

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



**Prevalence tasemnic *Echinococcus multilocularis*
u lišky obecné (*Vulpes vulpes*)
po ročním podávání návnad s anthelmintiky**

Diplomová práce

Autor práce: Patrik Ira

Vedoucí práce: Doc. Ing. Ivana Jankovská, PhD

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Prevalence tasemnic *Echinococcus multilocularis* u lišky obecné (*Vulpes vulpes*) po ročním podávání návnad s anthelmintiky " jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10. 4. 2015

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucí této diplomové práce doc. Ing. Ivaně Jankovské, Ph.D. za odborné poznatky a za poskytnutý čas. Dále bych chtěl poděkovat i Ing. Adéle Brožové za pomoc při výzkumu a za poskytnutí důležitých informací pro vypracování diplomové práce.

Prevalence tasemnic *Echinococcus multilocularis* u lišky obecné (*Vulpes vulpes*) po ročním podávání návnad s anthelmintiky

Souhrn

Tasemnice měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) je malý parazit dosahující délky až 3,7 milimetrů. V dospělosti parazituje v tenkém střevě šelem. Mezihostitelem je v našich podmínkách nejčastěji hryzec vodní (*Arvicola terrestris*) a další hlodavci. Nejčastějšími definitivními hostiteli jsou lišky, ale mohou jimi být i další psovitě šelmy. K infekci může dojít i u domácích psů, kteří pak představují pro své okolí nebezpečí nákazy. Onemocnění, které tato tasemnice způsobuje, se řadí mezi zoonózy a je tedy přenosné ze zvířat na člověka, u kterého pak může propuknout alveolární echinokokóza. Toto onemocnění je velice závažné a v neléčených případech může být fatální. Parazit se dostává do člověka především pozřením potravy, která byla kontaminovaná vajíčky této tasemnice, které se nacházejí ve výkalech šelem.

Larvální stádia vyskytující se u mezihostitelů napadají zejména játra, ale někdy mohou poškozovat i mozek. Na těchto orgánech můžeme pozorovat výrazné léze a probíhá zde nepohlavní množení. Jako preventivní opatření je důležité dodržovat hygienické zásady a cílené odčervování domácích zvířat. Způsobem, jak snížit výskyt měchožila bublinatého, může být i odčervování volně žijících konečných hostitelů pomocí návnad s anthelmintiky.

V této diplomové práci byla zjišťována účinnost návnad obsahující anthelmintikum praziquantel u lišek. Návnady s anthelmintiky byly rozmístěny v honitbách v oblasti Karlových Varů, kde byla zjištěna největší míra prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Tyto návnady byly rozmístěny na místech, kde se lišky nejčastěji vyskytují a hustota návnad činila 50 kusů/km² distribuovaných každý měsíc po dobu jednoho roku. Z výsledků pak vyplynulo, že pomocí této metody lze dosáhnout výrazného snížení infekce měchožila bublinatého u definitivního hostitele. V námi sledované oblasti jsme zaznamenali po roce podávání návnad s anthelmintiky snížení prevalence měchožila bublinatého u lišek z 80 % (12/15) na 10,5 % (2/19).

Klíčová slova: měchožil bublinatý, *Echinococcus multilocularis*, tasemnice, liška, anthelmintikum, návnada

***Echinococcus multilocularis* prevalence in red fox (*Vulpes vulpes*) after one year anthelmintic baits distribution**

Summary

Tapeworm *Echinococcus multilocularis* is a small parasite reaching lengths of up to 3, 7 mm. In the adult parasitizes in the small intestine of carnivores. The most common intermediate hosts in our conditions is European water vole (*Arvicola terrestris*) and others rodents. The most common definitive hosts are foxes, but it could be also other canines. Domestic dogs could get an infection too; in that case they are a risk of infection for their surroundings. A disease caused by tapeworm, belongs to the zoonosis and because of that, it is transmitted from animals to humans, which may cause outbreaks of disease called alveolar echinococcosis. This disease is very serious, and in untreated cases may even be fatal. The parasite enters to the human body by primarily ingestion of food, which was contaminated by eggs of tapeworm located in excrement beasts.

Larval stages occurring in intermediate hosts attack especially liver, but sometimes may damage also the brain. In these internal organs we can observe significant lesions and occurs here asexual propagation. For a more favorable prognosis is important early diagnosis. As preventive measures is important to observe hygiene and targeted pets deworming. The one of the possible way, how to reduce an occurrence of *Echinococcus multilocularis*, could be deworming of wild final hosts using baits with anthelmintic.

In this master's project was investigated the effectiveness of baits containing an anthelmintic praziquantel for foxes. Baits with anthelmintic have been placed in the hunting grounds in areas Carlsbad, where the greatest prevalence of *Echinococcus multilocularis* was found. These baits were distributed to places where the foxes frequently occur, and density of baits was 50 units/sq km, distributed every month for one year. The results finally showed the fact, using this method could achieve a significant reduction of infection *Echinococcus multilocularis* in the definitive host. In our studied area has been recorded that, after year of baits with anthelmintic feeding, the prevalence of *Echinococcus multilocularis* for foxes was reduced from 80 % (12/15) to 10,5 % (2/19).

Keywords: *Echinococcus multilocularis*, tapeworm, red fox, anthelmintic, bait

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíl práce	10
2.1 Hypotéza	10
3 Literární rešerše	11
3.1 Obecná charakteristika třídy tasemnice (Cestoda)	11
3.2 Měchožil bublinatý	12
3.2.1 Hostitelé měchožila bublinatého.....	13
3.2.1.1 Význam psíka mývalovitého jako hostitele měchožila bublinatého .	13
3.2.1.2 Význam psů a koček jako hostitelů měchožila bublinatého.....	16
3.2.2 Vývojový cyklus měchožila bublinatého.....	18
3.2.3 Prevalence a rozšíření měchožila bublinatého.....	20
3.2.3.1 Rozšíření a prevalence v České republice	21
3.2.3.2 Rozšíření a prevalence na Slovensku	22
3.2.3.3 Rozšíření a prevalence ve Švýcarsku	22
3.2.3.4 Rozšíření a prevalence ve Francii.....	22
3.2.3.5 Rozšíření a prevalence v Japonsku.....	22
3.3 Léčba pomocí návnad	23
3.3.1 Sedimentační a odpočítávací metoda (SCT).....	25
3.3.2 Střevní seškrabovací metoda (IST).....	26
3.3.3 Používání návnad v Japonsku	28
3.3.4 Používání návnad v Německu.....	29
3.3.5 Používání návnad ve Švýcarsku	29
3.3.6 Používání návnad na Slovensku	30
3.3.7 Používání návnad ve Francii.....	32
3.4 Tetracyklin v návnadách s anthelmintiky	32

3.5	Alveolární echinokokóza	36
3.5.1	Kontrola a prevence	40
4	MATERIÁL A METODY	42
4.1	Původ lišek	42
4.2	Návnady s anthelmintiky	42
4.3	Helmintologická pitva	42
4.4	Mikroskopická diagnostika	43
5	VÝSLEDKY	46
6	DISKUZE.....	51
7	ZÁVĚR.....	55
8	SEZNAM LITERATURY	56

1 Úvod

Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) je zoonotická tasemnice způsobující alveolární echinokokózu, která je jednou z nejsmrtelnějších parazitárních infekcí na severní polokouli. Nedávné studie prokázaly, že je mnohem rozšířenější, než se dříve myslelo, což významně zvyšuje pravděpodobnost nakažení člověka. Proto je v zájmu veřejnosti, aby byla provedena účinná prevence proti této infekci. S těmito zvýšenými hrozbami pro veřejné zdraví jsou také spojena velká ekonomická rizika. Náklady na léčbu spolu se ztrátami v živočišné výrobě překračují 2 miliardy dolarů (Atkinson et al., 2013). Tyto údaje jsou navíc pravděpodobně podhodnocené vzhledem k problémům s včasným odhalením infekce a nedostatkem jeho povinného oznámení ve většině zemí. Výskyt alveolární echinokokózy byl prokázán v mnoha státech Evropy a proto je zapotřebí informovat veřejnost o prevenci a možných následcích. I z těchto důvodů je toto téma stále aktuální a čím dál tím více skloňované.

Liška obecná (*Vulpes vulpes*) a ostatní psovitě šelmy patří mezi definitivní hostitele tohoto parazita a právě zde hrozí největší riziko přenosu mezi divokým a domácím zvířetem, čímž pak může snadněji dojít k nakažení člověka. Zanedbatelná není ani skutečnost, že se lišky stále více přibližují k lidským obydlím, kde se nachází významný zdroj potravy. Výskyt lišek byl tak hlášen například na skládkách a v příměstských parcích (Hegglin and Deplazes, 2008). Ačkoli je toto zvíře masožravec, tak je schopné žít se i rostlinami a také lidskými odpady, které jí napomáhají přežít v příměstských a městských oblastech. Urbanizace lišek je jev dobře známý v mnoha městech Evropy a Ameriky a byl zaznamenán i na Slovensku.

Vyhubení všech lišek není možné hned z několika hledisek a taktéž zničení všech vývojových stádií těchto tasemnic je zcela neproveditelné. Z těchto důvodů se většina států, u nichž se parazit vyskytuje, rozhodla účinně snížit prevalenci u lišek tím, že do volné přírody rozmístí návnady obsahující anthelmintikum.

Diagnostickými metodami, jako je koprologické vyšetření nebo mikroskopické vyšetření obsahu střev, se zjistilo, že výraznějšího a dlouhodobějšího snížení prevalence se dosáhne pouze tehdy, pokud jsou návnady rozmístřovány do přírody několik let po sobě. Tímto způsobem se zvyšuje šance, že se nenakazí mezihostitelé těchto tasemnic, kterými jsou nejčastěji hrabošovité (Arvicolidae). Obecně mezihostitel je takový organismus, ve kterém se vyvíjí larvální stádia, která se v něm mohou i nepohlavně množit. V definitivním hostiteli,

který se nakazí pozřením mezihostitele nebo samotného infekčního stádia, parazit pohlavně dospívá a pohlavně se zde množí.

Tato diplomová práce přibližuje problematiku týkající se tohoto parazita a vyhodnocuje pokus, při kterém se sleduje prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek na území České republiky před a po podání návnad s anthelmintiky.

2 Cíl práce

Cílem této práce je zjistit zatížení lišek měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) v oblasti, kde byly předchozí rok rozmíst'ovány návnady s anthelmintiky.

2.1 Hypotéza

Návnady s anthelmintiky snižují prevalenci a intenzitu infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*).

3 Literární rešerše

3.1 Obecná charakteristika třídy tasemnice (Cestoda)

Tasemnice jsou výhradně parazitičtí ploštěnci a k tomu jsou i morfologicky přizpůsobeny. Prakticky všechny dospělé tasemnice parazitují v trávicím traktu obratlovců. Mezi charakteristické rysy patří přítomnost hlavičky (skolex) s přichycovacími orgány, které jsou přizpůsobeny životní strategii konkrétní tasemnice. I díky těmto orgánům můžeme lépe určovat jednotlivé druhy. Mezi hlavičkou tasemnice a vlastním tělem se může nacházet krček (collum). Tělo je složeno z jednotlivých článků, nazývané proglotidy. Jedna tasemnice může mít například až 4 000 těchto článků. Čermáková a kol. (2009) uvádějí, že tyto články vznikají ze zárodečných buněk přítomných v krčku nebo v distální části skolexu. Většina tasemnic patří mezi hermafrodity a v každém článku je přítomna jak samčí, tak samičí reprodukční soustava, které společně vytváří pohlavní buňky. Tato soustava zaujímá převážnou část těla a je viditelná pod mikroskopem. Gravidní články se nalézají zpravidla na konci těla tasemnice a směrem k hlavičce přecházejí na články zralé a následně nezralé. U tasemnic skládajících se například pouze ze tří proglotid můžeme pozorovat první článek nezralý, druhá zralý a třetí gravidní. Živiny přijímají povrchem těla, jelikož nemají vyvinuto střevo. Tento povrch označujeme jako tegmentum. Pod ním se nachází cirkulární a longitudinální svalovina, která zajišťuje pohyb celé tasemnice i jednotlivých článků. Vylučovací soustava vyúsťuje v každém článku nebo na konci strobily. Ve skolexu se nalézají párová hlavová ganglia, která jsou centrem nervové soustavy. Z nich pak vychází jednotlivá nervová vlákna, která prochází celým tělem. Vývojová stádia se vyvíjejí v mezihostiteli a podle počtu mezihostitelů se rozděluje jejich vývoj na dvouhostitelský nebo tříhostitelský. Z definitivního hostitele jsou uvolňovány články obsahující vajíčka, která odcházejí společně se stolicí do vnějšího prostředí (Čermáková a kol., 2009).

Tato třída je rovněž charakterizována složitými vývojovými cykly. Během vývoje tasemnice dochází ke vzniku několika larválních stádií. Primární larvy mají embryonální obaly, které ztrácejí při průniku do prvního mezihostitele. Sekundární larvy se oproti tomu vyznačují přítomností šesticí háčků, které ztrácejí při průniku do druhého hostitele nebo do definitivního hostitele. Terciální larva, která se nachází v druhém mezihostiteli, se nazývá plerocerkoid (Thompson and McManus, 2002).

3.2 Měchožil bublinatý

Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) je vysoce patogenní tasemnice z čeledi Taeniidae. Tělo dospělé tasemnice je tvořeno hlavičkou (skolex) a 3 – 6 proglotidy. Na hlavičce jsou přítomny velké a malé háčky se čtyřmi přísavkami. Podle Pavláška (2011) tato tasemnice dosahuje délky 2,5 mm, ale v extrémních případech může měřit dokonce 6 mm. Lenská a Svobodová (2003) uvádějí, že poslední článek obsahuje 200 – 300 vajíček, které se uvolňují do lumen střeva nebo odcházejí společně s celými články a se stolicí definitivního hostitele do vnějšího prostředí. Dospělé tasemnice (obr. 1) žijí převážně v kaudální třetině tenkého střeva. Vajíčko je silnostěnné, má sférický až elipsoidní tvar, velikost 30 – 39 x 28 – 33 µm a morfologicky odpovídá vajíčkům typu *Taenia* spp. Obsahuje larvu (onkosféru), která se uvolňuje v gastrointestinálním traktu mezihostitele a následně se po penetraci střevní sliznice dostává do krevního oběhu, kterým migruje primárně do jater, kde se vyvíjí. Zdrojem růstu jsou tzv. zárodečné buňky, z nichž vznikají jednak zárodky tasemnic (protoskolexy) a jednak tzv. laminární membrána, která slouží k ochraně parazita. Kolem parazitárního útvaru se časem vyvíjí fibrotická membrána, která je produktem imunitní reakce hostitele. Fibrotická membrána je u této tasemnice většinou tenká, takže nebrání exogennímu pučení parazita. Jaterní léze se pak může chovat jako maligní nádor, který neomezeně proliferuje a ve 2 % případů může dokonce metastazovat i do mozku a plic. Weiss et al. (2010) se domnívají, že k šíření larválních stádií dochází hematogenní nebo lymfatickou cestou. Lenská a Svobodová (2003) pak dále uvádějí, že v některých případech může docházet ke spontánnímu úhynu parazitů důsledkem vzniku inaktivních (tzv. abortivních) lézí, které časem zvrápenatí.



Obrázek 1 Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*)
(Zdroj: www.antropozoonosi.it).

3.2.1 Hostitelé měchožila bublinatého

Za hlavního definitivního hostitele jsou považovány volně žijící lišky. I když se převážně vyskytuje u lišek, tak jako zdroj infekce mohou sloužit i jiní koneční hostitelé. Nicméně matematický model vylučování vajíček ukázal, že lišky mají mnohem vyšší biotický potenciál než jakýkoliv jiný známý konečný hostitel (Kamiya, 2007). Mezi další definitivní hostitele patří například psi, kojoti, psíci a další psovitě šelmy (Kamiya et al., 2007).

Životní cyklus měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v Evropě je úzce spojen s přítomností zemědělsky obhospodařovaných otevřených pastvin bez pokrytí vyšší vegetací, která je domovem hlavních mezihostitelů, mezi které patří hraboš polní (*Microtus arvalis*) a hryzec vodní (*Arvicola terrestris*). Naproti tomu jsou např. v japonském Hokkaidu hlavním druhem mezihostitelů červení hraboši rodu *Myodes* (především *Myodes rufocanus*), kteří obývají lesy a otevřená stanoviště s hustým pokrytím rostlin (Takahashia et al., 2013). Hegglin et al. (2003) píše, že v Curychu se prováděla analýza liščího žaludku, ze které vyplynulo, že hryzec vodní (*Arvicola terrestris*) byl nejčastěji konzumovaným mezihostitelem a měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) je u tohoto druhu hraboše žijícího převážně po hranici města velmi rozšířený. Proto byla prevalence u lišek významně vyšší po obvodu města než ve více centrálních oblastech a riziko infekce pro alveolární echinokokózu může tedy být soustředěno zejména ve vymezených oblastech v městském obvodu.

