, koně, u kterých jsme detekovali pouze jeden případ infekce *C. equi*, nepředstavují závažné riziko pro zdravého člověka. V rámci práce byla popsána případová studie infekce *C. equi* u imonodeficitní pacientky. Jednalo se o vůbec první případ prokázaného přenosu infekce *C. equi* z koně na člověka.

**Klíčová slova:** paraziti; masný a mléčný skot; koně; rezistence; veterinárně léčivé přípravky; prevalence; FEC; stáří; pohlaví; systém chovu; lidské infekce

## Abstract

Parasitic infections in horses and cattle are a significant problem in the global livestock industry. Horses and cattle are naturally susceptible to infections, especially when kept intensively and with limited space. Economic losses are the result of health problems and production losses caused by various types of parasites. The most important aspect is effective control and prevention, even if the situation is complicated by anthelmintic resistance. To maintain the health and productivity of livestock, the implementation of sustainable strategies, including optimised dosing and prevention, is essential.

The aim of the present study was to assess the burden of endoparasites in horses and cattle and to evaluate the effectiveness of veterinary treatment, including assessing the occurrence, prevalence and intensity of infections, determining the efficacy of the drugs used, evaluating the influence of age, sex, husbandry technology and pasture management on the occurrence of parasites and evaluate possible zoonotic transmission.

The study included the repeated examination of 721 horses from different types of stables, 1,724 beef cows, 2,941 dairy cows and 400 dairy calves.

The horses were most frequently parasitised with gastrointestinal helminths, especially strongylids, followed by roundworms (*Parascaris equorum*) and *Strongyloides westeri*. The lowest prevalence was found with tapeworms (*Anoplocephala* spp.), whose eggs were only sporadically detected. The most common housing system for horses in the study was box housing with access to paddocks. Grazing was the second most common system. Horses kept only in stalls or in the paddock-paradise system showed a significantly lower parasite load, both for strongylids and roundworms. While pasture management had a positive effect on the reduction of roundworm prevalence, no influence on strongylid infections could be demonstrated. A correlation was found between the age of the animals and the parasite load, with younger age groups of horses showing the highest infection intensity. With increasing age, both the infection intensity and the species diversity of the individual parasites decreased, particularly *P. equorum*. Age had no effect on the incidence of tapeworms, nor did sex have any effect on the incidence of parasites.

For the evaluation of the efficacy of anthelmintics, 48 horse farms were selected. Reduced efficacy was found on 11 farms, ranging from 0 to 92% depending on the anthelmintic used. Resistance to pyrantel-based veterinary drugs was found at the FECRT level of 55%. A reduced efficacy of 56–62% was found for fenbendazole-based drugs. In herds treated with ivermectin, the reduced efficacy ranged from 8% to 71%.

The results of the study show the dominant distribution of *Calicophoron daubneyi* and the low incidence of liver flukes (*Fasciola hepatica*) in beef cattle in the Czech Republic, which is

related to the commonly used anthelmintics. Albendazole-, ivermectin- and closantel-based anthelmintics were ineffective against *C. daubneyi*, while they were effective against *F. hepatica*. Only oxyclozanide-based drugs were 100% effective against *C. daubneyi*, and their widespread use could lead to a reduction in the occurrence of this fluke and also of *F. hepatica* on cattle farms. An almost 100% prevalence of *Cryptosporidium parvum* was found in dairy calves. Treatment with paromomycin had a positive effect on significantly reducing the intensity of infection and diarrhoea in animals with natural *C. parvum* infection. However, despite treatment, environmental contamination with *Cryptosporidium* oocysts remained very high and the animals remained an important source of oocysts. Symptomatic treatment of the calves had no significant effect on reducing the intensity of infection or eliminating clinical signs.

Horses serve as hosts for zoonotic species of *Cryptosporidium*, particularly *C. parvum* and *C. equi*. While dairy calves with a very high incidence of *C. parvum* infection (80–100%) represent a significant source of infection for humans, horses with only one confirmed case of *C. equi* infection do not pose a serious risk to healthy humans. The study described a case study of *C. equi* infection in an immunocompromised patient. This was the first documented case of *C. equi* infection transmitted from a horse to a human.

**Keywords:** parasite; beef and dairy cattle; horse; resistance; anthelmintic drugs; prevalence; FEC; age; sex; pasture management; human infection;

## **CÍLE PRÁCE**

Cílem řešení disertační práce je u vybraných druhů hospodářských zvířat zhodnotit jejich zatížení endoparazity a posoudit účinnost léčby veterinárními léčivými přípravky. Následující konkrétní dílčí cíle představují jednotlivé kroky výzkumu nezbytné pro dosažení hlavního cíle:

- Vyhodnotit výskyt, prevalenci a intenzitu parazitárních infekcí v chovech koní a skotu.
- Stanovit účinnost použitých přípravků a dobu, po kterou léčená zvířata nebudou vylučovat žádná vývojová stadia parazitů.
- Posoudit faktor stáří jedince, pohlaví, technologie chovu, péče o pastviny na výskyt jednotlivých druhů parazitů.
- Zhodnotit dopad parazitárních infekcí na zdraví zvířat a možnosti zoonotických přenosů.



## SHRnutí VÝSLEDKŮ A DISKUZE

**Všechny dosažené výsledky (obrázky, tabulky), použitý materiál a metody je možno nalézt v disertační práci a publikacích v ní přiložených.**

### Parazitární infekce koní

#### Gastrointestinální helminti koní a jejich výskyt

Do sledování bylo zařazeno celkem 721 koní z různých typů ustájení, u kterých bylo provedeno koprologické vyšetření na přítomnost parazitů a pomocí statistických metod byl hodnocen vliv věku a pohlaví koní, technologie chovu a péče o pastviny na výskyt detekovaných gastrointestinálních helmintů (tabulka 15).

Celkem 59 koní (8,2 %) bylo pozitivně testováno na přítomnost škrkavky koňské, nejvyšší podíl byl zaznamenán u ustájení boxovém s přístupem do výběhu. Tento systém ustájení byl převažující a v rámci sledování v něm bylo ustájeno nejvíce koní, což koresponduje i s detekcí ostatních parazitů. Prevalence strongylidů v boxovém ustájení v kombinaci s výběhem činila 53,4 %, bylo zaznamenáno 5 případů infekce tasemnicí (1,1 %) a 15 případů *S. westeri* (2,1 %). Koně ustájení pouze v boxech bez možnosti pohybu ve výběhu nebo na pastvinách (jednalo se buď o plemenné hřebce, nebo koně ve vysokém sportu na mezinárodní úrovni) byli parazitováni nejčastěji strongylidy, škrkavky u této kategorie byly detekovány pouze ve dvou případech. Menší počet koní byl ve skupině paddock paradise, kam řadíme kromě zmíněného systému také v České republice nový aktivní systém ustájení koní (tabulka 15). V rámci této skupiny byla škrkavka a tasemnice detekována pouze v jednom případě, zatímco strongylidy ve 45 případech (95,7 %). V pastevním ustájení, které v současné době nabývá na našem území na popularitě, byl výrazně vyšší počet jedinců, kteří byli parazitováni strongylidy (78,7 %), než škrkavkami (16 %). Naopak v této skupině nebyla detekována žádná tasemnice, ani *S. westeri* (tabulka 15). Ani u jednoho koně chovatelé nezaznamenali žádné klinické příznaky infekce gastrointestinálními helminty.

Cyatostominy infikují prakticky všechny pasoucí se koňovité s prevalencí blížící se 100 % (Corning, 2009). Podobná parazitární zátěž jako v naší zjištěném případě byla i ve studii Sallé et al. (2020) a Merlin et al. (2024), kdy nejvyšší prevalence byla u skupiny strongylidních hlístic, následované škrkavkou koňskou. Na rozdíl od prací Mfitilodze et Hutchinson (1989) a Benton et Lyons (1994) byla v naší práci detekována tasemnice jen výjimečně. Je ovšem nutné brát v úvahu jejich obtížnou diagnostiku (Koudela, 2008). Je obecně známo, že prevalence u tasemnice a škrkavky u koňovitých je velmi variabilní (Laugier et al., 2012; Nielsen, 2016b; Boelow et al., 2023).

