



Výzkum patogenů *Batrachochytrium dendrobatidis*  
a *B. salamandrivorans* u obojživelníků v České  
republice a na Balkánském poloostrově  
autoreferát doktorské disertační práce

PRAHA 2018



AUTOR: Barbora Havlíková  
Katedra: Ekologie

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Doktorská disertační práce „Výzkum patogenů *Batrachochytrium dendrobatidis* a *B. salamandrivorans* u obojživelníků v České republice a na Balkánském poloostrově“ byla vypracována v průběhu doktorského studia na Katedře ekologie Fakulty životního prostředí České zemědělské univerzity v Praze v rámci oboru Ekologie.

**Uchazeč:** Ing. Barbora Havlíková

**Školitel:** doc. Ing. Jiří Vojar, Ph.D.

**Oponenti:**

RNDr. Ivan Reháček, CSc. – Zoologická zahrada hl. m. Prahy

RNDr. Martin Šandera, Ph.D. – Muzeum přírody Český ráj

prof. RNDr. Lubomír Hanel, CSc. – Správa CHKO Blaník, Karlova Univerzita, Pedagogická fakulta

Obhajoba disertační práce se koná dne 13. března 2018 od 10:00 v zasedací místnosti Z 239 Fakulty životního prostředí České zemědělské univerzity v Praze, Kamýcká 129, Praha 6 - Suchbátka.

S disertační prací je možné se podrobně seznámit na Oddělení pro vědu a výzkum FŽP ČZU v Praze, Kamýcká 129, Praha 6 - Suchbátka.

## Obsah

<b>1. Úvod</b>	3
<b>1.1 Shrnutí současné situace ohrožení obojživelníků</b>	3
<b>2. Cíle disertační práce</b>	5
2.1 Sledování patogenu <i>Bd</i> v ČR – chovy	5
2.2 Sledování patogenu <i>Bd</i> na Balkánském poloostrově – volně žijící populace	5
2.3 Sledování patogenu <i>Bsal</i> v ČR – volně žijící populace a chovy	5
<b>3. Metodika</b>	6
3.1 Sběr dat	6
3.2 Analýza vzorků	7
3.3 Statistické zpracování dat	7
<b>4. Výsledky</b>	8
4.1 Potvrzení výskytu patogenu <i>Bd</i> v umělých chovech ČR	8
4.2 První rozsáhlý průzkum patogenu <i>Bd</i> na Balkánském poloostrově	9
4.3 Výzkum nového patogenu <i>Bsal</i> ve volné přírodě a v chovech ČR	9
<b>5. Závěr</b>	11
<b>6. Summary</b>	14
<b>7. Použitá literatura</b>	16
<b>8. Stručný přehled publikací</b>	21
8.1. First systematic monitoring of <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> in collections of captive amphibians in the Czech Republic	21
8.2. Distribution, prevalence and amphibian hosts of <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> in the Balkans	22
8.3. First survey of the pathogenic fungus <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i> in wild and captive amphibians in the Czech Republic	23
<b>9. Odborný životopis</b>	24

## 1. Úvod

### 1.1 Shrnutí současné situace ohrožení obojživelníků

Obojživelníci patří k nejvíce ohroženým skupinám obratlovců (Pounds 2001, Stuart et al. 2004), jejichž populační poklesy jsou zaznamenány již od roku 1970 (Stuart et al. 2004, Mendelson et al. 2005). V posledních desetiletích dochází k náhlému poklesu populací volně žijících obojživelníků, k jejich masovým úhynům i k úplnému vymizení některých druhů (Mendelson et al. 2005, Rachowicz et al. 2006). Podle IUCN se více než 2000 druhů obojživelníků řadí mezi zranitelné nebo kriticky ohrožené (IUCN 2016). K úbytku obojživelníků dochází v důsledku mnoha faktorů, z nichž se ztráty biotopů, kontaminace prostředí a infekční choroby řadí mezi ty nejvíce ohrožující (Baillie et al. 2004).

Jedním z nejzávažnějších infekčních onemocnění je chytridiomykóza. Jedná se o kožní onemocnění způsobené chytridiomycetní houbou *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*, Berger et al. 1998, Longcore et al. 1999). Chytridiomykóza byla identifikována jako jedno z hlavních infekčních onemocnění, které vedlo k výrazným ztrátám obojživelníků Střední Ameriky (ztráta až 40 % lokálních druhů, Lips et al. 2006), Severní Ameriky (Rachowicz et al. 2006), Austrálie (Berger et al. 1998) a Jižní Evropy (Bosch et al. 2001). Z celkových 7803 druhů obojživelníků (údaj k 8. 2. 2018, AmphibiaWeb 2018) byla plíseň *Bd* způsobující chytridiomykózu detekována u více než 520 druhů, přičemž u více než 200 druhů již došlo k vyhynutí nebo je vyhynutím přímo ohroženo (Stuart et al. 2004, Skerratt et al. 2007, Olson et al. 2013). V roce 2013 byla objevena druhá vysoce patogenní plíseň, popsána jako *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*, Martel et al. 2013), která způsobila masové úhyny populací mloka skvrnitého (*Salamandra salamandra*) v Belgii a Holandsku (Martel et al. 2013, Spitzen-van der Sluijs et al. 2013). Do roku 2013 zbyla v Holandsku z původních populací čítajících stovky jedinců (Gubbels 2009) pouze 4 %, čímž mloci skvrnití téměř vymizeli z volné přírody (Spitzen-van der Sluijs et al. 2013).

Šíření patogenu *Bd* a *Bsal* je ovlivněno lidskou činností (Peel et al. 2012, Martel et al. 2014), zejména mezinárodním obchodem s obojživelníky ke konzumaci, k vědeckým a chovatelským účelům (Mazzoni et al. 2003, Weldon et al. 2004, Garner et al. 2006, Cunningham et al. 2015). Se stoupající popularitou chovu obojživelníků v České republice (ČR) roste i riziko přenosu a šíření této nákazy. Vzhledem k předpokladu, že existuje vazba mezi přítomností *Bd* a *Bsal* u volně žijících obojživelníků a obojživelníků chovaných v zajetí (Walker et al. 2008, Schloegel et al. 2010, Martel et al. 2014), je nezbytné monitorovat oba původce chytridiomykózy jak v přírodě, tak v chovech, jelikož ty mohou být zdrojem nákazy pro volně žijící populace.

Předkládaná práce představuje tři studie zabývající se problematikou chytridiomykózy:

1) První je věnovaná sledování patogenu *Bd* u obojživelníků chovaných v zajetí; mapuje infekci v zoologických zahradách, herpetologických stanicích, u soukromých chovatelů a prodejců napříč ČR. U nakažených jedinců byla navržena léčba s ohledem na ekologii jednotlivých druhů a doporučena hygienická opatření zabráňující dalšímu šíření patogenu (**Havlíková et al. 2015**).

2) Druhá studie se zabývá mapováním rozšíření patogenu *Bd* v dosud neprozkoumaných částech Balkánského poloostrova. Pilotní studie byla provedena v Albánii, Černé Hoře a Makedonii v roce 2013. Následující rok bylo provedeno systematické mapování patogenu v Černé Hoře (**Vojar et al. 2017**).

3) Třetí práce se zaměřuje na sledování patogenu *Bsal* u ocasatých obojživelníků v ČR. Do studie byly zahrnuty druhy z volné přírody (např. mlok skvrnitý, patogenem nejohroženější druh) a druhy ze zájmových chovů (např. *Ambystoma* spp., *Cynops* spp.) z Prahy a okolí (**Baláž et al. 2018**).

