

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

KATEDRA ZOOTECHNICKÝCH VĚD

AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE

Ing. Nikola Havrdová

České Budějovice 2023

AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE

Doktorand: Ing. Nikola Havrdová

Studijní program: Zootechnika

Studijní obor: Obecná zootechnika

Název práce: Diagnostika parazitárních onemocnění a úspěšnost vybraných terapeutických postupů u lichokopytníků a sudokopytníků

Školitel: prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.

Školitel specialista: MVDr. Silvie Hlavinková

Oponenti:

doc. Dr. Ing. Zdeněk Havlíček

MVDr. František Kouba, Ph.D.

doc. MVDr. Josef Illek, DrSc.

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

Souhrn

Tato disertační práce se zabývala diagnostikou a terapeutickými postupy při léčbě parazitárních onemocnění u lichokopytníků a sudokopytníků vybranými anthelmintiky. V letech 2020 – 2023 bylo v rámci České republiky mikroskopicky vyšetřeno na přítomnost nematod, trematod nebo cestod ve vzorcích výkalů 5 359 sudokopytníků a 819 lichokopytníků, konkrétně – skotu, ovcí, koz, praturů, muflonů, jelenů, zubrů, bizonů, koní, oslů a poníků. Molekulárně bylo na přítomnost trematod vyšetřeno 76 vzorků skotu, 26 vzorků zubrů a 52 vzorků bizonů, kde byla prokázána přítomnost *C. daubneyi*. Parazitární infekce byly sledovány u přirozeně infikovaných jedinců a během studie nebyly u žádného monitorovaného jedince zpozorovány klinické příznaky prokazující parazitární infekci. Nejvíce parazitárních infekcí bylo vyhodnoceno pro *H. contortus*, *O. ostertagi*, *M. benedeni*, *C. daubneyi* a *A. perfoliata*. V rámci disertační práce bylo zvoleno celkem deset anthelmintik dostupných v České republice se zaměřením na jednotlivé kategorie parazitárních infekcí u různých druhů zvířat. Na základě laboratorních analýz testů LDA byl určen druh nematody dle vývojového stádia larev, který při terapeutické léčbě pomohl zvolit vhodné anthelmintikum. Závěrem lze konstatovat, že u terapeuticky léčených jedinců hospodářských zvířat byla prokázána účinnost téměř u všech anthelmintik.

Klíčová slova: prevalence; sudokopytníci; lichokopytníci; parazitární infekce; nematoda; trematoda; cestoda; anthelmintika.

Summary

This dissertation dealt with the diagnosis and therapeutic procedures for the treatment of parasitic diseases in odd-toed and even-toed ungulates with selected anthelmintics. Between 2020 – 2023, 5.359 artiodactyls and 819 solipeds, namely cattle, sheep, goats, aurochs, mouflon, deer, bison, bison bonasus, horses, donkeys and ponies, were microscopically examined for the presence of nematodes, trematodes or cestodes in faecal samples in the Czech Republic. Molecularly, 76 cattle samples, 26 bison bonasus samples and 52 bison samples were examined for the presence of trematodes and *C. daubneyi* was detected. Parasitic infections were monitored in naturally infected individuals, and during the study no clinical signs suggestive of parasitemia were observed in any of the monitored individuals. The most parasitic infections were evaluated for *H. contortus*, *O. ostertagi*, *M. benedeni*, *C. daubneyi* and *A. perfoliata*. As part of the dissertation, a total of ten anthelmintics available in the Czech Republic were chosen, focusing on individual categories of parasitic infections in various animal species. Based on laboratory analyzes of LDA tests, the species of nematode was determined according to the developmental stage of the larvae, which helped to choose the appropriate anthelmintic during treatment. In conclusion, it can be stated that almost all anthelmintics have been shown to be effective in therapeutically treated farm animals.

Key words: prevalence; artiodactyls; solipeds; parasitic infections; nematodes; trematodes; cestodes; anthelmintics.

OBSAH

1	ÚVOD	6
2	CÍLE PRÁCE	8
3	MATERIÁL A METODIKA	9
3.1	MATERIÁL	9
3.1.1	Charakteristika vybraných chovů hospodářských zvířat.....	9
3.1.2	Aplikace a charakteristika vybraných anthelmintik	11
3.1.2.1	Closamectin	14
3.1.2.2	Panacur	14
3.1.2.3	Ivomec super	14
3.1.2.4	Helmigal	15
3.1.2.5	Biomec	15
3.1.2.6	Verm-x	16
3.1.2.7	Noromectin.....	16
3.1.2.8	Aldifal.....	16
3.1.2.9	Albex	17
3.1.2.10	Ecomectin.....	17
3.2	METODIKA	17
3.2.1	Identifikace a kvantifikace parazitů	17
3.2.1.1	Flotace a McMaster	17
3.2.1.2	Egg hatch assay test a Larval development assay test.....	18
3.2.1.3	Sedimentace	19
3.2.1.4	Fecal egg count reduction test	19
3.2.1.5	Molekulární charakteristika.....	19
3.2.2	Statistická analýza	20
4	VÝSLEDKY	21
4.1	PARAZITÁRNÍ ONEMOCNĚNÍ A PREVALENCE	21
4.1.1	Terapeutická léčba vybranými anthelmintiky	23
4.2	MOLEKULÁRNÍ DETERMINACE	32
5	DISKUZE	35
5.1	VÝSKYT A PREVALENCE PARAZITÁRNÍCH INFEKČÍ U SLEDOVANÝCH JEDINCŮ	35

5.2	TERAPEUTICKÁ LÉČBA A ÚČINNOST/REZISTENCE ANTHELMINTIK	35
5.3	ÚČINNOST TERAPEUTICKÉ LÉČBY SUDOKOPYTNÍKŮ U PARAZITÁRNÍCH INFEKcí <i>C. DAUBNEYI</i>	38
5.4	BIOSEKURITA A ZOOHYGIENA OVLIVŇUJÍCÍ PARAZITÁRNÍ INFEKCE U HOSPODÁŘSKÝCH ZVÍŘAT	39
6	ZÁVĚR	41
7	REFERENCE	43
8	SEZNAM PUBLIKOVANÝCH PRACÍ	53
8.1	SEZNAM IMPAKTOVANÝCH PUBLIKACÍ	53
8.2	PUBLIKACE VE SBORNÍCÍCH.....	54
8.3	PŘÍSPĚVEK NA KONFERENCI	55

1 ÚVOD

Hospodářská zvířata (HZ) jsou nezbytná pro živočišnou výrobu a představují tak nepostradatelný zdroj obživy téměř ve všech regionech a zemích světa (Silvestre et al. 2002; Götherström et al., 2005; Cameron et McAllister 2016; Hall et Bunce 2019; Barelli et al., 2021).

Prvním krokem k diagnostikování problému infekcí ve stádě je vždy pochopení účinku, který souvisí s výrobními parametry. Infekce helmintem jsou hlavním omezením efektivní živočišné výroby. Variabilitu mezi dopady produkce lze přisuzovat různým úrovním infekce, vývojovému stadiu parazita, genetickému pozadí hostitele, managementu výživy a dosud neznámým faktorům (Mason et al., 2012; González-Warleta et al., 2013). Dále je nezbytné sledovat druhovou odolnost chovaných plemen. Někteří jedinci mohou představovat významnou parazitární zátěž, i když není ovlivněna jejich produkce a nevykazují klinické příznaky. Parazitární infekce se považují za hlavní překážky až tehdy, je-li ovlivněna produkce HZ (Gunathilaka et al., 2018; Kotze et al., 2020). Pro kontrolu a diagnostiku nematod v praxi jsou nejvíce využívány koprologické metody (Barda et al., 2014), protože rychlá imunologická metoda, která by vedla i k odhalení infekce v rané fázi, zatím není dostupná. Projevy nálezů jsou společné pro řadu parazitárních, bakteriálních a virových infekcí. Vajíčka obsažená ve výkalech během patentní periody mohou být u některých druhů parazitů detekovatelná pouze v určité roční době. Morfologická podobnost vajíček helmintů může mít za následek použití neúčinné léčby. Z tohoto důvodu je nezbytné rozšiřovat molekulární metody k identifikaci druhů. U přežvýkavců lze k detekci hlístic aplikovat systém FAMACHA ("FAfa MAIan CHArt"; van Wyk et Bath, 2002). Nejspolehlivější a nejpřesnější metodou nicméně zůstává detekce parazitárních druhů pomocí PCR (Polymerase Chain Reaction; Roeber et al., 2012; Martínez-Pérez et al., 2012). Bohužel tato metoda vyžaduje specifické vybavení a je časově i finančně náročná, oproti běžným koprologickým testům (Eysker et al., 2000). Aby byly uspokojeny požadavky rostoucí a měnící se světové populace (Herrero et al., 2013), musí být kontrola helmintů integrována do ekonomického kontextu celého zemědělského podniku (Charlier et al., 2012). Klíčovým bodem je zkombinovat informace specifické pro farmu potýkající se s infekcí helmintů a s ekonomickými informacemi individuální pro konkrétní farmu. Vzhledem k tomu, že zemědělec je primárním rozhodovatelem v péči o HZ, je pravděpodobné, že pro úroveň farmy bude nejvhodnější omezit právě parazitární infekce na minimum. Infekce parazitickými hád'átky představují sice dlouhodobou ekonomickou zátěž pro chov přežvýkavců a omezují tak živočišnou produkci

(White et al., 2001; Verschave et al., 2016; Decker et al., 2014; Bader et al. 2017; Pitt et al. 2019; Genes et al., 2019; Vineer et al., 2020), nicméně dynamika šíření je ovlivněna řadou faktorů, kde zůstává faremní management a zejména nastavení léčebných programů hlavní příčinou šíření populací parazitů, které způsobují zátěž v chovech sudokopytníků či lichokopytníků (Ajmone-Marsan et al., 2010; Westers et al., 2016; Bader et al., 2017).

Cílem strategie kontroly parazitárních infekcí by nemělo být jen snížení úrovně infekce, ale i využití dostupných zdrojů a vstupů (krmivo, pastviny, léky) s ohledem na možné ovlivnění infekce a dopadem na ekonomickou výkonnost. Identifikace a kontrola prevalence ve stádě by měla být zohledňována do ekonomického kontextu celého hospodářství a žádné hospodářské zvíře by nemělo být léčeno profylakticky, ale cíleně na základě výsledků laboratorní diagnostiky parazitárních infekcí. Velmi obtížný úkol je posoudit všechny negativní účinky v ekonomickém hledisku pro konkrétní farmu. Většina poznatků je založena na očekávaných dopadech, nikoliv na pozorování, proto tyto data často neposkytují dostatek informací z hlediska účinku infekce hlístic a dopadem na ekonomickou výkonnost celého zemědělského podniku.

Vznikající fenomén anthelmintické rezistence vyžaduje naléhavou úpravu léčebných programů s cílem zachovat účinnost dostupných anthelmintik v dlouhodobém horizontu. Návrat populace parazitů do stavu, kdy je většina jedinců citlivá k účinkům anthelmintik, je teoreticky možná, avšak z praxe prozatím neexistují žádné zprávy o plně úspěšné reverzi. Je třeba zdůraznit, že pro zajištění úspěchu není totální eradikace populací parazitů žádoucí, neboť zvířatům by neměl být zcela odepřen přístup k přirozené infekci, a to nejen pro vývoj získané imunity, ale i z důvodů ředění rezistentní genů v populaci parazitů. Důležitá je včasná diagnostika parazitárního onemocnění a následná léčba, dále pravidelná zoohygiena pastvin a stáje.

Vzhledem k současnému stavu této problematiky je hlavním přínosem této práce zhodnotit úspěšnost terapeutických postupů u vybraných aplikovaných veterinárních léčivých přípravků (VLP) a zhodnotit parazitární prevalenci v chovech HZ v České republice (ČR), dále vyhodnotit účinnost jednotlivých používaných léčiv. Práce přispěje k prohloubení této problematiky.

2 CÍLE PRÁCE

Cílem práce je studium, detekce a diagnostika parazitárních populací jednotlivých druhů helmintů u HZ v ČR.

Následující dílčí postupuy představují jednotlivé kroky výzkumu nezbytné pro dosažení hlavního cíle:

1. Zdokumentovat prevalenci a výskyt parazitů, dále diagnostikovat parazitární onemocnění ve vybraných chovech HZ v ČR.
2. Charakterizovat vývoj a průběh infekce před a během podání VLP a vyhodnotit tak jeho účinnost v závislosti na diagnostice parazitárního onemocnění.
3. Zhodnotit zdravotní a ekonomické dopady ve vybraných chovech HZ před a po podání VLP.
4. Porovnat aplikovaná anthelmintika mezi sebou a jejich účinnost na sledované druhy helmintů.
5. Navrhnout opatření popřípadě řešení pro zpomalení rezistence z hlediska snižujících se účinností VLP registrovaných v ČR.
6. V případě vysoké prevalence charakterizovat průběhy infekcí detekovaných helmintů.
7. Získané výsledky porovnat se zahraničními zdroji a navrhnout možná řešení.

3 MATERIÁL A METODIKA

3.1 Materiál

V průběhu studie byly v ČR v konvenčních i ekologických chovech HZ odebrány výkaly od zástupců sudokopytníků – skot, ovce, koza, pratur, muflon, jelen, zubr a bizon a od lichokopytníků – kůň, osel, pony.

Vzorky výkalů (20 g) byly individuálně odebírány z rekta nebo bezprostředně po vykání jedince a laboratorně zpracovány nejpozději do 24 hodin. Výkaly byly opakovaně odebrány před zahájením léčby od každého jedince ve stádě a laboratorně vyšetřeny na přítomnost nematod, cestod nebo trematod. Následně byla dle výsledků laboratorních testů, historie aplikace léčiv ve stádě a managementu podniku, navržena léčebná terapie jedinců. Cíleně zvolená anthelmintika byla aplikována dle doporučeného dávkování výrobce (viz kapitola 4.1.2).