### **Vliv věku koní na výskyt parazitů**

Statistická analýza prokázala vliv věku na výskyt sledovaných gastrointestinálních helmintů (graf 1, tabulka 16). Pravděpodobnost parazitace všemi detekovanými helminty bez rozdílu druhů se vzrůstajícím stářím koně klesá.

Výsledky této práce ukazují, že proměnná stáří v letech je statisticky významný prediktor ( $p=0,009$ ). Logaritmus podílu šancí parazitace jedince se s každou jednotkovou změnou stáří v letech, tedy se zvyšujícím se věkem koně, snižuje o 0,04 (graf 1, tabulka 16).

Naše výsledky jsou v souladu s řadou studií, které ukazují, že mladí koně a hříbata jsou více a častěji parazitováni a jsou u nich detekovány významně vyšší počty EPG ve srovnání se staršími věkovými kategoriemi koní (Höglund et al., 1997; Francisco et al., 2009; Kornás et al., 2010). Naopak v některých studiích nebyla korelace mezi stářím koní a hodnotou EPG prokázána (McFarlane et al., 2010; Saeed et al., 2010; Mezgebu et al., 2013). Navíc studie Yadav et al. (2014) ukázala vyšší hodnoty EPG u dospělých koní ve srovnání s mladými. Rozdíly mezi výsledky jednotlivých studií mohou být zapříčiněny celou řadou faktorů mezi které patří typ ustájení, společná pastva různých věkových kategorií a frekvence použití veterinárních léčivých přípravků. Relf et al., (2013) uvádějí, že zejména frekvence anthelmintických ošetření, ovlivňuje hodnotu EPG více než stáří zvířete.

Na výskyt tasemnic, které se podařilo v této práci detekovat, stáří koně vliv neměl. Tasemnice byly nalezeny pouze u šesti koní. Vzhledem k nízkému počtu detekovaných případů nebyl vliv stáří zvířat prokázán. Tento výsledek není nikterak překvapivý, diagnostika tasemnic pomocí koprologického vyšetření není přesná a je obecně považována za málo citlivou. U druhu *Anoplocephala perfoliata* se děloha vyplněná vajíčky, které by bylo možné detekovat, neotevírá po oddělení proglotid od strobila a tím dochází k nízkému promísení vajíček s výkaly. Pro lepší diagnostiku by vhodnější použít sérologické vyšetření (Koudela, 2008). Nicméně přítomnost protilátek je málo vypovídající o současném stavu infekce. Také mladí koně do pěti let stáří jsou více náchylní ke změnám intenzity infekce vyjádřené EPG než koně starší. Díky tomu není snadné u takových koní odčervovat selektivně, je důležitá pravidelná koprologie (Lester et al., 2018).

### **Vliv věku na výskyt strongylidních hlístic**

Vzhledem k tomu, že se nám podařilo prokázat souvislost mezi parazitací a stářím koní, testovali jsme závislost jednotlivých skupin parazitů v závislosti na stáří zvířat. Z grafu 2 je patrné, že pravděpodobnost parazitace koně strongylidy, se stářím klesá. Logaritmus podílu šancí parazitace se s každou jednotkovou změnou stáří v letech, tedy se zvyšujícím se věkem koně, snižuje o 0,02. Nicméně statistická analýza neprokázala, že stáří v letech je statisticky

významný prediktor. V rámci tohoto modelu se vliv proměnné „stáří koně“ ukázal jako statisticky nevýznamný a negativní ( $\beta = -0,02$ , 95%,  $p=0,227$ ) a vypovídací schopnost modelu je velmi slabá (Tjurovo  $R^2 = 0,002$ ; tabulka 17). Výsledky dále ukazují, že proměnná stáří v letech je statisticky významný prediktor ( $p=0,009$ ). Logaritmus podílu šancí parazitace strongylidními hlísticemi u každého jedince se s každou jednotkovou změnou stáří v letech, tedy se zvyšujícím se věkem koně, snižuje o 0,02 (graf 2, tabulka 17).

Přestože naše analýzy neprokázaly statistickou významnost vlivu stáří na promořenost strongylidními hlísticemi, z výsledků v grafu 2 je zřejmý trend poklesu zatížení parazity, který je v souladu s publikovanými údaji. Obecně, zátěž parazity (u všech stádií) klesá s rostoucím stářím koně, což je v souladu s klesajícím počtem usazováním požitých larev. Když byl srovnán kůň ve věku 2–4 let a kůň ve věku 12–14 let s průměrným příjmem larev 2000 L3/den, mladší kůň měl vyšší počty všech stádií parazitů a vyšší podíl EL3 než starší kůň (Leathwick et al., 2019). Studie Kuzmina et al. (2016) uvedla, že mladí koně mezi 1,5–4 roky byli parazitováni větším počtem druhů malých strongylidů, než koně starší. Také hřibata měla vyšší hodnoty EPG, než koně starší a koně nad 16 let věku byli významně méně infikováni velkými strongylidy. Francisco et al., (2009) i Relf et al., (2013) zhodnotili, že koně do tří let a starší deseti let jsou náchylnější k parazitismu a vykazují vyšší míru vylučování vajíček v trusu. To platí jak pro strongylidní hlístice, tak i škrkavku koňskou (Hautala et al., 2019). Martins et al. (2023) odhadli, že mladí koně do tří let mají asi osmkrát vyšší pravděpodobnost, že budou parazitováni strongylidy, než koně starší. Je to především proto, že zvířata v těchto kategoriích nejsou imunokompetentní vůči parazitům (Kuzmina, 2012). Ve studii Kornaš et al. (2010) byl věk hlavním faktorem zodpovědným za vysoké vylučování strongylidních vajíček s nejvyšší prevalencí u ročních hřibat s přístupem na pastviny. Nicméně ve stejné studii autoři zjistili, že věk nefunguje jako jediný faktor při vylučování vajíček a je závislý na druhu malých strongylidů v jedinci.

### **Vliv věku koní na výskyt škrkavek**

Obdobně jako v předešlé kapitole bylo hodnoceno stáří koně na výskyt škrkavek. Z grafu 3 a statistické analýzy uvedené v tabulce 18 vyplývá, že pravděpodobnost infestace škrkavkami s věkem klesá. Logaritmus podílu šancí parazitace se s každou jednotkovou změnou stáří v letech, tedy se zvyšujícím se stářím koně, snižuje o 0,29. Proměnná stáří v letech je statisticky významný prediktor pro určení výskytu infekce škrkavkou koňskou ( $p<0,001$ ).

Další dílí výsledky u faktoru věku poukazují na to, že proměnná stáří v letech je statisticky významný prediktor ( $p=0,009$ ). Logaritmus podílu šancí parazitace škrkavkami se s

každou jednotkovou změnou stáří v letech, tedy se zvyšujícím se věkem koně, snižuje o 0,29 (graf 3, tabulka 18).

Stáří zvířete hraje roli v získané odolnosti vůči parazitům (Mughini Gras et al., 2011). Typická je situace u škrkavek, kdy se s přibývajícím věkem koně zvyšuje i jeho odolnost vůči nim. (Reinemeyer et Nielsen, 2013), těmto výsledkům odpovídá i naše sledování. Fabiani et al. (2016) zjistili, že u hříbat je vrchol invaze škrkavek ve věku čtyř měsíců. V naší studii jsme nevyšší intenzitu infekce detekovali u zvířat do jednoho roku věku.

Martins et al. (2023) uvádějí, že u koní mladších tří let byla 11krát vyšší pravděpodobnost, že intenzita infekce dosáhne hodnoty EPG více než 500 v porovnání s vyššími věkovými kategoriemi. V naší studii byla průměrná hodnota EPG škrkavek zjištěna pouze u zvířat mladších 1 roku. S rostoucím stářím došlo k výraznému poklesu EPG. Dvouletá zvířata dosahovala průměru okolo 100 EPG, tříletá 75 EPG a starší méně než 50 EPG s výjimkou zvířat starších 15 let, kde došlo k nárůstu průměrného EPG na 180.