## 2. Cíle dizertační práce

### 2.1 Sledování patogenu *Bd* v ČR – chovy

První projekt byl zaměřen na zoologické zahrady, herpetologické stranice, komerční prodejce a soukromé chovatele. Hlavním cílem této studie bylo potvrdit/vyvrátit výskyt *Bd* u obojživelníků chovaných v zajetí u nás, případně určit prevalenci onemocnění a porovnat patogenitu v různých typech chovných zařízení a mezi druhy. V případě pozitivních nálezů byla snaha o zjištění původu zvířat a navržení konkrétních postupů zabráňujících dalšímu šíření nemoci (léčba, karanténa, hygienická opatření).

### 2.2 Sledování patogenu *Bd* na Balkánském poloostrově – volně žijící populace

Vzhledem k tomu, že znalosti o výskytu původce chytridiomykózy jsou nezbytné pro účinnou ochranu obojživelníků, hlavním cílem projektu bylo zmapování výskytu *Bd* v dosud neprobádaných oblastech Balkánského poloostrova, především v Černé Hoře. Konkrétně jsme se snažili zjistit 1) přítomnost patogenu v oblasti, 2) porovnat intenzitu nákazy mezi jednotlivými druhy a mezi lokalitami, 3) v případě pozitivních výsledků srovnání mezi stejnými nebo příbuznými druhy, či mezi oblastmi s podobnými klimatickými a geografickými podmínkami.

### 2.3 Sledování patogenu *Bsal* u ocasatých obojživelníků v ČR – volně žijící populace a chovy

ČR, zvláště pak Praha, patří k oblastem se zvýšeným rizikem výskytu patogenu *Bsal*. Je zde poměrně bohatá diverzita ocasatých obojživelníků (Sillero et al. 2014, Šťastný et al. 2015), ČR sousedí s Německem s potvrzeným výskytem *Bsal* v chovech (Sabino-Pinto et al. 2015) a zejména v Praze je situována rozsáhlá síť chovatelů a komerčních prodejců (Havlíková et al. 2015). Hlavním cílem třetího projektu bylo zmapování výskytu *Bsal* u ocasatých obojživelníků v Praze a přilehlém okolí jak ve volné přírodě, tak i v chovech obojživelníků.

### 3. Metodika

#### 3.1 Sběr dat

Vzorkování bylo prováděno nedestruktivní metodou stěry z pokožky obojživelníků standardizovanými výtěrky Dryswab® (MW100, Medical Wire & Equipment Co, UK) podle uznávané metodiky (Hyatt et al. 2007). Při vzorkování každého jedince byly dodržovány předepsané hygienické bezpečnostní předpisy; dezinfekce veškerých použitých pomůcek, případně použití jednorázového materiálu, důkladné očištění a dezinfikování obuvi při přesunech na další lokality (Wellington & Haering 2008). Každý vzorkovaný jedinec byl evidován včetně fotografického záznamu k případnému pozdějšímu zjištění přítomnosti symptomů.

Vzorkování na přítomnost patogenu *Bd* v chovech se uskutečnilo v období mezi červnem 2012 a únorem 2014. Vzorkování bylo zaměřeno jak na státní instituce (zoologické zahrady, herpetologické stanice), tak na komerční obchod s obojživelníky (prodejny se zvířaty, burzy) a na soukromé chovatele. Z každého terária bylo odchyceno tři až pět jedinců stejného druhu, u kterých byl proveden stěr. U akvatických druhů byla provedena detekce patogenu *Bd* přímo ze vzorků vody, ve které se daný obojživelník nacházel. Zde je totiž velká pravděpodobnost nákazy kontaminovanou vodou obsahující zoospory *Bd*, tzv. environmentální DNA (Daszak et al. 2000, Johnson & Speare 2005). Výhodou této metody je detekce patogenu z jediného vzorku vody, čímž se ovzorkuje celé akvárium.

Na Balkánském poloostrově se na přítomnost *Bd* vzorkovalo v Černé Hoře, Albánii a Makedonii. Pilotní studie byla provedena v roce 2013, v roce 2014 byl proveden intenzivní výzkum v Černé Hoře na třinácti lokalitách. Na každé lokalitě bylo odchyceno a ovzorkováno minimálně 30 jedinců stejného druhu, aby bylo dosaženo věrohodnosti v případě negativních výsledků (Digiacoimo & Koepsell 1986).

Během podzimu 2015 a následujícího jara 2016 se vzorkovalo na přítomnost patogenu *Bsal* v Praze a přilehlém okolí jak ve volné přírodě, tak i v chovech obojživelníků. Bylo vytipováno devět lokalit s volně žijícími populacemi mloka skvrnitého, čolka obecného (*Lissotriton vulgaris*) a čolka horského (*Ichthyosaura alpestris*). Z chovatelských zařízení byly vybrány čtyři sbírky obojživelníků soukromých chovatelů a pražská zoologická zahrada, která se mimo jiné specializuje na chov velemloka čínského (*Andrias davidianus*).

### 3.2 Analýza vzorků

Detekce *Bd* byla provedena kvantitativní real-time PCR (qPCR) metodou (Boyle et al. 2004) s přidáním bovinního séra albumin (BSA) kvůli omezení inhibice PCR (Garland et al. 2010). Výsledky analýzy jsou prezentovány jako genomický ekvivalent jedné zoospory (GE). Analýzy vzorků se prováděly na Veterinární a farmaceutické univerzitě v Brně a v našich laboratořích na FŽP ČZU v Praze. Detekce patogenu *Bd* ze vzorků vody byla provedena standardní PCR metodou (Annis et al. 2004) za použití jednoduchého filtračního systému k izolaci DNA (Walker et al. 2007) v laboratoři molekulární genetiky na FŽP ČZU.

Přítomnost patogenu *Bsal* se zjišťovala SYBR Green kvantitativní polymerázovou reakcí (qPCR) podle Blooi et al. (2013) a porovnávala se proti genomickým standardům *Bsal*, poskytla An Martel, Ghent University. K detekci *Bsal* byla později použita doporučená metoda qPCR pro duplex *Bd+Bsal* (Blooi et al. 2013), která pracuje se specifickými sondami pro *Bd* a *Bsal* a jednoznačně detekuje tyto dva patogeny. Analýzy na přítomnost patogenu *Bsal* byly prováděny na VFU v Brně i na FŽP ČZU.

### 3.3 Statistické zpracování dat

#### *Porovnání intenzity nákazy Bd mezi chovnými zařízeními a druhy*

Podíl *Bd*-pozitivních oproti *Bd*-negativním vzorkům mezi typy chovných zařízení (ZOO, herpetologická stanice, soukromý chovatel, obchod se zvířaty) a mezi jednotlivými druhy obojživelníků byl analyzován pomocí zobecněných lineárních modelů (GLM) statistickým softwarem R, verze 2.10.1 (R Development CoreTeam 2009).

#### *Porovnání intenzity nákazy Bd mezi balkánskými druhy a zeměmi*

Konfidenční intervaly prevalence (95%, Sterne's exact method) mezi balkánskými druhy byly počítány pomocí softwaru Quantitative Parasitology (Rózsa et al. 2000). Přítomnost *Bd* mezi třemi zeměmi (Albánie, Černá Hora, Makedonie) byla porovnáována metodou zobecněných lineárních modelů (GLM) a statistickým softwarem R, verze 2.10.1 (R Development CoreTeam2009).