3.1.1 Charakteristika vybraných chovů hospodářských zvířat

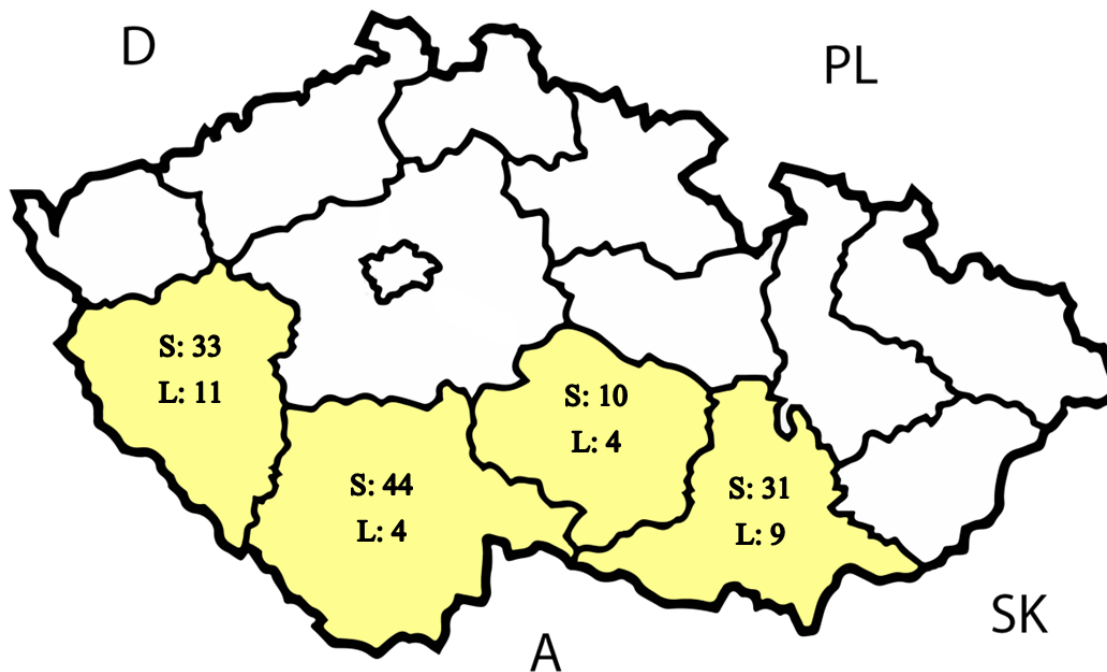
Disertační práce byla zaměřená na jedince bez tržní produkce mléka. Hospodářská zvířata ve sledovaných chovech byla chována dvěma způsoby. S výjimkou lichokopytníků byli jedinci chováni celoročně na pastvině s možností přístřešku. V případě lichokopytníků byl každý jedinec ustájen na noc v individuálním boxu a přes den měl volný pohyb na společné pastvině s ostatními jedinci v rámci jedné farmy.

V průběhu let 2021 – 2023 byly vzorky výkalů odebrány ve čtyřech krajích v rámci ČR. Celkem bylo sledováno 118 stád sudokopytníků a 28 stád lichokopytníků (obrázek 1). Detailní přehled stád HZ v jednotlivých krajích je znázorněn v tabulce 1.

V této disertační práci nebyla sledována druhová odolnost sudokopytníků, ani lichokopytníků vůči parazitárním infekcím ani nebyl hodnocen vliv způsobu chovu jedinců v rámci farmy (konvenční/ekologický chov).

V průběhu každého roku byly výkaly od každého jedince vyšetřeny minimálně 8 × (2 × před zahájením terapie, 2 × po aplikaci anthelmintika a 4 × kontrolně v průběhu roku).

Obrázek 1. Schéma odběrů vzorků dle jednotlivých krajů v rámci ČR (D = Německo; PL = Polsko; A = Rakousko; SK = Slovensko; S = sudokopytníci; L = lichokopytníci)



Zdroj: Havrdová, N.

Tabulka 1. Detailní přehled chovů jednotlivých zvířat v rámci krajů v ČR

(PK = plzeňský kraj; JK = jihočeský kraj; KV = kraj vysočina; JHK = jihomoravský; kraj; n = počet chovů u jednotlivého zástupce HZ celkem; × = nehodnoceno)

	PK	JK	KV	JHK	n=
SUDOKOPYTNÍCI					
Skot	19	25	3	2	49
Ovce	3	8	4	14	29
Koza	9	5	3	13	30
Pratur	×	1	×	×	1
Muflon	1	1	×	1	3
Jelen	1	1	×	1	3
Zubr	×	1	×	×	1
Bizon	×	2	×	×	2
LICHOKOPYTNÍCI					
Kůň	6	2	2	3	13
Osel	2	1	1	2	6
Pony	3	1	1	4	9

3.1.2 Aplikace a charakteristika vybraných anthelmintik

V každém chovu byla podrobně před terapeutickou léčbou zjištěna aplikace léčiv v minulých letech a při volbě anthelmintika byl zohledněn management a ekonomická úroveň chovu, zdravotní stav, kondice a věk jedince. Z hlediska ochranné lhůty každého anthelmintika bylo přihlédnuto k celkové produkci jedinců ve stádě. U jedinců, kteří byly na základě laboratorních metod vyhodnoceny jako negativní na přítomnost parazitárních infekcí, nebylo anthelmintikum aplikováno a tito jedinci sloužili jako kontrola.

Aplikace anthelmintika byla v každém chovu diskutována s veterinárním pracovníkem a zvolena na základě laboratorních testů a dostupnosti léčiva. Aplikaci anthelmintik vždy provedl veterinární pracovník, popřípadě chovatel.

Odběr vzorků výkalů pro detekci parazitárních stádií, proběhl vždy v den aplikace léčiva a následně pro hodnocení účinnosti byl následný odběr stanoven na 14. den po aplikaci léčiva. Odběrový den po aplikaci vycházel ze studie Kochapakdee et al., (1995) a Mooney et al., (2009), podle níž byla zohledněna délka účinnosti jednotlivého anthelmintika.

V případě aplikace léčiva byly vždy terapeuticky léčení jedinci chováni odděleně od neléčených. U přežvýkavců chovaných celoročně na pastvinách byla pro účely terapeutické léčby pastvina rozdělena na tzv. „infekční plochu,“ kde se jedinci mohli volně pohybovat ve vyhrazeném prostoru. Na základě dehelmintizace a vylučování vajíček byly odstraňovány výkaly v častějších intervalech i několikrát za den do doby 14 dnů, tedy do odběru pro vyhodnocení účinnosti metodou FECRT. Po 14 dnech byl jedincům umožněn pohyb po celé pastvině mimo tuto infekční plochu, kde proběhlo odstranění výkalů, převápnění nebo byla plocha upravena bránováním. Lichokopytníci byli ustájeni v individuálních boxech. Společnou pastvinu v průběhu léčby vždy sdíleli pouze ti jedinci, kteří byli léčení stejným anthelmintikem.

Zvoleny byly dvě aplikace stejného léku za rok (jaro – podzim) pro sudokopytníky. Pro lichokopytníky byla aplikace provedena v průběhu roku dle výskytu parazitárních stádií nematod nebo cestod nezávisle na ročním období. Tento postup terapeutické léčby byl navržen z důvodu pastevních podmínek jednotlivých zástupců HZ. Přežvýkavci byly po celou dobu studie chovány na pastvině s možností přístřešku a rotace pastvin s odklizem výkalů v pravidelných intervalech. V případě lichokopytníků se jednalo o individuální ustájení a z hlediska zoohygieny a přenosu parazitárních infekcí mezi jedinci byla terapeutická léčba anthelmintiky veterinárním pracovníkem navržena v podobě nepravidelných aplikací

anthelmintik, nicméně u všech jedinců bylo stejné anthelmintikum aplikováno maximálně dvakrát za sledovaný rok.

Zvolené anthelmintikum bylo aplikováno vždy na základě hmotnosti jedince (tabulka 2). Doporučené dávkování bylo striktně dodrženo na základě příbalového letáku od distributora a vzhledem k tomu, že u každého jedince byla známa individuální hmotnost, žádná dávka nebyla podhodnocená.

Tabulka 2. Design aplikace anthelmintik ve sledovaných chovech HZ v jednotlivých letech za období 2021 – 2023

NEMATODA																																		
JEDINEC	SKOT			OVCE			KOZA			PRATUR			MUFLON			JELEN			ZUBR			BIZON			KŮŇ			OSEL			PONY			
VLP / ROK	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	
Closamectin	180	175	103	14	27	28	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
Ivomec super	437	406	307	84	73	56	92	85	77	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
Helmigal	×	116	259	×	×	×	×	×	×	×	×	×	48	80	78	119	134	113	84	70	70	64	64	64	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
Biomec	×	85	36	36	×	13	23	7	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
Verm-x	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	16	28	12	61	61	61	39	13	27
Noromectin	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	38	19	47	×	×	×	14	37	16	
Aldifal	218	99	114	40	56	22	16	46	86	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	15	21	28	×	×	×	×	×	×	×	
Albex	89	62	125	20	×	30	5	22	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
Ecomectin	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	36	24	31	×	×	×	×	×	×	×
CESTODA																																		
Panacur	×	×	×	24	32	39	10	30	31	×	×	×	10	8	×	17	×	21	×	×	×	×	×	×	26	22	28	×	×	×	×	×	×	
Verm-x	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	24	37	13	10	10	10	25	8	23	
TREMATODA																																		
Closamectin	48	16	9	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
Aldifal	46	20	5	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	14	14	13	7	×	×	×	×	×	×	×	×	×	

VLP = Veterinární léčivý přípravek (aplikované anthelmintikum); × nehodnoceno

3.1.2.1 Closamectin

Closamectin je injekční roztok určený pro skot/ovce a obsahuje 5 mg/ml Ivermectinum a 125 mg/ml Closantelum (Norbrook Laboratories Limited, Severní Irsko).

Closamectin se aplikuje při léčbě smíšených invazí trematody, nematody nebo členovci u skotu a ovcí vyvolaných gastrointestinálními hlísticemi, plicními červy, očními červy, střechky, zákožkami a vešmi.

Aplikace probíhá subkutánně do střední části krku za aseptických podmínek v dávce 200 µg ivermectinu a 5 mg closantelu na 1 kg živé hmotnosti. Maximální objem na jedno místo injekčního podání je výrobcem stanoven na 10 ml (zbývající množství je třeba aplikovat do jiného místa na krku léčeného jedince). První dávka by měla být podána do pravé strany krku a zbývající objem aplikován na oddělená místa na levé a pravé straně krku.

Nežádoucí účinky byly pozorovány pouze při subkutánní aplikaci. Jednalo se o svědění v místě injekčního podání a zatvrdnutí při palpaci do 7 dnů po aplikaci.

Ochranná lhůta činí 49 dnů a léčivo se nesmí aplikovat jedincům, u nichž je mléko určeno pro lidskou spotřebu a u jedinců v době zaprahnutí včetně březích jalovic nebo bahnic, jejichž mléko bude určeno pro lidský konzum během 60 dnů před předpokládaným porodem.

3.1.2.2 Panacur

Panacur je určen pro cílová zvířata – kůň, skot a ovce ve formě tablet, pasty nebo emulze obsahující účinnou složkou Fenbendazolum 0,22 g/g. (Intervet International B.V., Nizozemsko).

Aplikuje se perorálně v dávce 7,5 mg fenbendazolu na 1 kg živé hmotnosti v případě napadení dospělci i nezralými stádii nematodů gastrointestinálního a respiračního traktu koní, skotu a ovcí a působí i ovicidně s účinkem na vajíčka obličejových červů, cestod.

Nežádoucí účinky nejsou známy a anthelmintikum je velmi dobře snášeno. Ochranná lhůta je výrobcem stanovena pro skotu 9 dnů, maso koní 5 dnů a mléko 4 dny.

3.1.2.3 Ivomec super

Anthelmintikum Ivomec super je určeno pro skot a ovce s účinnou látkou Ivermectinum 10,0 mg a Clorsulonum 100,0 mg (Merial SAS, Francie).

Indikace je zaměřena na léčbu gastrointestinálních nematod, očních helmintů, plicnívek, mikrofilárií, střechků, vší, původce kožních myáz, zákožek, klíšat a trematod.

Ivomec Super je dostupný ve formě injekčního roztoku aplikovaného v doporučené dávce 1 ml/50 kg živé hmotnosti. Injekční roztok je aplikován subkutánně do kožní řasy na krku jedince a tato dávka odpovídá hladině 0,2 mg ivermektinu a 2,0 mg clorsulonu na kg živé hmotnosti. Dávky vyšší než 10 ml je doporučeno aplikovat na dvě různá místa.

Ochranná lhůta je výrobcem stanovena na 66 dnů pro maso. Anthelmintikum se nedoporučuje aplikovat jedincům během laktace nebo 28 dní před porodem, pokud je mléko určeno pro lidskou spotřebu. Nežádoucí účinky nejsou známy.

3.1.2.4 Helmigal

Helmigal je dostupný ve formě perorálního prášku s účinnou složkou Fenbendazolum 25 mg. Je určen pro skot, koně a spárkatou zvěř (Pharmagal spol. s r.o., Nitra).

Anthelmintikum je doporučeno aplikovat v případě parazitárních onemocnění vyvolaných vývojovými stádii a dospělci parazitů nematod a trematod. Při aplikaci je vhodné anthelmintikum zamíchat do krmiva. Léčivo je možné aplikovat i během březosti a laktace. Pro úspěšnou léčbu je dále distributorem doporučeno sledovat stav vývojových stádií a léčbu opakovat dle vývojových cyklů daných druhů parazitů. Obecná dávka je 5 mg fenbendazolu na jeden kg živé hmotnosti tj. 0,2 g přípravku/kg ž. hm. Dále je pro zvýšenou účinnost možná aplikace podáním nižší dávky 3 mg fenbendazolu na jeden kg ž. hm., (0,12 g přípravku / kg ž. hm.) v intervalech 24 hodin po dobu 3–5 dní.

Nežádoucí účinky nejsou hlášeny. Ochranné lhůty jsou stanoveny na 14 dní pro maso a 120 dní pro mléko. Dále je zakázáno aplikovat anthelmintikum u koní, jejichž maso je určeno pro lidskou spotřebu.

3.1.2.5 Biomec

Biomec je doporučen pro cílovou skupinu ovcí a skotu pro subkutánní aplikaci s účinnou složkou Ivermectinum 10,0 mg v 1 ml (Bioveta, a.s., Česká republika).

Veterinární léčivý přípravek je indikován pro účinnou léčbu a zamezení šíření následujících parazitárních onemocnění – gastrointestinální oblé červy (dospělci i vývojová stádia), plicnivky, oční helminté, střechci, zákožky, vši, gastrointestinální hlístice a svrab.

Je stanovena doporučená inokulační dávka 0,2 mg ivermektinu na kg živé hmotnosti (odpovídá 1 ml přípravku/50 kg živé hmotnosti). Aplikace se provádí subkutánně do volné kůže před nebo za lopatkou.

Ochranná lhůta je stanovena pro maso 28 dnů (ovce) a 49 dnů (skot). V případě mléka se nedoporučuje u zvířat produkujících mléko pro lidský konzum aplikovat anthelmintikum v laktaci a 28 dní před porodem.

Nežádoucí účinky se mohou objevit po subkutánním podání, kde může být u některých jedinců pozorován přechodný nepokoj a občasný výskyt otoků měkkých tkání v místě injekčního podání. Nicméně tyto reakce samovolně odezní.

3.1.2.6 Verm-x

Verm-x je určen pro koně a poníky s infekcí střevních parazitů, kde účinná složka je složena ze směsi bylinných přísad, které obsahují komplex aktivních částic. Přípravek je dostupný ve formě granulí (Johnson & Johnson, s.r.o., Slovensko).

Doporučené dávkování je 50 g denně po dobu pěti po sobě následujících dnů a léčbu opakovat pravidelně po 12ti týdnech.

3.1.2.7 Noromectin

Noromectin je perorální pasta určená pro koně s účinnou složkou Ivermectinum 140 mg (Norbrook Laboratories Limited, Severní Irsko).

Anthelmintikum je určené pro léčbu a prevenci parazitárních onemocnění způsobených dospělci a vývojovými stádii malých strongilidů. Nežádoucí účinky jsou známy pouze v případech masivních infekcí, kdy může dojít po aplikaci přípravku k reakci (svědění, otoky) zapříčiněné velkým množstvím odumřelých parazitů. Příznaky mizí spontánně v několika dnech, případně se doporučuje symptomatická léčba.

