

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství (FAPPZ)



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Paraziti drobných savců s důrazem na tasemnice rodu
*Echinococcus***

Bakalářská práce

Johana Nová

Zoorehabilitace a asistenční aktivity se zvířaty

prof. Ing. Ivana Jankovská, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Paraziti drobných savců s důrazem na tasemnice rodu *Echinococcus* " jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Ivaně Jankovské, Ph. D. za vytrvalou pomoc, cenné rady, ochotu při častých dotazech a celkově pomoc s vedením mojí bakalářské práce.

Paraziti drobných savců s důrazem na tasemnice rodu *Echinococcus*

Souhrn

Tasemnice rodu *Echinococcus* jsou původcem závažného onemocnění, alveolární echinokokózy, které se vyskytuje i u člověka. Léčba této nemoci je velmi náročná a využívá se několik metod, od využití antihelmintik po chirurgický zákrok. Měchožilové jsou drobní červi měřící několik milimetrů, kteří jako své mezihostitele využívají drobné savce, např. hraboše, myšice, hryzce nebo normíky rudé, a jako finální hostitele pak hlavně lišky obecné (*Vulpes vulpes*).

Cílem této práce bylo vypracování literární rešerše na dané téma a také zpracování a vyhodnocení výsledků pitvy hlodavců z Jihovýchodních Čech (Křižanovská vrchovina). Porovnání výsledků studií ostatních autorů a našimi zjištěními bylo využito k možnému vysvětlení nízké prevalence tasemnice rodu *Echinococcus* u potencionálních mezihostitelů (myšic a hrabošů).

V literární rešerši byli popsáni nejdříve paraziti drobných savců obecně s konkrétními příklady parazitů využívajících drobné savce jako mezihostitele i jako definitivní hostitele. Podrobněji se pak tato kapitola věnovala hlavně měchožilu bublinatému (*Echinococcus multilocularis*) a jeho způsobu šíření, vlivu infekce na mezihostitele a definitivní hostitele, přenosu měchožila bublinatého (*E. multilocularis*) na hostitele a možnosti prevence a léčby alveolární echinokokózy, kterou infekce měchožilem způsobuje. Popsán byl i vliv infekce měchožila bublinatého (*E. multilocularis*) a imunitní odpověď mezihostitele na tuto infekci.

Z výsledků pitvy myšic a hrabošů v oblastech Křižanovské vrchoviny, konkrétně Svaté hory-Smrky (Ořechov), Svaté hory-Buků, Svaté hory-Louky (Ořechov), Bojanova-Smrky a Bojanova-Buků je zřejmé, že nízká prevalence není výjimkou ani v České republice. Pozitivní byl jeden kus (boubel na játrech), později určen jako larvální stádium tasemnice *Versteria mustelae*, ne *Echinococcus*.

Klíčová slova: *Echinococcus*, paraziti, tasemnice, mezihostitel, drobný savec, prevalence

Small mammals parasites with emphasis on *Echinococcus* tapeworms

Summary

Tapeworms of the genus *Echinococcus* are the causative agent of a serious disease, alveolar echinococcosis, which also occurs in humans. The treatment of this disease is very challenging and several methods are used, ranging from the use of anthelmintics to surgery. Hookworms are tiny worms measuring a few millimetres in length that use small rodents, such as field mouse, yellow-necked mouse, northern water vole or bank vole, as intermediate hosts and mainly foxes (*Vulpes vulpes*) as final hosts.

The aim of this work was the preparation of a literature search on the given topic as well as the processing and evaluation of the results of the autopsy in South-East Bohemia (Křižanov Highlands). A comparison of the results of the studies and the mentioned autopsies was used to possibly explain the low prevalence of tapeworms of the genus *Echinococcus*.

In the literature search, parasites of small mammals in general were first described with specific examples of parasites using small mammals as intermediate or definitive hosts. In more detail, the chapter was mainly devoted to *Echinococcus multilocularis* and its mode of spread, the effect of infection on intermediate and definitive hosts, the transmission of *Echinococcus multilocularis* to the host and the possibility of prevention and treatment of alveolar echinococcosis caused by *Echinococcus multilocularis* infection. The effect of *Echinococcus multilocularis* infection and the inter-host immune response to this infection were also described.

From the results of the dissection of small mammals caught in the areas of Křižanov Highlands, especially Svatá Hora-Smrky (Ořechov), Svatá Hora-Buků, Svatá Hora-Louky (Ořechov), Bojanova-Smrky and Bojanova-Buky, it is clear that the low prevalence is not exceptional in the Czech Republic. Only one sample was tested positive (cysticercus on liver), later designated as the larval stage of tapeworm *Versteria mustelae*, not *Echinococcus*.

Keywords: *Echinococcus*, parasites, tapeworm, intermediate host, small mammal, prevalence

Obsah

1	ÚVOD	7
2	CÍL PRÁCE	8
3	LITERÁRNÍ REŠERŠE	9
3.1	PARAZITI DROBNÝCH SAVCŮ OBECNĚ	9
3.1.1	<i>Prvoci</i>	9
3.1.2	<i>Tasemnice</i>	9
3.1.3	<i>Hlístice</i>	11
3.2	TASEMNICE RODU <i>ECHINOCOCCUS</i>	12
3.2.1	<i>Jednotlivé druhy tasemnic rodu Echinococcus</i>	12
3.2.2	<i>Životní cyklus tasemnic rodu Echinococcus</i>	14
3.2.3	<i>Taxonomie tasemnic rodu Echinococcus</i>	15
3.2.4	<i>Šíření Echinococcus multilocularis</i>	18
3.2.5	<i>Vliv infekce Echinococcus multilocularis na reprodukci meziphostitele</i>	25
3.2.6	<i>Přenos Echinococcus multilocularis z meziphostitele na definitivního hostitele</i>	26
3.2.7	<i>Vliv ekologických a biologických faktorů na přenos Echinococcus multilocularis</i>	29
3.3	IMUNOLOGICKÁ ODPOVĚĎ MEZIHOSTITELE NA INFEKCI MĚCHOŽILEM BUBLINATÝM (<i>ECHINOCOCCUS MULTILOCULARIS</i>)	31
3.4	PREVENCE A LÉČBA NAPADENÍ MĚCHOŽILEM BUBLINATÝM (<i>ECHINOCOCCUS MULTILOCULARIS</i>)	35
3.4.1	<i>Chirurgická resekce echinokoka</i>	37
3.4.2	<i>Chemoterapie echinokoka</i>	38
3.4.3	<i>Perkutánní punkce echinokoka</i>	39
3.4.4	<i>Programy prevence echinokokózy</i>	39
4	METODIKA	42
4.1	PŮVOD ODCHYCENÝCH ZVÍŘAT	42
4.2	HELMINTOLOGICKÁ PITVA	42
5	VÝSLEDKY	43
6	DISKUSE	44
7	ZÁVĚR	46
8	SLOVNÍK	47
9	LITERATURA	I

1 Úvod

Drobní savci jsou významnými mezihostiteli a paratenickými (rezervoárovými) hostiteli pro parazity masožravců jako jsou toxoplazma, měchožil nebo škrkavka. Sledování těchto parazitů u drobných savců může být využito k rozeznání roztoucího rizika pro zdraví jak člověka, tak zvířat. Nárůst zoonotických infekcí neboli infekcí přenášených na člověka z infikovaného zvířete v posledních letech vedl k vysokému zájmu veřejnosti o toto téma. Rozsah zamoření volně žijících savců patogeny a zejména parazity však není dobře znám (Riebold et al. 2020).