#### *Porovnání intenzity nákazy Bsal ve volné přírodě a chovech ČR*

Konfidenční intervaly (99 % Sterne-Wald) jsou při nulové prevalenci *Bsal* 0,0–4,2 % v divočině a 0,0–2,6 % v zajetí (Rózsa et al. 2000). Vzhledem k absenci *Bsal* + byly počítány konfidenční intervaly prevalence. Standardní testy provedeny být nemohly (bez *Bsal* +).



## 4. Výsledky

### 4.1 Potvrzení výskytu patogenu *Bd* v umělých chovech v ČR

Na základě našich výsledků byla přítomnost *Bd* potvrzena v ČR v umělých chovech obojživelníků. Z 610 získaných vzorků jsme zaznamenali pozitivní výsledky na přítomnost *Bd* u 31 z nich (5,1 %). Z celkových 117 vzorkovaných druhů se u osmi z nich (6,8 %) potvrdila infekce touto plísní. Jednalo se o druhy: *Bombina scabra*, *Dendrobates azureus*, *Neurergus kaiserii*, *Osteopilus septentrionalis*, *Silurana amieti*, *Silurana* sp. (nepopsaný druh importovaný z Ghany), *Theleiderma bicolor* a *Theleiderma stellatum*.

Počty zdravých a nakažených jedinců se na přítomnost *Bd* mezi různými typy chovných zařízení významně nelišily. Poměr pozitivních jedinců se ale významně lišil mezi jednotlivými taxony. Zatímco u řádu Anura se ze 416 vzorkovaných jedinců plíseň objevila ve 34 případech (8,2 %), u řádu Caudata byl pozitivní pouze jediný vzorek (1/198). Nejvyšší míra infekce (69,6 %) byla nalezena u čeledi Pipidae, rodu *Silurana* spp.; konkrétně u druhu *Silurana amieti* a *Silurana* sp. (blíže nepopsaný druh importovaný z Ghany). Nakažení jedinci však nevykazovaly žádné typické symptomy chytridiomykózy. Bez zjevných symptomů byla většina vzorkovaných jedinců, čemuž odpovídala i intenzita nákazy. Ta se pohybovala v mírných hodnotách GE (0,4–188,3 GE), pouze u dvou případů jsme zaznamenali vyšší a velmi vysoké intenzity (331,3 a 9230 GE), s typickými příznaky chytridiomykózy a následným úhynem jedinců (*Dendrobates azureus*). Mírné příznaky (změny na kůži) se objevily u čeledi Rhacophoridae, kde jsme přítomnost *Bd* zaznamenali u 22,5 %; u druhů *Theleiderma bicolor* a *Theleiderma stellatum*. Oba zmíněné druhy projevily vysokou citlivost vůči léčbě itraconazolem. Výsledky nám potvrdily, že se léčba musí volit velmi uvážlivě; na základě intenzity onemocnění a citlivosti jednotlivých druhů (Bielby et al. 2008, Searle et al. 2011). Není vhodné aplikovat léčbu itraconazolem (dle Forzana et al. 2008) preventivně, při nízkých intenzitách patogenu ani při léčbě larválních a juvenilních stádií. V těchto případech je vhodnější použít léčbu zvýšením teploty (Woodhams et al. 2003), snížením koncentrace itraconazolu u metamorfovaných jedinců (Brannelly et al. 2012) nebo použitím voriconazolu (Martel et al. 2011), který je bezpečný jak pro citlivé druhy, tak pro pulce.

Výsledky detekce patogenu *Bd* přímo ze vzorků vody nebyly zcela jednoznačné. Některé vzorky vody vyšly na přítomnost *Bd* pozitivně, zatímco všechny kontrolní vzorky ze stěrů byly negativní. K protichůdnosti výsledků mohlo dojít z více důvodů; ve vodě mohla být environmentální zbytková DNA, která se na obojživelnících nenacházela, mohlo jít o mrtvé zoospory, stěry mohly být náhodně odebrány z míst, kde se zoospory na obojživelníkovi nenacházely, stěry nebyly odebrány ze všech zvířat v nádrži, takže mohlo dojít k náhodnému

odběru neinfikovaných zvířat, vzorky ze stěrů mohly být kontaminovány. Vzhledem k nejednoznačnosti výsledků nelze dělat závěry.

#### 4.2 První rozsáhlý průzkum patogenu *Bd* na Balkánském poloostrově

V průběhu dvou let (2013 a 2014) jsme odebrali 454 vzorků na území Černé Hory, Albánie a Makedonie. Patogen *Bd* byl detekován u 65 vzorků (14,3 %), u pěti druhů z 11 testovaných (*Bombina variegata*, *Hyla arborea*, *Lissotriton vulgaris*, *Pelophylax* sp. a *Triturus macedonicus*), na 13 lokalitách z celkových 38. Poměr nakažených jedinců se mezi zeměmi významně neliší. Jelikož byl v Albánii a Makedonii odebrán poměrně nízký počet vzorků, detailněji jsme se v rámci porovnání mezi druhy zaměřili pouze na Černou Horu. V roce 2013 byl výskyt plísň *Bd* v Černé Hoře potvrzen u 12, 5 % vzorkovaných jedinců, v roce 2014 u 14,6 % testovaných. Intenzivní výzkum v Černé Hoře v roce 2014 potvrdil přítomnost *Bd* u 18,7 % žab z 267 testovaných a pouze u jednoho ocasatého z 84 (1,2 %). Poměr nakažených a zdravých jedinců se významně liší jak mezi druhy, tak mezi lokalitami. Nejvyšší míra infekce se objevila u rodu *Pelophylax* sp.; ze 160 vzorkovaných jedinců bylo 49 (30,6 %) *Bd* pozitivních. Tento výsledek je významný z hlediska výskytu skokana *Pelophylax shqipericus*, endemita Albánie a jihu Černé Hory, který je podle Červeného seznamu IUCN ohroženým druhem. Jeho budoucí existence je ohrožena zejména znečištěním vodních zdrojů a odchytem pro komerční účely. Proto je nezbytné zjistit, jaký vliv má chytridiomykóza na pokles jeho populací. Naše data podporují významnou roli skokanů rodu *Pelophylax* sp. jako přenašečů *Bd* (Woodhams et al. 2007b, Baláž et al. 2014a). Nízká variabilita prevalence *Bd* mezi různými lokalitami naznačuje, že tyto skokani jsou sami o sobě nejdůležitějším faktorem výskytu *Bd*, zatímco faktory prostředí mohou mít sekundární vliv. Vzhledem k tomu, že jsou vodní skokani schopni se šířit na velké vzdálenosti, jejich populace jsou početné a navíc jsou vůči *Bd* imunní (Woodhams et al. 2012), měli by být důležitým předmětem studia pro pochopení dynamiky infekce *Bd*.

#### 4.3 Výzkum nového patogenu *Bsal* u obojživelníků ve volné přírodě a v chovech v ČR

Během podzimu 2015 a jara 2016 bylo odebráno 126 vzorků z ocasatých obojživelníků ve volné přírodě na devíti lokalitách Prahy a přilehlého okolí. U všech tří testovaných druhů (mlok skvrnitý, čolek obecný, č. horský) nebyla přítomnost patogenu *Bsal* detekována. V umělých chovech obojživelníků byly vzorky odebírány v pražské zoologické zahradě a čtyřech soukromých chovatelů. V rámci 198 vzorků z 60 druhů rovněž nebyla přítomnost patogenu *Bsal* potvrzena. Vzhledem k potenciální hrozbě *Bsal* pro naše obojživelníky (Martel et al. 2014) budou nezbytné další kroky včetně prevence, navazujícího výzkumu na dalších lokalitách a kontrolách již sledovaných populací. Zejména při monitoringu musí být kladen

obrovský důraz na dodržování přísných hygienických pravidel a opatrnost při jakékoli manipulaci se zvířaty. V ideálním případě je snaha se manipulaci zcela vyhnout – tzv. pasivní kontrola, kdy se symptomy nemoci sledují pouze vizuálně. Zapojit by se měli všechny zainteresované strany navštěvující stanoviště obojživelníků (terénní pracovníci, vědci, výzkumníci, ochránci přírody, dobrovolníci atd.) Shromažďují se podezřelé případy, sleduje se úmrtnost a teprve pak následuje konkrétní vyšetření na přítomnost *Bsal* (aktivní kontrola). To je v mnoha ohledech, a zvláště u ocasatých obojživelníků, nejvhodnější metodou detekce patogenu (EFSA 2017).