Aplikace celé dávky pasty přípravku Noromectin je možná i během gravidity a laktace u klisen.

3.1.2.8 Aldifal

Veterinární léčivý přípravek Aldifal je určený pro léčbu smíšených helmintóz u skotu a ovcí s účinnou složkou Albendazolum 100 mg (Mikrochem spol. s r.o., Slovensko).

Aldifal je aplikován perorálně a je doporučené jednorázové dávkování při parazitární infekci nematody a cestody 7,5 ml přípravku na 100 kg živé hmotnosti (7,5 mg na jeden kg živé hmotnosti) a při infekci trematody jednorázově 10 ml přípravku na 100 kg živé hmotnosti (10 mg na jeden kg živé hmotnosti).

Ochranné lhůty jsou u hospodářských zvířat stanoveny na 14 dnů pro maso a pro mléko 72 hodin. Nežádoucí účinky nejsou známé.

3.1.2.9 Albex

Albex je anthelmintikum určené pro skot a ovce při léčbě helmintóz, dostupný je ve formě pasty s účinnou složkou Albendazolum 10 mg (ECO Animal Health Ltd., Velká Británie).

Indikačně je určen pro léčbu parazitárních infekcí vyvolaných dospělci a vývojovými stádii gastrointestinálních a plicních nematod, cestod a dospělců *F. hepatica* u skotu a ovcí.

Doporučené dávkování lze stanovit na 0,5 ml léčiva na 10 kg živé hmotnosti pro léčbu trematod a 0,75 ml na 10 kg živé hmotnosti pro léčbu cestod/nematod.

Ochranná lhůta je stanovena na 14 dnů pro maso a 60 hodin pro mléko.

3.1.2.10 Ecomectin

Ecomectin je perorální pasta určená pro koně. Obsahuje účinnou složkou Ivermectinum 18,7 mg (ECO Animal Health Ltd., Velká Británie).

Indikace anthelmintika je doporučena pro léčbu velkých a malých strongilidů, roupů, škrkavek a střechků.

Dávkování je výrobcem stanovené pro jedince o 600 – 700 kg živé hmotnosti (jedno balení). Ochranná lhůta je pro maso stanovena na 34 dnů a anthelmintikum by se nemělo používat u klisen, jejichž mléko je určeno pro lidský konzum. Nežádoucí účinky nejsou u tohoto anthelmintika hlášeny.

3.2 Metodika

3.2.1 Identifikace a kvantifikace parazitů

Identifikace parazitů byla provedena mikroskopicky dle morfometrie a morfologie vajíček (flotace, McMaster; Wymann et al., 2008), nebo *in vitro* tesů EHA (Demeler et al., 2012), LDA (Coles et al., 2006) a na základě identifikace vývojových stádií larev (L₃₋₅) dle studie van Wyk et al., (2004).

3.2.1.1 Flotace a McMaster

Pro detekci vajíček nematod byla zvolena laboratorní metoda flotace pomocí cukerného roztoku a následně byla kvantifikace vajíček nematod vyhodnocena upravenou metodou McMaster dle původní metodiky Wymann et al., (2008).

Pro přípravu cukerného roztoku o hustotě 1,158 g/cm³ bylo smícháno 518 ml destilované vody s 810 g krystalového cukru. Roztok byl 2 hodiny homogenizován při teplotě 37 °C a v konečné fázi bylo přidáno 14,58 g fenolu a roztok byl znovu promíchán. Výsledný cukerný roztok byl před laboratorním zpracováním uchován při 4 °C.

Při zpracování vzorků byly naváženy a zhomogenizovány tři gramy výkalů s 15 ml destilované vody a pomocí sítka byla suspenze přefiltrována do zkumavky o objemu 10 ml. Vzorek byl centrifugován při 2500 rpm po dobu 5 min. Supernatant byl odstraněn a k sedimentu byl přidán po okraj zkumavky cukerný roztok, zkumavka byla zakryta podložním sklíčkem a vzorek byl centrifugován o 500 rpm po dobu 30 sec a následně mikroskopicky hodnocen při zvětšení $100 - 400 \times$ na přítomnost vajíček nematod a cestod.

Metoda McMaster k vyhodnocení EPG, byla upravena dle původní metodiky Wymann et al., (2008). V uzavíratelné zkumavce byly smíchány a zhomogenizovány 4 gramy výkalů s 3 ml flotačního roztoku. Po 5 min bylo pipetou přeneseno 1,5 ml supernatantu do počítací komůrky na McMasterově sklíčku a počet vajíček nematod byl vynásoben koeficientem 50 dle původní metodiky ((EPG/OPG) = $y \times 50$; Wymann et al., 2008).

3.2.1.2 Egg hatch assay test a Larval development assay test

Pro identifikaci larev v různých fázích vývojového stádia (L_{3-5}) byla vajíčka nematod izolována z čerstvých vzorků výkalů dle upravených původních metodik Demeler et al., (2012) a Coles et al., (2006). Metodiky byly z důvodu získání pouze dospělých jedinců upraveny. V testu nebyla hodnocena rezistence larev na jednotlivá anthelmintika.

Pro kultivaci larev byly vzorky výkalů zpracovány do 12 hodin po odběru a identifikace vajíček ve vzorku byla provedena dle metody McMaster.

Vajíčka nematod byla separována pomocí flotace v cukerném roztoku a dále po dobu 7 min centrifugována na sacharóзовém gradientu 40% nasyceného roztoku. Dále byla vajíčka promyta v destilované vodě a mikroskopicky zhodnocena, aby byla vyloučena embryonace larev. Vajíčka nematod byla zředěna v 500 μ l destilované vody, sečtena, rozdělena a přesunuta do mikrotitrační destičky v rovnoměrném zastoupení vajíček v objemu 10 μ l na jamku. Do každé jamky bylo následně přidáno 150 μ l 2% Bacto Agar (Merck Life Science spol. s r.o., Praha) o teplotě 45 °C a 10 μ l kvasnicového extraktu (P-LAB a.s., Praha; 1 g kvasnicového extraktu byl smíchán s 90 ml 0,85% NaCl). Vnější řady jamek byly naplněny destilovanou vodou, aby bylo zastaveno vysychání testovacích jamek.

Následovala inkubace vajíček po dobu 48 hodin o teplotě 33 °C. Po této době byly již vylíhlé larvy morfologicky hodnoceny a bylo možné určit druh nematoda dle metodiky van Wyk et al., (2004)

3.2.1.3 Sedimentace

Metodika sedimentace (pouze pro detekci vajíček trematod) dle Thienpont et al., (1986), byla v této studii též upravena.

Metoda sedimentace je založena na gravitaci těžkých vajíček trematod a hustotě roztoku. Ve skleněné kádince o objemu 150 ml byly zhomogenizovány 4 g výkalů a intenzivně promíchány s destilovanou vodou. Suspenze byla přefiltrována přes jemné síto (100 µm). Výsledný filtrát byl na 20 minut odstaven, aby byl supernatant dekantován. Sedimentace a dekantace se opakovaly 4x (v první fázi byla odsáta 1/3 horní poloviny roztoku, ve druhé a třetí fázi byla odsáta 1/2 roztoku a ve čtvrté fázi byl roztok odebrán až na sediment). Sediment byl následně hodnocen mikroskopicky při zvětšení od 10× do 40×.

3.2.1.4 Fecal egg count reduction test

Účinnost veterinárních léčivých přípravků byla hodnocena pomocí testu snížení počtu vajíček dle metodiky Kochapakdee et al., (1995) a Mooney et al., (2009).

Individuální vzorky výkalů byly během transportu a zpracování (do 24 hodin) uchovávány v odběrových zkumavkách při 4°C. Stanovení testu poskytlo odhad anthelmintické účinnosti. To bylo provedeno porovnáním počtu vajíček u ošetřených a neošetřených hostitelů. Principem testu bylo vyhodnotit snížení/nárůst parazitů ve výkalech před a po léčbě veterinárními léčivými přípravky. Pro účinnost anthelmintik byl vybrán matematický vzorec:

$$\text{FECRT} = 100 \times \left(1 - \left(\frac{E_2}{E_1} \right) \right)$$

E_1 = EPG před léčbou (den 0), E_2 = EPG po léčbě (den 14)

3.2.1.5 Molekulární charakteristika

V této disertační práci byly metodou PCR ověřeny pouze pozitivní vzorky trematod. Nematody zde nebyly molekulárně vyhodnoceny.

Pozitivní vzorky trematod (*C. daubneyi*) v této studii byly použity pro extrakci genomové DNA z 300 mg fekálií pomocí DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Německo) a dále zpracovány podle doporučení výrobce s výjimkou použití 0,5 mm skleněných kuliček.

Purifikovaná DNA byla před PCR amplifikací skladována při -20 °C. K amplifikaci parciální oblasti genů kódujících gen pro malou ribozomální podjednotku rRNA 5.8S byl použit přístup PCR podle původní metodiky Rinaldiho et al., (2005). U poražených pozitivních zvířat byly provedeny pitvy.

3.2.2 Statistická analýza

Sumarizace dat byla připravena v programu Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

Analýzy byly vyhodnoceny na základě výsledků FECRT. Vždy byly hodnoceny dvě skupiny, a to v den podání léku (den 0) a po podání léku (den 14). Účinnost veterinárních léčivých přípravků byla hodnocena podle metodiky Kochapakdee et al., (1995) a Mooney et al., (2009). Všechny analýzy byly provedeny v softwaru Statistica 6.0 (StatSoft ČR, Praha, Česká republika). Účinnost byla stanovena výpočtem snížení počtu vajíček ve stolici a byla považována za účinnou, když hodnota FECRT dosáhla hranice ≥ 95 % a 95 % spodní hranice spolehlivosti. Procentuální snížení FECRT bylo vypočteno pro každé léčivo individuálně.

4 VÝSLEDKY

4.1 Parazitární onemocnění a prevalence

V průběhu studie bylo v ČR odebráno 5 359 vzorků výkalů od sudokopytníků a 819 vzorků výkalů od lichokopytníků (tabulka 3).

Tabulka 3. Přehled odebraných vzorků výkalů za období 2021 – 2023 v rámci ČR dle jednotlivých krajů a zástupců sudokopytníků a lichokopytníků

KRAJ	PLZEŇSKÝ			JIHOČESKÝ			VYSOČINA			JIHOMORAVSKÝ			POČET VZORKŮ CELKEM
	ROK	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	
Skot	382	340	320	456	460	458	112	113	120	68	66	60	2955
Ovce	28	32	36	76	64	56	36	22	24	78	70	72	594
Koza	32	48	46	22	36	32	16	28	36	76	78	80	530
Pratur	0	0	0	42	42	42	0	0	0	0	0	0	126
Muflon	0	16	18	0	8	6	0	0	0	58	62	54	222
Jelen	16	32	30	38	26	36	0	0	0	82	76	68	404
Zubr	0	0	0	84	84	84	0	0	0	0	0	0	252
Bizon	0	0	0	92	92	92	0	0	0	0	0	0	276
Počet vzorků	458	468	450	810	812	806	164	163	180	362	352	334	5359
Kůň	84	71	77	14	23	16	14	9	12	28	27	26	401
Osel	24	16	0	18	0	32	16	26	18	13	27	26	216
Pony	46	37	34	7	4	6	8	4	0	17	13	26	202
počet vzorků	154	124	111	39	27	54	38	39	30	58	67	78	819

Z celkového počtu odebraných vzorků výkalů v jednotlivých letech dle lokality kraje, byla pro přehlednost prevalence parazitárních infekcí pro jednotlivé roky v rámci krajů shrnuta v tabulce 4.

Tabulka 4. Prevalence parazitárních infekcí za sledované období 2021 – 2023

KRAJ	PREVALENCE V % (PŘED/PO TERAPII)											
	PLZEŇSKÝ			JIHOČESKÝ			VYSOČINA			JIHOMORAVSKÝ		
	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023	2021	2022	2023
Parazitární infekce	SUDOKOPYTNÍCI											
Nematoda	92/13	86/11	65/9	98/26	86/22	84/18	79/36	75/35	82/25	89/32	92/26	94/14
Trematoda	75/5	15/0	0/0	89/18	75/14	65/7	48/15	36/16	39/15	74/6	0/0	0/0
Cestoda	46/18	75/5	0/0	48/6	0/0	75/18	90/45	36/19	0/0	0/0	14/0	0/0
Parazitární infekce	LICHOKOPYTNÍCI											
Nematoda	37/15	0/0	0/0	69/13	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Cestoda	85/16	76/23	85/25	95/40	96/31	48/6	0/0	0/0	0/0	46/13	56/16	75/23

Z výsledků vyplývajících z tabulky 4 lze konstatovat, že nejvyšší prevalence u sudokopytníků z hlediska výskytu nematod byla v roce 2021 zaznamenána v jihočeském kraji, a to 98 % před cílenou aplikací anthelmintika, zatímco nejnižší prevalence před terapeutickou léčbou ve stejném roce byla pro nematody detekována v plzeňském kraji (13 %). U lichokopytníků byla zaznamenána prevalence u parazitárních infekcí způsobených nematody v jihočeském kraji 69 % před terapeutickou léčbou a po léčbě anthelmintiky byl zjištěn pokles prevalence na 13 % rovněž v jihočeském kraji.

Nejvyšší prevalence byla zaznamenána v případě parazitárních infekcí způsobených nematody, kde bylo prokázáno, že nejvíce zastoupeným druhem byl *H. contortus* a *O. ostertagi* pro sudokopytníky. Pro lichokopytníky byly nejvíce zastoupeným druhem nematod malé strongylidy z podčeledi *Cyathostominae*. U lichokopytníků byla detekce druhu nematody specifikována dle jednotlivých larválních stádií z vylíhlých larev dle metodiky (Coles et al., 2006).

U trematod byl zaznamenán nejvyšší nárůst v jarním období ve všech třech letech u skotu a bizonů. Dle PCR byl detekován druh *C. daubneyi*.

U malých přežvýkavců byla dle morfologie laboratorních testů ve vzorcích výkalů detekována tasemnice *M. benedeni*. V případě lichokopytníků byla nejvíce v chovech zastoupena tasemnice *A. perfoliata*.

U všech sledovaných jedinců byla prokázána smíšená infekce helmintóz. V rámci této studie byla proto stanovena orientační hodnota EPG (před vynásobením koeficientem 50×) pro každého parazita na základě ohrožení zdravotního stavu jedince (s výjimkou parazitární infekce cestodami), která sloužila jako orientační míra infekce a dle níž byla stanovena celková prevalence v jednotlivých chovech sudokopytníků i lichokopytníků (tabulka 5). U cestod byla intenzita infekce hodnocena pouze jako pozitivní/negativní a to z důvodu vysoké produkce vajíček od jediného jedince přítomného v gastrointestinálním traktu hostitele.