3.2.1.1 Význam psíka mývalovitého jako hostitele měchožila bublinatého

Experimentální studie naznačily, že by významnou roli v epidemiologii alveolární echinokokózy mohl hrát i psík mývalovitý (*Nyctereutes procyonoides*), u kterého se již infekce prokázala. Ačkoliv jejich populace nejsou prozatím příliš veliké, tak jejich reprodukční potenciál je větší než u lišek, a proto by se v budoucnu mohli stát významným zdrojem infekce (Thompson et al., 2006).



Obrázek 2 Psík mývalovitý (Zdroj: www.theanimalfiles.com).

Psík mývalovitý (obr. 2) je přizpůsobivá a poměrně razantní všežravá psovitá šelma, která byla po roku 1928 jako kožešinové zvíře introdukována do evropské části Ruska ze Sibíře a střední Asie. Pro šíření do Evropy jsou zřejmě nejvýznamnější Amurská a Usurijská oblast, které jsou známé svou největší diverzitou flóry a fauny z celého Ruska. Ve Finsku se psík vyskytuje od roku 1935, Švédsku 1945 – 1946, Rumunsku 1952, Polsku 1955, Německu a Maďarsku 1961 – 1962. Nedávno byl zaznamenán i v jižních Alpách v Itálii. Jeho areálem rozšíření jsou i Slovensko, Bulharsko, Srbsko, Dánsko, Nizozemí, Francie, Švýcarsko, Rakousko, Slovinsko a Bosna. V roce 2000 dosáhl jeho roční odlov na území České republiky 165 kusů. Zatímco od roku 1971 do roku 2000 bylo uloveno 774 těchto zvířat, tak za následujících 9 let, tj. v období novelizovaného zákona o myslivosti, to bylo již 5515 kusů prakticky s každoročním vzestupem. Podle areálu původního rozšíření rozlišujeme šest poddruhů této psovité šelmy. Předpokládá se, že na našem území, podobně jako ve výše uvedených zemích Evropy, se s největší pravděpodobností vyskytuje poddruh *Nyctereutes procyonoides ussuriensis*, který se k nám dostal z původních oblastí jihovýchodního Ruska a východní Číny migrací do severozápadní části Ruska (Pavlásek, 2011)

Dnes je psík mývalovitý rozšířený téměř po celé Evropě (obr. 3). Mezi rokem 1959 a 1965 byl pozorován i na území České republiky, zejména na Moravě a ve Slezsku, a v roce 1966 byl zaznamenán jeho první odlov v počtu osmi kusů. Podle údajů z následujících odlovů předpokládáme, že dnes je jeho populace na našem území značně početná, ačkoliv je tento druh do jisté míry nežádoucí a to nejen pro jeho škodlivost, ale

i pro jeho potenciálně nepříznivou zdravotní problematiku. V honitbách České republiky nachází velmi příznivé až výborné životní podmínky (klimatické, potravní, krajinné, prostorové, nemá žádné predátory) ke svému postupnému a dnes již poměrně značnému rozšíření na celém území republiky. Je vysloveně nočním zvířetem, které ve dne vychází na lov jen velmi sporadicky (Pavlásek, 2011).



Obrázek 3 Rozšíření psíka mývalovitého v roce 2006. Modře je vyznačený původní areál výskytu a červeně je vyznačen areál, kam byl psík mývalovitý introdukován (Zdroj: www.theanimalfiles.com).

Tato šelma má vysoké reprodukční schopnosti a její vrh tvoří obvykle 5 – 8, ale i 12 štěňat. Mláďata se osamostatňují přibližně po 4 měsících. Žije v brlohu, který si sama vyhrabává nebo obsazuje opuštěné nory. Vyznačuje se vysloveně noční aktivitou a řadíme jí mezi všežravce. Hmotnost dosahuje před příchodem zimního období až 10 kg a s bohatou zásobou vnitřního tuku se ukládá k nepravému zimnímu spánku. Žije obvykle v párech nebo rodinách, i když některé literární údaje uvádějí také polygamii. Ze stručné charakteristiky základní biologie psíka mývalovitého je zřejmá určitá obtížnost jeho potenciálního odlovu, což v kombinaci s jeho zákonným vyřazením z lovné zvěře (zák. č. 449/2001 Sb.) vytváří ty nejlepší předpoklady pro jeho plošné i početní šíření v krajině. (Pavlásek, 2011).

Podle Pavláška (2011) státní veterinární ústav v Praze v říjnu a listopadu roku 2010 diagnostikoval první dva případy výskytu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u psíka mývalovitého na území České republiky.

Psík mývalovitý číslo 1 byl zastřelen 18. 10. 2010 a do státní veterinární správy byl dopraven z Polabské nížiny ve Středočeském kraji s požadavkem vyšetření na vzteklinu z důvodu poranění lovce tímto zvířetem včetně přímého střetu s jeho psem. Výsledky

vyšetření byly ovšem negativní a taktéž se neprokázala ani přítomnost *Trichinella* spp. Částečnou helmintologickou pitvou celého střeva se u psíka mývalovitého (*Nyctereutes procyonoides*) našel vůbec poprvé na území České republiky měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) a důkladným vyšetřením se napočítalo 180 těchto exemplářů. Ve stejné honitbě byly následně cíleně uloveny dvě lišky, u kterých se také potvrdil výskyt této tasemnice, avšak v podstatně nižší intenzitě 4 a 5 exemplářů (Pavlásek, 2011).

V lokalitě o ploše 1600 ha v Broumovském výběžku je psík mývalovitý loven už od roku 1976. V posledních několika letech se jeho početní stavy zvýšily a objevuje se mimo jiné i na skalnatém území, poblíž velkých stájí, zemědělských usedlostí a dokonce i v blízkosti lidských obydlí ve vzdálenosti kolem 600 metrů. Tato šelma je zde lovena celoročně na základě povolení příslušné Správy chráněné oblasti s vědomím příslušného státního orgánu řídicího myslivost. Za poslední tři roky bylo v dané lokalitě uloveno 15 jedinců této tzv. volně žijící zvířeny a podle mysliveckého a biologického posouzení skutečně škodné. Zejména mladší jedinci bývají často nalézáni při okrajích silnic usmrcení v nočních hodinách po střetu s motorovými vozidly. Dne 20. 11. 2010 byl v této honitbě uloven samec psíka mývalovitého číslo 2 o hmotnosti 8,5 kg. Parazitologické vyšetření plic a svaloviny bylo negativní. Z trusu odebraného z konečnicku se koprologickým vyšetřením zjistila přítomnost vajíček hlístic *Capillaria* spp. a tasemnic. Na sliznici střeva se napočítalo 58 kusů dospělých tasemnic měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Počítání bylo provedeno obvyklou diagnostickou metodou pomocí stereomikroskopu (Pavlásek, 2011).

3.2.1.2 Význam psů a koček jako hostitelů měchožila bublinatého

Vzhledem k vysoké reprodukční schopnosti měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u domácích psů žijících v úzkém kontaktu s lidmi je odčervovací schéma psů, kteří mají přístup k hlodavcům, velmi důležité. Ve střední Evropě je odhadovaný podíl psů na zamoření životního prostředí vajíčky měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v rozmezí od 4 % do 19 %. U domácích koček je tento odhad zanedbatelný (<0,3 %) vzhledem k nízké reprodukci parazitů u tohoto druhu (Hegglin and Deplazes, 2013). Podle Hegglin and Deplazes (2013) je prevalence u psů ve střední Evropě obecně nízká (0,3 % – 0,4 %), nicméně relativní podíl domácích psů na šíření infekce by neměl být ignorován. Navíc ve vysoce endemických venkovských oblastech se prevalence může zvýšit až na 1,5 %. Kromě toho je hustota psů v příměstských a městských oblastech mnohem vyšší

než hustota lišek, a proto i když je prevalence u psů obvykle 10x až 100x nižší než u lišek, tak psí populace může výrazně přispět k zamoření životního prostředí vajíčky této tasemnice v bezprostřední blízkosti lidí, pokud nebudou výkaly odstraňovány majiteli psů. Zejména v bývalých státech Sovětského svazu a v Číně jsou psi považováni za velmi důležité pro přenos alveolární echinokokózy. V těchto zemích byla hlášena vysoká prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) a vysoká hustota domácích a toulavých psů, takže je nepravděpodobné, že se zde lišky vyskytují ve stejné hustotě jako v mnoha urbanizovaných oblastech Evropy.

Infekce u domácích psů se může šířit pouze prostřednictvím kontaminovaných hlodavců, kteří mají ve vývoji tasemnic roli mezihostitelů (Gottstein et al., 2001). Ve studii Kamiya (2007) se prokázalo, že psi mají vysoký biotický potenciál pro přenos onemocnění, které způsobuje měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*). Lenská a Svobodová (2003) se domívají, že se u psů mohou vyvíjet i larvální stádia, které vytvářejí cystické léze v játrech a ostatních vnitřních orgánech, čímž u nich může propuknout alveolární echinokokóza.

Studie Weiss et al. (2010) charakterizuje relativně vzácné léze alveolární echinokokózy u psů. Metacestody u těchto psů často neobsahují žádné protoskolexy a jsou proto sterilní. Metacestody byly obklopeny vazivovou tkání společně se zánětlivými buňkami, které obsahovaly různý počet makrofágů, T a B lymfocytů, plazmatických buněk, neutrofilů a bazofilů. Tyto léze se podobají lézím u člověka a na rozdíl od lézí u přirozených mezihostitelů mají více fibrózy a méně protoskolexů. Ve všech případech byla léze charakterizována prominentní proliferací granulační tkáně a fibrózou a ve většině případů nebyly pozorovány žádné nebo jen velmi malé množství protoskolexů. Jako aberantní mezihostitelé se zdají být psi méně využitelní k tvorbě protoskolexů než přirození mezihostitelé. Podobné nálezy byly hlášeny i u lidských pacientů. Fibróza často způsobuje ucpání žlučových cest a tím vyvolává cholestázu a následně i žloutenku.

Ve studii (Stehr-Green et al., 1988) z Aljašky bylo zjištěno, že kontakt s kontaminovanými psími výkaly vyskytujícími se v životním prostředí byl pro místní obyvatele mnohem důležitějším rizikovým faktorem než přímý kontakt se psem přes krmení, napájení nebo při využívání psů v této oblasti (Stehr-Green et al., 1988).

I když mechanismus přenosu infekce ze psa na člověka není zcela znám, význam psů v přenosu této zoonózy může být v Evropě výraznější, než se obecně předpokládá.

Odčervování psů svým majitelem je považováno za obzvláště důležité preventivní opatření, které přispívá k snižování případů lidské alveolární echinokokózy (Deplazes et al., 2011).

Kamiya (2007) se domnívá, že kočky hrají jen malou roli v udržování měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v endemických oblastech, protože ve všech hlášených případech byly nalezené tasemnice v nezralé formě. I přesto bylo v poslední době v Japonsku prokázáno, že kočka vylučovala vajíčka, která byla pomocí metody PCR potvrzena jako vajíčka měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Tento nález je podobný i nálezům v Evropě a naznačuje, že kočky mohou být potenciálním zdrojem infekčních vajíček. Hegglin and Deplazes (2013) navíc píše, že význam koček v rozšiřování infekce je malý i vzhledem k tomu, že vylučovaná vajíčka nejsou infekční pro hlodavce. Z toho vyplývá, že i přes vysoké populace domácích koček je jejich příspěvek v kontaminaci životního prostředí vajíčky měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) pouze okrajový.

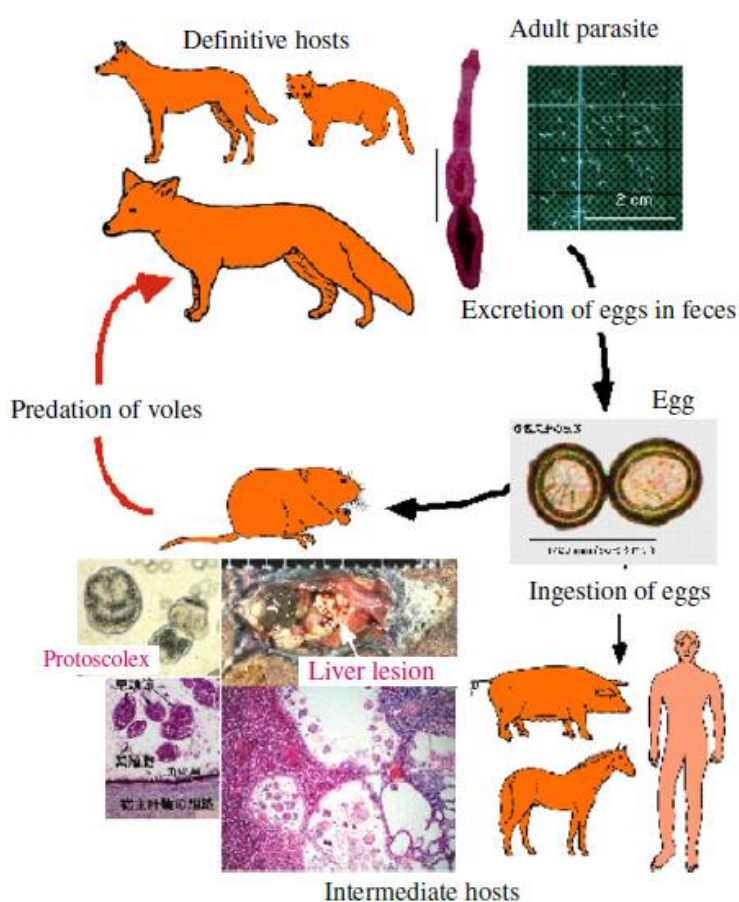
Volně žijící hlodavci patří mezi běžné mezihostitele. Prasata, koně a primáti se mohou stát mezihostiteli náhodnými (Kamiya et al., 2007).

3.2.2 Vývojový cyklus měchožila bublinatého

Pavlásek (2011) uvádí, že v definitivním hostiteli tasemnice pohlavně dospívá. Společně s trusem infikovaných zvířat jsou do prostředí vylučována vajíčka, která jsou velmi odolná vůči nejrůznějším vlivům vnějšího prostředí a představují zdroj pro nakažení mezihostitelů. V mírném podnebním pásmu je to především hraboš polní (*Microtus arvalis*) a další vnímavé druhy volně žijících hlodavců.

Podle Lenské a Svobodové (2003) se jím příležitostně může stát i člověk, který se nakazí náhodně například lesními plody kontaminovanými vajíčky, vodou, přímým kontaktem s nakaženým zvířetem apod. Potenciální zdroj onemocnění představují především psi a kočky, kteří mají možnost lovit hlodavce a pohybují se v oblastech, kde probíhá životní cyklus měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) a kteří žijí v těsném kontaktu s člověkem. I přes vysoké hodnoty prevalence tasemnicemi u masožravců, které jsou zjišťovány v některých hyperendemických oblastech Evropy, zůstávají však doposud hodnoty incidence nákazy člověka na nízké úrovni. Bylo zjištěno, že i při konzumaci lesních plodů, které jsou kontaminované vajíčky tohoto parazita, nemusí vždy dojít k rozvoji onemocnění. Zdá se, že primární faktor umožňující rozvoj onemocnění je imunitní stav daného jedince.