## 5. Závěr

Vzhledem k vážnému ohrožení obojživelníků patogeny *Bd* a *Bsal* je intenzivní výzkum přítomnosti, prevalence a dynamiky obou plísni naprosto nezbytný (při zachování striktních hygienických pravidel). Monitoringem plísně *Bd* se náš výzkumný tým zabývá od roku 2008, kdy byl poprvé potvrzen její výskyt ve volné přírodě v ČR u ropuchy obecné a skokanů rodu *Pelophylax* (Baláž et al. 2009). Ačkoli v našich podmínkách nebyly doposud zjištěny masové úhyny v důsledku chytridiomykózy a míra infekce byla u většiny testovaných jedinců nízká, odpovídající evropskému průměru, je třeba tomuto patogenu věnovat zvýšenou pozornost. Samotná přítomnost plísně může působit synergicky s ostatními negativními vlivy, což může být pro obojživelníky fatální. V souvislosti se změnami klimatu se může měnit i vliv patogenu *Bd* a naše druhy se vůči němu mohou stát časem citlivější.

Jelikož šíření chytridiomykózy úzce souvisí s mezinárodním obchodem s obojživelníky, zaměřili jsme se v této práci mimo jiné na umělé chovy. V rámci našeho výzkumu jsme zmapovali výskyt plísně *Bd* a *Bsal* u obojživelníků chovaných v zajetí, zjistili a porovnali prevalenci mezi jednotlivými druhy a chovnými zařízeními a v případě pozitivních nálezů jsme navrhli vhodnou léčbu. Přítomnost patogenu *Bd* jsme zaznamenali hlavně ve formě mírných asymptomatických infekcí, ale vyskytly se i případy akutních onemocnění, která mohou ohrozit celé chovy. V případě vzácných a nákladných druhů tak může přítomnost patogenu způsobit i značné finanční škody. Mnohem závažnější škody ale může způsobit přenos plísně do volné přírody. Proto je nezbytné riziko přenosu zmírnit. Na základě výsledků a poznatků tohoto výzkumu bychom měli být schopni nastavit opatření zabráňující dalšímu šíření patogenu. Na začátku je potřeba přesně určit distribuci nemoci, zajistit kontrolu a ochranu zdravých chovů. Už k tomuto cíli je nutné optimalizovat systém sběru vzorků a zrychlit celý proces od odběru vzorku po oznámení výsledků. Následná léčba nebo zrušení chovů je už na chovatelích, ale lze očekávat, že v případě cenných chovů budou mít o léčbu zájem. V mezinárodním měřítku vznikají snahy o detailní dohled, implementaci přísných hygienických a karanténních opatření a v celkovém důsledku o omezení importu a chovu obojživelníků (Young et al. 2007). Jenže právě schopní chovatelé mohou mnohým vzácným druhům umožnit jejich přežití v zajetí a omezit tak dopad chytridiomykózy na volně žijící populace (např. posílením stávajících populací reintrodukce).

Na základě výsledků našich výzkumů se zatím nepodařilo prokázat ani vyvrátit, že by plíseň *Batrachochytrium dendrobatidis* bezprostředně ohrožovala obojživelníky ve volné přírodě ČR. Vyloučeno to ovšem není, jelikož působení *Bd* u nás není zatím zcela jasné. Pokud se plíseň objeví v umělých chovech, může být fatální nejen pro obojživelníky v zajetí (většinou se chovají citlivé tropické druhy), ale může ohrozit i volně žijící populace (riziko přenosu patogenu do přírody). Tyto výsledky korespondují s naším dalším výzkumem provedeným ve

volné přírodě v Černé Hoře, kde jsme rovněž zaznamenali pouze mírné infekce bez zjevných symptomů a úhynů. Nelze ovšem tvrdit, že patogen nemá na obojživelníky žádný vliv. Zdá se ale, že významnou roli z hlediska šíření patogenu zde mají skokani rodu *Pelophylax*, kteří jsou vůči němu rezistentní a v přírodě působí jako potenciální přenašeči (Woodhams et al. 2012, Baláz et al. 2014a).

Plíseň *Batrachochytrium salamandrivorans* může mít v našich podmínkách zřejmě mnohem závažnější dopad. Ačkoli jsme zatím přítomnost patogenu *Bsal* ve volné přírodě ani v chovech v ČR nepotvrdili, jeho devastující účinky jsou známy z Holandska a Belgie, kde téměř vymizely populace mloků skvrnitých (Martel et al. 2013, Spitzen-van der Sluijs et al. 2013, Martel et al. 2014). V rámci Evropy byl výskyt patogenu také potvrzen v chovech ve Velké Británii, Německu a Španělsku (Cunningham et al. 2015, Sabino-Pinto et al. 2015, Fitzpatrick et al. 2016), takže pravděpodobnost zavlečení na naše území je poměrně vysoká. Stálý výbor Bernské úmluvy proto vydal doporučení č. 176 týkající se prevence a kontrol patogenu *Bsal*. Podle něj by měly evropské země přijmout opatření zahrnující programy pro kontrolu a monitoring možného šíření patogenu, zejména v rizikových oblastech, a vypracovat akční plány umožňující rychlou reakci v případě propuknutí infekce (Council of Europe 2015).

Státní veterinární správa ČR rovněž vydala opatření proti šíření nebezpečného patogenu. Od 1. září 2016 by měla kontrolovat všechny zásilky ze třetích zemí obsahující především druhy rodu *Cynops*, *Notophthalmus* a *Plethodon*. Zvířata mají být po dovozu na místo určení držena v izolaci několik dní odděleně od ostatních zvířat a jsou pod dozorem místně příslušné krajské veterinární správy (Státní veterinární správa 2016). Otázkou zůstává, zda tato opatření budou skutečně dodržována a zda budou dostačující. Podle EFSA 2017 by měla karanténa trvat minimálně 40 dní. Navíc podle nejnovějších studií mohou být vektorem pro přenos patogenu *Bsal* i žáby (Nguyen et al. 2017, Stegen et al. 2017), takže by se zákaz importovaných obojživelníků musel rozšířit o další druhy. Vzhledem k nekontrolovatelnému mezinárodnímu obchodu s obojživelníky, potažmo i rozšířenému černému trhu, je vysoká pravděpodobnost, že se tento smrtící patogen bude dále šířit. Bez restriktivní politiky, která by přesně stanovovala pravidla mezinárodního obchodu (např. zákaz importů obojživelníků ze třetích zemí, testování importů evropských obojživelníků na *Bsal* atd.), se bude situace nejspíše zhoršovat. Úspěšnému zabránění šíření *Bsal* lze pravděpodobně dosáhnout jen kombinací přísné karantény a vstupních kontrol každého importovaného obojživelníka do EU (EFSA 2017), což je prakticky nemožné. Nejvyšší pozornost by se v první řadě měla věnovat prevenci, ochraně volně žijících populací, systematickému monitoringu, kontrolám, dodržování přísných hygienických pravidel a informovanosti veřejnosti.