Tasemnice měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) je původcem alveolární echinokokózy (AE), což je jedno z nejzávažnějších parazitárních onemocnění člověka v Evropě (Romig 2009). V této oblasti je definitivním hostitelem hlavně liška obecná (*Vulpes vulpes*) a hlavními mezihostiteli jsou drobní hlodavci převážně z podčeledi hrabošovitých (Arvicolinae). Tento primárně sylvatický (přírodní, lesní) životní cyklus tasemnice rodu *Echinococcus* je založen na vztahu kořisti a predátora, kdy se protoskolex vyvíjí v dospělce ve střevěch lišky coby predátora po tom, co liška sežrala infekční kořist, která byla infikovaná parazitem ve stádiu boubel. Hlodavci jsou infikováni po požití vajíček měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) uvolněných do prostředí z liščího trusu. Larvální stádium se pak vyvíjí hlavně v játrech ve formě mikrocyst. Člověk je považován za náhodného hostitele, který bývá infikován larválním stádiem. Stejně jako u mezihostitelů se boubel vyvíjí skoro výhradně jen v játrech, kde má jeho růst destruktivní vliv. Může však ovlivnit i jiné orgány vlivem infiltrace nebo metastázemi (Eckert et al. 2001). Člověku, který může být asymptomaticky klidně i 15 let, může být diagnostikována alveolární echinokokóza v důsledku manifestace symptomů nebo jen shodou okolností (Umhang et al. 2021).

Alveolární echinokokóza (AE) je u člověka způsobena larválním stádiem (metacestodou) tasemnice měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), který vykazuje nádorový růst, zpočátku na játrech, s potenciálem vyvolat závažné onemocnění. Výskyt měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v evropských zemích postupně roste. Jak již bylo zmíněno, hlavními definitivními hostiteli jsou lišky, infikovaní mohou být ale i psi nebo kočky. Rostoucí populace lišek a jejich rostoucí migrace do městských oblastí jsou novými rizikovými faktory. Alveolární echinokokóza je závažné onemocnění hlavně z hlediska potenciálního rizika úmrtí pacienta, nákladné léčby a přetrvávajícího rizika infekce. To jsou hlavní důvody k zavedení koordinovaných systémů dozoru a hodnocení rizik v kombinaci s opatřeními ke snížení případů infekce u člověka (Eckert et al. 1999).

2 Cíl práce

Hypotéza: na játrech drobných savců se budou vyskytovat larvální stádia tasemnic.

Cíl: Porovnat výsledky vlastní pitvy s výsledky studií, které jsou součástí literární rešerše s cílem zjistit, zda jsou měchožilové přítomni ve vyšetřovaných meziphostitelích:

- 1) podle novějších vědeckých poznatků zpracovat literární rešerši na dané téma
- 2) vyhodnotit napadení drobných savců odchycených v Jihovýchodních Čechách.

3 Literární rešerše

3.1 Paraziti drobných savců obecně

Parazity drobných savců můžeme dělit podle způsobu jejich života na endoparazity (parazitující uvnitř těla hostitele) a ektoparazity (parazitující na hostiteli zevnějšku).

3.1.1 Prvoci

Cryptosporidium parvum

Cryptosporidium parvum je prvok patřící mezi střevní kokcidie, který může způsobit gastroenteritidu u zvířat a lidí. Infekce může způsobovat vodnaté průjmy, které spadají mezi hlavní příznaky infekce (Petry et al. 2010). Parazituje na epiteliálních buňkách hlavně v oblasti gastrointestinálního traktu u savců, ptáků, plazů a ryb. Přenáší se fekálně-orálně, například požitím kontaminované vody s oocystami (Taylor et al. 2015).

Lamblie střevní (*Giardia intestinalis*)

Lamblie střevní (*Giardia intestinalis*) je kosmopolitní zoonotický enteroparazit, který se vyskytuje zejména v prostředí se sníženými hygienickými podmínkami (Taylor et al. 2015). Parazituje v horní části tenkého střeva savců a jde také o jednoho z nejčastějších gastrointestinálních parazitů u člověka (Lalle et al. 2019).

Eimerie

Mezi další možné parazity patří i kokcidie rodu *Eimeria*, které mohou způsobovat průjmové onemocnění zvané kokcidióza. Příkladem je *Eimeria falciformis*, což je prvok parazitující ve střevech myši (Taylor et al. 2015).

3.1.2 Tasemnice

Dospělé tasemnice parazitují ve střevech finálních hostitelů. Jejich tělo se skládá ze scolexu (hlavičky), krčku a jednotlivých článků (Machado-Pinto & Laborne 2017). Jsou hermafroditní a každý článek nese dvě sady samčích a samičích pohlavních orgánů, které následovně produkují vajíčka uložená ve člancích. Ta jsou následovně vylučována trusem. Po požití vajíček mezihostitelem se v tenkém střevě uvolní larvy, které penetrují stěnu střeva, dostávají se do krve a jsou rozneseny po celém těle do různých orgánů (svalovina, játra, mozek, oči). Následovně se larva mění v boubel (cysticerkus). Definitivní hostitel se může nakazit právě požitím orgánů se zapouzdřeným boubelem. V definitivním hostiteli se potom ve střevě vyvíjí dospělý jedinec (Taylor et al. 2015).

Taeniidae je čeleď kruhovkovitých tasemnic. Mezi nejdůležitější rody patří tasemnice rodu *Taenia*, které parazitují zejména u hospodářských zvířat jako jsou ovce nebo skot, a tasemnice (měchožilové) rodu *Echinococcus*. Dospělci jsou ve většině případů červi, kteří parazitují v tenkém střevě domácích masožravců nebo člověka. Rod *Echinococcus* zahrnuje tasemnice, které jako mezihostitele využívají zvířata od hlodavců po drůbež, a jako

definitivního hostitele napadají hlavně masožravce (psovité a kočkovité šelmy) (Taylor et al. 2015). Jednotlivé druhy tasemnice rodu *Echinococcus* jsou popsány v následující kapitole.

3.1.2.1 Tasemnice parazitující u drobných savců v larválním stádiu

Kromě rodu *Echinococcus*, kterému jsou věnovány další kapitoly, se může u drobných savců vyvíjet také larvální stádium tasemnice kočičí (*Taenia Taeniaeformis*) a některých dalších tasemnic rodu *Taenia* nebo rodu *Mesocestoides*.

Tasemnice kočičí (*Taenia taeniaeformis*)

Tato tasemnice využívá drobné savce, například potkany, krysy nebo myši, jako mezihostitele. Infekce laboratorních potkanů bývá spíše ojedinělá. Nákaza touto tasemnicí se projevuje například snížením plodnosti jak u samců, tak u samic potkanů, nebo zvětšeným břichem. K infekci mezihostitelů dochází pozřením embryonálních vajíček, která jsou vylučována výkaly definitivním hostitelem, v tomto případě kočkou. Larvy onkosféry se po pozření dostávají z tenkého střeva do jater, kde rostou, a během 30 dní se vyvinou boubel. Během larválního vývoje v mezihostiteli se boubel, nebo také cysticerkus, mění na strobilocerkus, což je larvální stádium tasemnice kočičí. Strobilocerkus je pro definitivního hostitele infekční zhruba 60 dní po infekci (p.i.). K přenosu na definitivního hostitele dochází pozřením infikovaných jater. Po pozření zůstane nestrávený scolex, který se přichytí na střevní stěnu. Dospělí červi pak mohou v organismu přežít až 3 roky po infekci (Baker et al. 2006).

Hydatigera kamiyai

Tasemnice *Hydatigera kamiyai* je poměrně nový druh, který je rozšířen po celé Evropě až po západní Sibiř, s jedním ojedinělým dosud nevysvětleným nálezem v Japonsku (Milevic et al. 2023).