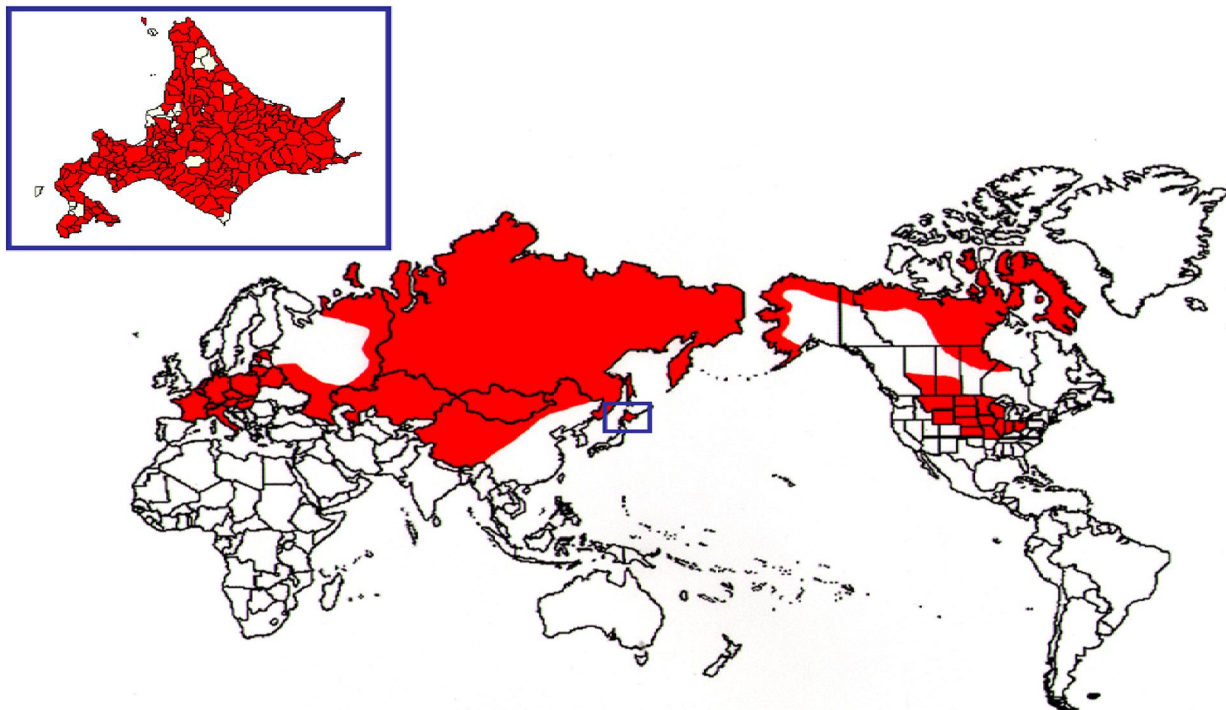
V meziphostiteli probíhá larvální nepohlavní fáze vývoje s tvorbou mnohováčekových měchýřků nebo cyst lokalizovaných většinou v játrech, plicích, mozku, ale i dalších orgánech a tkáních. Toto larvální stadium způsobuje život ohrožující onemocnění člověka označující se jako alveolární echinokokóza. K vývoji dospělých tasemnic měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) dochází v tenkém střevě konečných hostitelů, jejichž kořistí jsou hlodavci obsahující larvální stádia parazita společně s živými protoskolexy, které představují zárodky budoucí tasemnice (Pavlásek, 2011). Schéma vývojového cyklu této tasemnice můžeme vidět na obrázku č. 4.



Obrázek 4 Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) a jeho vývojový cyklus (Kamiya et al., 2007).

3.2.3 Prevalence a rozšíření měchožila bublinatého

Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) je zoonotická tasemnice parazitující u zvířat, která se běžně nachází na severní polokouli (obr. 5).



Obrázek 5. Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) a jeho výskyt (Kamiya, 2007).

Epidemiologické a ekologické studie prokázaly, že příměstské oblasti poskytují vhodné podmínky pro vysokou hustotu populace citlivých organismů (lišek) a mezipostitelů (hrabošů). V důsledku toho mohou být tyto oblasti velmi kontaminovány vajíčky měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) a jsou předmětem zvláštního zájmu pro efektivní snížení kontaminace prostředí vajíčky. Výskyt parazita výrazně snižuje nízká hustota populace mezipostitele nebo rozsáhlé utracení lišek, což je ovšem mnohem méně proveditelná strategie, než jsou anthelmintické návnady pro lišky (Hegglin and Deplazes, 2008). Po skončení epidemie vztekliny, která se přehnala přes celý kontinent Evropy v roce 1970 – 1980 se liščí populace neustále zvyšují, přinejmenším až do konce roku 1990 (Breitenmoser et al, 2000).

Většina průzkumů prováděných v rámci japonského města Sapporo zaregistrovala přítomnost *Echinococcus* u lišek vyskytujících se v parcích, v lesích a v městských oblastech s přilehlými rekreačními parky (Tsukada et al., 2000). Tento jev byl dokumentován i v dalších endemických oblastech, ve kterých roste počet nakažených lišek. Například v Evropě míra prevalence u lišek vzrostla v mnoha dominujících zemědělských oblastech ve Francii,

Nizozemsku, Německu, Rakousku, na Slovensku a v Polsku. Nicméně životní cyklus měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) byl zjištěn i v městských oblastech, kde je vysoká populační hustota obyvatel, která představuje zvýšené riziko infekce (Romig et al., 2006). Navíc může dojít důsledkem vniknutí infikovaných lišek do městských oblastí a nakažením domácích psů k epidemii v těchto endemických oblastech a k rozptýlení infekce do okolních neendemických oblastí (Kamiya, 2007). Gottstein et al. (2001) se domnívají, že v neposlední řadě hraje v prevalenci infekce u lišek významnou roli i míra nakažení potenciálních mezipřenositelů.

3.2.3.1 Rozšíření a prevalence v České republice

První pozitivní nález této tasemnice v České republice byl zjištěn v září roku 1995 u lišky pocházející z Prachaticka. Od té doby se za 15 let vyšetřilo více než 10 000 lišek z některých krajů našeho území. Díky tomu máme dostatečné množství objektivních údajů týkajících se rozšíření tohoto parazita mezi liškami v jednotlivých krajích ČR (Pavlásek, 2011).

Podle Pavláška (2011) nejvíce pozitivních nálezů (přes 40 %) bylo hlášeno z oblastí jižních, západních a severních Čech. V některých měsících roku byla na Českokrumlovsku frekvence výskytu dokonce 100 %. Tyto zjištěné hodnoty byly podobné hodnotám, které uváděla literatura pro oblasti s tradičním výskytem např. v Rakousku, Francii, Švýcarsku, Německu, ale i na Sibiři, Aljašce, v Číně a v Japonsku. V ostatních vyšetřovaných oblastech činily nálezy až 20 %.

Ve studii Lenská a Svobodová (2003) byl *Echinococcus* spp. detekován u 15 psů (tj. 8,1 %). Celkem bylo vyšetřeno 186 jedinců. Nejvíce pozitivních vzorků bylo z oblasti Jindřichova Hradce (25 %), naopak v Dolní Bělé a Šumperku byly všichni psi negativní. Pavlásek (1998) uvádí, že od roku 1994 do roku 1998 bylo vyšetřeno 1528 lišek z pěti krajů (Severočeský, Západočeský, Středočeský, Jihočeský a Jihomoravský) a ve všech byl detekován měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) s průměrnou prevalencí od 2,5 do 12,5 %.

3.2.3.2 Rozšíření a prevalence na Slovensku

Na Slovensku byla v letech 2005 a 2006 míra prevalence u lišek až 37 % a od roku 2002 bylo zaznamenáno 6 případů alveolární echinokokózy u lidí. Dva z těchto šesti případů byly diagnostikovány v prešovském regionu, ve kterém se prokázalo i první nakažení mezihostitele (Antolová et al., 2006).

3.2.3.3 Rozšíření a prevalence ve Švýcarsku

Zvyšování hustoty populace lišek bylo zaznamenáno i ve Švýcarsku, kde celkový růst liščí populace byl následovaný nárůstem lidských případů alveolární echinokokózy s latencí 10 – 15 let. Toto zpoždění je s největší pravděpodobností způsobeno dlouhým asymptomatickým obdobím tohoto lidského onemocnění (Schweiger et al., 2007). Na území Švýcarska se prevalence u mezihostitele hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) během let 1997 – 2000 pohybovala od 9 do 21 % (Hegglin and Deplazes, 2008). V roce 2006 byla prevalence u lišek v oblasti Annemasse 13,3 % a v oblasti Pontarlier 10,9 %. Prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek byla významně vyšší po obvodu města než ve více centrálních oblastech (Hegglin et al., 2003).

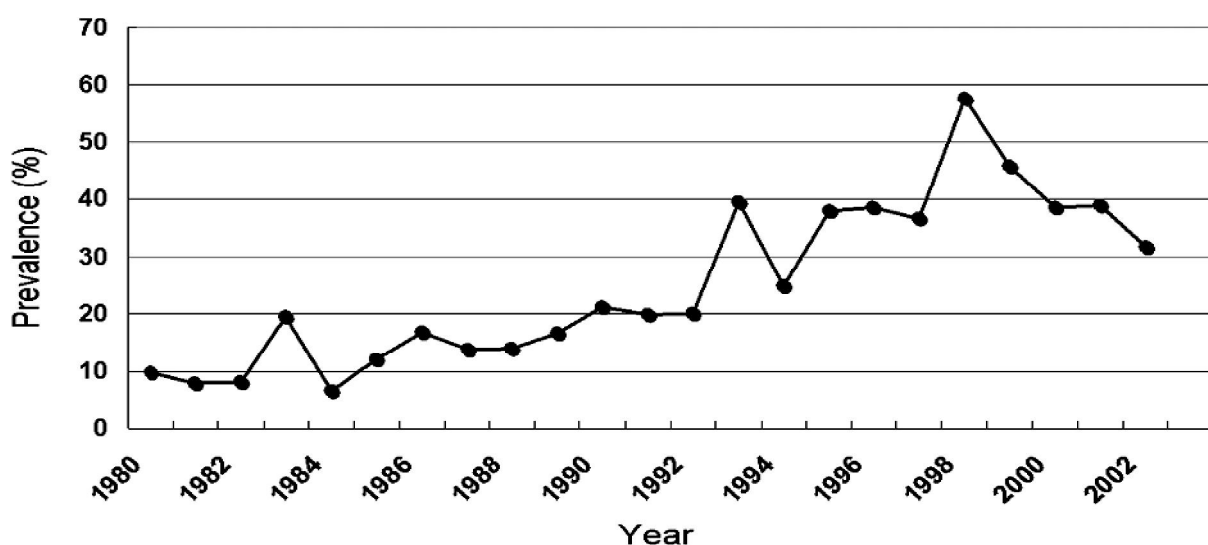
3.2.3.4 Rozšíření a prevalence ve Francii

V letech 1984 – 1987 a 2006 – 2012 se prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v liščích populacích v endemických oblastech východní Francie dramaticky zvýšila, což je trend, který byl podobně zaznamenán i v Německu a Rakousku (Berke et al., 2008). Studie ve Francii a ve Švýcarsku zaznamenaly přechod z nízké prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek v městských oblastech na vysokou prevalenci v okolních venkovských oblastech (Fischer et al., 2005; Hegglin et al., 2007).

3.2.3.5 Rozšíření a prevalence v Japonsku

V Japonsku je výskyt měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) omezen na severní ostrov Hokkaido, i když sporadické případy lidských infekcí byly hlášeny i na ostatním území. V současné době je tento parazit hlášen po celém ostrově Hokkaido (Doi

et al., 2003). Podle Kamiya (2007) se míra prevalence na ostrově Hokkaido u volně žijících lišek v posledních několika desetiletích dramaticky zvýšila. Zatímco v roce 1985 bylo napadeno méně než 10 % populace lišek, v roce 1998 toto číslo vzrostlo už na 58,4 % a v posledních letech se i nadále zvyšovalo (obr. 6). Vysoká míra prevalence je úzce spojena se stále rostoucími populacemi lišek. Inoue et al. (2007) píše, že na ostrově Hokkaido bylo v letech 1937 – 2005 diagnostikováno 500 případů lidské alveolární echinokokózy. Od roku 1995 do roku 2005 bylo každý rok hlášeno průměrně 15,5 případů ročně.



Obrázek 6. Prevalence infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u divokých lišek na ostrově Hokkaido mezi lety 1980 a 2002 (Kamiya, 2007).

3.3 Léčba pomocí návnad

Pravděpodobně inspirované úspěšnou očkovací kampaní proti viru vztekliny pomocí perorálních návnad u lišek byly zahájeny průkopnické práce profesorem Wernerem Frankem v univerzitě Hohenheim v německém Stuttgartu (Hegglin and Deplazes, 2013). Cílem bylo prozkoumat proveditelnost odčervování u lišek pomocí návnad obsahující praziquantel. Hned z několika důvodů je možné předvídat, že cyklus měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) je proti takovému zásahu mnohem odolnější než virus vztekliny. Jedním z nich je, že očkované lišky mají celoživotní ochranu před infekcí virem vztekliny, naproti tomu odčervené lišky mohou být re-infikovány několik dní po ukončení léčby. Kromě toho metacestodní stádia u mezihostitele a infekční vajíčka v životním prostředí nejsou léčbou

ovlivněny a mohou zde přežívat od několika měsíců až po více než 1 rok. Všechny tyto faktory přispívají k složitosti kontroly nad životním cyklem měchožila bublinatého (Hegglin and Deplazes, 2013).

Výběr a provedení návnad je různé v každé zemi a odpovídá aktuální nálezové situaci. Nejvíce používaná účinná látka, která je součástí téměř všech návnad, je praziquantel. Praziquantel je vysoce účinný lék proti dospělým tasemnicím (Hegglin et al., 2003).



Obrázek 7 Výroba návnad s využitím místních zdrojů, jako je výroba z rybího odpadu. Návnady jsou obohaceny o praziquantel (Kamiya, 2007).

Celkově lze říci, že distribuce návnad obsahující praziquantel může snížit zamoření prostředí vajíčky měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), což jasně dokazuje hned několik studií. První terénní experiment v jihozápadním Německu prokázal proveditelnost této metody v roce 1980 tím, že docílil poklesu prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek z průměrných 32 % (16 % – 52 %) na průměrný 4 % (2 % – 7 %) po šesti návnadových kampaních do 14 měsíců. Mezitím několik studií z Německa, Švýcarska, Francie, Japonska a Slovenské republiky potvrdilo proveditelnost této kontrolní strategie. Slibné výsledky byly získány s velmi odlišných prostředí, s upraveným nastavením s ohledem na velikost ošetřované plochy (rozsah 1 – 5 000 km²) a s různou hustotou a frekvencí distribuce návnad. Většina studií na konci léčebného období prokázala 4x až 35x nižší frekvenci parazita, než před nebo na počátku těchto kampaní. Kromě toho jedna studie ukázala, že prevalence parazitů u mezipřehoditelů hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) se ve druhém roce podávání návnad rovněž snížila, čímž dosáhla nižšího zamoření životního prostředí vajíčky echinokoka a nižší re-infekci u konečných hostitelů. Na druhé straně některé studie také prokázaly, že tato strategie není účinná nebo je účinná jen velmi okrajově, s nízkou frekvencí návnad, s vysokou migrací

vnímavých mezipřenositelů a s vysokou hustotou ostatních druhů zvířat, které mohou návnady zlikvidovat (Hegglin and Deplazes, 2013).

Hegglin and Deplazes (2013) se domnívají, že aby léčba pomocí návnad bylo přínosem, musí probíhat dlouhou dobu (až několik desítek let), protože nemá smysl tyto kampaně provádět, pokud nelze zaručit dlouhodobé a intenzivní programy. Dále je také nutné pečlivě vyhodnotit, zda bude tato strategie nákladově efektivní. V počáteční fázi je potřeba, aby intervaly mezi distribucí návnad nebyly delší než jeden měsíc, který odpovídá prepatentní periodě měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek. Později, když je frekvence výskytu parazita na nižší úrovni, je možné i snížení frekvence podávání návnad. Toto tvrzení podporují i výsledky rozsáhlé studie v Německu (Romig et al., 2007), ve které udržely prevalenci na nízké úrovni i tříměsíční intervaly distribuce návnad. Podle Hegglin and Deplazes (2013) pokud chceme snížit náklady na tuto léčbu, tak musí dojít k odčervení zejména v období, kdy je hlavní doba přenosu parazita. Studie ve Francii (Delattre et al., 1988) a ve Švýcarsku (Burlet et al., 2011) ukázaly, že hraboši jsou nakaženi hlavně v zimním období. Tyto výsledky ukazují, že je obzvláště důležité odčervení těsně před a během zimy. Dále podle Hegglin and Deplazes (2013) je klíčovým parametrem pro úspěch a nákladovou efektivnost jakékoliv kampaně s návnadami, aby byly v ideálním případě všechny tyto rozmístěné návnady pozřené liškami.

Pro diagnostiku měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u definitivních hostitelů existuje několik metod. Tradiční a nejjednodušší způsob je flotace, která umožňuje detekci vajíček čeledi Taeniidae ve výkalech definitivního mezipřenositele. Fekálním vyšetřením je však obtížné rozlišit rod vajíček parazita, protože morfologie vajíček Taeniidae je téměř k nerozeznání od vajíček měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Navíc bylo prokázáno, že může docházet i k přerušovanému vylučování vajíček.

Parazitologické vyšetření tenkého střeva po pitvě je považováno za nejspolehlivější způsob, jak diagnostikovat tohoto cizopasníka v definitivním hostiteli. Ale i zde existuje několik způsobů prohlídnutí střev.

3.3.1 Sedimentační a odpočítávací metoda (SCT)

Sedimentační a odpočítávací technika (sedimentation and counting technique - SCT) se používá pro přesné určení červové zátěže organismu po pitvě. SCT má vysokou citlivost a specifčnost (u obou až 100 %) a může být považována za "zlatý standard" (Eckert, 2003).

Je to časově velmi náročná technologie, protože se musí prozkoumat veškerý obsah střev a distribuce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) se analyzuje na pěti segmentech střeva (Umhang et al., 2011). Ve studii Karamon et al. (2010) byly vzorky tenkého střeva záměrně obohaceny o známý počet tasemnic měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Dohromady 40 vzorků, které obsahovaly 2, 5, 10 a 30 jedinců této tasemnice (10 vzorků od každé úrovně), byly podrobeny analýze pomocí metody SCT. Výsledky detekce jsou znázorněny v následující tabulce (Tab. 1).