Náš výzkumný tým v loňském roce navázal spolupráci se Státní veterinární správou ohledně případné pomoci při kontrolách a monitoringu importů. Momentálně žádáme o podporu Technologické agentury České republiky (TAČR), konkrétně v rámci programu TAČR Beta, kde bychom chtěli v rámci projektu zavést systém aktivního a pasivního monitoringu obou patogenů ve volné přírodě i v chovech, vyvinout metody léčby, nastavit systém spolupráce mezi univerzitami VFU, ČZU, Státní veterinární správou, MŽP ČR a AOPK ČR, chovateli, zoologickými zahradami a dalšími zainteresovanými subjekty. Vzhledem ke globálním dopadům na obojživelníky se *Bd/Bsal* staly jedním z nejméně studovaných patogenů volně žijících zvířat. Vědecké poznatky mohou pomoci při prevenci i ochraně obojživelníků a zachování jejich biodiverzity.

## 6. Summary

Amphibians around the world face the threat of sudden population decline and extinction of entire species caused by the disease named chytridiomycosis. The skin disease caused by chytrid fungi *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) a *B. salamandrivorans* (*Bsal*) affects the vital function of amphibian skin. Consequences of the disease depend on the host's susceptibility, the infection intensity and the environmental factors. The spreading of both pathogens is probably caused by the international amphibian trade. As the popularity and interest in amphibians as pets in the Czech Republic is growing, the risk of introduction of pathogens into a captive breeding increases and subsequently into the wild. In first study we focused on monitoring of the *Bd* in captive breeding of amphibians; zoological gardens, herpetological station, private breeders, pet shop sellers across the Czech Republic. Of 610 amphibians tested, we recorded 5.1% to be infected with *Bd*. The fungus was present mainly as a mild asymptomatic infection, but we also found cases of acute disease, including mortalities. Amphibian breeders, zookeepers and pet sellers should regularly test their animals for the presence of *Bd* and other pathogens, because captive amphibians can serve as their reservoirs. When *Bd* infection is present in a captive amphibian, treatment should be appropriate to the infection's intensity. The trade-off between the risk of disease and the risk of antifungal treatment varies greatly among species, and even itraconazole's use can cause fatal health complications.

Although the presence of the pathogen *Bd* in Europe is very well known, its south-eastern part and the Balkan Peninsula remained neglected. Species diversity in the Balkans is very high, and especially Montenegro belongs to European and world's biodiversity hotspots. Therefore, our further research was focused on mapping of *Bd* in the Balkan Peninsula. Over a two-year period, 454 skin swab samples of amphibians were collected in Montenegro, Albania, and the Republic of Macedonia of which 65 samples (14.3%) were *Bd*-positive. *Bd* was detected in 5 out of 11 sampled species (*Bombina variegata*, *Hyla arborea*, *Lissotriton vulgaris*, *Pelophylax* sp., and *Triturus macedonicus*) at 13 out of 38 localities. Infection rates did not differ between countries but varied greatly between species with a maximum in *Pelophylax* sp. (> 30%). Within positive *Pelophylax* samples, infection loads were constant across areas and age groups. Considering the Balkans' biodiversity and the potential threat to local endemics and genetic richness, future monitoring is vital for assessing *Bd* presence, prevalence and infection trends in the region.

Related with the devastating effects of emerging pathogen *Bsal*, we investigated of monitoring of *Bsal* in caudate amphibians in the Czech Republic. Surveillance of this pathogen is of great conservation importance. As the pet trade is assumed to be the route of *Bsal* transmission, it is likely that large cities where exotic pet collections, specialized pet shops

and zoos are more common are at greater risk of *Bsal* emergence. Our study included species in wild (3 species, 9 localities, 126 samples) and captive populations (60 species, 198 samples) from Prague and its surroundings. *Bsal* was not detected in any of the 324 tested samples. Because the risk for *Bsal* to spread in Europe via the pet trade is ever-present, additional steps to alleviate such risk should be undertaken especially in proximity to larger cities.



## 7. Použitá literatura

- Annis S. L., Dastoor F. P., Ziel H., Daszak P., Longcore J. E. (2004):** A DNA-based assay identifies *Batrachochytrium dendrobatidis* in amphibians. *Journal of Wildlife Diseases* 40(3): 420–428.
- Baillie J. E. M., Hilton-Taylor C., Stuart S. N. (2004):** IUCN Red List of Threatened Species. A Global Species Assessment. IUCN. Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Baláz V., Balážová A., Haleš J. (2009):** Epidemická nemoc obojživelníků už i v ČR! In: J. Bryja, Z. Řehák and J. Zukal (eds.). Zoologické dny Brno 2009. Sborník abstraktů z konference 12. – 13. února 2009, p. 55. Ústav biologie obratlovců Akademie věd České republiky, Brno, Česká republika.
- Baláz V., Vörös J., Civiš P., Vojar J., Hettyey A., Sós A., Dankovics R., Jehle R., Christiansen D. G., Clare F., Fisher M. C., Garner T. W. J., Bielby J. (2014a):** Assessing risk and guidance on monitoring of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Europe through identification of taxonomic selectivity of infection. *Conservation Biology* 28: 213–223.
- Baláz V., Solský M., González D., L., Havlíková B., Zamorano J., G., González Sevilleja C., Torrent L., Vojar J. (2018):** First survey of the pathogenic fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in wild and captive amphibians in the Czech Republic. *Salamandra* 54(1): 87–91.
- Berger L., Speare R., Daszak P., Green D. E., Cunningham A. A., Goggin C. L., Slocombe R., Ragan M. A., Hyatt A. D., McDonald K. R., Hines H. B., Lips K. R., Marantelli G., Parkes H. (1998):** Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 9031–9036.
- Bielby J., Cooper N., Cunningham A. A., Garner T. W. J., Purvis A. (2008):** Predicting susceptibility to future declines in the world's frogs. *Conservation Letters* 1: 82–90
- Blooi M., Pasmans F., Longcore J. E., Spitzen-van der Sluijs A., Vercammen F., Martel A. (2013):** Duplex Real-Time PCR for Rapid Simultaneous Detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* and *Batrachochytrium salamandrivorans* in Amphibian samples. *Journal of Clinical Microbiology* 51: 4173–4177.
- Bosch J., Martinez-Solano I., Garcia-Paris M. (2001):** Evidence of a chytrid fungus infection involved in the decline of the common midwife toad (*Alytes obstetricans*) in protected areas of central Spain. *Biological Conservation* 97: 331–337.
- Boyle D. G., Boyle B. D., Olsen V., Morgan J. A., Hyatt A. D. (2004):** Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms* 60: 141–148.
- Brannelly, L. A., Richards-Zawacki, C. L., Pessier A. P. (2012):** Clinical trials with itraconazole as a treatment for chytrid fungal infections in amphibians. *Diseases of Aquatic Organisms* 101: 95–104.
- Daszak P., Cunningham A., Hyatt A. (2000):** Emerging infectious diseases of wildlife—threats to biodiversity and human health. *Science* 287: 443–449.