### **Vliv technologie chovu koní na výskyt parazitů**

Technologie a management chovu výrazným způsobem ovlivňuje promořenost chovů hospodářských zvířat různými parazity. V rámci práce jsme porovnali zatížení zvířat parazity v závislosti na technologii ustájení. Výsledky statistických analýz znázorněné v grafu 4 prokázaly statisticky významné rozdíly ( $p=1,88e^{-7}$ ) ve výskytu parazitů v závislosti na technologii chovu. Pro zjištění konkrétních rozdílů mezi jednotlivými technologiemi bylo provedeno párové srovnání, jehož výsledky lze vidět v tabulce 19. Statisticky významné rozdíly byly potvrzeny ve třech případech, přičemž ve všech třech případech bylo porovnáno boxové ustájení bez přístupu koní do výběhu nebo na pastvinu.

### **Vliv technologie chovu na výskyt strongylidních hlístic**

Z výsledků statistické analýzy vyplývá, že zvířata, která byla chována bez možnosti výběhu a přístupu na pastvu byla statisticky významně méně parazitována strongylidními hlísticemi než koně, kteří měli na pastvinu přístup ( $p=0,003$ ; graf 5, tabulka 20). Přístup na pastvinu nebo do výběhu je významem prediktorem zatížení koní těmito parazity.

### **Vliv technologie chovu koní na výskyt škrkavek**

Nevyšší podíl výskytu škrkavek byl zjištěn v chovech s technologií pastvy a kombinace boxu a výběhu. V grafu 6 jsou znázorněny podíly zastoupení infikovaných zvířat v závislosti na technologii chovu. Statistická analýza prokázala významné rozdíly mezi jednotlivými technologiemi ( $p=2,91e^{-4}$ )

Pro zjištění konkrétních rozdílů mezi jednotlivými technologiemi bylo provedeno párové srovnáním (tabulka 21). Výsledky ukazují, že zvířata chovaná pouze v boxech byla jen velmi málo parazitována škrkavkami. Naopak nevyšší zatížení bylo u zvířat chovaných na pastvě.

V Itálii bylo zjištěno, že 68 % koní ve sledovaných chovech bylo ustájeno ve stáji s možností volného pohybu na pastvině (Papini et al., 2014). Ve Velké Británii má na pastvinu přístup 89 % koní (Earle et al., 2022), v Německu až 99 % (Hinney et al., 2011). V Polsku (Kornaš et al., 2004) byly v souladu s našimi výsledky prevalence a vyšší počty EPG u koní v pastevním ustájení (73,9 %), než u koní v boxovém ustájení s přístupem do výběhu (42,1 %). V Řecku studie Papazahariadou et al., (2009) zjistila vyšší infekci u koní ustájených (30,7 %), než u koní majících přístup do výběhu (15,1 %).

Martins et al. (2023) zjistili, že dostihoví koně držení tréninkových důvodů a své vysoké hodnoty pouze v boxech bez přístupu na pastvinu či do výběhu, měli nízkou hladinu infekce gastrointestinálními helminty. Také Kornaš et al. (2010) uvedli, že nejnižší počty EPG byly zaznamenány v hřebčíněch, kde byl přístup k trávě velmi omezený. Obecně lze říci, že používání stálé pastviny zvyšuje riziko infekce (Larsen et al., 2002), naopak odstraňování nedopasků kolem výkalů, sběr a odstranění trusu z pastviny nebo praktikování střídavého pasení koní a přežvýkavců riziko snižuje (Hinney, 2009).

Nicméně riziko infekce ve stájovém prostředí není nulová. Více než 65 % koní chovaných v boxu byla v průběhu sledování parazitována strongylidními hlísticemi. Toto riziko se zvyšuje s přítomností hluboké podestýlky (Love et al., 2016).

Reinemeyer et Nielsen (2013) upozorňují na nutnost karantény pro nově přichozí koně, která je podstatná v tom, že minimalizuje riziko zavlečení jiné populace parazitů do stávajícího chovu a na pastvinu.

### **Vliv pohlaví koní na výskyt parazitů**

Podle řady různých studií lze očekávat, že jedno pohlaví bude parazitováno více než druhé (Janovy Jr. et al., 1992; Poulin, 1996). Rozdíly v zatížení parazity mezi pohlavími mohou být způsobeny morfologickými, fyziologickými a behaviorálními aspekty, jako je stádová hierarchie, teritorialita nebo sociální interakce (Monteiro et al., 2011).

Z grafu 7 vyplývá, že pohlaví koní nemělo na parazitaci vliv. Statistické analýzy neprokázaly významný rozdíl u podílu sledovaného pohlaví u koní bez výskytu (0) a s výskytem (1) parazitů ( $p=0,480$ ;  $R^2$  Tjur=0,001). Obdobně nebyl zjištěn vliv pohlaví na výskyt škrkavek ( $p=0,082$  a  $R^2$  Tjur=0,004) nebo strongylidních hlístic ( $p=0,942$  a  $R^2$  Tjur=0,000).

Zuk et McKean (1996) uvedli, že pohlavně dospělí samci obratlovců jsou často náchylnější k infekci a přenášejí vyšší zátěž parazity v terénu. Tato souvislost je založená na vztahu mezi testosteronem a imunitním systémem. Bucknell et al. (1995) uvedl, že strongylidy jsou více infikováni valaši než hřebci. Výsledky Francisco et al. (2009) ukázaly, že pohlaví mělo vliv na prevalenci škrkavek a strongylidních hlístic, přičemž klisny byly více infikované než hřebci/valaši. Toto se v naší práci nepotvrdilo. Kornaš et al. (2010) v souladu s poznatky Bucknell et al. (1995) odhadl, že pravděpodobnost vyšších hodnot EPG bude u valachů, než u hřebců a klisen. Naše zjištění ukazuje, že v případě počtů EPG je u obou pohlaví parazitární zatížení víceméně stejné, jako ve výsledcích Mughini Gras et al. (2011). U škrkavek zhodnotili Fabiani et al. (2016) šestnáct let trvající sledování a dospěli k závěru, že klisničky jsou k infekci škrkavkami náchylnější než hřebečci.

Sallé et al. (2018) uvedli, že u hřebců se jeden druh malého strongylida, *Cylicostephanus calicatus*, vyskytoval častěji než u klisen, což naznačuje pohlavně specifické interakce. Zastoupení různých rodů cyatostomních hlístic bylo vázáno na pohlaví. Dle Tomczuk et al., (2017) klisny vykazují 4,3× vyšší intenzitu napadení tasemnicemi než hřebci nebo valaši. S ohledem na nízký průkaz vajíček tasemnic ve vzorcích trusu koní nebyla takováto analýza v této práci provedena.

Zobecnování výsledků obou pohlaví může maskovat důležité interakce s hostitelským pohlavím a omezit užitečnost výsledků výzkumu pro vývoj strategií zaměřených na kontrolu parazitů. Je ale nutné vzít v úvahu, že u velkých hospodářských zvířat často není možnost, jak v rámci studie oddělit samce od samic v rámci chovu (Poulin et al., 2023).

### **Vliv péče o pastviny na výskyt parazitů u koní**

Jak již bylo výše řečeno, odstraňování nedopasků kolem výkalů, sběr a odstranění trusu z pastviny nebo praktikování střídavého pasení koní a přežvýkavců snižuje riziko přenosu infekce v rámci chovu (Hinney, 2009). Kromě tohoto parametru bylo hodnoceno ošetření pastvin vláčením. Statistická analýza neprokázala rozdíl mezi chovy, které vláčely pastviny a prováděly pravidelný sběr výkalů z pastvy a těmi, kde žádné zásahy nebyly prováděny ( $p=0,312$ ;  $R^2$  Tjur=0,002; graf 8).

### **Vliv péče o pastviny na výskyt strongylidních hlístic a škrkavek u koní**

Při porovnání vlivu péče o pastviny na jednotlivé skupiny parazitů jsme prokázali, že zatímco nebyl žádný rozdíl ve výskytu strongylidních hlístic v závislosti na ošetření pastviny ( $p=0,949$ ), u škrkavek bylo párovým testem prokázáno, že péče o pastviny má statisticky signifikantní vliv na přítomnost tohoto parazita v chovu ( $p=0,022$ , graf 8).