Tabulka 5. Intenzita infekce EPG = y (před vynásobením koeficientem 50×)

Parazitární infekce	Slabá	Střední	Vysoká
<i>O. ostertagi</i>	< 20	50	> 51
<i>H. contortus</i>	< 10	30	> 31
Malí strongilidi	< 30	60	> 61
<i>C. daubneyi</i>	< 15	30	> 46
<i>M. benedeni</i>		> 1	
<i>A. perfoliata</i>			

4.1.1 Terapeutická léčba vybranými anthelmintiky

Na základě výsledků laboratorních testů a hodnoty EPG, stanovené pro výsledky této práce, byl z hlediska celkové prevalence navržen terapeutický postup pro každý chov zvlášť a během léčby byl každý jedinec individuálně vyšetřován na přítomnost parazitárních infekcí obsažených ve vzorcích výkalů.

V tabulce 6 jsou shrnuta anthelmintika aplikovaná jednotlivým zástupcům zvířat s účinností na jednotlivé parazitární infekce – nematoda, trematoda, cestoda.

Tabulka 6. Terapeutická léčba vybranými anthelmintiky

PARAZITÁRNÍ INDIKACE DLE ÚČINNOSTI ANTHELMINTIKA				
VLP	NEMATODA	TREMATODA	CESTODA	CÍLOVÝ DRUH ZVÍŘAT
Closamectin	×	×	×	skot, ovce
Panacur	×	–	×	kůň, ovce, koza, muflon, jelen
Ivomec super	×	×	–	skot, ovce, koza
Helmigal	×	–	–	skot, muflon, jelen, zubr, bizon
Biomec	×	–	–	skot, ovce, koza
Verm-x	×	–	–	kůň, osel, pony
Noromectin	×	–	–	Kůň, pony
Aldifal	×	×	×	skot, ovce, koza, bizon
Albex	×	×	×	skot, ovce, koza
Ecomectin	×	×	×	kůň

„VLP“ veterinární léčivý přípravek; „×“ anthelmintikum je určeno k léčbě parazitárních infekcí; „–“ anthelmintikum není určeno pro léčbu parazitárních infekcí

U všech jedinců byla terapeutická léčba stanovena až po odběru kontrolních vzorků. Aplikace léčiva byla pro všechny jedince vždy stanovena na základě hodnoty EPG a dle sezónnosti výskytu parazitárních infekcí byl terapeutický postup konzultován s veterinárním pracovníkem.

V chovu praturů nebylo aplikováno žádné anthelminikum. U jedinců ve stádě nebyla během let 2021 – 2023 pozorována žádná parazitární infekce.

Účinnost anthelmintik nebyla sledována samostatně pro jednotlivé kraje, ale pouze pro jednotlivé zástupce HZ zvířat, a to vzhledem k individualitě každého chovu. Přehled účinností pro jednotlivá anthelmintika je znázorněn v tabulce 7.

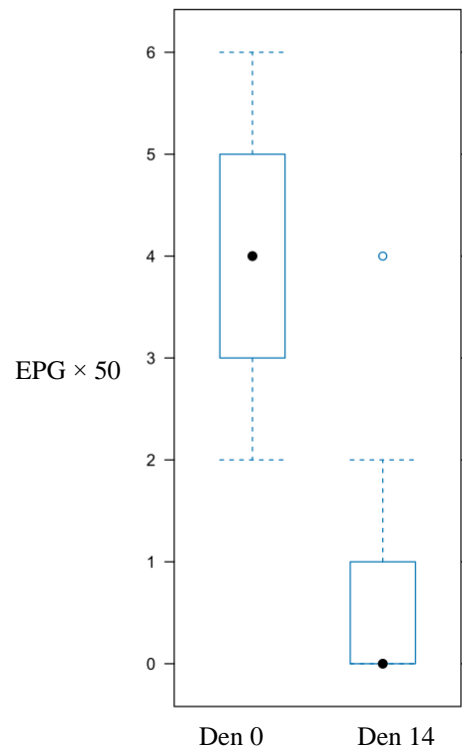
Celková účinnost vybraných terapeutických postupů pro léčbu nematod, trematod a cestod byla statisticky dle výsledků FECRT vyhodnocena a znázorněna za celé období 2021 – 2023 jako celek pro jednotlivá anthelmintika (viz grafy 1 – 10).

Tabulka 7. Přehled průměrných účinností jednotlivých anthelmintik ve sledovaných chovech HZ v průběhu let 2021 – 2023

NEMATODA											
VLP / JEDINEC	SKOT	OVCE	KOZA	PRATUR	MUFLON	JELEN	ZUBR	BIZON	KŮŇ	OSEL	PONY
Closamectin	95	95	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Ivomec super	100	100	98	×	×	×	×	×	×	×	×
Helmigal	99	×	×	×	84	85	92	81	×	×	×
Biomec	100	100	100	×	×	×	×	×	×	×	×
Verm-x	×	×	×	×	×	×	×	×	98	95	99
Noromectin	×	×	×	×	×	×	×	×	100	×	100
Aldifal	96	98	99	×	×	×	×	99	×	×	×
Albex	100	100	100	×	×	×	×	×	×	×	×
Ecomectin	×	×	×	×	×	×	×	×	100	×	×
CESTODA											
Panacur	×	100	×	×	100	100	×	×	100	×	×
Verm-x	×	×	×	×	×	×	×	×	99	99	99
TREMATODA											
Closamectin	80	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Aldifal	41	×	×	×	×	×	53	49	×	×	×

VLP = Veterinární léčivý přípravek (aplikované anthelmintikum); × nehodnoceno

Graf 1. Účinnost anthelmintika Closamectin za období 2021 – 2023

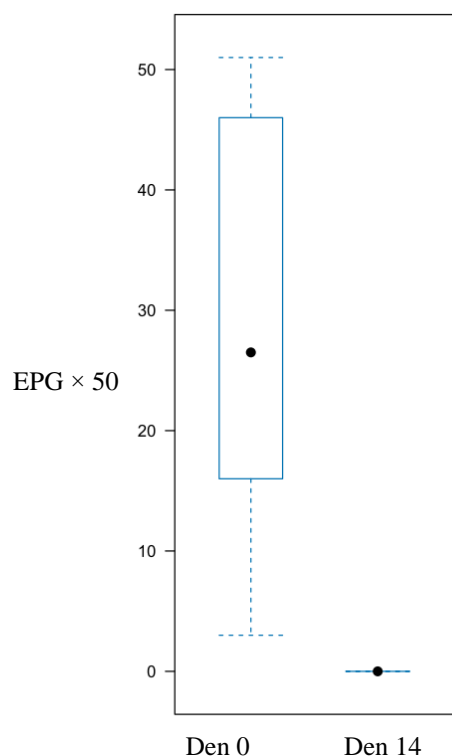


Terapeutická léčba Closamectinu byla u sudokopytníků aplikována v pěti chovech skotu a tří stád ovcí v rámci jednoho chovu.

Účinnost anthelmintika byla vyhodnocena na 95 % (nematody) a 80 % (trematody) v chovech skotu a v chovu ovcí byla účinnost anthelmintika na nematody 95 %.

Teoreticky lze předpokládat, že je zde možné riziko vzniklé rezistence. Léčivo mělo prokazatelně sníženou účinnost převážně u starších jedinců, kterým bylo stejné anthelmintikum aplikováno již v minulosti. U mladých jedinců, kteří v předchozích letech nebyli Closamectinem léčeni profylakticky, ale cíleně, byla léčba účinná v 95 % jak v chovu skotu, tak i v chovu ovcí.

Graf 2. Účinnost anthelmintika Panacur za období 2021 – 2023



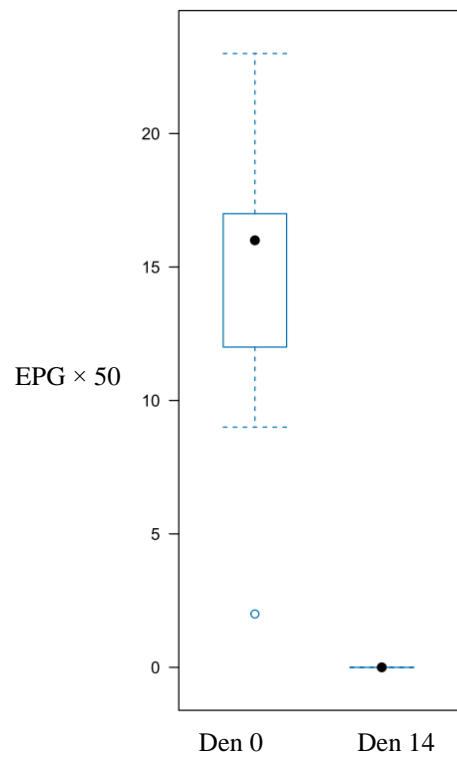
V případě parazitárních infekcí u ovcí a koz způsobených *M. benedeni* bylo aplikované anthelmintikum Panacur testováno v osmi chovech ovcí, deseti chovech koz a třech chovech muflonů a jelenů. Pro parazitární infekci *A. perfoliata* u koní bylo anthelmintikum testováno v šesti chovech koní.

Z grafu 2 je patrné, že terapeutická léčba byla z hlediska eradikace *M. benedeni* úspěšná ve všech chovech přežvýkavců a v případě *A. perfoliata* též u koní. Potencionální riziko rezistence v tomto případě nebylo potvrzeno.

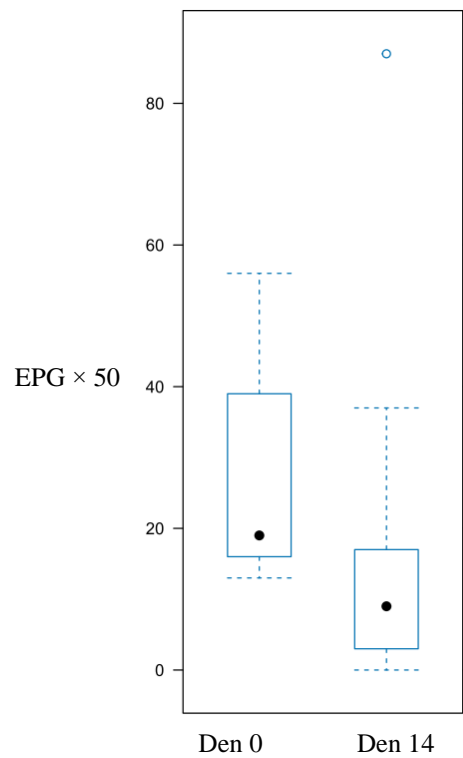
Účinnost při terapeutické léčbě anthelmintikem Ivomec super (graf 3), byla v závislosti na parazitárních infekcích způsobených nematody u dvaceti chovů skotu, pěti chovů ovcí a sedmi chovů koz vyhodnocena veterinárním léčivým přípravkem jako účinná. Lze tedy shodně jako v případě léčby Panacurem vyloučit vznik rezistence u sledovaných jedinců HZ.

V nejvyšším zastoupení byly detekovány zástupci nematod *H. contortus* a *O. ostertagi* u skotu, jelenů, muflonů, ovcí i koz.

Graf 3. Účinnost anthelmintika Ivomec super za období 2021 - 2023



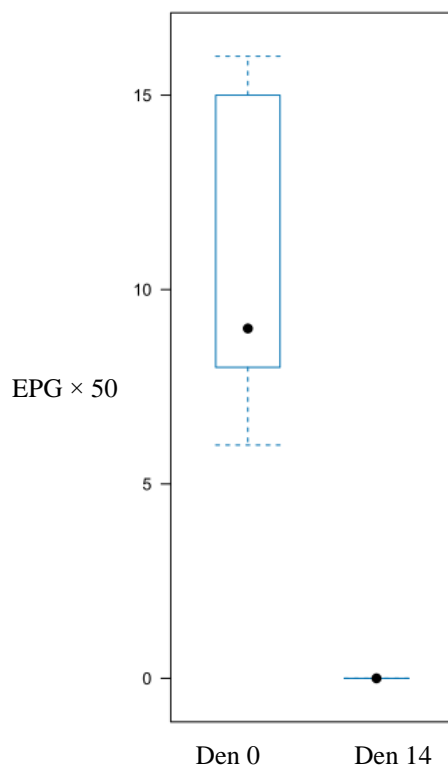
Graf 4. Účinnost anthelmintika Helmigal za období 2021 - 2023



Terapeutická léčba Helmigalem proběhla u jelenů, bizonů, zubrů, muflonů a skotu celkem v 19 chovech v rámci České republiky.

Z hlediska indikace tohoto anthelmintika jsou výsledky uvedené v grafu 4 pouze pro nematody, neboť ze vzorků výkalů a výše zmíněných jedinců nebyla molekulárně ani mikroskopicky prokázána ze vzorků výkalů přítomnost trematod. Přestože, u některých jedinců nedošlo k úplnému vyléčení, lze Helmigal považovat za relativně účinný. Intenzita infekce se v kontrolních vzorcích vyšetřených 14 dní po aplikaci anthelmintika pohybovala v rozmezí EPG 10 – 18. Ve sledovaných chovech s výjimkou chovu skotu byla zaznamenána přítomnost volně žijící zvěře, která byla v kontaktu s monitorovanými zvířaty v rámci jedné pastviny. Lze tedy předpokládat, že zde účinnost Helmigalu byla ovlivněna kontaminací pastviny neošetřených jedinců spárkaté zvěře mimo sledovaná stáda.

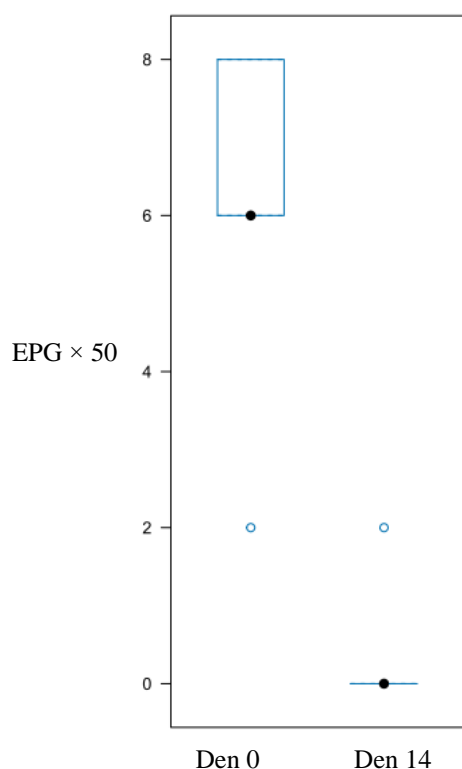
Graf 5. Účinnost anthelmintika Biomec za období 2021 – 2023



Účinnost terapeutické léčby anthelmintikem Biomec byla sledována v chovech skotu, ovcí a koz u 22 stád v rámci 3 farem. Výsledky jsou zobrazeny v grafu 5.

Přestože ve všech chovech v minulých letech proběhala profylaktická léčba různými anthelmintiky se stejnou účinnou složkou jako v případě veterinárního léčivého přípravku Biomec, byla zvolena terapeutická léčba pro parazitární infekce nematod, konkrétně *H. contortus* vyhodnocena jako účinná (graf 5). Hodnota EPG byla po cílené aplikaci nulová.