- DiGiacomo R. F., Koepsell T. D. (1986):** Sampling for detection of infection or disease in animal populations. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 189: 22–23.
- Fitzpatrick L., Pasmans F., Martel A., Cunningham A. (2016):** Epidemiological tracing of *Batrachochytrium salamandrivorans* infection in European private amphibian collections. EWDA Conference Proceeding 2016, p. 30.
- Forzan M. J., Gunn H., Scott P. (2008):** Chytridiomycosis in an aquarium collection of frogs: diagnosis, treatment, and kontrol. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 39(3): 406–411.
- Garland S., Baker A., Phillott A. D., Skerratt L. F. (2010):** BSA reduces inhibition in a TaqMan assay for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 92: 113–116.
- Garner T. W. J., Perkins M. W., Govindarajulu P., Seglie D., Walker S., Cunningham A. A., Fisher M. C. (2006):** The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Biology Letters* 2: 455–459.
- Gubbels R. E. M. B. (2009):** Vuursalamander *Salamandra salamandra*. *De amfibieën en reptielen van Nederland – Nederlandse fauna* 9: 87–95. In: Spitzen-van der Sluijs A., Spikman F., Bosman W., Zeeuw M., Meij T., Goverse E., Kik M., Pasmans M., Martel A. (2013): Enigmatic decline drives *Salamandra salamandra* to the edge of extinction in The Netherlands. *Amphibia-Reptilia* 34 (2): 233–239.
- Havlíková B., Baláž V., Vojar J. (2015):** First systematic monitoring of *Batrachochytrium dendrobatidis* in collections of captive amphibians in the Czech Republic. *Amphibia-Reptilia* 36: 27–35.
- Hyatt A. D., Konecky B., Simmons J. E. (2007):** Upward range extension of Andean anurans and chytridiomycosis to extreme elevations in response to tropical deglaciation. *Global Change Biology* 13: 288–299.
- Johnson M. L., Speare R. (2005):** Possible modes of dissemination of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* in the environment. *Diseases of Aquatic Organisms* 65: 181–186.
- Lips K. R., Brem F., Brenes R., Reeve J. D., Alford R. A., Voyles J., Carey C., Livo L., Pessier A. P., Collins J. P. (2006):** Emerging infectious disease and the loss of biodiversity in a Neotropical amphibian community. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 3165–3170.
- Longcore J. E., Pessier A. P., Nichols D. K. (1999):** *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia* 91: 219–227.
- Martel A., Van Rooij P., Vercauteren G., Baert K., Van Waeyenberghe L., Debacker P., Garner T. W. J., Woeltjes T., Ducatelle R., Haesebrouck F., Pasmans F. (2011):** Developing a safe antifungal treatment protocol to eliminate *Batrachochytrium dendrobatidis* from amphibians. *Medical Mycology* 49: 143–149.
- Martel A., Spitzen-van der Sluijs A., Blooi M., Bert W., Ducatelle R., Fisher M. C., Woeltjes A., Bosman W., Chiers K., Bossuyt F., Pasmans F. (2013):** *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110: 15325–15329.

- Martel A., Blooi M., Adriaensen C., Van Rooij P., Beukema W., Fisher M. C., et al. (2014):** Recent introduction of a chytrid fungus endangers Western Palearctic salamanders. *Science* 346: 630–631.
- Mazzoni R., Cunningham A. A., Daszac P., Apolo A., Perdomo E., Speranza G. (2003):** Emerging pathogen of wild amphibians in frogs (*Rana catesbeiana*) farmed for international trade. *Emerging Infectious Diseases* 9: 995–998.
- Mendelson J. R., Lips K. R., Gagliardo R. W., Rabb G. B et al. (2005):** Confronting amphibian declines and extinctions – Amphibian Conservation Summit Declaration. *Science Supporting Online Material* 1–10 ([www.sciencemag.org/cgi/content/full/313/5783/48/DC1](http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/313/5783/48/DC1), verze ze 7. 1. 2008).
- Nguyen T. T., Nguyen T. V., Ziegler T., Pasmans F., Martel A. (2017):** Trade in wild anurans vectors the urodelan pathogen *Batrachochytrium salamandrivorans* into Europe. *Amphibia-Reptilia* 38(4): 554–556.
- Olson D. H., Aanensen D. M., Ronnenberg K. L., Powell C. I., Walker S. F., Bielby J., et al. (2013):** Mapping the Global Emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the Amphibian Chytrid Fungus. *PLoS ONE* 8: e56802.
- Peel A. J., Hartley M., Cunningham A. A. (2012):** Quantitative risk analysis of introducing *Batrachochytrium dendrobatidis* to the UK through the importation of live amphibians. *Diseases of Aquatic Organisms* 98: 95–112.
- Pounds J. A. (2001):** Climate and amphibian declines. *Nature* 410: 639–640.
- R Development Core Team (2009):** *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Rachowicz L. J., Knapp R. A., Morgan J. A. T., Stice M. J., Vredenburg V. T., Parker J. M., Briggs C. J. (2006):** Emerging infectious disease as a proximate cause of amphibian mass mortality. *Ecology* 87: 1671–1683.
- Rózsa, L., Reiczigel, J., Majoros, G. (2000):** Quantifying parasites in samples of hosts. *Journal of Parasitology* 86: 228–232.
- Sabino-Pinto J., Bletz M., Hendrix R., Perl R. G. B., Martel A., Pasmans F., Lötters S., Mutschmann F., Schmidt B. R., Schmeller D. S., Veith M., Wagner N., Vences M. & Steinfartz S. (2015):** First detection of the emerging fungal pathogen *Batrachochytrium salamandrivorans* in Germany. *Amphibia-Reptilia* 36(4): 411–416.
- Searle C. L., Gervasi S. S., Hua J., Hammond J. I., Relyea R. A., Olson D. H., Blaustein A. R. (2011):** Differential host susceptibility to *Batrachochytrium dendrobatidis*, an emerging amphibian pathogen. *Conservation Biology* 25: 965–974
- Schloegel L. M., Daszak P., Cunningham A. A., Speare R., Hill B. (2010):** Two amphibian diseases, chytridiomycosis and ranaviral disease, are now globally notifiable to the World Organization for Animal Health (OIE): an assessment. *Diseases of Aquatic Organisms* 92: 101–108.
- Sillero N., Campos J., Bonardi A., Corti C, Creemers R., Crochet P. A., Crnobrnja-Isailovic J., Denoël M., Ficetola G. F., Gonçalves J., Kuzmin S., Lymberakis P., de Pous P., Rodríguez A., Sindaco R., Speybroeck J., Toxopeus B., Vieites D. R., Vences M. (2014):** Updated distribution and biogeography of amphibians and reptiles of Europe. *Amphibia-Reptilia*, 35: 1–31.