Je známo, že odstraňování trusu z pastvin má význam ve snížení infekčního tlaku. (Reinemeyer et Nielsen, 2013). Hromádky skybal na pastvinách vytváří celkem stabilní prostředí pro přežívání různých vývojových stádií parazitů a velmi záleží na klimatických podmínkách. V mírném klimatickém pásmu severní polokoule uhynou během zimního období infekční larvy a vajíčka (Kuzmina et al., 2006), zatímco tuhé zimy v Kanadě mohou vajíčka přežít (Polley, 1986). V oblastech, kde jsou zimy mírnější a nemrzne, mohou infekční larvy L3 přes zimu bez potíží přežít (Papini et al., 2014). Obecně platí, že čím je tepleji, tím rychleji larvy hynou – mají rychlý metabolismus a díky tomu, že nemají trávicí ústrojí, rychle spotřebují zásoby energie a uhynou. Ideální teplotou pro vývoj malých strongylidů je 10–33 °C. Tyto larvy mohou přečkat od podzimu do jarního návratu koní na pastviny (Baudena et al., 2000; Kuzmina et al., 2006). Odstraňování trusu z pastvin tradičním způsobem (sběr) je časově náročné, nicméně je možné využít i specializovanou mechanizaci (Eysker et al., 1986).

S tím souvisí i míra vlhkosti prostředí. Ačkoliv se koně při pastvě vyhýbají místům znečištěným trusem, je prokázáno, že larvy se nejčastěji zdržují právě v hromádkách skybal. K tomu, aby infikovaly koně, se musí tedy od trusu vzdálit, což je pro ně snazší při vyšší vlhkosti prostředí (Medica et al., 1996). Kromě teploty a vlhkosti v prostředí pastviny má vliv také délka trvání těchto faktorů (Grenfell et al., 1986). Půda je důležité refugium pro larvy L3, když tyto larvy získané z půdy byly mnohem životaschopnější než ty z trávy. Larvy nezůstávají v půdě pouze chráněny, pravděpodobně také šetří svou energii na migraci zpět nahoru, když převládají vhodnější/vlhké podmínky tak, aby maximalizovaly své šance na infekci vhodného hostitele (Knapp-Lawitzke et al., 2016).

Koně si vybírají oblast pro pasení alespoň jeden metr od potenciálně kontaminovaného prostředí, jako jsou hromádky skybal (Michel, 1995). Dle Fleurence et al. (2007) se koně vyhýbají místům s vysokou trávou, která je obecně horší kvality a oblastem s možným výskytem infekčních larev, což je vede k tomu, že při spásání trávy dávají přednost kratší trávě dál od míst, kam chodí kálet. Zvířata vykazující vysokou míru parazitární infekce, se budou kontaminovaným oblastem vyhýbat s větší pravděpodobností, než zvířata s nižší úrovní infekce (Seó et al., 2015).

Pasoucí se koně jsou s menší pravděpodobností vystaveni riziku infekce a klinického onemocnění prostřednictvím rotace pastvin (Relf et al., 2013). Po vhodné době (vysoce závislé zejména na klimatu) to umožní larvám L3 uhynout dříve, než mohou infikovat ostatní koně, a tráva znovu vyroste v jednom výběhu, zatímco koně spásají jiný. Von Samson-Himmelstjerna et al. (2002) uvedli, že přístup na pastvinu a sdílení jedné společné pastviny s ostatními koňmi byly s infekcí cyathostomy spojeny jen slabě.

Smišená pastva (koní společně se skotem nebo ovce) snižuje kontaminaci pastvin, protože přezvýkavci pozřou larvy koňských helmintů, pro které nejsou vhodní hostitelé, což narušuje jejich životní cyklus (Lloyd et al., 2000; Hoste et Torres-Acosta, 2011). FEC byl významně snížen, pokud se koně pásli společně se skotem (Forteau et al., 2020; Heckendorn et al., 2021). Koně a skot však spolu mohou sdílet infekci *Fasciola hepatica* (Quigley et al., 2020) a *Trichostrongylus axei* (Eysker et al., 1986).

Vliv na přenos parazitární infekce na pastvině může mít i velikost stáda a sociální hierarchie jednice (Halvorsen, 1986), přičemž podřízení jedinci jsou infikováni rychleji a více, než jedinci dominantní (Joly et al., 2023).

Pozor je také třeba dát na hnojení pastvin, které, pokud je prováděno koňským hnojem, zvyšuje riziko nákazy (Ertelt et al., 2015).

Tomczuk et al. (2017) došli k závěru, že vyšší FEC u infekce *A. perfoliata* měli koně chovaní na společných pastvinách, na rozdíl od těch, kteří byli pouštěni do výběhů individuálně.

### **Účinnost anthelmintik proti strongylidním hlísticím (FECRT) koní**

V rámci jednotlivých chovů byla stanovena účinnost používaných anthelmintik proti strongylidním hlísticím. Z celkového počtu 721 koní v 48 chovech byla v 11 chovech zjištěna jejich snížená účinnost. Vzorky se laboratorně vyhodnotily v den aplikace anthelmintika a poté znovu 14 dní po odčervení. Výsledky FECRT jsou uvedené v Tabulce 23.

Ivermectin vykazoval sníženou účinnost mezi 0–91,7 % na osmi farmách s LCL v rozmezí 99,7–98,7 %. Výsledky této práce korespondují se zjištěním Rosanowski et al. (2017), kteří v rámci své studie prokázali sníženou účinnost ivermectinu po 14 dnech od odčervení. Ve Velké Británii byla rezistence vůči makrocyclickým laktonům popsána teprve nedávno (Bull et al., 2023). Studie Vera et al. (2020) ale potvrdila, že makrocyclické laktony (ivermectin a moxidectin) jsou v mnoha místech světa ještě účinné. V Polsku (Zak et al., 2017) a v Německu (Fischer et al., 2015) je popsána efektivita ivermectinu bez rezistence. Dokonce i v populaci koně Převalského je ivermectin efektivní (Tang et al., 2020).

FECRT hodnoty pro fenbendazol použitý ve dvou chovů dosahovaly 38,3 % a 43,7 % při LCL 87,43 %, respektive 89,85 %. Obdobně snížená účinnost fenbendazolu byla popsána v řadě studiích zahraničních autorů, například v Brazílii (Molento et al., 2008; Vera et al., 2020), Itálii (Traversa et al., 2009a, Zanet et al., 2021), na Ukrajině (Kuzmina et Kcharchenko, 2008), Litvě (Dauparaitė et al., 2022), ale publikované výsledky jsou i z České republiky (Nováková et Koudela, 2006). Ve Francii byla zjištěna rezistence vůči fenbendazolu téměř na



všech farmách zahrnutých do studie (17 z 18), s průměrným snížením o 57 % (Traversa et al., 2012).

Pyrantel byl použit pouze v jednom chovu. Hodnoty FECRT v tomto chovu dosáhly pouze 55,5 % s LCL dosáhl 93,65 %. U pyrantelu je situace ve světě obdobná, jako u předchozích dvou účinných látek, sníženou efektivitu potvrdila studie z Itálie (Zanet et al., 2021), avšak další studie provedená v Itálii (Sardinie), uvedla, že všechny použité látky jako IVM, MOX, PYR, FEB jsou účinné a nebyla zjištěna rezistence (Sanna et al., 2016). Nižší účinnost či rezistence byla prokázána i ve studii Traversa et al. (2012), kdy došlo k průměrné redukci o 94,7 %.

Při použití moxidectinu nebyla v žádném ze sledovaných chovů stanovena snížená účinnost, stejně jako uvedli Vera et al. (2020). Studie z Austrálie (Abbas et al., 2021) rezistenci vůči moxidectinu prokázala. Na druhou stranu Prichard et Geary (2019) uvedli, že použití moxidectinu u populací parazitů rezistentních vůči ivermectinu může být efektivní. Dle tabulky 11 (AAEP, 2013) je zřejmé, že používání výše zmíněných účinných látek v daných chovech nemusí být do budoucna účinné.