Počet jedinců ve vzorku (ks)	Úspěšnost detekce (%)
2	30
5	40
10	60
30	100

Tabulka 1 Úspěšnost detekce měchožila bublinatého pomocí metody SCT.

Na základě těchto výsledků byla mez detekce odhadnuta na 10 jedinců (60 % úspěšnost) v analyzovaném vzorku. Toto omezení u metody SCT je potřeba vzít v úvahu při zjišťování výskytu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u jednotlivých masožravců (Karamon et al., 2010). V místech, kde je endemismus tohoto parazita nízký nebo neznámý, doporučuje Umhang et al. (2011) používat pro vyšetření střev lišek metodu dělené sedimentace a odpočítávání (SSCT). Tato technika spočívá v tom, že z pěti segmentů střeva se vyšetří pouze čtvrtý segment společně s prvním nebo druhým segmentem. To ušetří mnoho času a navíc výsledky studie Umhang et al. (2011) ukazují i při tomto postupu vysokou citlivost (98,3 %) a vysokou specifitu (téměř 100 %).

3.3.2 Střevní seškrabovací metoda (IST)

Citlivost střevní seškrabovací metody (intestinal scraping technice – IST), při které se tenké střevo rozdělí na tři části (přední, střední a zadní) je v posledních několika letech zpochybňována. Používá se několik variací IST, které se mohou lišit různým provedením. Navíc bylo hlášeno podcenění skutečného výskytu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) přibližně o 20 % nebo dokonce i více (Tackmann et al., 2006). Princip spočívá ve stereomikroskopickém vyšetření nejméně 15 vzorků se střevním nátěrem. Citlivost této

metody je 78 % (Eckert, 2003). Podle Tackmann et al. (2006) je specifita téměř 100 %, protože ve střevech lišek se nenachází žádná jiná stavba, která by mohla být zaměněna s měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*). Při experimentu Tackmann et al. (2006) byly výsledky analýzy jednotlivých segmentů zaznamenány odděleně, díky čemuž se potvrdilo, že měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) se vyskytuje převážně v zadní třetině tenkého střeva. Pro epidemiologické účely může tedy být možné omezit rutinní vyšetřování na zadní část tenkého střeva. Naopak při snížení počtu vyšetřených vzorků na nemocné zvíře může vést ke značné ztrátě citlivosti především u jedinců s nízkou intenzitou infekce.

Další metodou, která byla použita pro diagnostiku parazitární infekce, je detekce vylučovaných sekretů dospělou tasemnicí ve střevě hostitelů pomocí imunologické metody. Tyto antigeny nejsou přímo spojeny s reprodukcí parazita, a tudíž by měly být přítomny i v případě, že reprodukční materiál (jako vajíčka) se po úspěšné léčbě ve výkalech již nevyskytuje. Výrazně lepších diagnostických výsledků dosáhneme při koproantigenní detekci pomocí ELISA testu. Test v podstatě používá monoklonální protilátky (EmA9) specifické pro dospělé měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), které detekují parazita ve výkalech konečných hostitelů. Velká výhoda ELISA testu je v tom, že nám umožňuje zkoumat velké množství vzorků ve srovnání s časově a pracovně náročnou pitvou (Kamiya et al., 2007). Tato metoda vykazuje poměrně velkou citlivost, která se pohybuje mezi 84 a 95 %. Stejně tak i specifita této reakce je velmi vysoká a dosahuje minimálně 96 %. Nicméně i za přítomnosti měchožila bublinatého (*Echinococcus granulosus*) můžeme občas dostat pozitivní reakci (Eckert, 2003).

Zavedení Copro-DNA PCR testů zlepšilo citlivost pro diagnózu echinokokózy v definitivních hostitelích. Bohužel je tato technika nákladově a časově velmi náročná a může být problematické ji použít v některých laboratořích hned z několika důvodů. Jedním z nich je například nedostatek zařízení (Kamiya et al., 2007). Citlivost se pohybuje mezi 89 a 94 % a specifita téměř 100 %. S IST, CTS a Copro-DNA PCR může jedna osoba prozkoumat jen 10 – 20 zvířat za den, zatímco ELISA test umožňuje zkoumání 200 vzorků denně. ELISA test a Copro-DNA PCR test umožňují zkoumání materiálů z mrtvých a živých zvířat včetně vzorků výkalů odebraných v terénu (Eckert, 2003).

Bylo navrženo, aby koproantigenní ELISA test byl použit jako primární screeningový test a jako sekundární PCR test (Kamiya et al., 2007). V důsledku velké poptávky po rychlé a přesné diagnóze Kamiya et al. (2007) navrhnul domácí testy, které by měli zvýšit rychlost

při diagnóze infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Jedním z nich byl vývoj rychlé ELISA soupravy pro detekci tohoto parazita z výkalů. Tato sada byla navržena tak, aby se dala provádět v laboratořích, které postrádají propracovanější přístroje, jako jsou ELISA podložky a další potřebné nástroje pro přípravu činidel. Další byl rychlý vizuální test pro kvalitativní detekci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) z výkalů. Tato imunochromatografická metoda slouží jako snadná a rychlá individuální diagnóza při podezření na echinokokózu u infikovaných hostitelů. S povinností veterinárních lékařů, kteří musejí hlásit každý případ infekce echinokokózy u psů zdravotnickým orgánům, je rychlá metoda velice důležitá pro orientační diagnózu. Potvrzení může být provedeno za použití standardních testů.

3.3.3 Používání návnad v Japonsku

Na japonském ostrově Hokkaido se mělo dosáhnout cíle tím, že se nejprve vyhledají liščí nory a pak se nashromáždí liščí výkaly z okolí doupat, které se koproantigenně vyšetří na přítomnost vajíček měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Následující rok se rozmístí návnady obohacené o anthelmintika. Návnady se skládají z komerčních rybích klobás (1,5 cm dlouhých) s přidanou 25 mg praziquantelovou tabletou (Droncit; Bayer, Německo). Tyto návnady byly ručně rozmístěny kolem liščích doupat s měsíčními intervaly (Tsukada et al., 2002). Bylo zjištěno, že došlo k poklesu vajíček čeledi Taeniidae a míry infekce u lišek a tento supresivní účinek byl pozorován i v následujících letech i přes snížení počtu distribuce návnad. Výsledky odhalily, že počty koproantigenně pozitivních lišek z oblastí, kde byly rozmístěny návnady, byly významně sníženy ve srovnání s liškami v oblasti bez návnad. Studie dále zjistila, že u hrabošů narozených po distribuci návnad byl významně nižší výskyt infekce než u jejich starších předků (Kamiya et al., 2007).

V další studii probíhající v dubnu 2001 byly návnady rozmístěny podél cest, na křižovatkách a po okrajích lesů. Návnady rozmístěvali místní obyvatelé za pomoci automobilů, které jim zabezpečily rychlejší mobilitu. Vyrobené byly z rybích odpadů a obsahovaly 50 mg praziquantelu na jednu návnadu (Kamiya, 2007).

V roce 2006 ve městě Kutchan bylo místními obyvateli rozmístěno 1500 kusů návnad s měsíčními intervaly. Distribuovány byly pomocí map geografického informačního systému (GIS), na kterém byly identifikovány stanoviště volně žijících lišek. To se podle výsledků studie ukázalo jako velmi efektivní (Kamiya, 2007).

Distribuce návnady místními obyvateli podél cest, na křižovatkách, mezi silnicemi a podél lesů se ukázalo jako účinná metoda při potlačování míry infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u volně žijících lišek. Tato metoda byla ekonomická, protože pracovní síla byla poskytována místními dobrovolníky (Kamiya et al., 2007).

3.3.4 Používání návnad v Německu

V Německu nebyl proveden žádný pokus o odčervení volně žijících lišek až do roku 1990. Kromě toho zde nebyl ještě žádný účinný postup řízení populace divokých hrabošů. Podmínky v Hokkaido, pokud jde o vegetaci, množství sněžení, druhy hrabošů a jejich stanoviště, byly odlišné od těch v Německu. Rozdíl v životním cyklu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v Evropě a Japonsku určují hlavně mezihostitelé, kteří se zapojují do tohoto cyklu. Navíc se ukázaly rozdíly v potravním chování lišek v těchto dvou oblastech. První úspěšné snížení prevalence této tasemnice u lišek (z 32 % na 4 %) byl zaznamenán v jižním Německu. Návnady byly ve tvaru pelet a obsahovaly praziquantel. Rozděleny byly do endemické oblasti šestkrát během 14 měsíců. Bylo zjištěno, že silnější účinek byl pozorován v hlavní oblasti než v oblasti pohraniční. Imigrace mladých infikovaných lišek způsobilo hraniční účinek (Kamiya et al., 2007).

Rozsahově větší kampaně využívají malá letadla pro distribuci praziquantelových návnad (Tackmann et al., 2001). Snížená prevalence byla udržována na minimální výši 15 % po dobu 1,5 let a návnady byly rozmístovány s tříměsíčním intervalem. Studie Tackmann et al., (2001) značně snížilo prevalenci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek, avšak odstranit parazita z tohoto regionu se nepodařilo. Po kontrolované studii v severním Německu se prevalence nečekaně a rychle zotavila a po 15 měsících po ukončení léčby dosáhla úrovně před kontrolou (Hansen et al., 2003).

3.3.5 Používání návnad ve Švýcarsku

V letech 1999 a 2007 byla provedena studie, která navazovala na experimentální polní studie provedené v aglomeraci Curychu. Studované oblasti byly vybrány podél obvodu města. Podávání návnad bylo strukturováno ve 2 fázích: duben 2000 až říjen 2001 a listopad 2001 až prosinec 2003. V rámci těchto 2 období bylo použito celkem pět různých léčebných

schémat: 1) v průběhu celého studia nebyly rozmístěny žádné návnady; 2) během první fáze byly návnady rozmístovány s měsíčními intervaly a během druhé fáze s tříměsíčními; 3) v první fázi žádné návnady a v druhé fázi byly tříměsíční intervaly; 4) měsíční intervaly distribuce návnad při první fázi a během druhé fáze nebyly žádné návnady; 5) distribuce návnad s měsíčními intervaly během první i druhé fáze (Hegglin and Deplazes, 2008).

Použity byly komerční liščí návnady, které obsahovaly 50 mg anthelmintika praziquantelu. Hustota návnad byla 50 kusů/km² a byly rozmístěny manuálně v místech s největší pravděpodobností výskytu lišek. Aby se zabránilo kontaminaci lidským pachem, tak se s návnadami zacházelo vždy pouze s gumovými rukavicemi. Návnady byly pokryty okolním materiálem, aby byly na exponovaných místech chráněny před sluncem (Hegglin et al., 2003).

Účinnost anthelmintik se stanovovala koproantigenně pomocí ELISA testu z liščího trusu. Vzorky byly odebírány alespoň jedenkrát za měsíc z každé oblasti a to jak před počáteční fází podání návnad, tak i v jejím průběhu (Hegglin and Deplazes, 2008). K rozlišení trusu lišek od trusu jiných zvířat bylo použito několik kritérií, jako je velikost, tvar, homogenita a pach trusu. U každého z 1537 odebraných vzorků stolice se zaznamenala přesná poloha místa sběru s přesností 20 metrů (Hegglin et al., 2003).

Z výsledků studie Hegglin and Deplazes (2008) je zřejmé, že nejefektivnější strategie pro snížení prevalence tasemnic měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) je distribuce návnad s měsíčními intervaly.

Ve studii Hegglin et al. (2003) se zkoumal i účinek anthelmintické léčby na prevalenci tasemnic u meziphostitele hryzce vodního (*Arvicola terrestris*), kteří byli chyceni do návnadových pastí. Všichni chycení hlodavci, kterých bylo celkem 1229, byli důkladně makroskopicky vyšetřeni na přítomnost lézí v játrech a dalších orgánech. Léze větší než 2 mm v průměru byly zkoumány na metacestody *Echinococcus multilocularis* tím, že se zkoumaly morfologické znaky nebo pomocí detekce DNA metodou PCR. Z výsledků je zřejmé, že během anthelmintické léčby zaměřené převážně na lišky došlo k poklesu prevalence této tasemnice i u významného meziphostele, jakým je hryzec vodní (*Arvicola terrestris*).

3.3.6 Používání návnad na Slovensku

Studie Antolová et al. (2006) byla provedena v oblasti prešovského kraje, ve kterém je druhá nejvyšší prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek

ve Slovenské republice. V oblastech s vysokou hustotou populace lišek byly vybrány dvě oblasti (B1 a B2), do kterých se rozmístí návnady a dvě kontrolní lokality (C1 a C2), které slouží k porovnání výsledků. Každá tato plocha měla rozlohu 2 km² a nacházely se po obvodu vesnic. Všechny lokality mají podobné charakteristiky. Kontrolní oblasti byly odděleny od těch s návnadami nejméně 10 km, aby se minimalizovala možnost migrace lišek mezi těmito lokalitami. Průměrná nadmořská výška vybraných oblastí se pohybovala mezi 375 a 439 m. n. m. Podle Miterpákové et al. (2003) je nejvíce infikovaných lišek touto tasemnicí žijících v 200 – 400 m. n. m.

Základ návnad tvořilo rybí maso, do kterého byla zabudována 1 tableta Bihelminth (Riemser Tierarzneimittel, Německo) obsahující 50 mg praziquantelu a 500 mg fenbendazolu. Bihelminth tablety se užívají v dávce 1 tableta na 10 kg tělesné hmotnosti a výrobce deklaruje účinnost proti škrkavce psí (*Toxocara canis*), škrkavce šelmí (*Toxascaris leonina*), měchovci psímu (*Uncinaria stenocephala*), tenkohlavci liščímu (*Trichuris výpis*), měchožilu zhoubnému (*Echinococcus granulosus*), měchožilu bublinatému (*Echinococcus multilocularis*), tasemnici psí (*Dipylidium caninum*), *Taenia* spp. a *Mesocestoides* spp. (Antolová et al., 2006).

Ve studii Antolová et al. (2006) byly v průběhu 9 měsíců mezi srpnem 2004 a dubnem 2005 rozmístěny návnady s měsíční frekvencí a s hustotou 20 kusů/km². Návnady byly manuálně distribuovány v místech, kde se s největší pravděpodobností hojně vyskytují lišky. Mezi tyto místa patří například okolí liščích doupat nebo místa, kde byly viděny lišky nebo jejich stopy. Návnady byly distribuovány za použití gumových rukavic, aby se zabránilo pachové kontaminaci a byly umístěny pod keře nebo trávu kvůli ochraně před sluncem. Ve všech oblastech, které byly součástí experimentu, byly odebírány vzorky trusu lišek a to každý měsíc v období mezi srpnem 2004 a srpnem 2005. Pro odlišení liščích výkalů od jiných bylo použito několik kritérií, jako je velikost, tvar, homogenita a pach. Vzorky byly skladovány při - 70 ° C alespoň po dobu 7 dnů, aby se minimalizovalo riziko infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*).

Z 886 liščích vzorků trusu bylo koproantigenně 329 pozitivních na *Echinococcus* spp. Tyto pozitivní vzorky byly vyšetřeny na detekci DNA měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) metodou PCR. Výsledky ukazují, že prevalence v lokalitě B1 s návnadami se snížila během prvních dvou měsíců po podání návnad. Následující měsíc, kterým byl prosinec, se prevalence opět zvýšila, ale následně byl zaznamenán další pokles prevalence s minimem v květnu. V ostatních vyšetřovaných lokalitách byly změny ve výskytu

echinokokózy bezvýznamné, a to i v oblasti B2, kde byly taktéž rozmístěny návnady. To je pravděpodobně důsledkem toho, že návnady zlikvidovala divoká prasata, jejichž populace je v této oblasti velmi vysoká (Antolová et al., 2006).

3.3.7 Používání návnad ve Francii

Comtea et al. (2013) uvádějí, že od srpna 2006 do března 2009 bylo uskutečněno 14 návnadových kampaní s použitím anthelmintika praziquantel v městech Annemasse a Pontarlier ve východní Francii. Každá oblast měla rozlohu 33 km² s hustotou 40 návnad na km². Spotřeba návnad byla nižší v městské oblasti (78,9 %) ve srovnání s příměstskými oblastmi (93,4 %) a v Annemasse byla nižší než v Pontarlier (82,2 % a 89,5 %). Ve studii Comtea et al. (2013) byla prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) nižší v oblasti s návnadami, než ve venkovské kontrolní oblasti, kde žádné návnady s anthelmintiky distribuovány nebyly. Prevalence byla hodnocena z trusu lišek pomocí ELISA testu. Srovnání léčby před a během návnadové kampaně odhalilo významné snížení výskytu na jaře z 13,3 % na 2,2 %, ale žádná podstatná změna nebyla zjištěna ve výskytu v oblasti Pontarlier, kde byla stabilní prevalence 9,1 %. Zde byla větší odolnost životního cyklu parazita pravděpodobně z důvodu velké opětovné kontaminace z území mimo ošetřované oblasti, což může mít vliv na léčbu (Comtea et al., 2013).