Tasemnice norčí (*Mesocestoides lineatus*)

Životní cyklus této tasemnice zahrnuje dva mezihostitele (primární a sekundární) a definitivního hostitele. Jako primární mezihostitelé jsou využíváni například roztoči a jako sekundární mezihostitelé jsou to ptáci, plazi a drobní savci. V břišní dutině mezihostitele tvoří tato tasemnice tetrathyridium, neboli boubel. Definitivními hostiteli jsou pak masožravci jako psi, kočky a volně žijící masožravci (Cho et al. 2013).

Mesocestoides litteratus

Tato tasemnice má podobný životní cyklus jako *Mesocestoides lineatus*, přičemž definitivními hostiteli jsou především lišky. Prevalence tohoto druhu v Evropě se pohybuje kolem 10 % (Umhang et al. 2021).

Versteria mustelae (syn. *Taenia mustelae*)

Versteria mustelae je tasemnice, která spadá do nově vytvořeného rodu *Versteria* (Nakao et al. 2013). Jde o 10 cm dlouhou tasemnici. Mezi mezihostitele patří myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*), norník rudý (*Myodes glareolus*), hraboš polní (*Microtus arvalis*), nebo hryzec vodní (*Arvicola terrestris*). Tito drobní savci pak nakazí definitivní hostitele – nejčastěji

lasticovité šelmy, jako jsou např. kuna lesní (*Martes martes*), kuna skalní (*Martes foina*), nebo lasice kolčava (*Mustela nivalis*) (Deplazes et al. 2019). Dle výsledků autorů Lee et al. (2016) je pravděpodobné, že tato tasemnice má podobný zoonotický potenciál jako *Echinococcus multilocularis*.

3.1.2.2 Tasemnice parazitující u drobných savců v dospělém stádiu

Tasemnice dětská (*Rodentolepis nana*)

Tasemnice dětská, nebo taky *Hymenolepis nana*, je drobná tasemnice (2,5-4 cm). Jako definitivní hostitelé jsou využívány krysy nebo myši, případně i člověk. K přenosu dochází prostřednictvím potěmníků moučných (*Tenebrio molitor*), larev či dospělců mūr, švábů, much anebo stonožek (Montgomery & Sapp 2022). Hlavička je opatřena čtyřmi přísavkami a zatahovacím chobotkem se 20-30 háčky k uchycení. Vývojový cyklus může být i přímý s vývojem v tenkém střevě hostitele (Taylor et al. 2015).

Hymenolepis diminuta

Tato tasemnice se vyznačuje typickým dvouhostitelským cyklem, přičemž jako mezihostitele využívá, podobně jako předchozí tasemnice dětská, potěmníky moučné (Taylor et al. 2015). Mohou být nakaženi i švábi nebo například mouchy. K infekci mezihostitelů dochází pozřením výkalů krys. Člověk, zejména pak děti, se může nakazit infikovaným jídlem jako jsou cereálie nebo ovoce. Mezi projevy infekce u člověka řadíme průjemy, bolest břicha, křeče nebo nespavost.

Paranoplocephala (Anoplocephalidae)

Rod *Paranoplocephala* zahrnuje několik desítek druhů, z nichž většina parazituje na hryzcích a hraboších v holarktické oblasti Euroasie. Tyto tasemnice dosahují rozměrů 96-270 mm v závislosti na konkrétním druhu. Je popsán například druh *Paranoplocephala etholeni*, který parazituje na hraboši lučním (*Microtus pennsylvanicus*) na Aljašce a ve Wisconsinu v USA. Tento druh je hostitelsky specifický a lokálně vzácný s širokým, avšak sporadickým geografickým rozšířením v Severní Americe (Haukisalmi et al. 2022). Další zástupce *Paranoplocephala bairdi* parazituje na hraboších rodu *Phenacomys* spp. (heather vole) a *Arborimus* spp (tree vole), což jsou hraboši vyskytující se v oblastech Severní Ameriky. Jde o druh se širokým geografickým rozšířením v rámci USA (Haukisalmi et al. 2006).

3.1.3 Hlístice

Tenkohlavec (*Trichuris*) je hlístice, která parazituje zejména na různých savcích, včetně hlodavců, jakožto nejrozmanitějším řádu savců. Vyskytuje se v tlustém střevě a má přímý vývoj, tzn. bez mezihostitele. Svoji přední částí je zavrtán do střešní sliznice. Při slabých infekcích jsou příznaky nespecifické, avšak při silných se může vyskytovat i průjem nebo otoky (Petruzela et al. 2021).

Kapilárie jsou drobné nitkovité hlístice, které parazitují na játrech hlodavců, zajíců, šelem a vzácně i na játrech člověka (Taylor et al. 2015). Druh *Capillaria hepatica* je hlístice dosahující rozměrů 10-50 mm. Na rozdíl od ostatních druhů má přímý vývoj a k nakažení

definitivního hostitele dochází pozřením infekčních vajíček. Může využívat i paratenického hostitele (hostitel, který stojí mimo vývojový cyklus parazita, uvnitř tohoto hostitele nedochází k žádnému vývoji parazita), v tomto případě žížaly. Definitivním hostitelem *Capillaria hepatica* je potkan a další druhy rodu *Rattus*.

Roupi rodu *Syphacia* parazitují v slepém střevě (caecum) a jsou kosmopolitní. Samci dosahují rozměrů v rámci 4–5 mm, samice 9-11 mm. U infikovaných jedinců se nemusí projevovat žádné příznaky i při nákaze větším počtem roupů, což může být problém v koloniích. *Syphacia* spp. mají přímý životní cyklus, který trvá 11-15 dní (Baker 2007). Životní cyklus roupů zahrnuje gravidní samice migrující ze slepého střeva k rektu, kde kladou vajíčka. Vajíčka jsou životaschopná po dobu několika týdnů a zůstávají v okolí řitního otvoru. Hostitel se obvykle nakazí pozřením vajíček, která se stávají infekčními zhruba do šesti hodin od pozření. Jako další se líhnou larvy v tenkém střevě, které následně dospívají ve slepém střevě v rámci 10-11 dní (Otto et al. 2015).

Hlístice rodu *Heligmosomoides* jsou střevní paraziti, kteří mohou způsobovat změny v žaludeční stěně drobných savců. Příkladem je druh *Heligmosomoides polygyrus* parazitující na myších (Šulc 1930). Životní cyklus je přímý. Po pozření infikovaných vajíček se vyvíjí larvy, které procházejí tkáněmi do tenkého střeva, kde dospívají. Dospělci se živí složkami tkání.

Druhým zástupcem hlístic je rodu *Heligmosomoides* je druh *Nippostrongylus brasiliensis*. Dospělci tohoto druhu se vyznačují jasně červeným zabarvením. Vývojový cyklus je opět přímý, kdy jsou jako hostitelé využívány krysy nebo myši. Larvy migrují přes kůži a plíce do střev, kde se vyvíjejí dospělci (Marchiondo et al. 2020).

3.2 Tasemnice rodu *Echinococcus*

3.2.1 Jednotlivé druhy tasemnic rodu *Echinococcus*

Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*)

Měchožil bublinatý je velmi podobný měchožilu zhoubnému (*Echinococcus granulosus*), ale tělo je tvořeno třemi až pěti segmenty, přičemž poslední článek netvoří více než polovinu celkové délky těla. Scolex je opatřen čtyřmi přísavkami a dvojitou řadou drobných háčků. Měchožil bublinatý parazituje zejména na divoce žijících zvířatech, avšak může napadat i domácí zvířata, jako je například pes domácí, který je pak využíván jako definitivní hostitel. K nakažení mezihostitele dochází pozřením vajíček s larvou onkosférou, která poté putuje do jater, kde se z onkosféry vyvíjí boubel (stádium metacestody). Cyklus je uzavřen v momentě, kdy definitivní hostitel sežere infikovaného mezihostitele s boubelem. V definitivním hostiteli se pak dospělý červ vyvine v rámci zhruba pěti týdnů a následovně parazituje ve střevě po dobu až šesti měsíců (Taylor et al. 2015).