Kromě výše popsaných skutečností se mohou v chovech vyvinout i rezistence pro více účinných látek současně, jako např. ve studii Traversa et al. (2012), Traversa et al. (2009b), Lyons et al. (2011) či Abbas et al. (2021).

Bylo prokázáno, že selektivní terapie může přispět ke snížení rizika vzniku rezistencí v chovech (Alm et al., 2023), stejně jako méně časté dávkování anthelmintik v průběhu roku. Ve státech, kde jsou anthelmintika na předpis a kde jsou koně pravidelně (dvakrát ročně) koprologicky vyšetřovány může selektivní terapie snížit riziko rozvoje rezistence (Larsen et al., 2011). Vliv selektivní terapie na rozvoj rezistence je závislý na klimatu a ročním období, pokud selektivní terapii provádíme na jaře, rozvoj rezistence se zpomaluje (Nielsen et al., 2019). Modelové simulace ukázaly, že léčebný režim celého stáda s alespoň čtyřmi léčbami makrocyclickými laktony ročně vedl 2–3× rychleji k rozvoji rezistence než kterýkoli z alternativních léčebných režimů (Geurden et al., 2021). Určitým varováním nadcházejícího rozvoje rezistence může být zkrácená doba ERP (egg reappearance period), tedy doba, za kterou jsou po odčervení detekována vajíčka parazitů (AAEP, 2013, Nielsen et al., 2022).

### **Kryptosporidiové infekce u koní**

Koně jsou hostitelé tří druhů kryptosporidií. Zatímco druh *C. equi* je specifický pro koně, druh *C. hominis* je specifický pro člověka a v případě *C. parvum* pro všechny savce. Dříve provedené studie prokázaly prevalenci u hřibat na základě pouze mikroskopického vyšetření v rozsahu 0–100 %, zatímco u dospělých koní 0–27 % (Himonas et al., 1998; de Souza et al., 2009; Papazahariadou et al., 2009; Carminatti et al., 2023).

Mikroskopické vyšetření trusu neprokázalo u žádného z vyšetřovaných koní přítomnost oocyst kryptosporidií. Prevalence kryptosporidií u koní je závislá na stáří jedince a metodě detekce oocyst. Z různých studií vyplývá, že hříbata a mladí věkové kategorie koní jsou náchylnější k infekci kryptosporidii v porovnání se staršími zvířaty (Burton et al., 2010; Veronesi et al., 2010; Perucci et al., 2011). Tak použití při použití klasických parazitologických metod je procento záchytu výrazně nižší než při použití molekulárních analýz (Xiao et Herd, 1994; Majewska, 1999; de Souza et al., 2009; Veronesi et al., 2010; Laatumna et al., 2015; Wagnerová et al., 2015).

V rámci spolupráce s Wroclawskou lékařskou univerzitou jsme byly požádáni o provedení detekce kryptosporidií u třináctileté dívky, která byla léčena s revmatoidní artritidou a Crohnovou chorobou a u níž byly detekovány dlouhodobé zažívací obtíže, které se svým charakterem odlišovali od běžných příznaků výše zmíněných chorob. Pacientka byla hospitalizována pro opakované gastrointestinální recidivy, včetně průjmu, horečky (teplota >38,5 °C) a křečí v břiše. Vzorky stolice byly testovány na panel v první fázi diagnostiky testovány na přítomnost gastrointestinálních bakterií, konkrétně *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia* a *Clostridium difficile*. Výsledky těchto vyšetření byly negativní. V druhé fázi byly vzorky testovány na přítomnost parazitických protist, zahrnující mikroskopické vyšetření na přítomnost oocyst *Cryptosporidium* spp., *Giardia intestinalis* a *Cyclospora cayatanensis* a PCR test na detekci specifické DNA *Encephalitozoon* spp., *Enterocytozoon bieneusi*, tedy parazitů, kteří by mohli mít přímou souvislost s gastrointestinálními obtížemi. Opakované vyšetření stolice prokázalo přítomnost oocysty *Cryptosporidium* sp. v intenzitě infekce od 20 000 od 60 000 oocyst v jednom gramu stolice. Ostatní analýzy byly negativní.

Fylogenetické analýzy malé podjednotky rRNA ukázaly přítomnost *Cryptosporidium equi* (dříve známého jako *Cryptosporidium* sp. horse genotyp). Subtypizace na genu *gp60* ukázala, že detekovaný subtyp A15G4 patří do rodiny VIa.

Následný lékařský rozhovor ukázal, že pacientka jezdila na koni jednou týdně na jízdárně. Proto byly odebrány vzorky trusu od všech 10 koní ve stáji a bylo provedeno parazitologické vyšetření na přítomnost oocyst a současně i PCR detekce specifické DNA *Cryptosporidium* spp. Žádný z vyšetřovaných koní nevyučoval mikroskopicky detekovatelné oocysty *Cryptosporidium* ani nevykazoval známky kryptosporidiózy.

Kryptosporidiové infekce mohou mít subklinický až fatální průběh (Santín, 2013). Kryptosporidióza koní je většinou spojována s infekcí druhem *C. parvum*, a to zejména u mladších věkových kategorií (Ryan et al., 2003; Grinberg et al., 2008; Grinberg et al., 2009; Imhasly et al., 2009; Chalmers et Giles, 2010; Veronesi et al., 2010; Wagnerová et al., 2015).

Ve studii Carminatti et al. (2023) bylo 13 % zvířat pozitivních bez jakýchkoli klinických příznaků.

Kůň, na kterém pacientka jezdila, byl PCR pozitivní na *C. equi*. Srovnávací analýzy prokázaly, že izolátem z pacientky byl identický s izolátem z koně (obrázek 5). Pacientka po diagnóze přestala docházet do stáje. Symptomy ustoupily do 2 týdnů bez specifické léčby zaměřené přímo na kryptosporidie. Po 2 měsících od diagnózy a následně během 1 roku sledování nebyly u pacientky pozorovány žádné exacerbace základního onemocnění.

Zdokumentování přímého přenosu *Cryptosporidium* sp. ze zvířete na člověka je vzácná. Ve většině případů infekcí způsobených pro zvířata specifickými kryptosporidii pacienti neuvádějí přímý kontakt s daným hostitelem, který je zdrojem infekce. Naše zjištění prokazuje přímý přenos *C. equi* z koně na člověka.

Kromě tohoto případu jsou publikovány i další nálezy *C. equi* u lidí, konkrétně ve Velké Británii (Robinson et al., 2008) a Novém Mexiku (Xiao et al., 2009). Osoby infikované ve Velké Británii a v Novém Mexiku byly na rozdíl od našeho případu dospělí, imunokompetentní pacienti. Žena z Velké Británie neudávala v předchozích týdnech žádný kontakt se zvířetem. Muž z Nového Mexika měl kontakt s jinými zvířaty, ale ne s koňmi. Zásadní rozdíl mezi námi popsáným případem a výše popsánými případy je v detekovaném subtypu *C. equi*. Zatímco námi sledovaná pacientka měla subtyp VIa, který se téměř výhradně vyskytuje u koní a koňovitých a ostatní pacienti byly infikováni subtypem VIb, který byl nalezen téměř výhradně u lidí a u koní se nevyskytuje (obrázek 5). Kromě lidí byl subtyp VIb popsán i u ježků (Abe et Matsubara, 2015) a veverek (Xu et al., 2022), kteří mohou představovat zdroj infekce.