Graf 6. Účinnost anthelmintika Verm-x za období 2021 - 2023

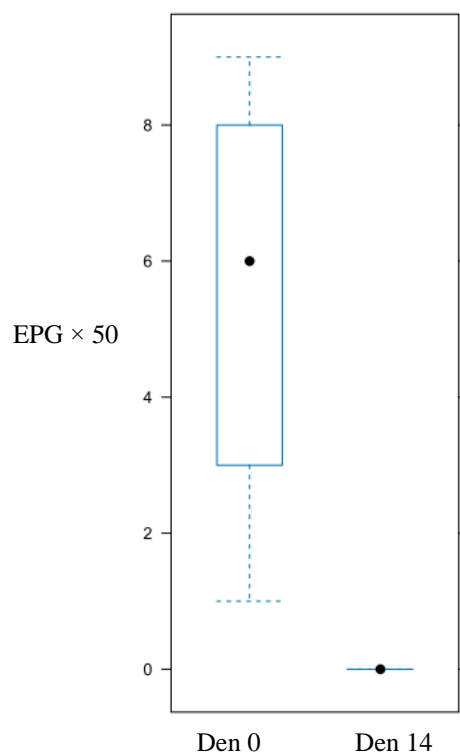


Parazitární infekce malými strongylidy u koní, oslů a poníků byly terapeuticky léčeny anthelmintikem Verm-x celkem na 6 farmách (graf 6).

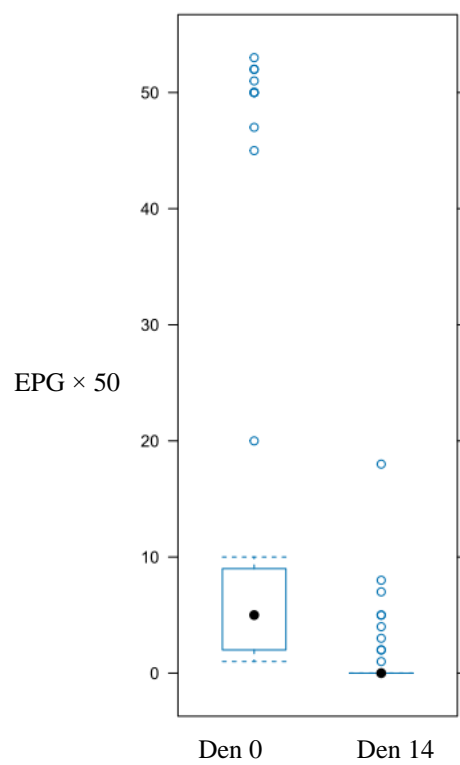
Výsledky prokázaly účinnost v 98%, nicméně v jednom chovu oslů byl tento veterinární léčivý přípravek z hlediska hodnoty EPG vyhodnocen jako neúčinný – konkrétní jedinci měli hodnotu EPG před a po aplikaci přípravku Verm-x beze změny. Vzhledem ale k pozitivním výsledkům v ostatních chovech koní, oslů a poníků lze tento lék považovat za účinný proti nematodám.

U veterinárního léčivého přípravku Noromectin v léčbě malých strongilidů u koní a poníků byla pozorována 100% účinnost, a to ve všech sledovaných chovech koní (6 farem) a poníků (3 farmy; graf 7).

Graf 7. Účinnost anthelmintika Noromectin za období 2021 – 2023



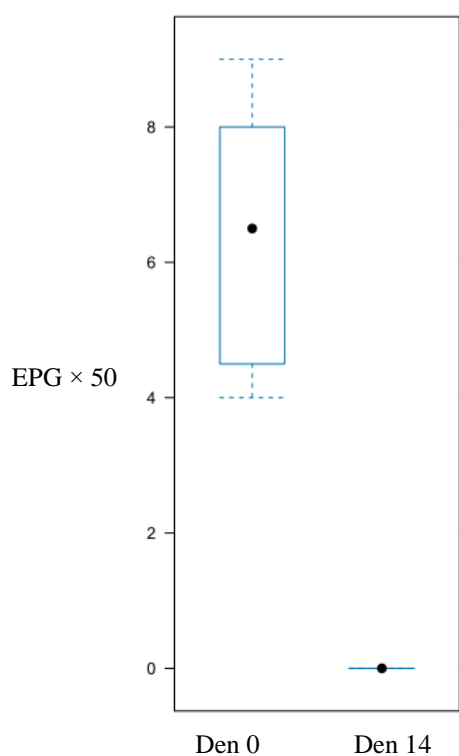
Graf 8. Účinnost anthelmintika Aldifal za období 2021 – 2023



Terapeutická léčba anthelmintikem Aldifal byla hodnocena pro parazitární infekce nematod a trematod u skotu, bizonů a zubrů a pro parazitárních infekcí nematod u ovcí a koz (graf 8).

Aldifal byl sice dle výsledků FECRT vyobrazených v grafu 8, vyhodnocen jako účinný, nicméně u některých jedinců došlo pouze k částečné eradikaci nematod, lze tedy předpokládat rezistenci parazitů na tento veterinární léčivý přípravek. Snížená účinnost byla pozorována i v případě infekce trematody, vzhledem k tomu, že tento veterinární léčivý přípravek není určen k léčbě *C. daubneyi*, ale k léčbě *F. hepatica*, je neúčinnost v případě *C. daubneyi* očekávaná. *Fasciola hepatica* nebyla ve sledovaných chovech detekována.

Graf 9. Účinnost anthelmintika Albex za období 2021 – 2023

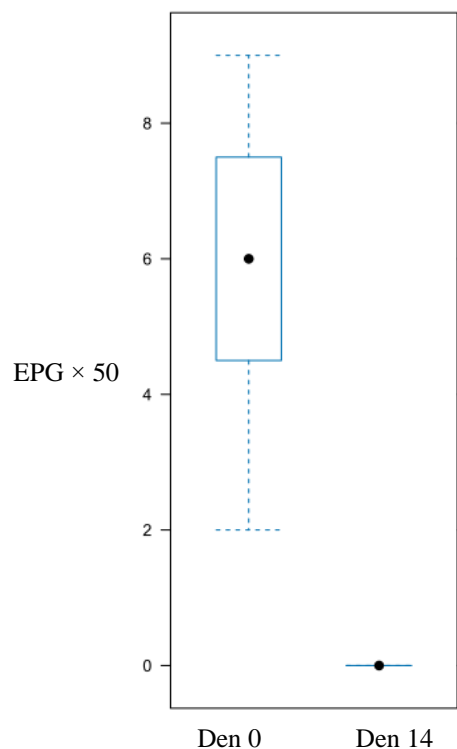


Veterinární léčivý přípravek Albex (graf 9) byl testován na osmi chovech skotu a pěti chovech ovcí a koz z hlediska parazitárních infekcí nematod, konkrétně *H. contortus*. Účinnost anthelmintika Albex proti této parazitární infekci byla vyhodnocena ve 100 % chovů HZ.

Terapeutická léčba parazitárních infekcí malých strongylidů u koní anthelmintikem Ecomectin byla vyhodnocena v 7 chovech koní jako účinná (graf 10).

Vznik anthelmintické rezistence u anthelmintik Albex a Ecomectin byl tedy v těchto případech vyloučen.

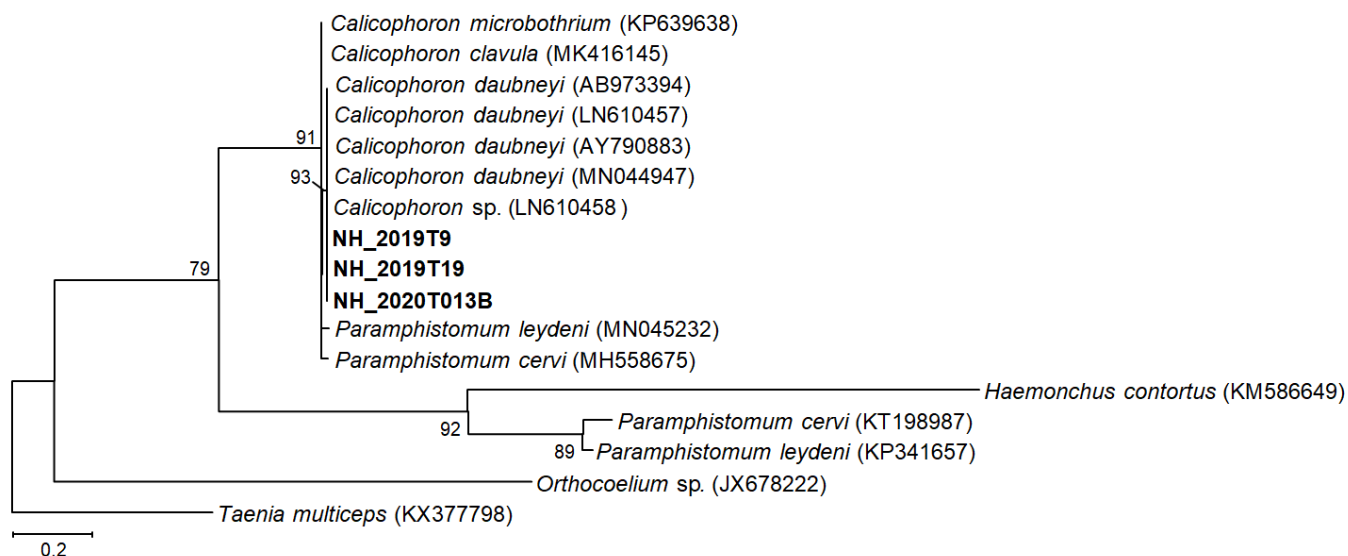
Graf 10. Účinnost anthelmintika Ecomectin za období 2021 - 2023



4.2 Molekulární determinace

Pro molekulární analýzu detekce *C. daubneyi* byly primery modifikovány podle původní metodiky Rinaldi et al., (2005). Byla použita oblast amplifikace genu 5.8S se sekvencí primeru (5'-3') F: TAGGCAATGTGGTGGTGT a R: TTGCACGTCAGAATCGCT, teplota nasedání 55,2 °C, délka 1 156 bp. Data byla použita spolu s několika dalšími helminty z GenBank ke genetické identifikaci. Nukleotidové sekvence byly porovnány pomocí vícenásobného zarovnání sekvencí nukleotidů pomocí Clustal X2 a jejich vztahu. Na obrázku 5 je zobrazen kladogram fylogenetických vztahů izolátů trematod porovnaných s jinými druhy a genotypy trematod na základě sekvencí genu 5.8S vytvořených metodou Maximum věrohodnosti model Hasegawa – Kishino – Yano G + I. Číselné hodnoty představují procentuální hodnoty bootstrapů s podporou pro více než 50 %, bootstrap 1000×.

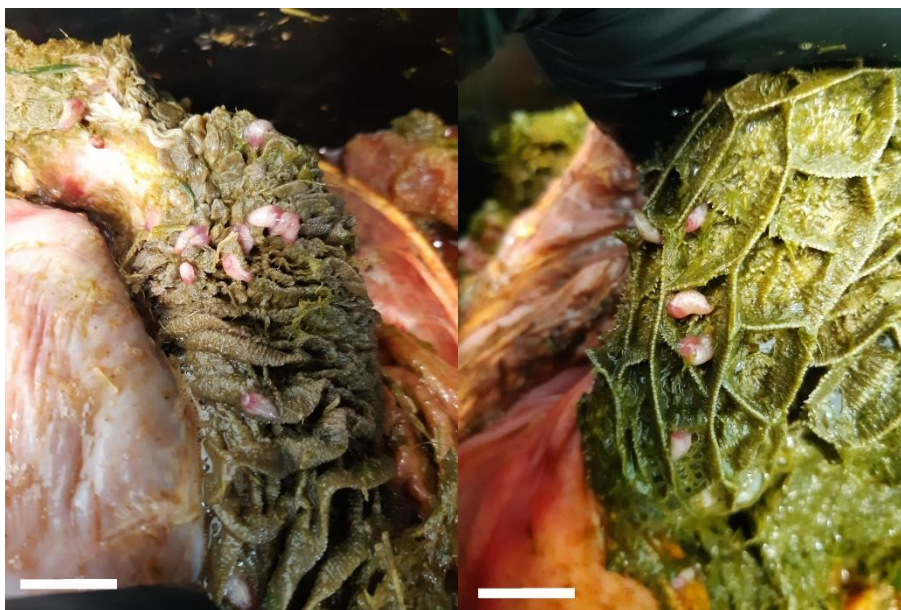
Obrázek 1. Kladogram fylogenetických vztahů izolátů *C. daubneyi*



Na základě fylogenetických analýz byly všechny sekvenované vzorky identické, proto byla v kladogramu použita pouze sada 3 náhodných reprezentativních vzorků (NH_2019T9; NH_2019T19; NH_2020T013B), které na kladogramu ukázaly, že DNA vzorků byla shodná s DNA *Calicophoronu* sp. uloženo v GenBank (KP639638; MK416145; AB973394; LN610457; AY790883; MN044947; LN610458; MN045232; MH558675; KM5869249; JX4KP7152849; JX4KT7152849; JX4KT7152838; KX377798). Celkem bylo provedeno molekulární vyšetření ze vzorků výkalů 76 různých vzorků skotu, 26 vzorků zubrů a 52 vzorků bizonů pozitivních na *Paramphistomatidae*.

U poražených jedinců byla provedena pitva (obrázek 2). Vzorky trematod byly molekulárně zpracovány a poté byly použity jako pozitivní kontroly při detekci *C. daubneyi* při zpracování PCR.

Obrázek 2. Pitevnický nález *C. daubneyi* ve slezu u poraženého bizona (vzorky NH_202013F a NH_202013A; měřítko = 200 μ m; zdroj Havrdová)



5 DISKUZE

5.1 Výskyt a prevalence parazitárních infekcí u sledovaných jedinců

Parazitární infekce byly koprologicky nebo molekulárně detekovány ve všech sledovaných chovech/stádech HZ a často se jednalo o smíšené infekce nematod/cestod/trematod, jak potvrzují studie (Dolinská et al., 2014; Davies et Wales, 2019; Sauermann et al., 2023).

Před zahájením studie byli všichni jedinci léčeni profylakticky bez předchozích laboratorních testů. Prevalence ve stádě se u sudokopytníků i lichokopytníků pohybovala v roce 2020 v rozmezí 78 – 99 %.

Parazitární infekce způsobené trematody, konkrétně *C. daubneyi* byly zaznamenány pouze u sudokopytníků, konkrétně v chovech skotu, zubrů a bizonů. Prevalence po terapeutické léčbě signifikantně klesla, což je v rozporu se studiemi Kaplan (2004, 2020). Zajímavostí je, že v ČR neexistuje žádné anthelmintikum určené k cílené léčbě *C. daubneyi* a přesto bylo ve studii Havrdová et al., (2023) prokázáno, že anthelmintika, která nejsou určená pro cílenou léčbu tohoto parazita, byla z části účinná. Prevalence u sledovaných parazitárních infekcí způsobených cestody u lichokopytníků ve studii Ilić et al., (2020) byly výrazně vyšší ve srovnání s výsledky této disertační práce. U sudokopytníků byly infekce tasemnicemi v chovech detekovány rovněž v minimálním zastoupení a to ve srovnání s infekcí nematody. Nejvyšší prevalence byla pro *M. benedeni* vyhodnocena v roce 2021 před terapeutickou léčbou v jihočeském kraji na 90 %, ale po terapeutické léčbě došlo k poklesu prevalence na 45 %. Vzhledem k vývojovému cyklu u cestod je velmi komplikované stanovit prevalenci z hlediska počtu jedinců v zažívacím traktu hostitele (Ilić et al., 2020). U lichokopytníků byla detekována *A. perfoliata* v nejvyšším zastoupení v chovech v jihočeském kraji. Stejně jako v případě sudokopytníků je velmi obtížné určit u parazitárních infekcí způsobených tasemnicemi skutečnou intenzitu infekce (Iacob et al., 2020). Protože vysoká prevalence může být způsobena jediným jedincem v hostiteli a to díky vysoké produkci vajíček do prostředí.