- Skerratt L. F., Berger L., Speare R., Cashins S., McDonald K. R., Phillott A. D., Hines H. B., Kenyon N. (2007):** Spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *EcoHealth Journal Consortium* 4: 125–134.
- Spitzen-van der Sluijs A., Spikman F., Bosman W., Zeeuw M., Meij T., Goverse E., Kik M., Pasmans F., Martel A. (2013):** Enigmatic decline drives *Salamandra salamandra* to the edge of extinction in The Netherlands. *Amphibia-Reptilia* 34(2): 233–239.
- Stegen G., Pasmans F., Schmidt B. R., Rouffaer L. O., Van Praet S., Schaub M., Canessa S., Laudelout A., Kinet T., Adriaensen C., Haesebrouck F., Bert W., Bossuyt F., Martel A. (2017):** Drivers of *Batrachochytrium salamandrivorans* mediated salamander extirpation. *Nature* 544: 353–354.
- Stuart S. N., Chanson J. S., Cox N. A., Young B. E., Rodrigues A. S. L., Fischman D. L., Waller R. W. (2004):** Status and trends of amphibian declines and extinction worldwide. *Science* 306: 1783.
- Šťastný K., Červený J., Rom J., Solský M., Hanel L., Andreska J., Vojar J., Kerouš K. (2015):** Prague. 119–153. In: Kelcey, J. G. (ed.): *Vertebrates and Invertebrates of European Cities: Selected Non-Avian Fauna*. Springer, New York.
- Vojar J., Havlíková B., Solský M., Jablonski D., Ikovič V., Baláž V. (2017):** Distribution, prevalence and amphibian hosts of *Batrachochytrium dendrobatidis* in the Balkans. *Salamandra* 53(1): 44–49.
- Walker S. F., Salas M. B., Jenkins D., Garner T. W. J., Cunningham A. A., Hyatt A.D., Bosch J., Fisher M. C. (2007):** Environmental detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* in a temperate climate. *Diseases of Aquatic Organisms* 77: 105–112.
- Walker S. F., Bosch J. et al. (2008):** Invasive pathogens threaten species recovery programs. *Current Biology* 18: R853–R854.
- Weldon C., du Preez L. H., Hyatt A. D., Muller R., Speare R. (2004):** Origin of the amphibian chytrid fungus. *Emerging Infectious Diseases* 10(12): 2100–2105.
- Wellington R., Haering, R. (2008):** Hygienic protocol for the control of disease in frogs. *Information Circular Number 6*. Department of Environment and Climate Change (NSW) Sydney South, Australia.
- Woodhams D. C., Alford R. A., Marantelli G. (2003):** Emerging disease of amphibians cured by elevated body temperature. *Diseases of Aquatic Organisms* 55: 65–67.
- Woodhams D. C., Hyatt A. D., Boyle D. G., Rollins-Smith L. A. (2007b):** The Northern Leopard Frog *Rana pipiens* is a widespread reservoir species harboring *Batrachochytrium dendrobatidis* in North America. *Herpetological Review* 39: 66–68.
- Woodhams D. C., Bigler L., Marschang R (2012):** Tolerance of fungal infection in European water frogs exposed to *Batrachochytrium dendrobatidis* after experimental reduction of innate immune defenses. *BMC Veterinary Research* 8(1): 197.
- Young S., Berger L., Spare R. (2007):** Amphibian chytridiomycosis: strategies for captive management and conservation. *International Zoo Yearbook* 41: 1–11.

## Ostatní zdroje

**AmphibiaWeb (2018):** Information on Amphibian Biology and Conservation. Berkeley, California, Copyright © 2000–2018, [<http://amphibiaweb.org/amphibian/speciesnums.html>].

**Council of Europe (2015):** Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats, 35th meeting; 2015 Dec 1–4; Strasbourg, France. Recommendation No. 176

(2015) on the prevention and control of the *Batrachochytrium salamandrivorans* chytrid fungus, [<https://wcd.coe.int/com.instranet.InstraServlet?command=com.instranet.CmdBlobGet&>].

**EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare), More S. et al. (2017):** Scientific Opinion on the assessment of listing and categorisation of animal diseases within the framework of the Animal Health Law (Regulation (EU) No 2016/429): *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*). EFSA Journal 2017 15 (11): 5071, 34 p. [<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5071>].

**IUCN (2016):** Red List of Threatened Species. [<http://www.iucnredlist.org>].

**Státní veterinární správa** © 2016–2017: SVS bude z důvodů prevence smrtelného onemocnění kontrolovat všechny zásilky čolků a mloků ze třetích zemí. Tisková zpráva z 1. 9. 2016, [<https://www.svscr.cz/svs-bude-z-duvodu-prevence-smrtelneho-onemocneni-kontrolovat-vsechny-zasilky-colku-a-mloku-ze-tretich-zemi/>].

## 8. Stručný přehled publikací

### 8.1. First systematic monitoring of *Batrachochytrium dendrobatidis* in collections of captive amphibians in the Czech Republic

#### Abstrakt

The popularity of amphibians as pets in the Czech Republic is growing. Private keepers breed mainly exotic species that are available at popular exotic animal fairs and in pet shops. This growing demand for amphibians also brings increasing risk of disease transmission. In our study, we focused on two objectives: detecting the pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) in captive amphibians across the Czech Republic and summarizing the results of itraconazole treatments. We performed a systematic survey, focusing on public institutions, the pet trade and private breeders. Of 610 amphibians tested, we recorded 5.1% to be infected with *Bd*. The fungus was present mainly as a mild asymptomatic infection, but we also found cases of acute disease, including mortalities. Amphibian breeders, zookeepers and pet sellers should regularly test their animals for the presence of *Bd* and other pathogens, because captive amphibians can serve as their reservoirs. When *Bd* infection is present in a captive amphibian, treatment should be appropriate to the infection's intensity. The trade-off between the risk of disease and the risk of antifungal treatment varies greatly among species, and even itraconazole's use can cause fatal health complications.

#### Citace

**Havlíková B.**, Baláž V., Vojar J. (2015): First systematic monitoring of *Batrachochytrium dendrobatidis* in collections of captive amphibians in the Czech Republic. *Amphibia-Reptilia* 36: 27–35.

#### Klíčová slova

amphibian trade, antifungal treatment, captive-bred amphibians, chytridiomycosis, infectious disease, itraconazole

## 8.2. Distribution, prevalence, and amphibian hosts of *Batrachochytrium dendrobatidis* in the Balkans

### Abstrakt

The Mediterranean region, consisting of, amongst other areas, three main southern European peninsulas (the Iberian, Apennine, and Balkan) is known as one of the world's biodiversity hotspots. The Iberian Peninsula was the first place in Europe where amphibians were confirmed to be infected by the amphibian chytrid fungus, *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). Whereas the Iberian and Apennine peninsulas have been subject to intensive chytridiomycosis research, this study represents the first large-scale *Bd* survey in the Balkans. Over a two-year period, 454 skin swab samples of amphibians were collected in Montenegro, Albania, and the Republic of Macedonia of which 65 samples (14.3%) were *Bd*-positive. *Bd* was detected in 5 out of 11 sampled species (*Bombina variegata*, *Hyla arborea*, *Lissotriton vulgaris*, *Pelophylax* sp., and *Triturus macedonicus*) at 13 out of 38 localities. Infection rates did not differ between countries but varied greatly between species with a maximum in *Pelophylax* sp. (> 30%). Within positive *Pelophylax* samples, infection loads were constant across areas and age groups. Considering the Balkans' biodiversity and the potential threat to local endemics and genetic richness, future monitoring is vital for assessing *Bd* presence, prevalence and infection trends in the region.

### Citace

Vojar J., **Havlíková B.**, Solský M., Jablonski D., Ikovič V., Baláž V. (2017): Distribution, prevalence and amphibian hosts of *Batrachochytrium dendrobatidis* in the Balkans. *Salamandra* 53(1): 44–49.

### Klíčová slova

Amphibian infectious disease, Balkan Peninsula, chytridiomycosis

### 8.3. First survey of the pathogenic fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in wild and captive amphibians in the Czech Republic

#### Abstrakt

*Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*) is a recently recognized parasitic fungus infecting newts and salamanders. It is lethal to many European Caudata species. Surveillance of this pathogen is of great conservation importance. As the pet trade is assumed to be the route of *Bsal* transmission, it is likely that large cities where exotic pet collections, specialized pet shops and zoos are more common are at greater risk of *Bsal* emergence. Therefore, we have started to survey wild populations of Caudata species (3 species, 9 localities, 126 samples), as well as collections of captive salamanders (60 species, 198 samples) in Prague, the capital city of the Czech Republic. *Bsal* was not detected in any of the 324 tested samples. Because the risk for *Bsal* to spread in Europe via the pet trade is ever-present, additional steps to alleviate

such risk should be undertaken especially in proximity to larger cities.