Patofyziologie Crohnovy choroby je úzce spojena s poruchami střevního mikrobiomu, ale toto onemocnění a jeho příčiny zůstávají nedostatečně pochopeny. Vzhledem k nevyšvětlené etiologii neexistuje žádná specifická léčba; imunosupresivní léky se používají ke snížení zánětu, dosažení remise nebo prevenci exacerbace. Imunosupresivní terapie způsobují zvýšenou náchylnost k oportunním patogenům, jako jsou *Cryptosporidium* spp., a omezené údaje naznačují, že infekce *Cryptosporidiiem* u pacientů se zánětlivým onemocněním střev (IBD) není vzácná (Colussi et al., 2010), přestože protisty jsou při diagnostických testech často přehlíženy. Manifestace střevní kryptosporidie může být zaměňována s příznaky Crohnovy choroby a dalších relapsů IBD. Je potřeba uvažovat o atypických zdrojích infekcí, včetně kryptosporidií, u osob s IBD, zvláště pokud podstupují imunosupresivní léčbu. Stav imunitního systému je kritickým determinantem klinického průběhu kryptosporidiové infekce. I přes imunosupresivní terapii bylo pozorováno úplné vymizení infekce *C. equi* bez specifické léčby. V tomto ohledu byla infekce více podobná případu samovolně odeznívajícího průjmu u imunokompetentní osoby než chronickému a život ohrožujícímu onemocnění, které je často

spojeno s imunokompromitovanými osobami (Hunter et al., 2007). Naše zjištění naznačují, že kombinace Crohnovy choroby a revmatoidní artritidy a imunomodulační léčby může zvýšit pravděpodobnost infekce *Cryptosporidium* spp. které nejsou pro člověka běžně infekční.

### **Parazitární infekce skotu**

#### **Jaterní a bachorové motolice**

Vzorky trusu pro studium výskytu motolic a účinnosti antiparazitik byly získány na 66 farmách skotu bez tržní produkce mléka a 67 farmách s chovem dojného skotu, jejichž rozmístění v rámci České republiky je uvedeno v obrázku 6.

Mikroskopické vyšetření vzorků trusu od 1 724 kusů krav bez tržní produkce mléka a 2 941 kusů mléčného skotu odhalilo přítomnost vajíček motolice bachorové (*Calicophoron daubneyi*) u 227 zvířat. Z toho 223 bylo zjištěno v 11 ze 66 chovů skotu bez tržní produkce mléka (18,2 %), zatímco čtyři byly zjištěny na jedné (D23) ze 67 mléčných farem (1,4 %). Kromě toho byla u pěti zvířat na farmě B59 zjištěna smíšená infekce bachorovými a jaterními motolicemi (tabulka 24).

Území České republiky je historicky spojeno s výskytem motolic bachorových (*Paramphistomum cervi*, *P. ichikawai* a *Calicophoron microbathrium*) a *Fasciola hepatica* u pasoucích se domácích i volně žijících přežvýkavců (Hovorka, 1963; Kotrlá et Chroust, 1978; Kotrlá et Kotrlý, 1982). Za posledních 20 let však nebyl proveden žádný systematický výzkum. V souladu s nedávnou studií Červené et al. (2022) jsme zjistili, že *C. daubneyi* je převládající druh motolice parazitující na skotu v České republice. Procento pozitivních farem v této studii je srovnatelné s předchozími studii provedenými v podobných regionech. Podobné rozdíly ve výskytu motolic bachorových a jaterních mezi regiony byly hlášeny v Nizozemsku, Německu, Spojeném království, Itálii, Irsku a Španělsku (Cringoli et al., 2004; Martinez-Valladares et al., 2013; Jones et al., 2017; Ploeger et al., 2017; Munita et al., 2019; Garcia-Dios et al., 2020; Bosco et al., 2021; Fenemore et al., 2021; Forstmaier et al., 2021; Alstedt et al., 2022). Další studie Wiederman et al. (2021) potvrdila výskyt *C. daubneyi* na území Rakouska.

Z každého pozitivního stáda v rámci každého odběru byly náhodně vybrány tři vzorky trusu pozitivní na vajíčka bachorové nebo jaterní motolice a genotypizovány. Všech 75 vzorků bylo úspěšně amplifikováno a sekvenováno. Molekulární analýzy genu kódujícího ITS-2 rDNA získaného ze vzorků s vajíčky motolice bachorové byly navzájem identické a prokázaly 100% homologii s oblastí ITS-2 *C. daubneyi* (GenBank č. KP201674). Sekvence oblasti ITS-2 *F. hepatica* získané z masného skotu v této studii byly identické mezi sebou navzájem i sekvence *F. hepatica* uloženými v GenBank (MF678650).

Naproti tomu studie Červené et al. (2022) vykázala výrazně vyšší procento pozitivních farem (63 %). Rozdíl mezi těmito studii může být ovlivněn regiony, ve kterých byly studie provedeny. Přibližně 50 % pozitivních farem ve studii Červené et al. (2022) byly v regionech České republiky, které nebyly zahrnuty do této studie. Výhradní rozšíření *C. daubneyi* v České republice na úkor druhů rodu *Paramphistomum* může být způsobeno dostupností mezihostitelů. Zatímco mezihostitelé *Paramphistomum* spp. jsou planorbidní vodní plži, *C. daubneyi* je adaptován na *Galba truncatula* a další plže nadčeledi Lymnaeidea (Vignoles et al., 2017), kteří jsou hojnější v regionech České republiky, kde jsou lokalizovány převážně farmy skotu bez tržní produkce mléka (Červená et al., 2022).

To by však mělo znamenat, že *F. hepatica*, která se vyvíjí ve stejných mezihostitelích, bude široce rozšířena ve stejnou dobu a na stejných místech (Abrous et al., 2000; Martínez-Ibeas et al., 2013). Kromě toho experimentální studie ukázaly, že *C. daubneyi* a *F. hepatica* mohou infikovat stejného hostitele a že cercárie *F. hepatica* uvolněné z mezihostitele jsou dvakrát častější než *C. daubneyi* (Vignoles et al., 2017). Zatímco mnoho nedávných studií v Evropě odhalilo vysoký výskyt *F. hepatica* u domácích přežvýkavců (Kozłowska-Loj, 2011; Mazeri et al., 2017; Forstmaier et al., 2021; Opsal et al., 2021), v souladu s předchozími studii provedenými v ČR jsme na vyšetřovaných farmách zjistili nízký výskyt této motolice (Zmuda et Chroust, 2002; Kváč, 2003; Červená et al., 2022).

Prevalence *C. daubneyi* v rámci stáda byla 12,9 % (233/1 724) u skotu bez tržní produkce mléka a 0,1 % (4/2 941) na mléčných farmách. Na úrovni farem byla prevalence *C. daubneyi* na většině pozitivních farem (9/12) nad 80 % (tabulka 24). Průměrný počet vajíček *C. daubneyi* na gram trusu se mezi farmami lišil a pohyboval se od 3 do 144 EPG. Nejvyšší FEC (589 EPG) byl zjištěn na farmě B42, kde byl také zjištěn nejvyšší průměrný EPG (tabulka 25). U zvířat se smíšenou infekcí *F. hepatica* a *C. daubneyi* byl významný rozdíl v FEC; 5 vs 53 EPG.

Účinnost anthelmintik používaných proti *C. daubneyi* a *F. hepatica* byla sledována na osmi z 11 farem v rámci dvou až tří po sobě jdoucích aplikací s intervalem 5–6 měsíců mezi aplikacemi (tabulka 25). Na třech farmách (B11, B33 a B36) nebyla použita anthelmintika; proto nebyly tyto chovy zahrnuty do hodnocení anthelmintické účinnosti (tabulka 25). Ivomec (Merial, Lyon, Francie) byl použit na pěti farmách (B7, B15, B31, B49 a B55). Léčba proti *C. daubneyi* nebyla efektivní, účinnost se pohybovala od 0 do 5 % ( $p > 0,05$ , tabulka 25). Podobné výsledky byly pozorovány při použití Aldifalu 100 a closamectinu. V souladu s nízkou účinností na FEC nedošlo po léčbě ke snížení počtu infikovaných zvířat. Distocur (Merial, Lyon, Francie; 10 mg oxyklazanidu živé hmotnosti) byl použit na dvou farmách (tabulka 25). Koprologické výsledky 21 dní po aplikaci ukázaly 100% účinnost proti *F. hepatica* a *C. daubneyi* (tabulka 25). K dalšímu zkoumání účinnosti přípravku Distocur byla zvířata na těchto

farmách znovu vyšetřena šest měsíců po aplikaci tohoto anthelmintika. Výsledky ukázaly, že žádné zvíře nebylo pozitivní na *F. hepatica* a že FEC a počet zvířat infikovaných *C. daubneyi* byly sníženy na obou farmách (tabulka 25,  $p < 0,05$ ).