5.2 Terapeutická léčba a účinnost/rezistence anthelmintik

Anthelmintika jsou navržena tak, aby byla toxická pro parazitární zástupce, nicméně lze konstatovat, že vykazují toxicitu i vůči jiným bezobratlým. To je vážný problém, zejména pro druhy, které tráví část svého životního cyklu ve výkalech. Mouchy a brouci jsou v úzké interakci s mikroorganismy, podílejí se na rozkladu trusu, protože hmyz se živí organickým materiálem a pomáhá uvolňovat živiny do půdy. Z hlediska snížení degradace výkalů a omezením kvality a druhové bohatosti půdy v ČR, jak bylo prokázáno studií Ambrožová et al., (2021) nebo Brazílii (Correa et al., 2022), může být ovlivněna rezistentní skupina parazitů

kontaminující pastvinu z důvodu profylaktické léčby. Vzhledem k tomu, že hranice mezi účinností anthelmintik a rezistencí je velmi tenká a z hlediska vhodně zvolené anthelmintické léčby je procento úspěšnosti vyšší (Coles et al., 2006; Mavrot et al., 2015). Nedílnou součástí zvýšené prevalence ve stádě často bývá mj. nedostatečná identifikace a kontrola parazitárních infekcí, které jsou léčeny převážně profylakticky bez předchozích laboratorních testů potvrzujících přítomnost parazitárních druhů. Z tohoto důvodu je celková účinnost anthelmintika snížena a rezistence se tak zvyšuje. Výsledky této studie potvrdily, že v případech kdy byli jedinci léčeni profylakticky, byla prevalence ve stádě/chovu vyšší, ale po cílené léčbě konkrétním anthelmintikem prevalence klesla.

Pro sudokopytníky byla v této studii navržena terapeutická léčba následujícími anthelmintiky – Albex, Aldifal, Biomec, Closamectin, Helmigal, Ivomec super a Panacur. U lichokopytníků byly během terapeutické léčby aplikovány anthelmintika – Ecomectin, Noromectin a Verm-x.

Vzhledem k tomu, že účinnosti anthelmintik u HZ v ČR se věnuje omezené množství studií, lze sledovanou úspěšnost/neúspěšnost terapeutické léčby porovnat pouze s výsledky zahraničních studií. Mimo ČR jsou dostupná i anthelmintika s účinnou složkou, která v ČR není povolena/registrována (Keyyu et al., 2006; Huson et al., 2017; Vokřál et al., 2023).

Nejvíce využívanou skupinou anthelmintik jsou benzimidazoly. Benzimidazoly mají širší spektrum účinku a nízkou toxicitu pro hostitele a poškozují pouze buňky parazita, nikoli hostitele (Muchiut et al., 2018; Li et al., 2021). Metabolismus savců dokáže benzimidazoly odbourat lépe než metabolismus parazitů. U aplikovaných anthelmintik této kategorie byla v této disertační práci prokázána 60 – 86 % účinnost. Nejvíce zastoupeným parazitárním druhem z kmene nematoda byl *H. contortus*, popřípadě *O. ostertagi*. Mimo laboratorní vyšetření lze *H. contortus* detekovat sledováním anémie, například pomocí indexu barvy spojivek FAMACHA (Olah et al., 2015), běžně využívaného v chovech ovcí. Nespolehlivější a účinnou metodou je však určení počtu vajíček/larev ve výkalech stanovených pomocí laboratorních metod (koprologie, PCR; Devaney et al., 2019; Hodgkinson et al., 2019). V parazitologických studiích se proto většina analýz zaměřuje právě na biologické vlastnosti vajíček nebo dospělců (Wang et al., 2020; Li et al., 2021; Wang et al., 2021; Di Maggio et al., 2022). K léčbě *H. contortus* je k dispozici v rámci ČR i Evropy řada anthelmintik a účinné preventivní programy se liší v závislosti na prostředí a typech podniků a podle rozsahu rizika hemonchózy a místní epidemiologie infekcí, jak potvrzují výsledky této studie. Přestože nejčastější možností léčby nematodóz jsou právě benzimidazoly (Floyd et al., 2002; Muchiut et al., 2018; Kaplan et al., 2020), je trendem posledních desítek let léčbu přesto omezit z

hlediska endemické situace rezistence na konkrétní anthelmintika (Niciura et al., 2019; Kaplan et al., 2020; Charlier et al., 2022). Výsledky v této studii potvrdily, že účinnost benzimidazolů u HZ není vždy 100% a riziko rezistence se zvyšuje.

Dalším řešením je z hlediska anthelmintik možná aplikace Clorsulonu, nicméně v ČR není dostupný. V Evropě se používá v kombinované terapii s ivermectiny pro skot v doporučené dávce 2,0 mg/kg. Clorsulon je také účinný proti trematodám (Vokřál et al., 2023).

Studie Ilić et al., (2023) potvrzuje rezistentní kmeny parazitů na ivermektiny benzimidazoly, nicméně v ČR se studii touto problematikou zabývají velmi zřídka a informace nejsou aktuální (Vadlejch et al., 2014, 2015). V této práci nebyla pomocí LDA testů rezistence sledována, nicméně z hlediska snížených účinností anthelmintik lze tuto variantu do budoucna zvažovat.

Parazitární infekce způsobené *M. benedeni* v chovech ovcí, koz, jelenů a muflonů uvedené v této studii byli způsobeny kromě potenciálního přenosu mezi volně žijící zvěří, nedostatečnou hygienou pastvin, kdy výkaly obsahující vajíčka tasemnic nebyla v minulých letech při profylaktické léčbě z pastviny odstraněna a došlo tak ke kontaminaci potravy. Tím byla snížena účinnost anthelmintik a mohla tak být vyvinuta rezistence parazitů. Protože na základě cílené léčby a dodržení zoohygienických postupů, došlo u jedinců infikovaných *M. benedeni* k vyléčení a následná opakovaná infekce byla detekována v kontrolních vzorcích výkalů až po pěti měsících, lze konstatovat, že infekce byla způsobena volně žijící zvěří. Bohužel v rámci chovu pasených HZ není možné zcela omezit přístup těchto jedinců ke stádu.

Výsledky evropských studií (Davies et Wales, 2019; Devaney et al., 2019) jsou srovnatelné s výsledky uvedenými v této práci, nicméně identifikace a kontrola prevalence ve stádě by měla být zohledňována do ekonomického kontextu celého hospodářství a žádný jedinec by neměl být léčen profylakticky, ale cíleně na základě laboratorní diagnostiky parazitárních infekcí. Zároveň bylo v této studii prokázáno, že cílená léčba je z hlediska zdravotního stavu jedince, welfare, ekonomiky a managementu chovu nejefektivnější volbou, jak je ověřeno u zahraničních studií s obdobným zaměřením (Benavides et al., 2016; Vokřál et al., 2019, 2023).

Vznik rezistence na anthelmintika, ale i jiná léčiva, je možný na základě farmakokinetického a farmakodynamického působení. Farmakokinetický mechanismus snižuje koncentraci aktivní formy léčiva v buňce, čímž nemůže dojít k zamýšlenému účinku. Toto může být způsobeno snížením absorpce látky, jejím zrychleným vylučováním nebo aktivací enzymů metabolizujících léčiva (Hodgkinson et al., 2019). Farmakodynamika se týká strukturálních změn cílových makromolekul pro léčiva. Jestliže je látka neschopna se navázat,

nemá možnost přenést svůj účinek dále. Nežádka se rezistence vyvíjí jak na základě farmakodynamického, tak i farmakokinetického mechanismu. Tím se řešení rezistence stává ještě více složitým. Dále k šíření rezistentních populací helmintů vede neznalost jejich biologie a neodborná a nevhodná aplikace léčiv vytvářející pozitivní selekční tlak na jedince nesoucí geny rezistence (Chroust, 2000; Vadlejch, 2015). O neodborném používání léčiv svědčí i první záchyty rezistencí krátce po uvedení přípravku na trh, například thiabendazol byl uveden na trh v roce 1961 a první rezistentní populace byly popsány v roce 1964, obdobně tomu bylo i u ivermektinu (uveden - 1981, rezistence - 1988) nebo menopentelu (uveden - 2006, rezistence - 2009). Taktéž běžné výsledky laboratorní metody určené k detekci endoparazitů (flotace a sedimentace), jsou bez hlubších analýz a návaznosti na moderní vědecké metody jako je molekulární biologie a sofistikované laboratorní vyšetření výkalů z hlediska vývoje rezistencí je téměř nevýznamné (Hoste et Torres-Acosta 2011; Charlier et al., 2014; Rondelaud et al., 2015; Lifschitz et al., 2017).

Studie zabývající se LDA testy (Lind et al., 2005) sledují rezistenci dle vývojových stádií larev, nicméně v této práci byla metoda LDA využita pouze pro získání dospělých jedinců pro následnou specifikaci a určení druhu nematody. Laboratorní detekce vývojových stádií a dospělců parazitů byla detekována převážně na základě – flotace a sedimentace jako ve studiích (Cernea et al., 2007; Mooney et al., 2009; Falzon et al., 2014).

5.3 Účinnost terapeutické léčby sudokopytníků u parazitárních infekcí *C. daubneyi*

Vzhledem k faktu, že v ČR neexistují žádné studie zabývající se účinnosti léčby benzimidazolem proti *C. daubneyi* a v ČR není registrované žádné anthelmintikum, které by bylo cílené na tuto trematodu, lze účinnost anthelmintik srovnávat pouze na úrovni zahraničních zdrojů, a proto nebyla neregistrovaná anthelmintika zařazena do přehledu výše. Účinná látka oxyklozanid se ve veterinárních léčivých přípravcích dostupných v ČR nenachází a je aplikována především mimo ČR (Keyyu et al., 2006; Mavyenyengwa et al., 2010; Huson et al., 2017) Anthelmintikum Closamectin není primárně určené pro parazitární infekci *C. daubneyi* a účinnost Closamectinu prokázaná v studii však nepotvrzuje výsledky ve srovnání se studií Nzalawahe et al., (2018), kde byla zjištěna neúčinnost Closamectinu z důvodu neúčinnosti anthelmintika na cílovou skupinu *Paramphistomatidae*. Po druhé aplikaci anthelmintik byla hodnota EPG vyšší (EPG 11,7 - 26,1) než hodnota EPG po první aplikaci (EPG 8,1 - 12,4).

V této studii byla sledována účinnost anthelmintik 14 dní po podání léku v souladu se studií Flanagana et al., (2011) který doporučuje stanovit účinnost léku pomocí FECRT 14. den po ošetření u domácích přežvýkavců infikovaných motolicemi, protože tato doba odběru umožňuje úplné odstranění vajíček vývojových stádií z hostitele. Vývojový cyklus trematod je však mnohem delší, excystování trematody trvá déle než měsíc, než se dostane do bachoru (Moazeni et Ahmadi, 2016). Přesto byly vzorky výkalů odebrány 14. den podle metodiky Flanagana et al., (2011). K podobným závěrům dospěli Brockwell et al., (2014), kteří uvedli, že podle výsledků FECRT je účinnost anthelmintika prokazatelná již 7. den po léčbě u skotu infikovaného trematodou.

Studie Cabaret et Berrag (2004) a Holm et al., (2014) potvrdily, že výsledky FECRT mohou být ovlivněny různými faktory, jako jsou podmínky prostředí, úroveň infekce ve stádě a anthelmintická účinnost. Účinnost léčby dále potvrzují studie Vadlejcha et al., (2015) a Martínez-Valladares et al., (2015). Studie Vadlejcha et al., (2015), Gunathilaka et al., (2018) a Vineer et al., (2020) upozorňují, že na každé farmě je nutné dodržovat podmínky biologické bezpečnosti, aby se zabránilo šíření infekčních chorob mimo farmu.

Podrobnější přiblížení tohoto výzkumu zabývajícího se infekcí a účinností anthelmintik *C. daubneyi* je shrnuto v publikaci I.

5.4 Biosekurita a zoohygiena ovlivňující parazitární infekce u hospodářských zvířat

Parazitární infekce způsobené helminty jsou hlavním omezením efektivní živočišné výroby ve všech chovech HZ. V souvislosti s rostoucím problémem anthelmintické rezistence (Doyle et Cotton, 2019) v posledních desetiletích byl kladen větší důraz na identifikaci stád nebo zvířat s produkčními ztrátami vyvolanými helmintem a zacílením anthelmintické léčby na tyto podskupiny, aby se zachovala anthelmintická účinnost a zároveň se zabránilo ztrátám produkce.

Cílem strategie kontroly parazitárních infekcí v chovech HZ by nemělo být primárním cílem jen snížení úroveň infekce, ale hlavně využití dostupných zdrojů a vstupů (krmivo, pastviny, léky). Tuto domněnku potvrzují zahraniční studie zabývající se managementem chovu HZ s využitím dostupných a soběstačných zdrojů v rámci konkrétní farmy (Skládanka et al., 2010; Jori et al., 2021; Hennessy et Rault 2023). V rámci studie u žádného jedince nebyly zpozorovány klinické příznaky parazitárních infekcí a nebyl ohrožen zdravotní stav jedinců ve stádě stejně jako ve studii Havrdová et al., (2023, 2023a). Právě klinické příznaky jsou jednou ze zásadních příčin nezájmu o tuto problematiku ze strany chovatelů a snížený

zájem o laboratorní metody lze spařovat v tom, že klinické příznaky infekcí se ve většině chovů díky plošné aplikaci léčiv zatím téměř nevyskytují, přestože jak bylo potvrzeno v této studii, GIH patří mezi nejvíce rozšířené parazity u pasených zvířat.

Vznikající fenomén anthelmintické rezistence za poslední roky ale vyžaduje naléhavou úpravu léčebných programů, které při omezení ztrát při výrobě zachovávají účinnosti dostupných anthelmintických účinných látek v dlouhodobém horizontu. Návrat populace parazitů do stavu, kdy je většina jedinců citlivá k účinkům anthelmintik, je teoreticky možný, avšak z praxe prozatím neexistují žádné zprávy o plně úspěšné reverzi. V této studii byla teoretická rezistence na vybraná anthelmintika zpozorována pouze v případě snížené účinnosti, nicméně samotná rezistence zde nebyla hodnocena. Oproti studii Kaplan (2020) nebo Correa et al., (2022) představuje rezistence závažný problém.