3.4 Tetracyklin v návnadách s anthelmintiky

Velký problém v podávání návnad s anthelmintiky spočívá v tom, že si nemůžeme být stoprocentně jisti, kolik návnad skutečně pozřelo zvíře, na které jsme cílili. Proto se vymyslelo několik způsobů, díky kterým můžeme mít alespoň nějakou kontrolu. Ve studii Comtea et al. (2013) byly například použity fotopasti. Díky nim se zjistilo, že ze 114 pořízených fotografií bylo 75 (65,8 %) vyvoláno buďto lidmi, větrem rozpothybovanou vegetací nebo poruchou, zatímco na 39 (34,2 %) snímcích byla v blízkosti návnad prokázána přítomnost zvířat. Celkem bylo pozorováno 7 druhů zvířat, jak znázorňuje tabulka č. 2.

Druh zvířete	Počet přímo konzumujících návnadu (ks)	Počet procházejících kolem návnady (ks)
Lišky	4	6
Kuny	4	1
Psi	1	6
Ježci	1	1
Kočky	0	7
Jezevci	0	6
Srnec obecný	0	2

Tabulka 2 Výsledky z fotopastí (Comtea et al., 2013).

Lišky se tedy staly nejvíce fotografovanými druhy (25,6 % snímků) a společně s kunami byly hlavní konzumenti návnad, kde každý zodpovídá za 40 % jejich spotřeby (Comtea et al., 2013). Ve studii Hegglin et al. (2004) provedené v Curychu byly lišky zodpovědné dokonce za 48 % spotřeby návnad.

Navíc bylo zjištěno, že i některé druhy bezobratlých měly vliv na úbytek návnad. Pouze třída plžů (*Gastropoda*), zastoupená slimáky a hlemýždi, byla zodpovědná za poměrně velké ztráty na hmotnosti u 13 návnad z 320 během dvouměsíční návnadové kampaně (Comtea et al., 2013).

Ve studii Takahashia et al. (2013) se kontrolovala pouze přítomnost návnad 3 dny po její distribuci. Zjištěné výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Datum (měsíc, rok)	Počet zmizelých návnad (ks)	Počet rozmístěných návnad (ks)	Procentuální podíl počtu zmizelých a počtu rozmístěných návnad (%)
Listopad, 1999	24	133	18
Květen, 2000	40	139	28,8
Červenec, 2000	60	139	43,2
Listopad, 2000	79	139	56,8
Říjen, 2001	70	125	56
Listopad, 2001	72	125	57,6
Leden, 2002	26	93	28
Květen, 2002	56	125	44,8
Říjen, 2002	57	121	47,1
Listopad, 2002	68	125	54,4

Tabulka 3 Přehled zmizelých návnad 3 dny po distribuci (Takahashia et al., 2013).

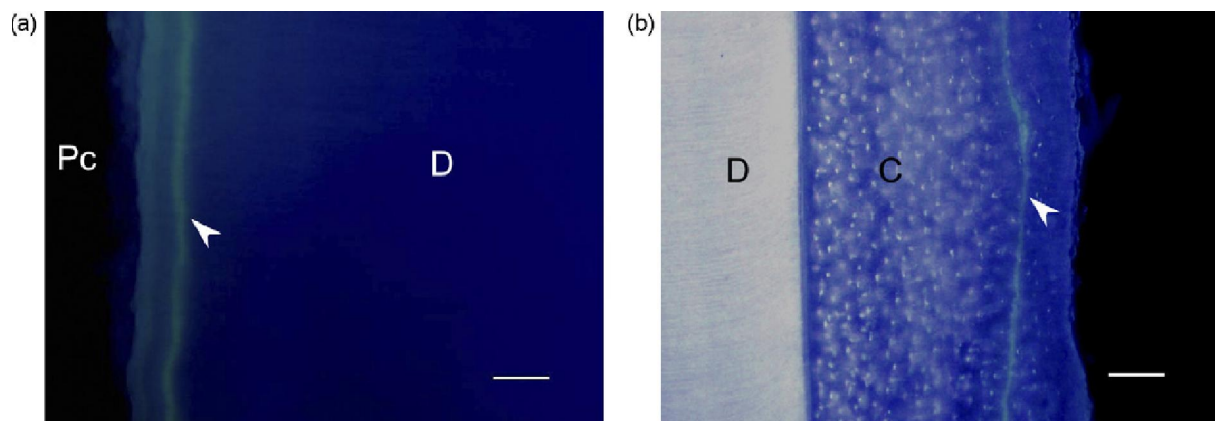
Ve studii Inoue et al. (2007) obsahovaly návnady spolu s praziquantelem i biomarker tetracyklin, díky kterému můžeme od sebe rozeznat lišky, které návnadu požřeli od ostatních. Tímto způsobem byl hodnocen individuální účinek každé pozřené návnady. I když bylo přijetí návnad liškami sledováno zmizením návnad nebo pomocí fotopastí, tak do roku 2007 nebyl nikdy zkoumán vztah mezi spotřebou návnady a parazitární infekcí u jednotlivých zvířat.

Podle Inoue et al. (2007) je tetracyklin široce používaným biomarkrem pro sledování spotřeby návnad zejména při vakcinaci šelem proti vzteklině v Evropě a Severní Americe. Milch et al. (1957) uvádí, že tetracyklin se po konzumaci začlení do kalciových tkání savců a jeho ložiska jsou pozorovány jako fluorescenční linky na zubech a kostech při ultrafialovém světle. Proto lze spotřebu návnad a parazitární infekci u jednotlivých lišek zkontrolovat po pitvě pomocí návnad obsahujících tetracyklin.

Studie Inoue et al. (2007) byla provedena ve velmi nákazové oblasti na předměstí Otaru, který se nachází v západní části ostrova Hokkaido v Japonsku. V Otaru je přístavní město obklopeno mořem a zalesněnými kopci s populací 140 000 obyvatel. Krajinný ráz studované oblasti určují převážně lesy a pole, ale také domy, zahrady, hřbitovy a veřejné parky. Yimam et al. (2002) uvádí, že v oblasti Otaru bylo před podáním návnad infikováno 57 % (38/67) lišek měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*).

Návnada byla sestavená z mletého rybího masa, rybí moučky a z práškové formy praziquantelu a byla formovaná do tvaru pelet. Každá peleta vážila 15 gramů a obsahovala 50 mg praziquantelu. Jako biomarker byl začleněn do návnady 100 – 160 mg tetracyklinu v parafinové směsi (v letech 2001 a 2003), ve směsi sádla (v roce 2002) nebo ve formě želatinové kapsule (v roce 2004), aby se předešlo rozkladu tetracyklinu vodou. Návnady byly skladovány při teplotě - 20 °C až do použití. K testování bylo použito celkem 440 těl lišek. U každé lišky byla určena velikost těla, přítomnost nebo nepřítomnost špičáků a poměr šířky dutiny zubů a šířky dásně. Jatečně upravená těla byla zmrazena na více než 2 týdny v - 80 °C, aby se inaktivovali vajíčka měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) a pak na - 20 °C až do vyšetření. Špičáky byly odstraněny u 287 lišek a u nich bylo sledováno tetracyklinové značení. Zuby byly rozříznuty podélným řezem do tloušťky 100 – 200 mm za použití diamantových kotoučů frézy (Micro Cutter MC-201; Maruto, Tokio, Japonsko). Horní špičáky byly použity z důvodu menšího zakřivení, než jsou špičáky dolní čelisti. Dolní špičáky byly využity jen v případě, že oba horní špičáky byly poškozeny nebo chyběly. Z každého zubu byly zhotoveny více než dvě části, které se pozorovaly. Zubní řezy byly umístěny na skleněné destičky a zkoumány pod fluorescenčním mikroskopem na přítomnost

zlatožluté linky tetracyklinu, a to buď v dentinu, nebo cementu (obr. 8). Navíc z pozice řádku této linky můžeme určit, zda došlo k pozření návnady v roce zastřelení nebo v letech předcházejících (Inoue et al., 2007).



Obrázek 8 Fluorescenční žluté linky tetracyklinu v liščíh špičákách. A – v dentinu, B – v cementu (Inoue et al., 2007).

Pro získání výsledků účinnosti návnad u jednotlivých zvířat se použily jen lišky, které musely být označeny v roce odchyty a odčerveny v roce distribuce návnady. Takových lišek bylo 39 % (77/195). Ze 77 tetracyklinem značených lišek nebyly zjištěny tasemnice měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u 70 (91 %) lišek. Mezi označenými liškami, které byly zachyceny 14. – 97. den po prvním rozdělení tetracyklinových návnad v roce odchyty, byl měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) zjištěn u sedmi zvířat. Nicméně gravidní segmenty červa nebyly zjištěny u žádné z těchto lišek. Vzhledem k tělesné hmotnosti lišek, která byla v rozmezí od 1,3 – do 3,9 kg a vzhledem k dávce 5 mg/kg praziquantelu ukazuje 100 % odčervení pro tohoto parazita. Dávka 50 mg praziquantelu byla použita pro každou návnadu a byla dostatečná pro kompletní odčervení. V souladu s tím je u těchto sedmi lišek předpoklad, že byly infikovány po požití návnady. Výkaly byly shromážděny od 76 tetracyklinem označených lišek. Jak se dalo očekávat, žádné vajíčka čeledi Taeniidae nebyla v těchto výkalech zjištěna. V každém roce bylo procento infekce echinokokem nižší u tetracyklinem značených než u neoznačených lišek. Procento pozitivních lišek na infekci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) a na přítomnost vajíček čeledi Taeniidae ve stolici v roce 1999 se snížil z více než 50 % na 5 % v roce 2004. V roce 1999 ještě nebyly distribuovány žádné návnady. Důležité je, že i v neoznačených liškách se procento pozitivních nálezů snížilo. Snížení prevalence u neoznačených lišek naznačuje

kumulativní účinek distribuce návnad, který způsobil pokles v prevalenci u meziphostitele (Inoue et al., 2007).

Ve studii Inoue et al. (2007) také zjistily, že dospělé lišky byly méně často označeny než mladé. Tato nízká míra značení u dospělých může být také částečně vysvětlena množstvím použitého tetracyklinu. Podle Lawson et al. (1992) je potřeba více než 75 mg tetracyklinu k důslednému označení dospělé lišky, zatímco 50 mg označí téměř všechny mladistvé lišky. I když podle Inoue et al. (2007) každá návnada obsahovala 100 - 160 mg tetracyklinu, tak však mohl být s velkou pravděpodobností degradován zpracováním, uchováním a expozicí v terénu.

Johnston et al. (2005) zjistili, že potenciál označení tetracyklinu v komerčních vakcinačních návnadách proti vzteklině klesne průměrně na 60 % prostřednictvím výrobního a distribučního řetězce. Proto by měl být podle Inoue et al. (2007) k označení dospělých lišek skutečný podíl tetracyklinu v návnadách vyšší, než se odhaduje.

3.5 Alveolární echinokokóza

Alveolární echinokokóza je těžké onemocnění způsobené tasemnicí měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) a v případě, že se neléčí, může být až smrtelné. Člověk se nakazí obvykle náhodným pozřením vajíček, z nichž v organismu vznikají metacestody, které se dostávají převážně do jater. Nejvyšší riziko nakažení člověka je v periferiích města, které tvoří přirozené podmínky pro nejčastější druhy meziphostitelů. Tato skutečnost je dána díky tomu, že městské obyvatelstvo tyto oblasti nejvyšší kontaminace často používá pro rekreační aktivity a jejich domácí kočky a psi mají přístup k infikovaným hlodavcům (Hegglin et al., 2003).

Rizikové faktory pro alveolární echinokokózu mohou zahrnovat profesní a behaviorální aktivity. Nicméně v Jižní Dakotě nebyli myslivci, lovci ani osoby pracující s kožešinou vystaveny zvýšenému riziku alveolární echinokokózy (Hildreth et al., 2000). Tuto skutečnost potvrdili i ve studii Kamiya et al. (2007) pomocí ELISA testů na protilátky proti této tasemnici. Z výsledků je pak zřejmé, že u lidí pracujících s kožešinou lišek není mezi prevalencí a jejich povoláním žádná korelace.

Údaje z Evropy ukázaly, že zemědělské činnosti zvyšují riziko infekce. Kontaminací venkovského prostředí vajíčky měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v souvislosti se zemědělskou činností byla nepřímo prokázána vysoká prevalence alveolární

echinokokózy u prasnic, které byly chovány ve vnitřních prostorách a krmeny trávou (Hegglin et al., 2003). Například v Litvě bylo od roku 1997 a 2001 ročně hlášeno 0 – 4 nových případů alveolární echinokokózy u lidí, ale mezi lety 2002 – 2006 to bylo už 10 – 16 nových případů (Bruzinskaite et al., 2007). Podle Hegglin and Deplazes (2013) toto zvýšení začalo asi 10 let poté, co populace lišek zažila silný nárůst spojený s úspěšným očkováním proti vzteklině, což je v souladu s předpokládanou inkubační dobou nemoci cca 5 – 15 let.

V oblasti s vysokou hustotou výskytu mezihostitele hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) je 10x vyšší riziko alveolární echinokokózy ve srovnání s oblastmi s nízkou hustotou tohoto významného mezihostitele. V Curychu ve Švýcarsku jedna studie zjistila, že 47 % městské populace lišek bylo infikováno měchožilem bublinatým. Vysoký počet nakažených lišek ve městech a vesnicích, které tak jsou v úzkém kontaktu s domácími zvířaty a lidmi, by mohlo zvýšit riziko alveolární echinokokózy (Hegglin et al., 2003). Možnosti přenosu nemoci se zvyšují například klimatickými změnami, celosvětovým rozšiřováním populace, odlesňováním, urbanizací, nadměrnou pastvou, znehodnocováním luk, srážkami a podobně (Atkinson et al., 2013).

Podle Lenské a Svobodové (2003) je inkubační doba závislá na délce života mezihostitele. Zatímco u hlodavců larvální vývoj trvá týdny až měsíce, tak u člověka je podstatně delší (v průměru 5 až 15 let). Alveolární echinokokóza se může rozvinout i u psů, kteří následně přicházejí s nespecifickými symptomy, jako je například nechutenství, ztráta hmotnosti, abdominální distenze, zvracení, průjem, hydroperitoneum atd. Léze bývají lokalizovány především v játrech (obr. 9), vyskytly se však i případy s lézemi na podkoží, svalové tkáni a na plicích. Bývají vyplněny viskózní tekutinou s nekrotickým materiálem a velkým množstvím cyst (obr. 10) o velikosti 2 – 5 mm, které jsou zřetelně ohraničeny laminární membránou. V některých případech není vyloučena ani současná nákaza jak pohlavně zralými tasemnicemi, tak i metacestody. Tyto nálezy byly prokázány například u lišek nebo u psů. K takovému typu infekce může dojít poté, co se psi s rozvinutým onemocněním nakazí pozřením infikovaných hlodavců. Není však vyloučena ani možnost autoinfekce, ke které by mohlo dojít proliferací lézí do žlučových s následným uvolněním protoskolexů a jejich transportem žlučí přes žlučový do tenkého střeva. U psů není doposud známa inkubační doba ani faktory vedoucí ke vzniku onemocnění. Podle Weiss et al. (2010) u člověka a gorily převažuje především granulomatózní zánět a fibróza, zatímco přítomnost protoskolexů je málokdy detekována. Až do doby než je v roce

1855 charakterizoval Virchow, se tyto léze mylně považovaly za neoplazii. Naopak u přirozeného meziphostitele je fibróza méně výrazná a léze obsahují mnoho protoskolexů.



Obrázek 9 Játra s otevřenou parazitární lézí. Vnitřní povrch stěny je zdrsněný a virózní (Weiss et al., 2010).



Obrázek 10 Ultrasonografický nálezn echinokokové cysty se ztlustělou stěnou na levém laloku jater (Doležal a kol., 2008).

Onemocnění se u lidí vyznačuje poruchami jater a mozku, které způsobují larvální stádia (metacestode) měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Člověk může sloužit jako náhodný mezihostitel, u kterého metacestodní buňky proliferují jako nádorové buňky. V případě projevu klinických příznaků je už onemocnění těžko léčitelné a bez léčby je tato choroba fatální. Úplného vyléčení by bylo možné dosáhnout pouze tehdy, pokud se potvrdí diagnóza v počáteční fázi onemocnění a následuje kompletní odstranění všech lézí způsobených touto tasemnicí (Kamiya et al., 2007).