Většina anthelmintik, jako je triclabendazol, albendazol, ivermektin a klosantel, které jsou běžně používány proti *F. hepatica*, nejsou účinné proti motolicím parazitujícím v bachoru (Probert et al., 1981; Rolfe et Boray 1987, Rolfe et Boray 1988; O'Shaughnessy et al., 2018; Fenemore et al., 2021). To by mohlo vysvětlit nízký počet zjištěných případů infekce *F. hepatica* v naší studii. Celkem osm z 11 farem (72 %), kde byly motolice zjištěny, používalo anthelmintika, která jsou účinná proti *F. hepatica*, ale neúčinná proti *C. daubneyi*. Kromě dvou farem, kde byl oxyklozanid používán opakovaně, nebylo toto anthelmintikum použito na žádné jiné farmě v této studii. V souladu s předchozími studiemi u skotu a ovcí (Paraud et al., 2009; Sanabria et al., 2014; Delafosse, 2022) se použití oxyklozanidu ukázalo jako velmi účinné. Navíc studie Huson et al. (2021) popsala dobrou účinnost oxyklozanidu v kombinaci s praziquantelem. Ve všech námi sledovaných případech mělo ošetření 100% účinnost na dospělé motolice a zamezilo vylučování vajíček do prostředí. Přestože se infekce *C. daubneyi* objevila u léčených zvířat 5–6 měsíců po léčbě, došlo k významnému poklesu FEC a počtu infikovaných zvířat. Opakovaný výskyt může být způsoben reinfekcí nebo skutečností, že oxyklozanid je účinný pouze proti dospělým motolicím.

Přístup na pastvu se zdá být kritickým předpokladem pro výskyt motolice u chovných zvířat. Zatímco skot bez tržní produkce mléka se pase téměř celoročně (v závislosti na klimatickém pásmu), dojný skot je častěji ustájen uvnitř a má omezený nebo žádný přístup na pastvu. V rámci našeho sledování jsme detekovali infekci *C. daubneyi* u čtyř krav na mléčné farmě, kde zvířata neměla přístup na pastvu a byla krmena objemným krmivem (siláž, seno) a náhražkami. Protože metacerkárie *F. hepatica* zůstávají životaschopné v sušeném seně po dobu 50 dnů (Enigk et Hildebrandt, 1964), předpokládáme, že seno mohlo být zdrojem infekce *C. daubneyi* u dojnic, které nebyly paseny. Toto zjištění naznačuje, že přítomnost této motolice ve zmíněném chovu je pravděpodobně spojena s kontaminací objemovým krmivem volně žijícími přežvýkavci sloužícími jako rezervoár těchto motolic.

Výsledky této studie ukazují dominantní prevalenci *C. daubneyi* a nízkou prevalenci *F. hepatica* u masného skotu v České republice, což souvisí s běžně používanými anthelmintiky. Oxyklozanid je jedním z mála účinných anthelmintik proti *C. daubneyi* a jeho širší použití by mohlo vést ke snížení výskytu této motolice a také *F. hepatica* na farmách s chovem skotu bez tržní produkce mléka. Je však třeba poznamenat, že oxyklozanid není v současné době v České republice registrován pro veterinární použití.

## **Kryptosporidiové infekce telat**

Skot je vnímavý k infekci čtyř druhů kryptosporidií (Kváč et al., 2011; Wang et al, 2017), zatímco infekce druhu *C. andersoni*, *C. bovis* a *C. ryanae* není spojována s klinickou kryptosporidíou, druhu *C. parvum* je příčinnou závažných průjmových infekcí telat (Kváč et Vítovec, 2003; Fayer et al., 2008).

V rámci této práce bylo v první skriningové fázi vyšetřeno 340 vzorků trusu telat v 1–2 týdnech stáří v 17 chovech mléčného skotu. Mikroskopické vyšetření prokázalo přítomnost oocyst kryptosporidií ve všech vyšetřovaných chovech. Ve většině vyšetřovaných chovů byla zjištěna 90–100% prevalence, vyjma chovu č. 11, kdy byla detekována prevalence 50 % (tabulka 26).

Molekulární analýzy vzorků prokázaly u všech zvířat přítomnost *C. parvum*. Subtypizace na genu gp60 ukázala, že většině chovů byl detekován jen jeden subtyp *C. parvum* (tabulka 27). V chovech č. 7 a 9 byly detekovány dva subtypy (tabulka 24). Nejčastěji byl detekován subtyp IIA15G2R1, který byl detekován v osmi sledovaných chovech u 149 telat. Nejméně často byl detekován subtyp IIA16G1R1 zjištěný pouze v jenom chovu (tabulky 26 a 27)

Je třeba poznamenat, že rozšíření subtypu IIA13G1R1 je celosvětově poměrně vzácné, jak naznačují molekulárně-epidemiologické studie. Tento konkrétní subtyp byl dosud zaznamenán pouze u telat ve Španělsku, jak uvádí Díaz et al. (2010). Podobně subtyp IIA17G1R1 má omezený výskyt, a byl dosud identifikován v Maďarsku (Plutzer et Karanis, 2007) a ve Slovinsku (Soba et Logar, 2008).

V České republice jsou podle Kváč et al. (2011) nejčastěji detekovanými subtypy *C. parvum* subtypy IIA16G1R1 a IIA15G2R1. Je zajímavé poznamenat, že subtyp IIA15G2R1 je současně nejběžnější variantou nalezenou po celém světě, jak naznačuje Yasur-Landau et al. (2021) či Hoque et al. (2022).

## **Vliv léčby na průběh a intenzitu kryptosporidiové infekce telat**

Na základě výsledků byly vytypovány chovy s výskytem shodných subtypů *C. parvum*, kde byly používána léčivá veterinární přípravky proti kryptosporidiím a chovy bez využití těchto přípravků. Do studie byly zařazeny chovy s výskytem subtypu IIA15G2R1. Byly vybrány chovy 1, 2, 8 a 14 jejichž technologie odchovu, způsob uspořádání venkovních individuálních boxů a napájení byly obdobné. Navíc všechny chovy používaly shodnou mléčnou krmnou náhražku pro krmení telat. V chovech 1 a 2 byl využíván veterinární léčivý přípravek (VLP) GABBROVET SOL (Ceva Santé Animale, Francie) v dávce 2,5 ml přípravku/10 kg živé hmotnosti/den v mléčné krmné náhražce po dobu 5 dnů od první detekce průjmového skóre 2 a více. Ve zbylých dvou chovech byla používána symptomatická léčba. Od prvního dne detekce

průměrného skóre 2 bylo do mléčné krmné náhražky přidáváno živočišné uhlí po dobu pěti až sedmi dnů. Terénní studie zjistily, že sloučeniny obsahující aktivní uhlí mohou snížit klinické příznaky spojené s průměm vyvolaným *Cryptosporidium* spp. u skotu (Watarai et al., 2008; Paraud et al., 2011).

V tabulce 28 je znázorňuje vliv léčby na intenzitu infekce. Slabá infekce (1) byla zaznamenána v 9 %, středně silná infekce (2) v 13 % a jen 1 % bylo zastoupeno silnou infekcí. Masivní infekce nebyla detekována u žádného z léčených zvířat, ve skupině neléčených telat se masivní infekce vyskytla v 79 případech (9 %). Negativní jedinci ve skupině léčených vs. neléčených tvořili podíl 77 % resp. 50 %. Dále ve skupině neléčených telat byla zjištěna slabá i středně silná infekce, obě s podílem 13 % a silná infekce, která měla 15% zastoupení.