Eliminace měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u jeho hostitelů z řad volně žijících zvířat je nepraktická, proto je třeba vyhýbat se kontaktu se psy a liškami v oblastech, kde je infekce endemická. Prevence infekce u lidí závisí na osvětě zaměřené na zlepšení hygieny a sanitace. Infekci u psů a koček náchylných ke konzumaci infikovaných hlodavců lze předcházet měsíčním ošetřením praziquantem, což je anthelmintikum ze skupiny

chinolinových derivátů působící proti tasemnicím nebo motolicím. U drobných hlodavců chovaných v domácím či laboratorním prostředí bývá nákaza cizopasnými červy spíše ojedinělá, pokud nejsou zvířata v prostředí, kde jsou v kontaktu s infekčními stádii nebo divokými zvířaty. Z toho důvodu jsou paraziti nalézáni převážně u divoce žijících jedinců. Pokud se ovšem infekce projeví i u jedinců žijících v domácím prostředí, pak se k léčbě využívá například fenbendazol a mebendazol (Moro & Schantz 2009).

Měchožil zhoubný (*Echinococcus granulosus*)

Dalším zástupcem tohoto rodu je měchožil zhoubný (*Echinococcus granulosus*). Kvůli malým rozměrům měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) (do 6 mm) je velmi obtížné jej ve střevě lokalizovat. Tělo se skládá ze scolexu, neboli hlavičky, a tří až čtyř segmentů, z nichž v posledním probíhá vývoj vajíček a tvoří více jak polovinu délky jedince. Na scolexu se nachází rostellum, neboli chobotek, který je opatřen dvěma řadami třiceti až šedesáti háčků (Taylor et al. 2015).

Měchožil zhoubný (*Echinococcus granulosus*) je etiologickým agens cystické echinokokózy, což je jedna z nejpatogeničtějších helmintických zoonóz. Člověk může být také nakažen s velice vážným vlivem na jeho zdravotní stav (Thompson 2008).

Echinococcus equinus

Echinococcus equinus je považován za druh echinokoka, který parazituje na koních. Jde o tasemnici vyvinutou z měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*). Infekce *Echinococcus equinus* způsobuje cystickou echinokokózu, v důsledku čehož může být tento měchožil velmi nebezpečný pro člověka (Monge-Maillo et al. 2019).

Echinococcus ortleppi

Echinococcus ortleppi byl dříve považován za kmen měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) parazitující na dobytku. Kromě skotu mohou být infikováni i buvoli, velbloudi, ovce, prasata, kozy, opice a jeleni. Pokud dojde k infekci člověka náhodným pozřením vajíček parazita, vznikají vlivem infekce *Echinococcus ortleppi* boubele v játrech nebo plicích (Taylor et al. 2015).

Echinococcus oligarthrus

Echinococcus oligarthrus je jednou z nejdrobnějších tasemnic tohoto rodu, jelikož dospělec dorůstá maximálně do velikost 2,5 – 3 mm. Stejně jako u předchozí tasemnice tvoří jeho tělo tři segmenty. Cykly *Echinococcus oligarthrus* a *Echinococcus vogeli* se vyskytují u divoké zvěře a jsou morfologicky podobné cyklu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). *Echinococcus oligarthrus* způsobuje v Panamě, Peru, Ekvádoru, Kolumbii, Venezuele a Brazílii malý počet případů polycystické echinokokózy (Taylor et al. 2015). Arrabal et al. (2017) ve své studii uvádí jako salvatické hostitele na území Argentiny aguti (*Dysaprocta azae*), oceloty (*Leopardus pardalis*) anebo pumy (*Puma concolor*).

Echinococcus vogeli

Echinococcus vogeli je velmi drobná tasemnice (4–6 mm), jejíž tělo je také tvořeno třemi segmenty (Taylor et al. 2015). Jak již bylo zmíněno, tato tasemnice způsobuje polycystickou formu echinokokózy. Hlavními mezihostiteli jsou pakoni, aguti a krysy ostnaté. Definitivním hostitelem bývá nejčastěji pes domácí (*Canis familiaris*) (Meneghelli et al. 1992). V endemických oblastech jsou lovečtí psi často krmeni syrovými vnitřnostmi paků; takto nakažení psi pak mohou vystavit člověka infekci. *Echinococcus vogeli* se vyskytuje ve vlhkých tropických lesích ve střední a severní Jižní Americe (Moro & Schantz 2009).

Charakteristiky polycystické echinokokózy jsou na pomezí mezi charakteristikami cystické a alveolární formy. Poměrně velké cysty jsou vyplněny tekutinou a obsahují výtrusové tobolky s četnými protoskolexy. Primární lokalizací jsou játra, ale cysty se mohou šířit i do dalších orgánů, jako jsou plíce, mezenterium, slezina nebo slinivka břišní (Meneghelli et al. 1992).

Protože *Echinococcus vogeli* má společné antigeny s ostatními druhy *Echinococcus* spp, většina v současnosti dostupných imunodiagnostických testů neumožňuje druhovou diagnózu. Cysty *Echinococcus vogeli* se však od cyst ostatních druhů odlišuje rozměry háčeků na protoskolexu (Moro & Schantz 2009). Vzhledem k tomu, že léze v případě polycystické echinokokózy jsou velmi rozsáhlé, je chirurgická resekce vždy obtížná a obvykle neúplná. Nejpravděpodobnější je kombinace chirurgického zákroku s léčbou albendazolem. Zásady léčby cystických a alveolárních echinokokóz platí i pro polycystickou echinokokózu.

3.2.2 Životní cyklus tasemnic rodu *Echinococcus*

Životní cyklus *Echinococcus* spp. zahrnuje psy a jiné psovité šelmy jako definitivní hostitele pro střevní tasemnici a domácí a volně žijící kopytníky jako mezihostitele pro stádium metacestody, která proniká do tkání. Metacestoda (echinokoková larvocysta) je tekutinou naplněná, kulovitá, unilokulární cysta, která se skládá z vnitřní zárodečné vrstvy buněk podepřené charakteristickou acidofilně zbarvenou, acelulární, laminovanou membránou proměnlivé tloušťky. Malé vezikuly zvané “brood capsules“ vyrůstají ze zárodečné vrstvy a asexuálním dělením produkují mnohočetné zárodky malých tasemnic neboli protoskolexy. U člověka mohou pomalu rostoucí cysty dosáhnout objemu několika litrů a obsahovat tisíce protoskolexů (Moro & Schantz 2009). Časem se mohou vytvořit vnitřní septace a dceřiné cysty, které naruší unilokulární vzor typický pro mladé echinokokové cysty. Dospělý měchožil zhoubný (*Echinococcus granulosus*) (3–6 mm dlouhý) se zdržuje v tenkém střevě definitivních hostitelů, psů nebo jiných psovitých šelem. Gravidní proglotidy (články) uvolňují vajíčka, která jsou vylučována výkaly. Po pozření vhodným mezihostitelem (v přírodních podmínkách: ovce, koza, prase, skot, koně, velbloud) se vajíčko vylíhne v tenkém střevě a uvolní larvu onkosféru, která proniká střevní stěnou a migruje oběhovým systémem do různých orgánů, zejména do jater a plic. V těchto orgánech se onkosféra vyvíjí v cystu, která se postupně zvětšuje a vytváří protoskolexy a dceřiné cysty, které vyplňují vnitřek cysty. Definitivní hostitel se nakazí pozřením orgánů infikovaného mezihostitele obsahujících cysty. Po pozření se protoskolexy evaginují, přichytí se na střevní sliznici a za 32–80 dní se vyvinou v dospělá stádia.