6 ZÁVĚR

V první řadě je nutné si uvědomit, že ne všechny léčebné postupy jsou vhodné pro jednotlivá zvířata. V každém chovu je nutné volit individuální přístup (dle typu chovu, jeho struktury, managementu, zvířat). Lze konstatovat, že v podstatě neexistuje žádná univerzální metoda ani obecný program terapeutické léčby a je nutné se do problematiky každého chovu/stáda ponořit podrobně. Prevalence ve stádě je tedy kromě intenzity parazitární infekce ovlivněna hlavně zoohygienou a celkovým zdravotním stavem jedinců závislým převážně na výživě.

Většina současných diagnostických testů specifikovaných na parazitární infekce helmintů neinformuje o dopadu výroby. Se současnými výzvami k další udržitelné intenzifikaci živočišné výroby, aby byly uspokojeny požadavky rostoucí a měnící se světové populace, musí být kontrola nematod integrována do ekonomického kontextu celého zemědělského podniku a samozřejmě by každá parazitární infekce měla být řešena individuálně v rámci každého chovu či stáda HZ. Vzhledem k tomu, že nelze posoudit všechny negativní účinky v ekonomickém hledisku pro konkrétní farmu, je většina poznatků založena spíše na očekávaných dopadech, nikoliv na pozorování.

Je třeba zdůraznit, že pro úspěšný reverzní proces není totální eradikace populací parazitů žádoucí, neboť zvířatům by neměl být zcela odepřen přístup k přirozené infekci, a to nejen pro vývoj získané imunity, ale i z důvodů ředění rezistentní genů v populaci parazitů. Z výsledků uvedených v této práci je možné vyvodit následující dílčí výzkumné poznatky, které představují nezbytné primární kroky k dosažení pozitivního efektu ve stádě s relevantní hladinou parazitárních infekcí:

a) zdokumentovat prevalenci a druhovou rezistenci parazitů u sledovaných HZ a následně posoudit potenciální míru přenosu parazitárního onemocnění mezi jednotlivými stády zvířat.

b) porovnat účinnost lokální aplikace veterinárních léčivých anthelmintických přípravků a vyhodnotit účinnost v závislosti na druhové rezistenci zvířat a na jednotlivých druzích/rodech parazitů vyskytujících se v gastrointestinálním traktu zvířat.

c) snížit/omezit spotřebu anthelmintik volbou vhodného individuálního léčebného postupu založeného na laboratorním vyšetření.

Kam by měl výzkum dále směřovat? V současnosti již bylo vynaloženo značné úsilí a vědecký výzkum se stále posouvá vpřed, a to zejména u nových technologií založených na DNA nebo multiplexních technologiích je zapotřebí více poznatků. V posledním kroku se kombinuje specifická diagnostika stáda a dopad produkce se situací transformace vstupů a

výstupů specifickou pro stádo. To povede k optimalizovaným rozhodnutím o zdraví zvířat s ohledem na dostupné zdroje na každé farmy.

Biosekurita tak tvoří nedílnou součást každého podniku/chovu. Striktní dodržování základních zoohygienických pravidel povede k prosperitě podniku.

Dalším cílem by z hlediska farmakologie mělo být kromě vývoje anthelmintik na již rezistentní kmeny, věnováno více pozornosti antiparazitikům určeným cíleně pro kozy, neboť pro tyto zástupce HZ v podstatě neexistuje žádné registrované anthelmintikum.

Dále by se výzkum měl též zabývat druhovou odolností sudokopytníků z hlediska výskytu parazitárních infekcí u jednotlivých plemen.

7 REFERENCE

- Ajmone-Marsan, P., Garcia, J. F., & Lenstra, J. A. (2010). On the origin of cattle: how aurochs became cattle and colonized the world. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 19(4), 148-157.
- Ambrožová, L., Sládeček, F. X. J., Zítek, T., Perlík, M., Kozel, P., Jirků, M., & Čížek, L. (2021). Lasting decrease in functionality and richness: Effects of ivermectin use on dung beetle communities. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 321, 107634.
- Bader, C., Chelladurai, J. J., Starling, D. E., Jones, D. E., & Brewer, M. T. (2017). Assessment of in vitro killing assays for detecting praziquantel induced death in *Posthodiplostomum minimum metacercariae*. *Experimental parasitology*, 181, 70-74.
- Barda, B., Cajal, P., Villagran, E., Cimino, R., Juarez, M., Krolewiecki, A., ... & Albonico, M. (2014). Mini-FLOTAC, Kato-Katz and McMaster: three methods, one goal; highlights from north Argentina. *Parasites & vectors*, 7(1), 1-7.
- Barelli, C., Donati, C., Albanese, D., Pafčo, B., Modrý, D., Rovero, F., & Hauffe, H. C. (2021). Interactions between parasitic helminths and gut microbiota in wild tropical primates from intact and fragmented habitats. *Scientific Reports*, 11(1), 21569.
- Benavides, M. V., Sonstegard, T. S., & Van Tassel, C. (2016). Genomic regions associated with sheep resistance to gastrointestinal nematodes. *Trends in parasitology*, 32(6), 470-480.
- Brockwell, Y. M., Elliott, T. P., Anderson, G. R., Stanton, R., Spithill, T. W., & Sangster, N. C. (2014). Confirmation of *Fasciola hepatica* resistant to triclabendazole in naturally infected Australian beef and dairy cattle. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 4(1), 48-54.
- Cabaret, J., & Berrag, B. (2004). Faecal egg count reduction test for assessing anthelmintic efficacy: average versus individually based estimations. *Veterinary parasitology*, 121(1-2), 105-113.
- Cameron, A., & McAllister, T. A. (2016). Antimicrobial usage and resistance in beef production. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7, 1-22.

Cernea, M., Cernea, C., Diana, M. O. O., Raileanu, S., & Cozma, V. (2007). Eggs hatching and larval development assay of strongyls resistance at benzimidazoles in zoo equines. *Lucrari Stiintifice-Universitatea de Stiinte Agricole a Banatului Timisoara, Medicina Veterinara*, 40, 140-146.

Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., ... & Vercruyse, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary parasitology*, 136(3-4), 167-185.

Correa, C. M., Ferreira, K. R., Abot, A. R., Louzada, J., & Vaz-de-Mello, F. Z. (2022). Ivermectin impacts on dung beetle diversity and their ecological functions in two distinct Brazilian ecosystems. *Ecological Entomology*, 47(5), 736-748.

Davies, R., & Wales, A. (2019). Antimicrobial resistance on farms: a review including biosecurity and the potential role of disinfectants in resistance selection. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 18(3), 753-774.

Decker, J. E., McKay, S. D., Rolf, M. M., Kim, J., Molina Alcalá, A., Sonstegard, T. S., ... & Taylor, J. F. (2014). Worldwide patterns of ancestry, divergence, and admixture in domesticated cattle. *PLoS genetics*, 10(3), e1004254.

Demeler, J., Kleinschmidt, N., Küttler, U., Koopmann, R., & von Samson-Himmelstjerna, G. (2012). Evaluation of the egg hatch assay and the larval migration inhibition assay to detect anthelmintic resistance in cattle parasitic nematodes on farms. *Parasitology International*, 61(4), 614-618.

Devaney, E., Matthews, L., Milne, C., Howell, S., McIntyre, J., Ezenwa, V., ... & Park, A. W. (2019). Refugia and anthelmintic resistance: concepts and challenges. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*.

Di Maggio, L. S., Curtis, K. C., Erdmann-Gilmore, P., Sprung, R. S., Townsend, R. R., Weil, G. J., & Fischer, P. U. (2022). Comparative proteomics of adult *Paragonimus kellicotti* excretion/secretion products released *in vitro* or present in the lung cyst nodule. *PLoS neglected tropical diseases*, 16(8), e0010679.

Dolinská, M., Ivanišinová, O., Königová, A., & Várady, M. (2014). Anthelmintic resistance in sheep gastrointestinal nematodes in Slovakia detected by *in vitro* methods. *BMC Veterinary Research*, *10*, 1-5.

Doyle, S. R., & Cotton, J. A. (2019). Genome-wide approaches to investigate anthelmintic resistance. *Trends in parasitology*, *35*(4), 289-301.

Eysker, M., & Ploeger, H. W. (2000). Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Parasitology*, *120*(7), 109-119.

Falzon, L. C., O'Neill, T. J., Menzies, P. I., Peregrine, A. S., Jones-Bitton, A., & Mederos, A. (2014). A systematic review and meta-analysis of factors associated with anthelmintic resistance in sheep. *Preventive veterinary medicine*, *117*(2), 388-402.

Flanagan, A., Edgar, H. W. J., Gordon, A., Hanna, R. E. B., Brennan, G. P., & Fairweather, I. (2011). Comparison of two assays, a faecal egg count reduction test (FECRT) and a coproantigen reduction test (CRT), for the diagnosis of resistance to triclabendazole in

Floyd, R., Abebe, E., Papert, A., & Blaxter, M. (2002). Molecular barcodes for soil nematode identification. *Molecular ecology*, *11*(4), 839-850.

Genes, L., Svenning, J. C., Pires, A. S., & Fernandez, F. A. (2019). Why we should let rewilding be wild and biodiverse. *Biodiversity and Conservation*, *28*, 1285-1289.

González-Warleta, M., Lladosa, S., Castro-Hermida, J. A., Martínez-Ibeas, A. M., Conesa, D., Munoz, F., ... & Mezo, M. (2013). Bovine paramphistomosis in Galicia (Spain): prevalence, intensity, aetiology and geospatial distribution of the infection. *Veterinary Parasitology*, *191*(3-4), 252-263.

Götherström A., Anderung C., Hellborg L., Elburg R., Smith C., Bradley D. G., Ellegren H. 2005. Cattle domestication in the Near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe. *Proceedings of the Royal Society*

Gunathilaka, N., Niroshana, D., Amarasinghe, D., & Udayanga, L. (2018). Prevalence of gastrointestinal parasitic infections and assessment of deworming program among cattle and buffaloes in Gampaha District, Sri Lanka. *BioMed research international*, 2018.

Hall, S. J., & Bunce, R. G. (2019). The use of cattle *Bos taurus* for restoring and maintaining holarctic landscapes: Conclusions from a long-term study (1946–2017) in northern England. *Ecology and Evolution*, 9(10), 5859-5869.

Havrdová N., Roztočil D., Petrášková E., Tejml P., Kernerová N., Poborská A., Vráblík P., Novák P., Malá G., Zevlová E., Maurer J., Beran J., Záborský L., Šoch M. 2023a. The effect of the number of feed pushing-ups on animal behavior, dry matter intake and milk yield of dairy cows. *Journal of Central European Agriculture*, 2023, 24(4). p. 789-801. DOI: 10.5513/JCEA01/24.4.3827.

Havrdová N., Havrda O., Čondlová Š., Pecová L., Kernerová N., Beran J., Šoch M. 2023. *Calicophoron daubneyi* (Digenea: Paramphistomidae): The efficacy of anthelmintics in naturally infected cattl. *Journal of Central European Agriculture*, 2023, 24(4), p. 817-826. DOI:10.5513/JCEA01/24.4.4053

Hennessy, D. A., & Rault, A. (2023). On systematically insufficient biosecurity actions and policies to manage infectious animal disease. *Ecological Economics*, 206, 107740.

Herrero, M., & Thornton, P. K. (2013). Livestock and global change: Emerging issues for sustainable food systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(52), 20878-20881.

Hodgkinson, Jane E.; Kaplan, Ray M.; Kenyon, Fiona; Morgan, Eric R.; Park, Andrew W.; Paterson, Steve; Babayan, Simon A.; Beesley, Nicola J.; Britton, Collette; Chaudhry, Umer; Doyle, Stephen R.; Ezenwa, Vanessa O.; Fenton, Andy; Howell, Sue B.; Laing, Roz; Mable, Barbara K.; Matthews, Louise; McIntyre, Jennifer; Milne, Catherine E.; Morrison, Thomas A.; Prentice, Jamie C.; Sargison, Neil D.; Williams, Diana J.L.; Wolstenholme, Adrian J.; Devaney, Eileen (2019). Refugia and anthelmintic resistance: Concepts and challenges. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 10(), 51–57. doi:10.1016/j.ijpddr.2019.05.001

Holm, S. A., Sørensen, C. R., Thamsborg, S. M., & Enemark, H. L. (2014). Gastrointestinal nematodes and anthelmintic resistance in Danish goat herds. *Parasi*

Hoste, H., & Torres-Acosta, J. F. J. (2011). Non chemical control of helminths in ruminants: adapting solutions for changing worms in a changing world. *Veterinary parasitology*, 180(1-2), 144-154.

Huson, K. M., Oliver, N. A., & Robinson, M. W. (2017). Paramphistomosis of ruminants: an emerging parasitic disease in Europe. *Trends in parasitology*, 33(11), 836-844.

Charlier, J., Bartley, D. J., Sotiraki, S., Martinez-Valladares, M., Claerebout, E., von Samson-Himmelstjerna, G., ... & Rinaldi, L. (2022). Anthelmintic resistance in ruminants: Challenges and solutions. *Advances in parasitology*, 115, 171-227.

Charlier, J., Levecke, B., Devleeschauwer, B., Vercruysse, J., & Hogeveen, H. (2012). The economic effects of whole-herd versus selective anthelmintic treatment strategies in dairy cows. *Journal of dairy science*, 95(6), 2977-2987.

Charlier, J., van der Voort, M., Kenyon, F., Skuce, P., & Vercruysse, J. (2014). Chasing helminths and their economic impact on farmed ruminants. *Trends in parasitology*, 30(7), 361-367.

Chroust, K. (2000). Occurrence of anthelmintic resistance in strongylid nematodes of sheep and horses in the Czech Republic. *Veterinarni Medicina*, 45(8), 233-239.

Iacob, O. C., El-Deeb, W. M., Pasca, S. A., & Turtoi, A. I. (2020). Uncommon co-infection due to *Moniezia expansa* and *Moniezia benedeni* in young goats from Romania: Morphological and histopathological analysis. *Annals of parasitology*, 66(4).

Ilić, T., Bogunović, D., Nenadović, K., Gajić, B., Dimitrijević, S., Popović, G., ... & Milosavljević, P. (2023). Gastrointestinal helminths in horses in Serbia and various factors affecting the prevalence. *Acta Parasitologica*, 68(1), 56-69.

Jori, F., Hernandez-Jover, M., Magouras, I., Dürr, S., & Brookes, V. J. (2021). Wildlife–livestock interactions in animal production systems: what are the biosecurity and health implications?. *Animal frontiers*, 11(5), 8-19.

Kaplan, R. M. (2004). Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in parasitology*, 20(10), 477-481.

Kaplan, R. M. (2020). Biology, epidemiology, diagnosis, and management of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of livestock. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 36(1), 17-30.

Keyyu, J. D., Kassuku, A. A., Msalilwa, L. P., Monrad, J., & Kyvsgaard, N. C. (2006). Cross-sectional prevalence of helminth infections in cattle on traditional, small-scale and large-scale dairy farms in Iringa district, Tanzania. *Veterinary research communications*, *30*, 45-55.

Kochapakdee, S., Pandey, V. S.; Pralomkarn, W.; Chondumrongkul, S.; Ngampongsai, W.; Lawpetchara, A. Anthelmintic resistance in goats from Southern Thailand. *Vet Rec* 1995, *137*, 124–125. doi: 10.1136/vr.137.5.124

Kotze, A. C., Gilleard, J. S., Doyle, S. R., & Prichard, R. K. (2020). Challenges and opportunities for the adoption of molecular diagnostics for anthelmintic resistance. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, *14*, 264-273.