Byl statisticky průkazně potvrzen vliv léčby kryptosporidíózy ( $p < 0,001$ ) na intenzitu infekce pomocí reziduální četnosti infekcí. U skupiny zvířat bez léčby byl pozorován nižší počet očekávaných průměrných stavů pouze v případě zvířat bez klinických příznaků, ve všech ostatních skupinách byly hodnoty vyšší než očekávané. Nejvýraznější navýšení počtu reziduálních četností bylo v případě silných infekcí u skupiny bez léčby, a to o 69 případů oproti očekávání. V případě masivní infekce (4) bylo očekávané navýšení o 40 případů. V případě skupiny zvířat s léčbou je situace opačná, kdy jsou proti očekávání vyšší čísla jedinců bez klinických příznaků než u středně silné infekce (2). O 45 případů méně oproti očekávání lze pozorovat v případě silné (3) a také o 26 případů méně v případě masivní (4) infekce (tabulka 29).

V tabulce 30 je znázorněn výskyt průměrných stavů při infekci *C. parvum* a různé strategie léčby. Nebyl zjištěn podstatný rozdíl v procentu zvířat s konzistencí výkalů skóre 1 (Měkké a neдрží tvar, ale neteče). Od skóre 2 bylo vyšší procento případů zaznamenáno vždy u skupiny bez léčby (tabulka 30). Infekce (2) byla pozorována v 15 % případů u léčených a v 18 % u neléčených telat. Silná infekce (3) byla zaznamenána pouze u 2 % léčených telat a 35 % neléčených.

Také u klinických příznaků byl statisticky průkazně potvrzen vliv léčby kryptosporidíózy ( $p < 0,001$ ) na výskyt klinických příznaků pomocí reziduální četnosti infekcí. Největší rozdíl mezi skupinami je ve skupině 3 (tabulka 31), kdy navýšení počtu četností u skupiny bez léčby bylo o 153 případů, a naopak snížení oproti očekávaným hodnotám u skupiny s léčbou o 97 případů. Podobně tomu tak bylo i u pozorování skóre 0, což odpovídá normálnímu charakteru trusu u zdravých zvířat. Reziduální četnosti se opět lišily oproti očekávaným hodnotám, kdy u skupiny bez léčby došlo k poklesu u 194 případů a u infekcí léčených zvířat k nárůstu o 84 případů.



V tabulce 31 jsou znázorněny reziduální četnosti, což jsou očekávané četnosti odečtené od pozorovaných. Hodnota  $p < 0,001$ , tedy rozdíl mezi pozorovanými a očekávanými četnostmi je statisticky vysoce významný. Potvrdil se rozdílný výskyt zvířat s různou intenzitou klinických příznaků ve sledovaných skupinách. Dle očekávání bylo méně případů bez příznaků zaznamenáno ve skupině bez léčby (o 194) a naopak se výrazně navýšil počet zvířat se stupněm 3 (o 96) a 4 (o 57) oproti očekávání. Bez léčby bylo tedy zaznamenáno více pozitivních případů s těžším průběhem. Opačná situace byla pozorována ve skupině s léčbou, kde byl očekávaný vyšší počet zvířat bez klinických příznaků a to u 84 kusů. Byly zaznamenány nižší počty zvířat s klinickými příznaky stupně 3 a 4 (o 59, resp. o 38). Celkově lze vidět efekt léčby průjmu u sledovaných zvířat.

Výsledky korespondují se zjištěním Geurden et al. (2006), kdy po léčbě paromomycinem poklesla intenzita infekce a došlo k utlumení průjmu. Fayer et Ellis (1993) uvedli, že profylaktické podávání paromomycinu snižuje trvání a závažnost průjmu, stejně jako trvání a intenzitu vylučování oocyst u telat experimentálně infikovaných *C. parvum*. Podobné výsledky byly hlášeny v kontrolované zaslepené terénní studii přirozené infekce u telat, ale léčená skupina začala vylučovat oocysty a po vysazení léčby se rozvinul průjem (Grinberg et al., 2002). Paromomycin, stejně jako mnoho aminoglykosidů, je však potenciálně nefrotoxický a po léčbě u mladých zvířat byly pozorovány škodlivé účinky na růst (Viu et al., 2000). U malých přežvýkavců je paromomycin účinnější, pokud se použije profylakticky. Léčba snižuje vylučování oocyst i závažnost klinických projevů (Mancassola et al., 1995; Johnson et al., 2000).

Halofuginon (0,06 až 0,12 mg/kg živé hmotnosti denně per os) zlepšil klinický stav a snížil vylučování oocyst trusem a mortalitu v závislosti na dávce u telat s experimentálně vyvolanou kryptosporidiovou infekcí (Naciri et al., 1993). Výsledky z České republiky ukázaly, že halofuginon (0,1 mg/kg tělesné hmotnosti denně po dobu 7 dnů, perorálně) snižoval intenzitu průjmu a počet oocyst v trusu (Klein, 2008). Halofuginon (0,1 mg/kg živé hmotnosti denně perorálně) je účinnou léčbou kryptosporidiového průjmu u telat (Constable, 2009), i když je negativně spojena s nárůstem hmotnosti (Niine et al., 2018). Kombinace efektivních preventivních léků, včetně halofuginonu, a správných postupů v chovu zvířat umožňuje efektivní kontrolu kryptosporidiové infekce (De Waele et al., 2010).

## ZÁVĚRY

- V rámci této práce lze konstatovat, že u koní byla nejvyšší prevalence zjištěna u strongylidních hlístic, následovaná škrkavkami. Hádě koňské se podařilo detekovat pouze v 15 případech ze 721 sledovaných koní, tasemnice byla zaznamenána u 6 jedinců.
- Nejvyšší intenzitu infekce parazity vykazovali mladší koně. S narůstajícím věkem jedince klesá jak intenzita infekce, tak i druhové zastoupení jednotlivých parazitů. Byl prokázán vliv věku na výskyt tasemnic.
- Koně chovaní bez přístupu na pastvinu nebo do výběhu byli významně méně parazitováni strongylidními hlísticemi než koně, kteří tuto možnost měli.
- U koní chovaných pastevně a v boxovém ustájení s přístupem do výběhu byla zjištěna vyšší pravděpodobnost výskytu infekcí škrkavkou koňskou.
- Nebyl prokázán vliv pohlaví na výskyt parazitů.
- Při porovnání vlivu péče o pastviny na jednotlivé skupiny parazitů jsme prokázali, že zatímco nebyl žádný rozdíl ve výskytu strongylidních hlístic v závislosti na ošetření pastviny, u škrkavek bylo párovým testem prokázáno, že péče o pastviny má statisticky signifikantní vliv na přítomnost tohoto parazita v chovu.
- Z vyšetřených 48 chovů koní se snížená účinnost použitých anthelmintik prokázala u 11 chovů.
- Koně mohou představovat netypické zdroje infekce kryptosporidií u jedinců s poruchami imunity nebo s imunosupresivní léčbou.
- Výsledky této práce ukazují, že *C. daubneyi* je dominantní motolici parazitující u paseného skotu. Byla prokázána nízká prevalence *F. hepatica* u skotu v České republice, což souvisí s běžně používanými anthelmintiky.
- Antiparazitika na bázi albendazolu, ivermectinu a closantelu nebyla efektivní při léčbě *C. daubneyi*.
- Oxyclozanid byl účinný proti *C. daubneyi* a jeho rozšířenější používání by mohlo vést ke snížení výskytu této motolice a také *F. hepatica* na farmách s chovem skotu.
- Byl prokázán pozitivní vliv léčby paromomycinem na statisticky významné snížení intenzity infekce a intenzitu průjmu u zvířat s přirozenou infekcí *C. parvum*. Nicméně i přes absenci symptomů kryptosporidíózy u léčených telat představují zvířata stále významný zdroj oocyst a promoření prostředí.
- Symptomatická léčba kryptosporidíózy telat neměla významný vliv na snížení infekce a nástupu klinické kryptosporidíózy.

- Dominantním subtypem druhu *C. parvum* je České republice IIaA15G2R1.
- Telata představují významný zdroj *C. parvum* pro člověka.
- Lidé přicházející do kontaktu s telaty, která vykazují klinické příznaky kryptosporidiózy, by měli dbát zvýšené osobní hygieny a používat osobní ochranné prostředky.