Diagnostika alveolární echinokokózy je možná pomocí zobrazovacích metod, mezi které patří například ultrasonografie nebo CT (obr. 11), a také mikroskopickým vyšetřením histologicky zpracovaného a obarveného biotátu nebo PAS metodou, kterou se intenzivně barví laminární membrána obsahující velké množství sacharidů (Lenská a Svobodová, 2003). Ve velmi odlehlých, málo vyspělých a chudých oblastech je pravděpodobné, že mnoho infikovaných osob se diagnózu tohoto onemocnění nikdy nedozví. To je velký problém, protože bez adekvátní léčby může mít tato choroba fatální důsledky (Hegglin and Deplazes, 2013).

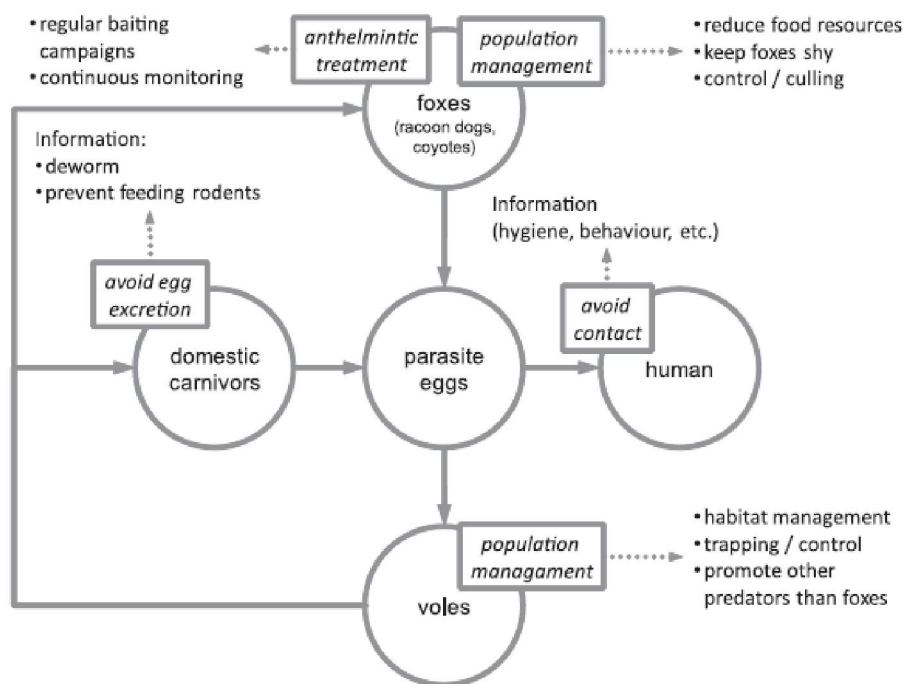


Obrázek 11 Nález měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) na játrech při kontrastním CT (Czermak et. al., 2008).

Významného pokroku v diagnostice a léčbě této nemoci došlo v průběhu posledních několika desetiletí. Délka životů pacientů ve Švýcarsku v roce 2005 byla snížena přibližně o 3,6 roků u mužů a 2,5 roků u žen, což je mnohem méně než v roce 1970, kdy délka života pacienta byla v průměru zkrácena u mužů o 18,2 a u žen o 21,3 roky (Torgerson et al, 2008). Ve Švýcarsku v 57 % případů není možný radikální chirurgický zákrok, a proto léčba pacientů většinou spočívá v dlouhodobém podávání vysokých dávek albendazolu. Tento přípravek nemocný jedinec užívá několik desítek let nebo i doživotně (Hegglin and Deplazes, 2013)

3.5.1 Kontrola a prevence

Kontrola alveolární echinokokózy je náročná, protože životní cyklus měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) závisí především na volně žijících zvířatech, včetně různých běžně se vyskytujících hlodavců a adaptivní a všudypřítomné lišky. Nicméně potenciální opatření pro kontrolu a prevenci této nemoci může být prováděno na různých úrovních životního cyklu tohoto parazita (obr. 12). Na individuální úrovni je důležité především hygienické opatření a pravidelné odčervování domácích psů. To by mělo pomoci k tomu, aby se snížil výskyt infekčních vajíček. Dále na úrovni ochrany životního prostředí je nutná kontrola populace definitivních hostitelů a mezihostitelů nebo opatření, které je přímo zaměřené na parazita a to odčervováním konečných hostitelů (Hegglin and Deplazes, 2013).



Obrázek 12 Schematické znázornění různých možností pro kontrolu a prevenci lidské alveolární echinokokózy. Kroužky představují výskyt měchožila bublinatého v prostředí, hlavní mezihostitele, definitivní hostitele, domestikované masožravce a lidi; obdélníky ukazují různá preventivní opatření (Hegglin and Deplazes, 2013).

Vypuknutí epidemie by mohlo vážně ovlivnit ekonomiku některých států, zejména kvůli dopadu na zemědělství, průmysl a cestovní ruch. Je tedy velmi důležité provádět opatření zaměřená na eliminaci zdroje nákazy pro člověka a zamezit tím nárůstu případů infekce. Zvyšující se počet nakažených lišek ve městech a vesnicích, které jsou v úzkém kontaktu s domácími zvířaty a lidmi, by mohlo zvýšit riziko lidské alveolární echinokokózy. Tento důvod by měl být podnětem pro efektivní program na kontrolu infekce u lidí. V Japonsku je od 1. října 2004 povinnost hlášení infekce echinokokózy příslušným úřadům. Tato povinnost byla v té době první svého druhu na světě (Kamiya et al., 2007).

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Původ lišek

Lišky pocházeli z oblasti Karlovarska z podoblasti Sedlečko, Šemnice, Moříčov, Nejda, Bor, Stráň, Ostrov nad Ohří a Velichov. Dvě oblasti s nejvyšší prevalencí (Sedlečko a Šemnice) byly vybrány jako oblasti, na kterých byla zjišťována účinnost léčby s anthelmintiky. Tyto lokality se skládají především z lesů a luk. Po pravidelném ročním odčervování, které probíhalo v roce 2013, bylo v roce 2014 zastřeleno v této oblasti 19 lišek, které tak mohli být vyšetřeny na výskyt měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) pro posouzení účinnosti léčby.

Lišky, které byly v této studii vyšetřovány před léčbou návnadami s anthelmintiky, byly zastřelené v období od 26. 12. 2009 do 4. 3. 2012 (tab. 4). Lišky vyšetřované po léčbě byly uloveny v období od 18. 1. 2014 do 8. 12. 2014. Hodnocení prevalence se zjišťovalo postmortálně vyšetřením střevního traktu.

4.2 Návnady s anthelmintiky

Návnady byly vyrobené z rozemleté rybí svaloviny a každá obsahovala 50 mg praziquantelu. Frekvence rozmístování návnad byla jednou měsíčně (od ledna do prosince roku 2013) s hustotou 50 návnad na km². Celkově bylo tedy použito 600 návnad. Náklady na výrobu takového množství návnad je zhruba 45 tisíc Kč. Rozmístovány byly v okolí liščích doupat a na jejich pravidelných stezkách.

4.3 Helmintologická pitva

Helmintologická pitva liščích střev probíhá až poté, co jsou tyto střeva minimálně jeden měsíc ponechána při teplotě - 80 °C. Při této teplotě dochází k inaktivaci infekčních stádií parazita a samotná pitva je tedy mnohem bezpečnější. Hlavním cílem pitvy je získání obsahu tenkého střeva, který můžeme následně vyšetřovat pomocí mikroskopu.

Střeva lišek byla vyšetřována upravenou seškrabávací metodou. Podle Tackmann et al. (2006) je seškrabávací metoda střeva (IST) široce používaná technika, při které se seškrabe sliznice tenkého střeva na podložní sklíčko a následně se zkoumá pod mikroskopem. V první řadě se vypreparované tenké střevo rozdělí na tři stejně dlouhé části (přední, střední a zadní).

Tyto části se poté rozříznou a otevřou střevními nůžkami a vizuálně se zkontroluje přítomnost měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) nebo jiných helmintů. Hrubý střevní obsah je opatrně odstraněn a v pravidelných intervalech 5 – 10 cm podle délky tenkého střeva se zhotoví alespoň osm slizničních stěrů z každé ze tří částí. Podle Tackmann et al. (2006) se sklíčka se vzorky tisknou na čtvercové polystyrenové Petriho misky a prohlížejí se pod stereomikroskopem se zvětšením 8x – 50x.

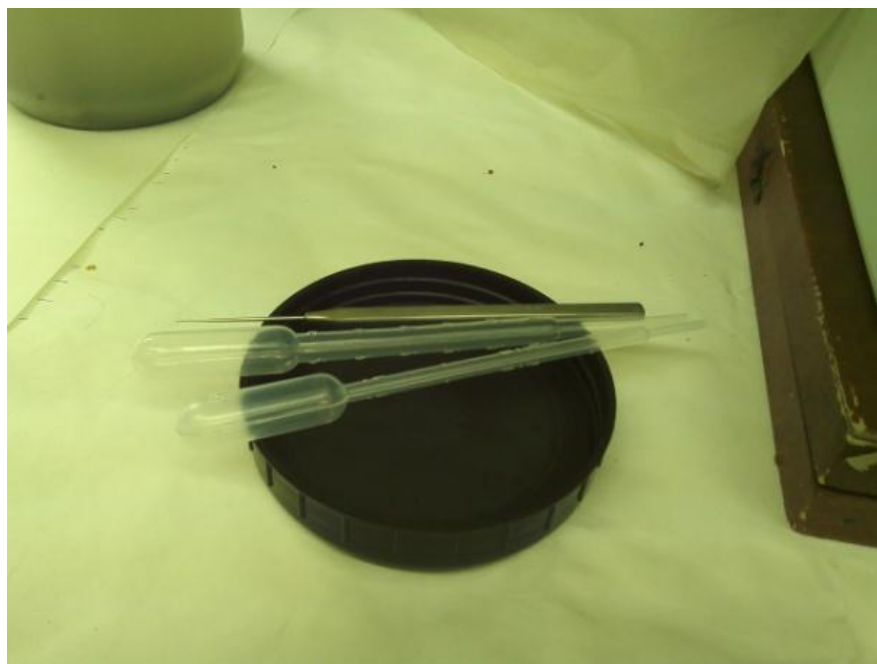
Úprava metody v této studii spočívá v tom, že se seškrabaná střevní sliznice vloží do vodou napuštěné Petriho misky a tato směs se následně přelije do skleněné nádoby se zúženým dnem. Po hodinové sedimentaci se přebytečná tekutina odsaje a opět se doplní nová tekutina, abychom dosáhli maximální čistoty. To nám umožní snadnější mikroskopování. Takto zhotovený vyšetřovací materiál se přelije do umělohmotné nádoby, na kterou se poznamenala identifikace lišky a datum pitvy.

4.4 Mikroskopická diagnostika

Pomocí Pausterovi pipety (obr. 14) nanese se z umělohmotné nádoby, která obsahuje výše zmíněnou směs vody a seškrabanou sliznici tenkého střeva lišky, objem 1,5 ml do vyšetřovací komůrky s vyrýsovanými linkami pro snadnější orientaci při mikroskopování obsahu (obr. 13).

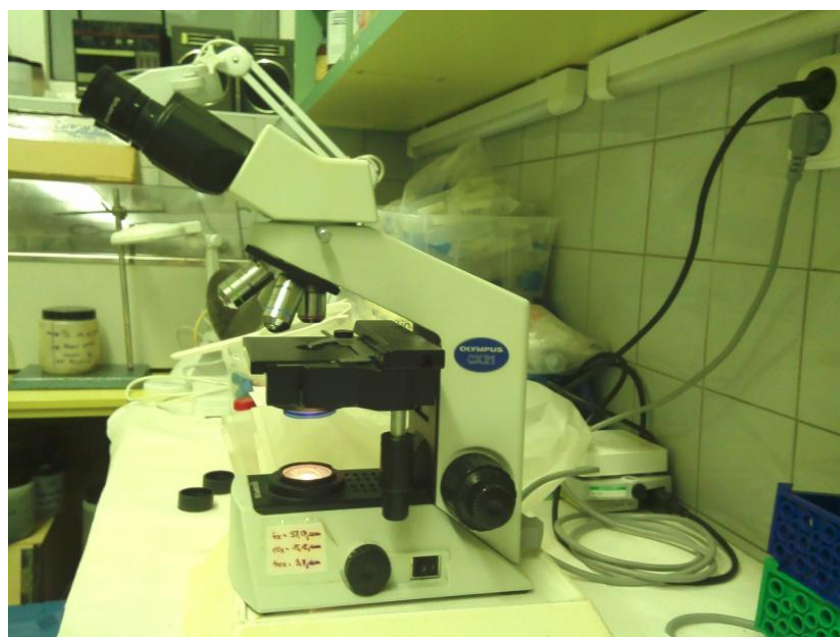


Obrázek 13 Vyšetřovací komůrka o objemu 1,5 ml (Zdroj: archiv autora).



Obrázek 14 Pausterovi pipety a preparační jehla (Zdroj: archiv autora).

Všechny vyšetřované vzorky byly prohlíženy pomocí mikroskopu Olympus CX21 (obr. 15). Z výsledků mikroskopického vyšetření jsme zjistili, zda a v jakém počtu se měchožil bublinatý v daném množství střevního obsahu vyskytuje a nevyskytuje. Následně jsme spočítali prevalenci u lišek před a po léčbě pomocí vzorce:
(počet pozitivních lišek/počet všech lišek) x 100



Obrázek 15 Mikroskop Olympus CX21 (Zdroj: archiv autora).

Výsledky prevalence lišek na přítomnost měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) před podáním návnad a po podání návnad jsme následně srovnávali pomocí statistické metody chí-kvadrát test pro asociační tabulku v programu Statistica.

5 VÝSLEDKY

Číslo	Označení lišky a pohlaví	Oblast výskytu	Nález EM	Datum odstřelu
1	F0038	KV Sedlečko	P	27. 2. 2010
2	F0076	KV Sedlečko	P	4. 3. 2012
3	F0078	KV Sedlečko	P	7. 10. 2011
4	M0034	KV Sedlečko	P	11. 1. 2010
5	F0029	KV Šemnice	P	27. 1. 2011
6	F0032	KV Šemnice	P	9. 2. 2011
7	F0033	KV Šemnice	P	8. 2. 2011
8	F0030	KV Šemnice	N	26. 1. 2011
9	F0028	KV Šemnice	N	24. 1. 2011
10	M0041	KV Šemnice	P	29. 1. 2011
11	M0040	KV Šemnice	N	23. 1. 2011
12	M0042	KV Šemnice	P	1. 2. 2011
13	M0043	KV Šemnice	P	2. 2. 2011
14	M0045	KV Šemnice	P	17. 1. 2010
15	F0037	KV Šemnice	P	10. 1. 2011
16	F0079	KV Moříčov	N	31. 1. 2012
17	F0036	KV Moříčov	N	10. 12. 2010
18	F0035	KV Moříčov	N	10. 12. 2010
19	M0049	KV Moříčov	N	3. 12. 2010
20	M0035	KV Moříčov	N	9. 1. 2010
21	F0025	KV Moříčov	N	9. 1. 2010
22	F0024	KV Moříčov	N	21. 11. 2010
23	F0026	KV Nejda	N	26. 12. 2009
24	M0037	KV Nejda	N	26. 12. 2009
25	M0047	KV Nejda	P	2. 12. 2010
26	M0032	KV Nejda	N	26. 11. 2010
27	M0031	KV Nejda	N	27. 11. 2010
28	M0033	KV Bor	P	9. 10. 2010
29	M0077	KV Bor	N	30. 11. 2011
30	M0038	KV Stráň	P	19. 1. 2011
31	F0048	KV Stráň	N	20. 10. 2010
32	F0023	KV Ostrov nad Ohří	N	25. 11. 2010
33	M0022	KV Ostrov nad Ohří	N	27. 11. 2010
34	M0031	KV Velichov	N	14. 12. 2010

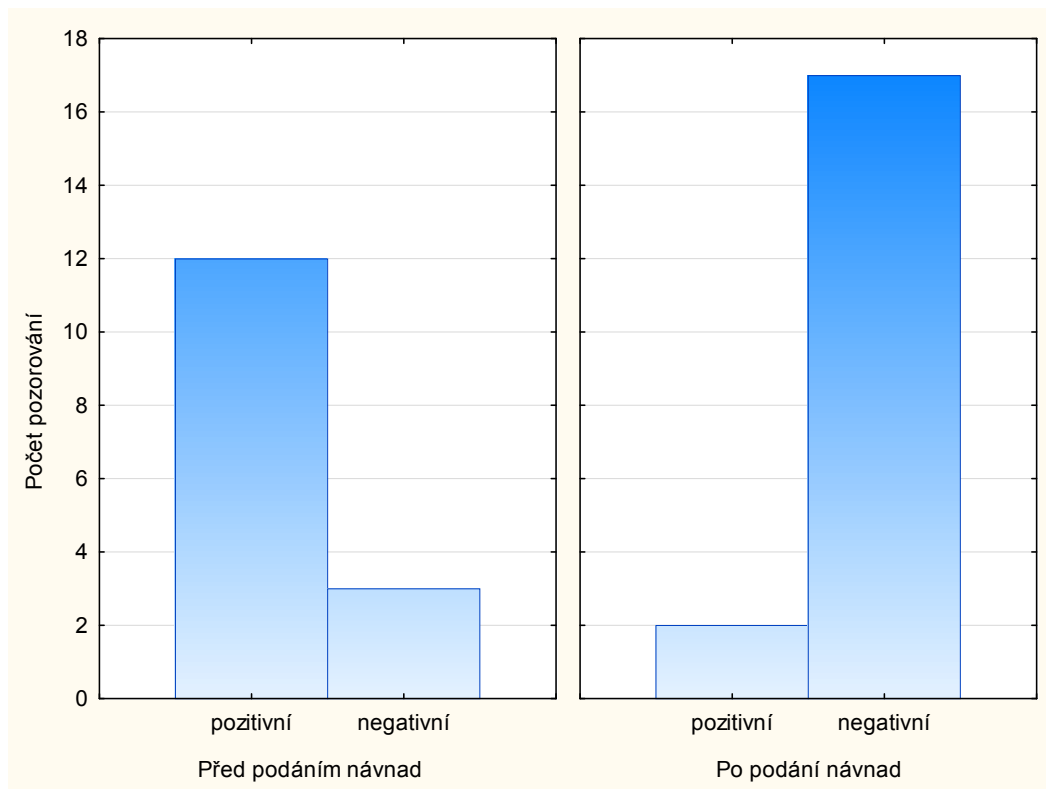
Tabulka 4 Přehled lišek zastřelených a vyšetřených před léčbou. Zkratky: EM – měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*); KV – Karlovarsko; P – pozitivní na přítomnost měchožila bublinatého; N – negativní na přítomnost měchožila bublinatého.