#### Citace

Baláž V., Solský M., González D., L., **Havlíková B.**, Zamorano J., G., González Sevilleja C., Torrent L., Vojar J. (2018): First survey of the pathogenic fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in wild and captive amphibians in the Czech Republic. *Salamandra* 54(1): 87–91.

#### Klíčová slova

chytridiomycosis, infectious diseases, Prague, qPCR, *Salamandra salamandra*



## 9. Odborný životopis

**Barbora HAVLÍKOVÁ**

### OSOBNÍ ÚDAJE

Datum a místo narození 28. listopadu 1984, Praha, Česká republika  
Trvalé bydliště Průhledová 6, 160 00 Praha 6 – Dejvice, Česká republika  
E-mail havlikova@fzp.czu.cz

### VZDĚLÁNÍ

**od 2011** Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta životního prostředí  
Obor: Ekologie  
Doktorské studium  
Téma disertační práce: Výzkum patogenů *Batrachochytrium dendrobatidis* a *B. salamandrivorans* u obojživelníků v České republice a na Balkánském poloostrově

**2009–2011** Česká zemědělská univerzita v Praze, Institut tropů a subtropů  
Obor: Management volně žijících zvířat v tropech a subtropích  
Magisterské studium zakončené dosažením titulu: inženýr  
Téma diplomové práce: Mateřské chování u antilopy losí (*Taurotragus oryx*) chované v zajetí

**2008–2009** Univerzita Hohenheim, Stuttgart, Německo  
Faculty of Agricultural Sciences  
ERASMUS Student

**2005–2008** Česká zemědělská univerzita v Praze, Institut tropů a subtropů  
Obor: Zemědělství tropů a subtropů  
Bakalářské studium zakončené dosažením titulu: bakalář  
Téma bakalářské práce: Mateřská péče u antilop se zvláštním zaměřením na antilopu losí (*Taurotragus oryx*)

### ZAMĚSTNÁNÍ, PRAXE

**od 7/2012** Quintiles Czech Republic s.r.o., Clinical Trial Assistant  
**2008–2009** Studijní pobyt na univerzitě Hohenheim, Stuttgart, Německo

## JAZYKOVÉ ZNALOSTI

Anglický jazyk: B2

Německý jazyk: A2

Francouzský jazyk: A1

## ODBORNÉ ZKUŠENOSTI

**06/2012–02/2014**

Výzkum chytridiomykózy u obojživelníků chovaných v zajetí; odběr vzorků pomocí stěrů z pokožky v zoologických zahradách, chovatelských stanicích, prodejnách a u soukromých chovatelů

**od 10/2012**

Analýza vzorků pomocí qPCR metody na Veterinární a farmaceutické univerzitě v Brně (VFU)

**od 05/2013**

Analýza vzorků pomocí standardní PCR v laboratořích molekulární genetiky na FŽP/CZU v Praze

**04/2013, 04/2014**

Výpomoc v terénu při sčítání snůšek skokana štíhlého na mosteckých výsypkách

**03/2014**

Intenzivní výzkum přítomnosti *Bd* u volně žijících populací obojživelníků na lokalitách Černé Hory

**09/2014**

Zaškolení a testování přístroje Genie® II k analyzování přítomnosti *Bd* v terénu, detekce měřením fluorescence

**04/2014, 04/2015**

Vedení výuky na cvičení ze zoologie obojživelníků a plazů, ukázky všech našich zástupců obojživelníků a některých plazů v biotopových nádržích FŽP/ČZU

**04/2015**

Oponentský posudek bakalářské práce na téma Chytridiomykóza v záchranných chovech obojživelníků, Michaela Múdrá, VFU v Brně, Fakulta Veterinární hygieny a ekologie

## ŘEŠENÉ GRANTY

2014

Monitoring původce chytridiomykózy na Balkánském poloostrově se zaměřením na Černou Horu, IGA 20144269, hlavní řešitel

2013

Chytridiomykóza u obojživelníků chovaných v zajetí, IGA 20134261, hlavní řešitel

2012

Chytridiomykóza u obojživelníků chovaných v zajetí, IGA 20124233, spoluřešitel

## PUBLIKAČNÍ ČINNOST

### Vědecké časopisy s IF

**Havlíková B.**, Baláž V., Vojar J. (2015): First systematic monitoring of *Batrachochytrium dendrobatidis* in collections of captive amphibians in the Czech Republic. *Amphibia-Reptilia* 36: 27–35.

Vojar J., **Havlíková B.**, Solský M., Jablonski D., Ikovič V., Baláž V. (2017): Distribution, prevalence and amphibian hosts of *Batrachochytrium dendrobatidis* in the Balkans. *Salamandra* 53(1): 44–49.

Baláž V., Solský M., González D., L., **Havlíková B.**, Zamorano J., G., González Sevilleja C., Torrent L., & Vojar J. (2018): First survey of the pathogenic fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in wild and captive amphibians in the Czech Republic. *Salamandra* 54(1): 87–91.

### Odborné časopisy

**Havlíková B.** (2014): Černá budoucnost pro obojživelníky? *Teramagazín, elektronický časopis o teraristice* 1/2014 (29–33), ISSN 1805–870, [www.teramagazin.cz](http://www.teramagazin.cz), [[http://teramagazin.cz/soubory/archiv/2014/TERAmagazin\\_1\\_2014.pdf](http://teramagazin.cz/soubory/archiv/2014/TERAmagazin_1_2014.pdf)].

### Sborníky abstraktů z konferencí

**Havlíková B.** (2012): Chytridiomykóza u obojživelníků chovaných v zajetí. Sborník abstraktů 4. ročníku konference Kostecké inspirování 2012, Kostelec nad Černými lesy, 29.–30. listopadu 2012.

**Havlíková B.**, Vojar J., Baláž V. (2013): Monitoring původce chytridiomykózy u obojživelníků chovaných v zajetí. Sborník abstraktů z 5. ročníku konference Kostecké inspirování 2013, Kostelec nad Černými lesy, 21.–22. listopadu 2013.

Baláž V., Civiš P., Vojar J., Šandera M., Matějů J., **Havlíková B.**, Rozínek R., Garner T. (2013): Summary of *Batrachochytrium dendrobatidis* research in the Czech Republic in wild and captive amphibians during the last five years. Sborník abstraktů ze 17. kongresu Evropské herpetologické společnosti. Maďarsko, Veszprém, 22.–27. srpna 2013.

Baláž V., Solský M., Jablonski D., **Havlíková B.**, Vojar J. (2015): Původce chytridiomykózy obojživelníků potvrzen už i na Balkáně, je se čeho obávat? Sborník abstraktů z konference Zoologické dny Brno 2015, 12.–13. února 2015.

Baláž V., Solský M., Jelínková A., **Havlíková B.**, Rozínek R., Vojar J. (2016): Výzkum trojice nejzávažnějších patogenů obojživelníků v České republice. Sborník abstraktů z konference Zoologické dny České Budějovice 2016, 11.–12. února 2016.

### **Edukační materiály**

**Havlíková B.** (2013): Chytridiomykóza obojživelníků. Edukační leták distribuovaný na burzách a výstavách se zvířaty, v zoologických zahradách, prodejnách se zvířaty, na konferencích.

**Havlíková B.**, Lipšová J. (2013): Chytridiomykóza obojživelníků chovaných v zajetí. Edukační poster. Výstava obojživelníků v lidské péči 2013, Stanice přírodovědců na Smíchově.