Li, X., Jiang, S., Wang, X., Hui, W., & Jia, B. (2021). iTRAQ-based comparative proteomic analysis in different developmental stages of *Echinococcus granulosus*. *Parasite*, *28*.

Lifschitz, A., Lanusse, C., & Alvarez, L. (2017). Host pharmacokinetics and drug accumulation of anthelmintics within target helminth parasites of ruminants. *New Zealand Veterinary Journal*, *65*(4), 176-184.

Lind, E. O., Ugglå, A., Waller, P., & Höglund, J. (2005). Larval development assay for detection of anthelmintic resistance in cyathostomins of Swedish horses. *Veterinary parasitology*, *128*(3-4), 261-269.

Martínez-Pérez, J. M., Robles-Pérez, D., Rojo-Vázquez, F. A., & Martínez-Valladares, M. (2012). Comparison of three different techniques to diagnose *Fasciola hepatica* infection in experimentally and naturally infected sheep. *Veterinary parasitology*, *190*(1-2), 80-86.

Martínez-Valladares, M., Geurden, T., Bartram, D. J., Martínez-Pérez, J. M., Robles-Pérez, D., Bohórquez, A., ... & Rojo-Vázquez, F. A. (2015). Resistance of gastrointestinal nematodes to the most commonly used anthelmintics in sheep, cattle and horses in Spain. *Veterinary Parasitology*, *211*(3-4), 228-233. *te*, *21*.

Mason, C., Stevenson, H., Cox, A., & Dick, I. (2012). Disease associated with immature paramphistome infection in sheep. *The Veterinary record*, *170*(13), 343.

Mavenyengwa, M., Mukaratirwa, S., & Monrad, J. (2010). Influence of *Calicophoron microbothrium* amphistomosis on the biochemical and blood cell counts of cattle. *Journal of helminthology*, 84(4), 355-361.

Mavrot, F., Hertzberg, H., & Torgerson, P. (2015). Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. *Parasites & vectors*, 8, 1-11.

Moazeni, M., & Ahmadi, A. (2016). Controversial aspects of the life cycle of *Fasciola hepatica*. *Experimental parasitology*, 169, 81-89.

Mooney, L., Good, B., Hanrahan, J. P., Mulcahy, G., & De Waal, T. (2009). The comparative efficacy of four anthelmintics against a natural acquired *Fasciola hepatica* infection in hill sheep flock in the west of Ireland. *Veterinary Parasitology*, 164(2-4), 201-205.

Muchiut, S. M., Fernández, A. S., Steffan, P. E., Riva, E., & Fiel, C. A. (2018). Anthelmintic resistance: Management of parasite refugia for *Haemonchus contortus* through the replacement of resistant with susceptible populations. *Veterinary parasitology*, 254, 43-48.

Niciura, S. C. M., Cruvinel, G. G., Moraes, C. V., Chagas, A. C. S., Esteves, S. N., Benavides, M. V., & Amarante, A. F. T. (2020). In vivo selection for *Haemonchus contortus* resistance to monepantel. *Journal of helminthology*, 94, e46.

Nzalawahe, J., Hannah, R., Kassuku, A. A., Stothard, J. R., Coles, G., & Eisler, M. C. (2018). Evaluating the effectiveness of trematocides against *Fasciola gigantica* and amphistomes infections in cattle, using faecal egg count reduction tests in Iringa Rural and Arumeru Districts, Tanzania. *Parasites & vectors*, 11, 1-9.

Olah, S., van Wyk, J. A., Wall, R., & Morgan, E. R. (2015). FAMACHA©: A potential tool for targeted selective treatment of chronic fasciolosis in sheep. *Veterinary parasitology*, 212(3-4), 188-192.

Pitt, D., Sevane, N., Nicolazzi, E. L., MacHugh, D. E., Park, S. D., Colli, L., ... & Orozco-terWengel, P. (2019). Domestication of cattle: Two or three events?. *Evolutionary applications*, 12(1), 123-136.

Rinaldi, L., Perugini, A. G., Capuano, F., Fenizia, D., Musella, V., Veneziano, V., & Cringoli, G. (2005). Characterization of the second internal transcribed spacer of ribosomal DNA of *Calicophoron daubneyi* from various hosts and locations in southern Italy. *Veterinary Parasitology*, *131*(3-4), 247-253.

Roeber, Florian, et al. "Establishment of a robotic, high-throughput platform for the specific diagnosis of gastrointestinal nematode infections in sheep." *International journal for parasitology* 42.13-14 (2012): 1151-1158.

Rondelaud, D., Teukeng, F. D., Vignoles, P., & Dreyfuss, G. (2015). *Lymnaea glabra*: progressive increase in susceptibility to *Fasciola hepatica* through successive generations of experimentally infected snails. *Journal of helminthology*, *89*(4), 398-403.

Sauermann, C., Waghorn, T., Miller, C., & Leathwick, D. (2023). Simultaneous resistance to multiple anthelmintic classes in nematode parasites of cattle in New Zealand. *Veterinary Parasitology*, 110079.

Silvestre, A., Leignel, V., Berrag, B., Gasnier, N., Humbert, J. F., Chartier, C., & Cabaret, J. (2002). Sheep and goat nematode resistance to anthelmintics: pro and cons among breeding management factors. *Vet Res*, *33*(5), 465-80.

Skládanka, J., Adam, V., Ryant, P., Doležal, P., & Havlíček, Z. (2010). Can *Festulolium*, *Dactylis glomerata* and *Arrhenatherum elatius* be used for extension of the autumn grazing season in Central Europe?. *Plant, Soil and Environment*, *56*(10), 488-498.

Thienpont, D., Rochette, F., & Vanparijs, O. F. J. (1986). Diagnosing helminthiasis by coprological examination. *Diagnosing helminthiasis by coprological examination.*, (Ed. 2).

Vadlejch, J. (2015). Gastrointestinal helminthoses in sheep-a review. *Veterinářství*, *65*(5), 361-366.

Vadlejch, J., Kopecký, O., Kudrnáčová, M., Čadková, Z., Jankovská, I., & Langrová, I. (2014). The effect of risk factors of sheep flock management practices on the development of anthelmintic resistance in the Czech Republic. *Small Ruminant Research*, *117*(2-3), 183-190.

Van Wyk, J. A., & Bath, G. F. (2002). The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary research*, 33(5), 509-529.

Van Wyk, J. A., Cabaret, J., & Michael, L. M. (2004). Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. *Veterinary parasitology*, 119(4), 277-306.

Verschave, S. H., Charlier, J., Rose, H., Claerebout, E., & Morgan, E. R. (2016). Cattle and nematodes under global change: transmission models as an ally. *Trends in parasitology*, 32(9), 724-738.

Vineer, H. R., Morgan, E. R., Hertzberg, H., Bartley, D. J., Bosco, A., Charlier, J., ... & Rinaldi, L. (2020). Increasing importance of anthelmintic resistance in European livestock: creation and meta-analysis of an open database. *Parasite*, 27.

Vokřál, I., Michaela, Š., Radka, P., Jiří, L., Lukáš, P., Dominika, S., ... & Lenka, S. (2019). Ivermectin environmental impact: Excretion profile in sheep and phytotoxic effect in *Sinapis alba*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 169, 944-949.

Vokřál, I., Podlipná, R., Matoušková, P., & Skálová, L. (2023). Anthelmintics in the environment: Their occurrence, fate, and toxicity to non-target organisms. *Chemosphere*, 140446.

Wang, T., & Gasser, R. B. (2020). Prospects of using high-throughput proteomics to underpin the discovery of animal host–nematode interactions. *Pathogens*, 10(7), 825.

Wang, X., Ren, S., Yang, X., Masoudi, A., Xue, X., Li, M., ... & Liu, J. (2021). Exploration of serum marker proteins in mice induced by *Babesia microti* infection using a quantitative proteomic approach. *The Protein Journal*, 40, 119-130.

Westers, T., Jones-Bitton, A., Menzies, P., Van Leeuwen, J., Poljak, Z., & Peregrine, A. S. (2016). Efficacy of closantel against ivermectin-and fenbendazole-resistant *Haemonchus* sp. in sheep in Ontario, Canada. *Veterinary parasitology*, 228, 30-41.

White, C. A., Langemann, E. G., Gates, C. C., Kay, C. E., Shury, T., & Hurd, T. E. (2001, April). Plains bison restoration in the Canadian Rocky Mountains? Ecological and management considerations. In *Crossing Boundaries in Park Management. Proceedings of*

the 11th Conference on Research and Resource Management in Parks and on Public Lands (pp. 16-20).

Wymann, M. N., Traore, K., Bonfoh, B., Tembely, S., Tembely, S., & Zinsstag, J. (2008). Gastrointestinal parasite egg excretion in young calves in periurban livestock production in Mali. *Research in Veterinary Science*, 84(2), 225-231.

8 SEZNAM PUBLIKOVANÝCH PRACÍ

8.1 Seznam impaktovaných publikací

Kváč M., Havrdová N., et al. **2016**. *Cryptosporidium proliferans* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae): molecular and biological evidence of cryptic species within gastric *Cryptosporidium* of mammals. PloS one 11.1: e0147090.

Čondlová Š., Horčíčková M., Havrdová N., et al. **2019**. Diversity of *Cryptosporidium* spp. in *Apodemus* spp. in Europe. European Journal of Protistology 69: 1-13.

Poborská A., Zábranský L., Šoch M., Havrdová N., et al. **2021**. Methods of feeding colostrum and their effect on the passive immunity. Acta Veterinaria Brno 90.1: 21-25.

Zábranský L., Poborská A., Gálik B., Šoch M., Brož P., Kantor M., Kernerová N., Řezáč I., Rolinec M., Hanušovský O., Strnad L., Havrdová N. **2022**. Influence of Probiotic Strains *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Enterococcus* on the Health Status and Weight Gain of Calves, and the Utilization of Nitrogenous Compounds. Antibiotics, 11.9: 1273.

Illek J., Dresler S., Šoch M., Kernerová N., Šimák Líbalová K., Zevlová E., Havrdová, N. **2023**. Influence of organic zinc on lactation performance and somatic cell count in dairy cows. Acta Veterinaria Brno, 92.3: 233-241.

Řezáč I., Kernerová N., Komosný M., Kuneš R., Havrdová N., et al. **2023**. Possibilities for dealing with large litters of piglets. Journal of Central European Agriculture, 24.1: 61-71.

Havrdová N., Roztočil D., Petrášková E., Tejml P., Kernerová N., Poborská A., Vráblík P., Novák P., Malá G., Zevlová E., Maurer J., Beran J., Zábranský L., Šoch M. **2023**. The effect of the number of feed pushing-ups on animal behavior, dry matter intake and milk yield of dairy cows. Journal of Central European Agriculture, 2023, 24(4). p. 789-801. DOI: 10.5513/JCEA01/24.4.3827.

Havrdová N., Havrda O., Čondlová Š., Pecová L., Kernerová N., Beran J., Šoch M. **2023**. *Calicophoron daubneyi* (Digenea: Paramphistomidae): The efficacy of anthelmintics in naturally infected cattl. Journal of Central European Agriculture, 2023, 24(4), p. 817-826. DOI:10.5513/JCEA01/24.4.4053

8.2 Publikace ve sbornících

Havrdová, N., Čondlová, Š., Kváč, M. 2019. Efficacy of anthelmintic against natural infection in cattle and small ruminant breeds in the Czech Republic. 25th Helminthological Days. Faculty of Science, Charles University, Prague. ISBN: 978-80-7444-066-3.

Poborská, A., Šoch, M., Zábranský, L., **Havrdová, N. 2019.** Vliv krmných aditiv na hladinu celkové bílkoviny v krvi telat. Aktuální otázky bioklimatologie zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, s. 64 – 66. ISBN: 978-80-7403-226-4

Poborská, A., Strnad, L., **Havrdová, N., Zábranský, L., Šoch, M. 2020.** Vliv vnějšího prostředí na růstovou schopnost jehňat u valašské ovce. Aktuální otázky bioklimatologie zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, s. 79 – 81. ISBN: 978-80-7403-240-0.

Havrdová, N., Pecová, L., Kučera J., Poborská, A., Zábranský, L., Šoch, M., Novák, P., Malá, G. 2021. Zoohygiena a vliv prostředí na rezistenci parazitů v chovech malých přežvýkavců. Aktuální otázky bioklimatologie zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, s. 23 – 25. ISBN: 978-80-7403-263-9.

Kučera, J., **Havrdová, N., Kernerová, N., Zevlová, M. 2021.** Vliv ročního období na znaky spermatu kanců. Aktuální otázky bioklimatologie zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, s. 34 – 36. ISBN: 978-80-7403-263-9.

Poborská, A., Strnad, L., Zábranský, L., Šoch, M., **Havrdová, N., Novák, P., Malá, G. 2022.** Růstové schopnosti jehňat valašské ovce. Aktuální otázky bioklimatologie zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, s. 61 – 63. ISBN: 978-80-7403-277-6.

Šoch, M., Sváčková, M., **Havrdová, N., Kernerová, N., Poborská, A., Tejml, P., Šimák Líbalová, K., Zábranský, L. 2023.** Vyhodnocení používání antibiotik ve vybraných chovech dojených krav. Aktuální otázky bioklimatologie zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, s. 130 – 133. ISBN: 978-80-7403-301-8.

Šoch, M., Ranná, T., **Havrdová, N., Kernerová, N., et al. 2023.** Vyhodnocení vlivu nekonvenčních způsobů léčby využívaných v ekologickém zemědělství na výskyt vybraných endoparazitů koní. Aktuální otázky bioklimatologie zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, s. 134 – 136. ISBN: 978-80-7403-301-8.

Neumann, J., Konvalina, P., Šimák Líbalová, K., Zábranský, L., Kernerová, N., Poborská, A., Tejml, P., **Havrdová, N., Zevlová Bakulová, E., Šoch, M. 2023.** Aktuální otázky

bioklimatologie zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, s. 76 – 78. ISBN: 978-80-7403-301-8.

Havrdová, N., Brabcová, A., Šoch, M., Beran, J., Kernerová, N., Poborská, A., Novák, P., Malá, G. 2023. Biosekurita a snížení parazitární zátěže u pasoucího se skotu vlivem cílené léčby anthelmintik. Aktuální otázky bioklimatologie zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, s. 21 – 23. ISBN: 978-80-7403-301-8.

Havrdová, N., Kantor, M., Šoch, M., Beran, J., Kernerová, N., Malá, G., Novák, P. 2023. Šlechtitelský význam skotu bez tržní produkce mléka v závislosti na podmínkách plemenné hodnoty a prostředí. Aktuální otázky bioklimatologie zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, s. 24 – 26. ISBN: 978-80-7403-301-8.

8.3 Příspěvek na konferenci

Havrdová, N., Čondlová, Š., Kváč, M. 2019. Efficacy of anthelmintic against natural infection in cattle and small ruminant breeds in the Czech Republic. 25th Helminthological Days. 6-10 May 2019. Czech Society for Parasitology, Helminthological Section, Hotel Kouty, Rejčkov 20, Czechia.