Stejný životní cyklus probíhá u měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) (1,2 až 3,7 mm) s těmito rozdíly: definitivními hostiteli jsou lišky a v menší míře psi, kočky, kojoti a vlei; mezihostiteli jsou drobní hlodavci; larvy (v játrech) zůstávají po neomezenou dobu v proliferativním stádiu, což vede k invazi do okolních tkání. U *Echinococcus vogeli* (až 5,6 mm dlouhý) jsou definitivními hostiteli psi; mezihostiteli jsou hlodavci; a larvální stádium (v játrech, plicích a dalších orgánech) se vyvíjí jak zevně, tak uvnitř, což vede ke vzniku mnohočetných puchýřků. *Echinococcus oligarthrus* (až 2,9 mm dlouhý) má životní cyklus, který zahrnuje divoké kočkovité šelmy jako definitivní hostitele a hlodavce jako mezihostitele. Člověk se nakazí pozřením vajíček, což má za následek uvolnění onkosfér ve střevě a vývoj cyst v různých orgánech (Moro & Schantz 2009).

Je třeba vzít v potaz, že tasemnice rodu *Echinococcus* má unikátní reprodukční systém. Dospělí červi jsou hermafroditní s nepohlavním rozmnožováním (klonováním) v larválním stádiu. Tento jedinečný reprodukční proces může být zodpovědný za generování variací na úrovni rodu a druhu. Ve skutečnosti se předpokládá, že jsou mutace přenášeny samooplozením (autogamie u jednotlivých červů nebo geitonogamie, což je druh samooplození). Amplifikace nepohlavní proliferací v mezihostiteli by také mohla vést k vytvoření různých variant (Smyth & Smyth 1964). Nedávná data populační genetiky také naznačují, že ke křížení červů dochází v sympatrických populacích, což jsou populace vyvíjející se ze stejné původní populace na stejném území, i když zřídka (Nakao et al. 2003).

Jako součást studie autorů Casulli et al. (2012) byla provedena analýza 3-4 cyst každého ze sedmi zvířat (většinou skot jako mezihostitel), kdy každá vykazovala smíšenou infekci s dvěma různými haplotypy u jednoho jedince skotu (haplotypy EG4 a EG7 a haplotypy EG1 a EG3). Nález různých haplotypů v jednom mezihostiteli nepřímo nasvědčuje tomu, že křížení mezi různými dospělými červy probíhá v definitivním hostiteli.

3.2.3 Taxonomie tasemnic rodu *Echinococcus*

Klasifikace a taxonomie tasemnic rodu *Echinococcus* je kontroverzní již několik desetiletí kvůli nedostatku fenotypových znaků a nedostatku důkazů pro geografickou nebo ekologickou segregaci (Nakao et al. 2007, 2010; Thompson 2008). Na základě fylogenetických studií však byl stav druhů přehodnocen a potvrzen u měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*), měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) a u měchožilů *Echinococcus oligarthrus* a *Echinococcus vogeli* (Thompson 2008). Navíc druhy *Echinococcus felidis* a *Echinococcus shiguicus* byly potvrzeny jako sesterské druhy měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) sensu stricto a měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) (Xiao et al. 2005; Nakao et al. 2007; Hüttner et al. 2008).

Existují geograficky odlišné kmeny měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) s různou afinitou k hostiteli. Molekulární studie využívající sekvence mitochondriální DNA identifikovaly v rámci měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) 10 odlišných genetických typů (G1-10). Patří mezi ně dva kmeny vyskytující se u ovcí (G1 a G2), dva kmeny u skotu (G3 a G5), jeden kmen u koní (G4), jeden kmen u velbloudů (G6), jeden kmen u prasat (G7) a jeden kmen u jelenovitých (G8). Devátý genotyp (G9) byl popsán u prasat v Polsku a desátý kmen (G10) u sobů v Eurasii. Kmen ovcí (G1) je nejkosmopolitnější formou a je

nejčastěji spojován s lidskými infekcemi. Ostatní kmeny se zdají být geneticky odlišné, což naznačuje, že taxon měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) je parafyletický, což znamená, že jde o taxon, který zahrnuje společného předka, ale ne všechny potomky taxony. Je tedy možné, že tento taxon může vyžadovat taxonomickou revizi. Genotyp "cervid" neboli severní sylvatický (přírodní, lesní) genotyp (G8) se udržuje v cyklech zahrnujících vlky, psy, losy a soby v Severní Americe a Eurasii. Infekce člověka tímto kmenem se vyznačuje převážně plicní lokalizací, pomalejším a benignějším (nezhoubným) růstem a méně častým výskytem klinických komplikací, než je uváděno u ostatních forem. Přítomnost odlišných kmenů měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) má důležité důsledky pro veřejné zdraví. Zkrácená doba dozrávání dospělé formy parazita ve střevě psů naznačuje, že v oblastech, kde se vyskytují kmeny G2, G5 a G6, bude nutné zkrátit interval pro podávání antiparazitárních léčiv infikovaným psům (Moro & Schantz 2009).

Měchožil zhoubný (*Echinococcus granulosus*) je komplex genotypových druhů, které se liší z hlediska vzorců jejich životního cyklu a hostitelů (Thompson & McManus 2002). Biologické varianty měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) byly označeny jako kmeny (Thompson et al. 1995); molekulárně genetické studie toto označení podporují a vedly k identifikaci 10 genotypů v tomto taxonu (G1-G10), které byly již zmíněny. (Bowles et al. 1994; Scott et al. 1997; Thompson & McManus 2002). Na základě mitochondriální DNA (mtDNA) byl komplex měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) rozdělen na *Echinococcus granulosus sensu stricto* (genotypy G1-G3), *Echinococcus equinus* (G4), *Echinococcus ortleppi* (G5) a stále kontroverzní taxon *Echinococcus canadensis* (G6-G10) (Scott et al. 1997; Nakao et al. 2007; Thompson 2008). Možné hostitelské varianty *Echinococcus granulosus sensu stricto* zahrnují ovce (G1), tasvánskou ovci (G2) a buvolu (G3). Tyto tři genotypy mají širokou geografickou distribuci, vykazují nízkou specifičnost mezihostitele a vyskytují se sympatricky, což znamená, že jde o organismy jejichž areály výskytu se překrývají částečně nebo úplně. (Jenkins et al. 2005; Busi et al. 2007). V poslední době se nahlašují vyšší hodnoty genetické variability v mtDNA měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*), než byl dřívější předpoklad (Kamenetzky et al. 2002; Bart et al. 2006; Vural et al. 2008).

Genetická variabilita tasemnic rodu *Echinococcus* může odrážet rozdíly v infekčnosti pro odlišné hostitelské skupiny nebo druhy; proto je velmi důležité geneticky charakterizovat strukturu populace (Thompson & McManus 2002). mitochondriální DNA poskytuje vhodné genetické markery v populačních studiích, jelikož je haploidní, nerekombinační, rychle se vyvíjející a dědičná po matce (Brown et al. 1979). Z těchto důvodů je mitochondriální podjednotka 1 cytochrom c oxydázy (cox1, enzymatický membránový komplex, který oxiduje cytochrom c a vzniklou energii využívá k tvorbě protonového gradientu na membráně) vhodným kandidátem při klasifikaci intraspecifické genové variability měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*), a to i při krátké délce sekvencí (Bowles et al. 1992).