V tabulce č. 4 jsou uvedeny lišky vyšetřené před samotnou léčbou. Z tohoto průzkumu jsme zjistili, že prevalence měchožila bublinatého u lišek byla ve sledovaných oblastech 44,1 % (15/34). Nejvíce pozitivních lišek bylo v oblasti Sedlečko a Šemnice, kde se zjistila prevalence 80 % (12/15). Na základě toho probíhala léčba lišek právě v těchto dvou lokalitách. Zkratky v označení lišek před číselným kódem označují samce a samice. M (z angl. male) je označení pro samce, naproti tomu F (z angl. female) je označení pro samice.

V tabulce č. 5 jsou uvedeny lišky zastřelené po ročním podávání návnad s anthelmintiky. Z obsahu střeva každé lišky bylo vyšetřeno průměrně 20 ml vzorku, což činí 8 % z průměrného celkového objemu. Zjištěná prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) je u těchto lišek 10,5 % (2/19). Srovnání prevalence měchožila bublinatého před léčbou a po léčbě můžeme vidět na grafu č. 1.

Číslo	Označení lišky a pohlaví	Oblast výskytu	Počet nalezených tasemnic <i>Echinococcus multilocularis</i> (ks)	Datum odstřelu
1	F00115	Šemnice	0	29. 1. 2014
2	F00118	Sedlečko	3	7. 2. 2014
3	F0114	Šemnice	0	26. 1. 2014
4	F0116	Sedlečko	0	31. 1. 2014
5	F0117	Šemnice	4	2. 2. 2014
6	F0124	Šemnice	0	13. 6. 2014
7	F0126	Sedlečko	0	2. 7. 2014
8	F0128	Sedlečko	0	6. 10. 2014
9	M0146	Šemnice	0	18. 1. 2014
10	M0150	Sedlečko	0	19. 2. 2014
11	M0154	Šemnice	0	28. 5. 2014
12	M0155	Sedlečko	0	6. 6. 2014
13	M0157	Šemnice	0	24. 6. 2014
14	M0159	Sedlečko	0	16. 7. 2014
15	M0160	Sedlečko	0	16. 7. 2014
16	M0161	Sedlečko	0	28. 8. 2014
17	M0162	Šemnice	0	6. 12. 2014
18	M0163	Šemnice	0	8. 12. 2014
19	M151	Šemnice	0	23. 4. 2014

Tabulka 5 Přehled vyšetřených lišek po léčbě a počet nalezených tasemnic měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*).



Graf 1 Počet pozitivních a negativních lišek na přítomnost měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) před a po podání návnad s anthelmintiky (Zdroj: Statistica)

Výsledky této studie byly mezi sebou srovnávány statistickou metodou v programu Statistica. Nulová hypotéza (H_0) pro naši metodu zněla, že mezi námi získanými výsledky prevalence neexistuje žádný statisticky významný rozdíl. Hladina významnosti (α) byla stanovena na 5 %. To znamená, že existuje 5 % pravděpodobnost, že zamítne H_0 , která ve skutečnosti platí. Vzhledem k tomu, že celkový počet vyšetřených lišek byl 34, museli jsme nejdříve spočítat hodnoty očekávaných četností (tab. 6).

Před\po	2-r. tabulka (shr.): Očekávané četnosti (Tabulka1) Četnost označených buněk > 10		Řádk. součty
	pozitivní\pozitivní	pozitivní\negativní	
před	6,17647	8,82353	15,00000
po	7,82353	11,17647	19,00000
Celk.	14,00000	20,00000	34,00000

Tabulka 6 Hodnoty očekávaných četností (Zdroj: Statistica).

Použili jsme chí-kvadrát test pro asoiační tabulku (tab. 7), protože ani jedna z očekávaných četností nebyla menší než 5.

Předxpo	2-rozměrná tabulka: Pozorované četnosti (Tabulka1) Četnost označených buněk > 10		Řádk. součty
	pozitivní pozitivní	negativní negativní	
před	12	3	15
po	2	17	19
Celk.	14	20	34

Tabulka 7 Hodnoty pozorovaných četností pro chí-kvadrát test (Zdroj: Statistica).

V následující tabulce (tab. 8) vidíme výsledky, které nám vyhodnotil program Statistica. Jelikož hodnota p je menší než námi zvolená hladina významnosti (0,05), zamítáme nulovou hypotézu. To znamená, že mezi zjištěnou prevalencí měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) před a po podání návnad s anthelmintiky existuje s 95 % pravděpodobností statisticky významný rozdíl.

Statist.	Statist. : Předxpo(2) x pozitivníxnegativní(2) (Tabulka1)		
	Chí-kvadr.	sv	p
Pearsonův chí-kv.	16,70346	df=1	p=,00004
M-V chí-kvadr.	18,27071	df=1	p=,00002
Fí pro tabulky 2 x 2	,7009124		
Tetrachorická korelace	,8941730		
Kontingenční koeficient	,5739637		

Tabulka 8 Výsledky chí-kvadrátu testu pro asoiační tabulku (Zdroj: Statistica).

Označení lišky a pohlaví	Přibližný počet nalezených kusů
F0038	293
F0076	816
F0078	460
M0034	66
F0029	1228
F0032	992
F0033	69
M0041	32
M0042	46
M0043	172
M0045	418
F0037	224

Tabulka 9 Přibližný počet kusů měchožila bublinatého nalezených ve střevech lišek před podáním návnad s anthelmintiky.

Označení lišky a pohlaví	Přibližný počet nalezených kusů
F0117	50
F0118	37

Tabulka 10 Přibližný počet kusů měchožila bublinatého nalezených ve střevech lišek po podání návnad s anthelmintiky.

V tabulce 9 a v tabulce 10 vidíme, s jakou intenzitou se měchožil bublinatý nacházel u vyšetřovaných lišek. Průměrný počet zjištěných tasemnic ve střevech lišek před podáním návnad s anthelmintiky je 401,3 (4816/12) kusů a po podání je 43,5 (87/2) kusů.

6 DISKUZE

Liška obecná (*Vulpes vulpes*) je hlavní definitivní hostitel měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), ale stejně tak jím může být i pes nebo kočka. Právě pes a kočka, kteří se pohybují v oblastech, kde probíhá životní cyklus měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), představují pro člověka potenciální zdroj onemocnění. Experimentální studie prokazují vyšší vnímavost k infekci u psů než u koček (Lenská a Svobodová, 2003). Vyšší vnímavost a vysoký biotický potenciál psů potvrzuje ve své studii i Kamiya (2007), který popisuje experiment probíhající od dubna 2004 do srpna 2005, ve kterém se vyšetřilo 1460 vzorků psiho trusu. Čtyři vzorky byly pozitivní, což představuje prevalenci 0,27 %. To je relativně malé procento, ale odhaduje se, že je každoročně přepravováno mezi ostrovy Honšů a Hokkaido letadlem a trajektem téměř deset tisíc psů a že to zahrnuje až 30 infikovaných zvířat (Kamiya, 2007). Navíc bylo zjištěno, že 2 z 69 psů, kteří byli transportováni z ostrova Hokkaido na Honšů, byli pozitivní na přítomnost měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) na základě koproantigeního vyšetření. To vyvolalo obavy, že se echinokokóza může šířit do neendemických oblastí díky přepravě psů. Kamiya (2007) se domnívá, že kočky nejsou hlavní příčinou udržování životního cyklu této tasemnice v endemických oblastech, protože ve všech případech byly pozorované tasemnice měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u koček v nezralé formě. Od roku 2002 do roku 2004 vyšetřily Svobodová a Lenská (2004) 80 vzorků kočičího trusu na přítomnost *Echinococcus* spp. Pomocí ELISA testu identifikovaly 3 vzorky jako pozitivní (3,75 %) a 77 jako negativní (96,25 %). I tato studie tedy potvrzuje malý význam koček pro přenos infekce.

Prevalence u lišek se v posledních letech dramaticky zvýšila. V letech 1984 – 1987 a 2006 – 2012 se prevalence parazita v liščích populacích východní Francie zvýšila (Comtea et al., 2013). Tento trend byl podobně zaznamenán i v Německu a Rakousku (Berke et al., 2008). V Annemasse, kde probíhala léčba lišek, se docílilo pomocí návnad s anthelmintiky snížení prevalence z 13,3 % na 2,2 %. Naopak v okolí města Pontarlier se nepodařilo významně snížit výskyt parazita (z 10,9 % na 7,1 %). Příčinou může být menší velikost města a velké souvislé porosty, což usnadňuje neošetřeným liškám zvenčí se jít pást do léčebné oblasti a tím udržovat kontaminaci ekosystému. Důležitý je i hraniční účinek. Lišky s domácími okrsky v blízkosti hranic návnadových oblastí mají menší přístup k anthelminthickým návnadám. Mimo to i stěhování lišek může přispět ke kontaminaci

měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*). Ve velkých návnadových oblastech žije menší část léčených lišek poblíž hranic ošetřované plochy a menší část lišek se přistěhovává. Proto malé návnadové oblasti jsou více postiženy pohraničními účinky (Comtea et al., 2013). Ve studii Takahashia et al. (2013) byla prevalence před distribucí návnad 49,4 %. V kontrolní oblasti, kde se návnady nerozmísťovaly, byla prevalence na počátku tohoto experimentu 70,5 %. Během léčby se výskyt měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) snížil nejdříve na 26,2 % a později dokonce na 15,8 % v léčené oblasti. V sousedních neléčených oblastech ale zůstala stále na vysoké úrovni (65 %). Ačkoliv v naší studii nemáme žádnou kontrolní oblast, tak efekt této léčby můžeme posoudit zjištěním prevalence na stejném území před a po léčbě. Podle Comtea et al. (2013) srovnání mezi léčebnou a kontrolní oblastí sama o sobě nestačí k vyhodnocení účinnosti léčby. Rozdíl mezi těmito dvěma oblastmi může být způsoben vnějšími faktory (např. hustota mezipřítelů, podmínky pro přežití vajíček atd.). V letech 2005 a 2006 byla na Slovensku zjištěna prevalence u lišek 37 % (Antolová et al., 2006). Na území České republiky v okrese Klatovy byly v roce 1997 vyšetřeny lišky na přítomnost měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). V tomto období bylo nalezeno 5 pozitivních zvířat z 10 (Martínek et al., 1998). Další výzkum byl proveden v období od června 1997 do dubna 1999. Tehdy se zjistila prevalence 66,3 %, což odpovídalo 29 pozitivních zvířat ze 46 (Martínek et al., 2001).

V naší studii byla prevalence na Karlovarsku před léčbou 44,1 % (15/34) a po léčbě 10,5 % (2/19). Tyto výsledky korespondují s výsledky ostatních studií. To naznačuje, že tato metoda je velice univerzální a může fungovat v různých biotopech a ekosystémech. I když nemáme žádnou kontrolu nad spotřebou návnad liškami, můžeme se domnívat, že při použití stejného systému jako ve studii Comtea et al. (2013) dosáhneme podobných výsledků. Ve studii Comtea et al. (2013) byly taktéž návnady rozmístěny v okolí doupat a na liščích stezkách a kontrola spotřeby byla dokumentována pomocí fotopastí. Z výsledků pak vychází, že nejvíce fotografované zvíře byla právě liška.

Na snížení prevalence měla samozřejmě také vliv frekvence rozmísťování návnad, která byla v našem experimentu jeden měsíc. Stejně výsledky popisuje i Hegglin and Deplazes (2008) ve své práci, ve které zjišťovali mimo jiné i rozdíl ve výskytu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) při tříměsíčním intervalu a měsíčním intervalu rozmísťování návnad. Jejich šestiletá experimentální studie ukazuje základní informace o citlivosti měchožila bublinatého a jeho strategii v malých oblastech s vysokým výskytem alveolární echinokokózy. Měsíční interval podávání návnad snížil kontaminaci prostředí měchožilem

bublinatým na nízkou úroveň. Naopak tříměsíční intervaly snižují sice výrazně kontaminaci prostředí touto tasemnicí, ale snížení je mnohem menší, než u měsíčních intervalů. Kromě toho tyto návnady s tříměsíčním intervalem nepomohly udržet nízkou kontaminaci měchožilem bublinatým, dosaženou předchozím 1,5 ročním intenzivním měsíčním podáváním.

V rozporu s těmito výsledky jsou výsledky dvou německých studií (Romig et al., 2006; Tackmann et al., 2001), které rozmísťovaly návnady na velkých prostorách s tříměsíční frekvencí. Tyto návnady byly stejně účinné při udržení prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) na stejné úrovni jako v předchozích návnadových studiích prováděných v intervalech šesti týdnů. Je možné, že nižší hustota lišek ve venkovských oblastech ve srovnání s městskými oblastmi nebo krátká délka léčebného období s tříměsíčními intervaly jsou odpovědné za tento rozdíl. S větší pravděpodobností lze ale tento rozdíl vysvětlit hraničními účinky.

S našimi výsledky se neshoduje ani studie Nonaka et al. (2005), ve které koproantigenním vyšetřením zjistili, že po prvním roce podávání návnad se prevalence tohoto cizopasníka nijak dramaticky nesnížila. Lišky byly pravděpodobně snadno opakovaně napadeny požitím infikovaného mezipřehoditele, který se nakazil před distribucí návnad. Snížení počtu koproantigenně pozitivních jedinců bylo docíleno až od druhého roku pravděpodobně v důsledku poklesu infikovaných hlodavců.

Podle Hegglin and Deplazes (2013) je důležité provádět odčervovací kampaň i několik desítek let, abychom dosáhli dlouhodobého efektu. Tím se dobereme i snížení infekce u mezipřehoditelů. Ve srovnání s tímto tvrzením je jeden rok odčervování velmi krátká doba na posouzení účinnosti této terapie. Navíc dobré výsledky naší práce mohou být také zkreslené vyšetřením poměrně malého množství lišek oproti ostatním studiím. Z těchto důvodů bychom měli i nadále pokračovat v naší práci a volně žijící lišky stále odčervovat. Důležité je zároveň sledovat změnu v jejich prevalenci a získávat tak další výsledky pro hodnocení účinnosti.

Kamiya (2007) se domnívá, že velký vliv na výsledky léčby má způsob vyšetřování lišek, protože při intravitálních metodách nedochází k narušení prostředí zvířat. Naopak při lovu lišek a následném postmortálním vyšetření je na lišky vyvíjen tlak, který v pohraničních oblastech experimentu způsobuje, že jsou lišky rozptýleny mimo léčebnou oblast. Důsledkem toho vzniká prostor pro mladé generace infikovaných lišek, které opět kontaminují prostředí měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*). Ve studii Hansen et al. (2003), kde se

zjišťovala diagnostika postmortálně, se pomocí kontrolních zkoušek v severním Německu zjistilo, že prevalence infekce se rychle a nečekaně zotavila a dosáhla úrovně před terapií a to už po 15 měsících po skončení terapie. V Japonské studii Kamiya (2007) a ve švýcarské studii Hegglin et al. (2003) bylo pozorováno výrazné snížení prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v případě, kdy byl použit přístup kombinující protihlístové návnady a koproantigenní diagnózu. Rozdíly v účinnosti léčby japonské a německé metody ukazují, že při utracení lišek nebo lovu lišek pro kontrolní vyhodnocení účinnosti ve skutečnosti poškozuje úspěch návnadové kampaně. Z toho vyplývá, že ačkoliv v naší studii dosahujeme výrazného snížení prevalence, hrozí zde vysoké riziko znovu zavlečení tohoto cizopasníka do námi léčených prostor. I toto je další důvod pro pokračování v neustálém monitorování prevalence v našem pozorovaném prostředí.