Například Nakao et al. (2010) detekovali 43 haplotypů mtDNA u 181 izolátů z oblasti Xinjiang a východní tibetské plošiny (Čína) v sekvencích 789 párů bází (bp) cox1 měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*). Na základě těchto výsledků autoři Nakao et al. (2010) předpokládali, že u měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) nedávno vznikl efekt

zakladatele po zavlečení jedinců do endemických oblastí přes antropogenní pohyb nebo přirozenou migraci jeho hostitelů.

Cílem studie Casulli et al. (2012) bylo prozkoumat mitochondriální variabilitu a populační genetickou strukturu měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) v evropských zemích jako jsou Bulharsko, Maďarsko, Rumunsko a Itálie. S výsledky z těchto zemí byly také porovnány výsledky z evropských a asijských zemí uváděných v literatuře, aby bylo možné popsat genetickou variabilitu tohoto parazita v Euroasii. Doposud jen málo studií do hloubky prozkoumalo genetickou diverzitu a strukturu populace měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) (Kamenetzky et al. 2002; Badaraco et al. 2008; Nakao et al. 2010). Tyto studie odhalily že gen *cox1*, v závislosti na jeho polymorfismu, je nevhodnějším prostředkem pro objevení genetické diverzity měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) na vnitrodruhové úrovni. Všechny tři známé genotypy (G1-G3) měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) byly nalezeny ve východoevropské i italské populaci. Navíc, 21 haplotypů (EG4-EG22, EG25 a EG26) bylo nalezeno ve východní Evropě a čtyři (EG7, EG22, EG23 a EG24) v Itálii; 10 z nich nebylo doposud zaznamenáno (EG7, EG9, EG11, EG12, EG13, EG15, EG16, EG17, EG19 a EG23). Tři kodóny (nukleotidové pozice 58-60, 68-70 a 259-261) zobrazovaly nejvyšší úroveň variability zaznamenanou u 26 haplotypů (EG1-EG26), což naznačuje, že tyto tři triplety mohou být využity pro jednodušší identifikaci haplotypu.

Pomocí vyhledávání podobnosti BLAST, což je nástroj používaný pro porovnávání sekvencí s knihovnou či databází sekvencí, při použití 26 haplotypů, bylo identifikováno 383 odpovídajících sekvencí pomocí databáze GenBank (komplexní veřejná databáze nukleotidových a proteinových sekvencí s podpůrnou bibliografickou a biologickou anotací) pod záštitou NCBI (Národní centrum biotechnologických informací) se 100 % identitou. Některé haplotypy jsou rozšířené celosvětově a jejich mezihostitelé se vyskytují sympatricky. Výsledky autorů Casulli et al. (2012) neposkytují důkaz pro žádnou statistickou korelaci mezi haplotypy, specifitou hostitele a plodností cyst ($P > 0.05$); nicméně, počet testovaných izolátů některých haplotypů je příliš nízký k získání epidemiologických informací. Je zajímavé, že genotyp G2 (haplotyp EG2) je celosvětově méně zastoupen než genotyp G1 a G3 (Haplotypy EG1 a EG3); zatímco haplotyp EG4 ukazuje distribuci podobnou distribuci haplotypů EG1 a EG3. Síť šetrnosti východoevropské populace měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) ukazuje, že populace má složitou strukturu s hlavním zakladatelským haplotypem (EG1), několika dalšími haplotypy v hvězdicovité konfiguraci a jednou větví s mnoha haplotypy (podskupina EG2-EG3). Navíc, některé haplotypy se zdají být evolučně vybrány kvůli mutacím základního haplotypu vedou k rozdílné aminokyselinové sekvenci. Je zde pozitivní korelace mezi přítomností nesynonymních substitucí a četností haplotypů. Například haplotyp EG4, která má druhou nejvyšší četnost (20,6 %) ve východoevropské populaci, je generován nesynonymní substitucí. Podobnou úvahu lze provést i pro větev (podskupina EG2-EG3), která zahrnuje dva haplotypy s třetí a pátou nejvyšší frekvencí v populaci (EG3, 14,8 % a EG2, 4,3 %) a pro haplotyp EG9, který má čtvrtou nejvyšší frekvenci (6,2 %) a je součástí hvězdicovité konfigurace.

Výsledky autorů Casulli et al. (2012), které jsou v souladu s výsledky předchozích studií, ve kterých byly zkoumány mikrovarianty, ukazují, že genotyp G1 je převládajícím haplotypem uvnitř různých populací měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*). V důsledku toho lze procenta tohoto genotypu použít jako nepřímý index k vyhodnocení genetické diverzity mezi populacemi měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*). Například v Euroasii lze pozorovat klinickou korelaci mezi procentem genotypu G1 a geografickými oblastmi: 100 % ve Španělsku (Andresiuk et al. 2009), 89 % v Portugalsku (Beato et al. 2010; Beato, osobní komunikace), 67 % v Itálii (Busi et al. 2007), 46 % v Rumunsku (Bart et al. 2006), 0-42 % v Turecku (Vural et al. 2008), 28 % v Íránu (Pour et al. 2011) a 72 % v Číně (zahrnuje pouze 351 bp z genu *cox1* z) (Nakao et al. 2010). Výsledky autorů Casulli et al. (2012) se shodují s těmito daty, ukazující 29,7 % genotypu G1 ve východoevropské populaci a 73 % v italské populaci. Tyto data naznačují, že genotyp G1 je vysoce zastoupený ve Středomoří; ve východní Evropě a jihozápadní Asii klesá, a naopak roste v Číně.

Tato klinická korelace mezi procentem genotypu G1 a geografickými oblastmi by mohla odrážet šíření měchožila počínaje domestikací hospodářských zvířat z jihozápadní Asie kolem roku 12 000 př.n.l. (Bradley & Magee 2006). Mezi mezihostiteli měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) byl u skotu s větší vzdáleností od centra domestikace pozorován klinický pokles genetické diverzity v rámci mtDNA: například populace skotu v západní Evropě vykazují nižší polymorfismus než populace na Blízkém východě (Troy et al. 2001). Podobný vzorec byl nalezen i u ovcí, kde difyletický vzor založený na markeru mtDNA ukázal dva odlišné klady pro Asii a Evropu (Jenkins et al. 2005). Šíření měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) by mohlo odrážet celosvětové migrace hospodářských zvířat, ke kterým docházelo v období od neolitu do současnosti (během 10 000 let). Je však možné, že obměna zvířat ve velkém měřítku v minulém století mohla mít malý vliv na distribuci haplotypů; dle názorů Casulli et al. (2012) je tento efekt zanedbatelný vzhledem k tomu, že se jedná o relativně krátkou dobu ve srovnání s tisíci lety šíření parazita v souvislosti s migracemi. Společná genetická struktura pro nepříbuzné populace haplotypů by mohla být vysvětlena hypotézou zachování polymorfismu předků (Nakao et al. 2010).

3.2.4 Šíření *Echinococcus multilocularis*

Tasemnice měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) je přenášena z drobných savců coby mezihostitelů na masožravé definitivní hostitele (psovití a kočkovití) predací (Rausch 1995). Liška obecná (*Vulpes vulpes*) je hlavním divoce žijícím hostitelem měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v Evropě. Hlodavci, zajícovci, ptáci, mršiny, hmyz a ovoce jsou hlavním zdrojem potravy lišek, ale složení potravy je závislé na ročním období, dostupnosti potravy na stanovišti a složení regionální komunity kořisti (Ferrari 1995; Dell'Arte et al. 2007). Odpověď predace lišek na změnu hustoty kořisti byla popsána v mnoha ekologických kontextech (Dell'Arte a kol 2007; Delibes-Mateos et al. 2008; Dupuy et al. 2009), ale následky funkční odpovědi na přenos měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) zůstává neprozkoumaný (Raoul et al. 2010).

Během posledních tří desetiletí vedlo pozorování infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných k popisu širšího distribučního vzorce v celé

Evropě s identifikací nových endemických států na severu jako jsou Dánsko a Švédsko, ale také států střední a východní Evropy včetně pobaltských států, Polska, Rumunska a Slovinska (Eckert et al. 2000, Romig et al. 2006, Romig 2009, Gottstein et al. 2015) Francie představuje současnou západní hranici, ale pouze severovýchodní polovina země je považována za endemickou. Liška obecná je sice hlavním hostitelem, na kterého se programy měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) zaměřují, ale průzkumy týkající se malých hlodavců mohou být také užitečné pro získání molekulárních údajů, zejména pokud je časově náročný odchyt již prováděn jako součást specializovaných programů pro kontrolu škůdců (Umhang et al. 2021).

Autoři studie Umhang et al. (2021) prováděli screening parazitických lézí v játrech 1238 hryzců vodních (*Arvicola terrestris*) pocházejících z historických, ale opomíjených ohniskových oblastí, které se nacházejí v centru Francie (region Auvergne), a z oblasti Hautes-Alpes, což je nedávno identifikovaná endemická oblast v jihovýchodní Francii. Tento screening identifikoval 6 hrabošů infikovaných měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) v oblasti Haues-Alpes, avšak žádného infikovaného hraboše z regionu Auvergne (Puy-de-Dome). Nepřítomnost infikovaných hrabošů v regionu Auvergne lze vysvětlit především obecně nízkou prevalencí zaznamenanou u mezhospitelů. Všechny infikované vzorky z oblasti Hautes-Alpes pocházejí ze stejného odchytového místa, které se nachází asi 5 km od místa sběru jednoho ze tří vzorků liščího trusu, který obsahoval DNA měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Tyto vzorky od lišek byly získány před 15 lety, čímž byla potvrzena existence a přetrvávání životního cyklu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v této oblasti. Všechny vzorky odebrané od hlodavců s výskytem měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) z oblasti Hutes-Alpes prokázaly stejný profil mikrosatelitního markeru EmsB. Tento profil byl v Evropě nejdříve popsán pouze v oblasti pohoří Jury (středovýchodní Francie), která se nachází minimálně 180 km severněji. Postupné migrace infikovaných lišek z historických ohniskových oblastí, od Jury po Hautes-Alpes, může vysvětlovat identifikaci parazita u hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) v oblasti Hautes-Alpes. Zemědělci odchyťávají hryzce (*Arvicola terrestris*) kvůli kontrole škůdců. To napomáhá v oblastech, kde je snaha provádět odchyt, jelikož odchyťování hlodavců zemědělci může být efektivním doplňkem odběru vzorků lišek nebo liščích exkrementů, které jsou pak využity k získání molekulárních profilů měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*).

Známa ohnisková oblast ve východní Francii byla nahlášena v roce 1890 (Vuitton et al. 2015), další ohniskové oblasti byly lokalizovány v regionu Auvergne (střední Francie) na počátku 80. let (Pétavy & Deblock 1983). Po zhruba 20 letech bez nových údajů o rozšíření tohoto parazita ve Francii bylo provedeno několik studií k identifikaci endemických oblastí (francouzská správní jednotka odpovídající úrovni NUTS3 v nomenklatuře NUTS Evropské unie). Tyto studie odhalily expanzi tehdy neznámých endemických oblastí směrem na západ po analýze 3307 vzorků ze střev lišek od roku 2005 do roku 2010 (Combes et al. 2012). Multilokusový satelit s názvem EmsB marker byl využit k analýze některých vzorků červů, kdy byla demonstrována postupná kolonizace nově objevených endemických oblastí, která se datuje nejméně několik desetiletí zpět ve spojení s migrací lišek (Umhang et al. 2014). Nedávná dostupnost spolehlivých molekulárních nástrojů poskytuje příležitost zavedení neinvazivních metod sledování. Retrospektivní analýzy využívající kopro-PCR (polymerase chain reaction)

na liščím trusu odebraném na počátku 21. století odhalily dvě další endemické oblasti (Umhang et al. 2016), z nichž jedna se nachází na severu Francie. Tyto oblasti jsou obklopené jinými známými endemickými územími a oblastí Hautes-Alpes jižně od hranice tehdy aktuálních endemických oblastí Francie (Umhang et al. 2021).

Jak již bylo zmíněno, hlavním zájmem sledovacích programů měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) v celé Evropě je jeho hlavní definitivní hostitel, liška obecná (Oksanen et al. 2016). Nedávné trendy v diagnostické metodice upřednostňují spíše použití neinvazivní detekce kopro-PCR, než tradiční metody seškrabu střev (Umhang et al. 2016, Beck et al. 2018). Údaje z infikovaných mezihostitelů mohou poskytnout další informace ze známých endemických oblastí, ačkoliv to často nemá značný význam pro pozorovací studie v oblastech neznámého endemického statusu. Zejména získání molekulárních dat ze vzorků trusu nebo dokonce analýza mikrosatelitů EmsB je velmi obtížná, pokud vajíčka měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) nejsou speciálně izolován. Hlavní nevýhodou výzkumu na mezihostitelích je obecně nízká nahlášená prevalence (Guraudoux et al. 2002), což vyžaduje značné úsilí při odchytu.

V západní Francii se analýzy prováděné na vzorcích jater nutrií a ondatr, které jsou odchytávány během větších odchytových operací, ukázaly jako užitečné pro získání relevantních epidemiologických údajů (Umhang et al. 2014). Více slibné jsou epidemiologické studie alveolární echinokokózy, jelikož místo výskytu vodních savců se ne zcela překrývá s místy výskytu lišek ani hryzce (*Arvicola terrestris*), který je hlavní kořistí lišek obecných a je také hlavním mezihostitelem měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) v Evropě. Tento druh hlodavců je ve Francii považován za škůdce a je proto cílem velkých odchytových operací, jejichž cílem je snížení poškození zemědělských plodin. Jelikož je v ohniskové oblasti regionu Auvergne a Hautes-Alpes (což je nově identifikovaná oblast na jižním okraji francouzských endemických oblastí) hryzců vodních (*Arvicola terrestris*) tolik, je zde tím pádem i dostatek exemplářů, což nabízí příležitost pro získání nového genetického materiálu měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*). Ve studii autorů Umhang et al. (2021) autoři zkoumali přítomnost měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) u hryzců vodních (*Arvicola terrestris*) z těchto dvou oblastí za účelem získání genotypizačních dat pomocí mikrosatelitního markeru EmsB, což může mít pozitivní vliv na úplné pochopení rozšíření této tasemnice ve Francii. Celkově bylo ve všech lokalitách pochytáno 1238 jedinců hryzců (*Arvicola terrestris*) z obou oblastí. Na 135 podezřelých lézích byla provedena molekulární analýza a byla potvrzena infekce měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) u šesti hrabošů z oblasti Hautes-Alpes ale naopak u žádného z oblasti Puy-de-Dome. Infekce jak jater, tak plic byla pozorována u jednoho hraboše, samotná játra byla zasažena u pěti jedinců. Čtyři infikovaní hraboši byli odchyceni v roce 2017 a dva další v roce 2018, což by odpovídalo prevalenci 0,8 % a 1,3 %. Navíc byla podobná prevalence nahlášená i u tasemnice *Hydatigera* sp. kolem 10 % a *Taenia crassiceps* kolem 0,2 % v oblasti Hautes-Alpes a v Puy-de-Dome. V poslední oblasti byla také pozorována tasemnice *Versteria mustelae* u 0,7 % hrabošů. Jen u pěti vzorků nebyla zaznamenána žádná amplifikace nebo nespecifická amplifikace.