Podle Antolová et al. (2006) je doporučené dávkování praziquantelu 50 mg na 10 kg živé hmotnosti. Ačkoliv může dojít k menším ztrátám účinné látky (například působením slunečního světla, při výrobě návnad nebo konzumací návnad slimáky), tak i přesto zde existuje velká rezerva na úspěšné odčervení lišky, které váží podle Anděry a Gaislera (2012) v rozmezí od 3 do 10 kg. Inoue et al. (2007) ve své studii uvádí váhu odchycených lišek dokonce pouze 1,3 – 3,9 kg. V naší práci byly použity tablety Drontal plus, které obsahují 50 mg praziquantelu. Na jednu návnadu byla použita jedna tableta. Z toho vyplývá, že dávka, kterou liška zkonsumovala, by měla být dostačující na efektivní odčervení. To naznačují i námi získané výsledky intenzity infekce. Ačkoliv u pozitivních lišek bylo před podáním návnad nalezeno průměrně 401,3 kusů tasemnic měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), tak po podání návnad to bylo průměrně jen 43,5 jedinců.

7 ZÁVĚR

Populace lišek obecných (*Vulpes vulpes*) se neustále zvyšuje, proto tato zvířata představují významný zdroj pro nákazu měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*). Onemocnění, které pak může způsobovat, řadíme mezi velice závažné. Nejenže jsou s ním spojeny i velké ekonomické ztráty, ale v neléčených případech může dojít dokonce až k úmrtí. I když jsou infekce u člověka poměrně vzácné, je důležité dodržovat veškerá preventivní opatření.

V této diplomové práci byl zkoumán výskyt měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u volně žijících lišek v karlovarském kraji po odčervení pomocí návnad s anthelmintiky, které byly rozmístěny v lokalitách s vysokou prevalencí. Zjistilo se, že po ročním podávání návnad s anthelmintiky klesla prevalence z 80 % (12/15) před léčbou na 10,5 % (2/19) po léčbě. Tento pokles byl s 95 % pravděpodobností statisticky významný. Pokles byl zaznamenán také u průměrné intenzity infekce, která byla před podáním návnad 401,3 kusů měchožila bublinatého a po podání návnad 43,5 kusů měchožila bublinatého. Hypotéza, že návnady s anthelmintiky snižují prevalenci a intenzitu infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), byla tedy potvrzena.

Velmi důležité je nadále pokračovat ve stávajícím výzkumu a stále distribuovat návnady s anthelmintiky tak, aby nedocházelo k opakovanému zavlečení infekce do léčených oblastí a tím i k nárůstu míry prevalence a rozšíření tohoto parazita do dalších oblastí. Ačkoliv úplné vymizení parazita z prostředí není možné, můžeme s pomocí návnad s anthelmintiky a plošným odčervováním definitivních hostitelů dosáhnout velmi uspokojivých výsledků.

8 SEZNAM LITERATURY

Anděra, M., Gaisler, J. 2012. Savci České republiky. Academia. Praha. 288 s. ISBN: 978-80-200-2185-4

Antolová, D., Miterpáková, M., Reiterová, K., Dubinský, P. 2006. Influence of anthelmintic baits on the occurrence of causative agents of helminthozoonoses in red foxes (*Vulpes vulpes*). *Helminthologia*. 43 (4). 226 – 231.

Atkinson, J. M., Gray, D. J., Clements, A. C. A., Barnes, T. S., Mcmanus, D. P., Yang, Y. R. 2013, Environmental changes impacting *Echinococcus* transmission: research to support predictive surveillance and control. *Global change biology*. 19 (3). 677 – 688.

Berke, O., Romig, T., Von Keyserlingk, M. 2008. Emergence of *Echinococcus multilocularis* among Red Foxes in northern Germany, 1991 - 2005. *Veterinary parasitology*. 155, 319 – 322.

Breitenmoser, U., Muller, U., Kappeler, A., Zanoni, R. G. 2000. The final phase of the rabies epizootic in Switzerland. *Schweizer archiv für tierheilkunde*. 147. 447 – 453.

Bruzinskaite, R., Marcinkute, A., Strupas, K., Sokolovas, V., Deplazes, P., Mathis, A., Eddi, C., Sarkunas, M. 2007. Alveolar echinococcosis, Lithuania. *Emerging infectious diseases*. 13. 1618 – 1619.

Burlet, P., Deplazes, P., Hegglin, D. 2011. Age, season and spatio-temporal factors affecting the prevalence of *Echinococcus multilocularis* and *Taenia taeniaeformis* in *Arvicola terrestris*. *Parasites vectors*. 4. 6.

Comtea, S., Ratona, V., Raoulb, F., Hegglin, D., Giraudoux, P., Deplazes, P., Faviera, S., Gottscheka, D., Umhange, G., Bouée, F., Combesa, B. 2013. Fox baiting against *Echinococcus multilocularis*: Contrasted achievements among two medium size cities. *Preventive veterinary medicine*. 111. 147 – 155.

Czermak, B. V., Akhan, O., Hiemetzberger, R., Zelger, B., Vogel, W., Jaschke, W., Riger, M., Kim, S. Y., Lim, J. H. 2008. Echinococcosis of the liver. *Abdominal imagine*. 33. 133 – 143.

Čermáková, Z., Voxová, B., Buchta, V., Förstl, M. 2009. Tasemnice ohrožující lidské zdraví – úvod do problematiky. *Folia gastroenterologica et hepatologica* 7 (3-4). 124 – 126.

Delattre, P., Pascal, M., Le Pesteur, M. H., Giraudoux, P., Damange, J. P. 1988. Caracteristiques ecologiques et epidemiologiques de *Echinococcus multilocularis* au cours d'un cycle complet des populations d'un hote intermediaire (*Microtus arvalis*). *Canadian journal of zoology*. 66. 2740 – 2750.

Deplazes, P., van Knapen, F., Schweiger, A., Overgaauw, P. A. M. 2011. Role of pet dogs and cats in the transmission of helminthic zoonoses in Europe, with a focus on echinococcosis and toxocarosis. *Veterinary parasitology* 182. 41 – 53.

Doi, R., Matsuda, H., Uchida, A., Kanda, E., Kamiya, H., Konno, K., Tamashiro, H., Nonaka, N., Oku, Y., Kamiya, M. 2003. Possibility of invasion of *Echinococcus* into Honshu with pet dogs from Hokkaido and overseas. *Nippon koshu eisei zasshi*. 50. 639 – 649.

Doležal, B., Ryska, M., Jurenka, B., Náplava, P., Vlachovská, E., Kalas, L., Hrabal, P. 2008. Diagnostika a léčba echinokokových cyst jater na úrovni role 2. *Vojenské zdravotnické listy*. 3. 81.

Eckert, J. 2003. Predictive values and quality control of techniques for the diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in definitive hosts. *Acta tropica*. 85 (2). 157 – 163

Fischer, C., Reperant, L. A., Weber, J. M., Hegglin, D., Deplazes, P. 2005. *Echinococcus multilocularis* infections of rural, residential and urban foxes (*Vulpes vulpes*) in the canton of Geneva, Switzerland. *Parasite*. 12 (4), 339 – 346.

Gottstein, B., Saucy, F., Deplazes, P., Reichen, J., Demierre, G., Busato, A., Zuercher, C., Pugin, P. 2001. Is high prevalence of *Echinococcus multilocularis* in wild and domestic

animals associated with disease incidence in humans? *Emerging infectious disease*. 7. 408 – 412.

Hansen, F., Tackmann, K., Jeltsch, F., Wissel, C., Thulke, H. H. 2003. Controlling *Echinococcus multilocularis* - ecological implications of field trials. *Preventive veterinary medicine* . 60. 91 – 105.

Hegglin, D., Deplazes, P. 2008. Control strategy for *Echinococcus multilocularis*. *Emerging infectious diseases*. 14 (10). 1626 – 1628.

Hegglin, D., Deplazes, P. 2013. Control of *Echinococcus multilocularis*: Strategies, feasibility and cost–benefit analyses. *International journal for parasitology*. 43. 327 – 337.

Hegglin, D., Ward, P. I., Deplazes, P. 2003. Anthelmintic baiting of foxes against urban contamination with *Echinococcus multilocularis*. *Emerging infectious diseases*. 9 (10). 1266 – 1272.

Hegglin, D., Bontadina, F., Gloor, S., Romer, J., Muller, U., Breitenmoser, U., Deplazes, P. 2004. Baiting red foxes in an urban area: a camera trap study. *Journal of wildlife management*. 68 (4). 1010 – 1017.

Hegglin, D., Bontadina, F., Contesse, P., Gloor, S., Deplazes, P. 2007. Plasticity of predation behaviour as a putative driving force for parasite life-cycle dynamics: the case of urban foxes and *Echinococcus multilocularis* tapeworm. *Functional ecology* 21 (3), 552 – 560.

Hildreth M. B., Sriram S., Gottstein B., Wilson M., Schantz P. M. 2000. Failure to identify alveolar echinococcosis in trappers from South Dakota in spite of high prevalence of *Echinococcus multilocularis* in wild canids. *Journal of parasitology*. 86. 75 – 77.

Inoue, T., Nonaka, N., Kanai, Y., Iwaki, T., Kamiya, M., Oku, Y. 2007. The use of tetracycline in anthelmintic baits to assess baiting rate and drug efficacy against *Echinococcus multilocularis* in foxes. *Veterinary parasitology*. 150. 88 – 96.

Johnston, J. J., Primus, T. M., Buettgenbach, T., Furcolow, C. A., Goodall, M. J., Slate, D., Chipman, R. B., Snow, J. L., DeLiberto, T. J. 2005. Evaluation and significance of tetracycline stability in rabies vaccine baits. *Journal of wildlife disease*. 41. 549 – 558.

Kamiya, M. 2007. Collaborative control initiatives targeting zoonotic agents of alveolar echinococcosis in the northern hemisphere. *Journal of veterinary science*. 8 (4). 313 – 321.

Kamiya, M., Lagapa, J. T., Oku, Y. 2007. Research on targeting sources of alveolar echinococcosis in Japan. *Comparative immunology, microbiology & infectious diseases*. 30. 427 – 448.

Karamon, J., Sroka, J., Cencek, T. 2010. Limit of detection of sedimentation and counting technique (SCT) for *Echinococcus multilocularis* diagnosis, estimated under experimental conditions. *Experimental parasitology*. 124 (2). 244 – 246.

Lawson, K. F., Chiu, H., Matson, M., Bachmann, P., Campbell, J. B. 1992. Studies on efficacy and stability of a vaccine bait containing ERA strain of rabies virus propagated in a BHK-21 cell line. *Canadian journal of veterinary research*. 56. 135 – 141.

Lenská, B., Svobodová, V. 2003. Detekce koproantigenů tasemnic rodu *Echinococcus* u psů v České republice. *Veterinářství*. 53. 53 – 57.

Martínek, K., Kolářová, L., Červený, J., Andreas, M. 1998. *Echinococcus multilocularis* (Cestoda: Taeniidae) in the Czech Republic: The first detection of metacestodes in naturally infected rodent. *Folia parasitologica*. 45. 332 – 333.

Martínek, K., Kolářová, L., Červený, J. 2001. *Echinococcus multilocularis* in carnivores from the Klatovy district of the Czech Republic. *Journal of helminthology*. 75. 61 – 66.

Milch, R. A., Rall, D. P., Tobie, J. E. 1957. Bone localization of the tetracyclines. *Journal of the national cancer institute*. 19. 87 – 93.

- Miterpáková, M., Dubinský, P., Reiterová, K., Machková, N., Várady, M., Šnábel, V. (2003). Spatial and temporal analysis of the *Echinococcus multilocularis* occurrence in the Slovak Republic. *Helminthologia*. 40. 217 – 226
- Nonaka, N., Kamiya, M., Oku, Y. 2005. Towards the control of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host in Japan. *Parasitology international*. 2006 (55). 263 – 266.
- Pavlásek I. 1998. Aktuální situace ve výskytu měchožila větveného *Echinococcus multilocularis* u lišek v Evropě a v České republice. *Klinická mikrobiologie*. 2. 233 – 240.
- Pavlásek, I. 2011. Psík mývalovitý – nový hostitel tasemnice měchožila větveného. *Myslivost*. 2. 71.
- Romig, T., Dinkel, A., Mackenstedt, U. 2006. The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitology international*. 55. 187 – 191.
- Romig, T., Bilger, B., Dinkel, A., Merli, M., Thoma, D., Will, R., Mackenstedt, U., Lucius, R. 2007. Impact of praziquantel baiting on intestinal helminths of foxes in southwestern Germany. *Helminthologia* 44. 137 – 144.
- Schweiger, A., Ammann, R. W., Candinas, D., Clavien, P. A., Eckert, J., Gottstein, B. 2007. Human alveolar echinococcosis after fox population increase, Switzerland. *Emerging infectious diseases*. 13. 878 – 881.
- Stehr-Green, J. K., Stehr-Green, P. A., Schantz, P. M., Wilson, J. F., Lanier, A. 1988. Risk factors for infection with *Echinococcus multilocularis* in Alaska. *American journal of tropical medicine and hygiene*. 38. 380 – 385.
- Svobodová, V., Lenská, B., 2004. Prevalence of *Echinococcus multilocularis* in out door cats in West Bohemia. *Helminthologia*. 41 (4). 221 – 222.

Tackmann, K., Loschner, U., Mix, H., Staubach, C., Thulke, H., Ziller, M. 2001. A field study to control *Echinococcus multilocularis* - infections of the red fox (*Vulpes vulpes*) in an endemic focus. *Epidemiology and infectious*. 127. 577 – 87

Tackmann, K., Mattis, R., Conraths F. J. 2006. Detection of *Echinococcus multilocularis* in foxes: evaluation of a protocol of the intestinal scraping technique. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*. 53 (8). 395 – 398

Takahashia, K., Uraguchia, K., Hatakeyamab, H., Giraudoux, P., Romigd, T. 2013. Efficacy of anthelmintic baiting of foxes against *Echinococcus multilocularis* in northern Japan. *Veterinary parasitology*. 198. 122 – 126.

Thompson, R. C. A., McManus, D. P. 2002. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends in parasitology*. 18. 452 – 457.

Thompson, R. C. A., Kapel, C. M., Hobbs, R. P., Deplazes, P. 2006. Comparative development of *Echinococcus multilocularis* in its definitive hosts. *Parasitology*. 132. 709 – 716.

Torgerson, P. R., Schweiger, A., Deplazes, P., Pohar, M., Reichen, J., Ammann, R. W., Tarr, P. E., Halkik, N., Mullhaupt, B., 2008. Alveolar echinococcosis: from a deadly disease to a well-controlled infection. Relative survival and economic analysis in Switzerland over the last 35 years. *Journal of hepatology* 49. 72 – 77.

Tsukada, H., Morishima, Y., Nonaka, N., Oku, Y., Kamiya, M. 2000. Preliminary study of the role of red foxes in *Echinococcus multilocularis* transmission in the urban area of Sapporo, Japan. *Parasitology*. 120. 423 – 428.

Tsukada H, Hamazaki K, Ganzorig S, Iwaki T, Konno K, Lagapa JT, Matsuo K, Ono A, Shimizu M, Sakai H, Morishima Y, Nonaka N, Oku Y, Kamiya M. 2002. Potential remedy against *Echinococcus multilocularis* in wild red foxes using baits with anthelmintic distributed around fox breeding dens in Hokkaido, Japan. *Parasitology*. 125. 119 – 129.

Umhang, G., Woronoff-Rhen N., Combes, B., Boué F. 2011. Segmental Sedimentation and Counting Technique (SSCT): An adaptable method for qualitative diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in fox intestines. *Experimental parasitology*. 128 (1). 57 – 60.

Weiss, A. Th. A., Bauer, C., Köhler, K. 2010. Canine alveolar echinococcosis: morphology and inflammatory response. *Journal of comparative pathology*. 143. 233 – 238

Yimam, A. E., Nonaka, N., Oku, Y., Kamiya, M. 2002. Prevalence and intensity of *Echinococcus multilocularis* in red foxes (*Vulpes vulpes schrencki*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides albus*) in Otaru City, Hokkaido, Japan. *Japanese journal of veterinary research*. 49. 287 – 296.