Absence infikovaných hlodavců v oblasti Puy-de-Dome může být překvapivá, protože jde o jednu ze základních ohniskových oblastí výskytu alveolární echinokokózy v regionu Auvergne. Dříve hlášená prevalence měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných na počátku 80. let byla 7 % (Pétavy & Deblock 1983), po novějším výzkumu v sousední oblasti Cantal byla hlášena prevalence 9 % (Combes et al. 2012). Na větších plochách (např. krajinné měřítko) byla prevalence měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) u hrabošů v průměru extrémně nízká (např. 0,1 %) i ve vysoce endemických oblastech. Jednociferná procenta prevalence byla naměřena pouze u malých shluků pokrývajících několik metrů čtverečních (např. 20x20) (Giraudoux et al. 2002). Tyto shluky nelze detekovat a jsou často nalezeny náhodně rozmístěné. V takovémto kontextu může sběr vzorků snadno minout tyto shluky při vzorkování stovek hrabošů nahodile nebo v omezených oblastech navzdory vysoké snaze. Zajímavý je zejména současný status historického ohniska Auvergne vzhledem k tomu, že počet případů u lidí klesá (francouzský registr Echino, nepublikované údaje). Průzkum zaměřený na lišky obecné z celého regionu právě probíhá. Tato absence detekce, a tedy i dostupnost genetického materiálu měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) naznačuje, že přístup k mezihostiteli nemusí být vždy úspěšný, i když se v dané endemické oblasti vyskytuje (Umhang et al. 2021).

Pět ze šesti hryzců vodních (*Arvicola terrestris*) infikovaných měchožilem zhoubným (*Echinococcus multilocularis*) bylo odchyceno na stejném místě (La Grave), šestý hraboš pocházel ze skupiny 15 hrabošů z neidentifikovaného místa odchyty. Oblast La Grave se nachází přibližně 5 km od místa, kde byl před 15 lety od provedení studie odebrán jeden ze tří vzorků liščího trusu. Tyto vzorky byly pozitivní na infekci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) (Umhang et al. 2016). Tato konkominance potvrzuje perzistenci životního cyklu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v této oblasti. Všechny sedm profilů EmsB získaných ze vzorků odebraných od šesti infikovaných hlodavců (včetně vzorků plic z hlodavce, který měl infikované dva orgány), odpovídalo stejnému profilu EmsB. Tyto výsledky potvrzují předchozí zprávy o shodném profilu EmsB, který byl získán z infikovaných hlodavců odchycených na stejném poli v důsledku kontaminace výkaly jedné nebo více lišek (Knapp et al. 2007, 2012). Tento profil EmsB odpovídá dříve nahlášenému profilu EmsB, který byl získán ze středohorských oblastí pohoří Jury, nejméně 180 km severně. Nejčastějším byl profil EmsB (P22) (46 červů z 18 lišek), kdy bylo odebráno 142 červů z 44 lišek po celém území (Umhang et al. 2014). Postupné migrace infikovaných lišek z historických ohnisek ve východní Francii, včetně pohoří Jury, na jih od Hautes-Alpes může vysvětlovat záznam o parazitovi u hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) v této oblasti. Absence detekce tohoto profilu EmsB v oblastech mezi těmito dvěma oblastmi může být způsobena nízkým počtem genotypových vzorků. Pouze ve dvou oblastech byla prováděna studie, a to v oblastech Jury a Hautes-Alpes (35 červů z 11 lišek). Kromě toho nejsou dostupná žádná data EmsB z francouzsko-švýcarské hranice v Alpách. Nedávná zpráva o infekci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) vlků a pasteveckých psů ve východní Itálii (Massolo et al. 2018) je také zajímavá pro pochopení rozšíření parazita na jih Alp. Identifikace společných profilů EmsB z obou stran hranice může dle autorů Umhang et al. (2021) potvrdit expanzi ze severu na jih Francie a přechod do Itálie.

Hryzec vodní (*Arvicola terrestris*) hraje klíčovou roli v rozšíření měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v Evropě, zejména v Alpách (Guerra et al. 2014). Pokud tento mezihostitelský druh může být potencionálně použit pro detekci prezence parazita (Oksanen et al. 2016), pak již probíhající snahy o odchyt představují možnost získu chybějících molekulárních dat, zejména profily EmsB, ze známých endemických oblastí. Ačkoliv se nepodařilo poskytnout první molekulární data v oblasti původních ohnisek v regionu Auvergne, tak přesto tento pokus úspěšně potvrdil jižní expanzi parazita z východního ohniska. Spolu s dohledem Francie na šíření měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) založeném na liškách obecných mohou studie zabývající se mezihostiteli poskytnout molekulární data užitečná pro kompletní porozumění dynamice infekce tohoto parazita (Umhang et al. 2021).

V Polsku se první diagnóza měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek objevila v roce 1984 v Pomoránské provincii na severu země (Malczewski et al. 1995). Údaje ze zdravotního dozoru lišek získané v letech 1995-2000 celkem z deseti ze šestnácti provincií země zaznamenaly prevalenci od 0 do 7,3 % s nejvyšší hodnotou 18 % ve Warminsko-Mazurskie provincii na severovýchodě Polska. Nárůst prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) byl systematicky pozorován v šesti provinciích během roku 2000 a přesahoval 35 % ve dvou provinciích; Podkarpatí a Mazovská provincie (Borecka et al. 2008; Karamon et al. 2011). Národní dohled nad výskytem měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek byl prováděn v letech 2009-2013 (Karamon et al. 2014). Parazit byl identifikován ve všech provinciích, až na Provincii Opole. Prevalence byla od 2 do 50 %, s jasným rozdílem mezi územím s nízkým endemickým výskytem (od 2 do 6 %) v západní polovině a mezi územím s vysokým endemickým výskytem (12 až 50 %) ve východní polovině země. Dramatický nárůst prevalence byl pozorován ve východní polovině Polska od roku 2000. Další studie potvrzují stabilní vysokou prevalenci v provinciích s vysokým endemickým výskytem v rozmezí let 2007-2014, ale i nadále je značný nárůst prevalence i v provincii Opole, která spadá mezi oblasti s nízkým endemickým výskytem (Karamon et al. 2015). Rostoucí prevalence pozorovaná v letech od roku 2000 zvyrazňuje potřebu dalšího monitorování změn v míře infekce napříč celou zemí a potřebu porozumět tomuto fenoménu. Také nárůst populace lišek v Polsku, který se za posledních 10-15 let zčtyřnásobil obzvláště kvůli vymýcení vztekliny, může přispět ke zvýšení prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Toto ale není absolutní faktor, jelikož na západě Polska nebyl pozorován žádný vliv zvýšeného počtu lišek. Zatímco probíhal sběr dat k pochopení prostorového vývoje epidemiologické situace ve dvou polovinách Polska, který ukazoval na značné rozdíly v hodnotách prevalence u lišek, bylo rozhodnuto o vyšetření genetické diverzity měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) (Umhang et al. 2017).

Navzdory redukované genetické variabilitě pro kódující a nekódující oblasti genomu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) (Haag et al. 1997), analýza založená na mitochondriálních genech exemplářů vybraných v Polsku (Karamon et al. 2017) předpokládá migraci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) na západ z Asie, což zvyšuje genetickou diverzitu v západních periferních oblastech Evropy. Nicméně, jemné genotypování je prozatím možné jen pomocí mikrosatelitního markeru EmsB (Bart et al. 2006). Kvůli jeho vysoké diskriminační síle (Knapp et al. 2007) je EmsB marker považován za užitečný nástroj k prohloubení průzkumů s ohledem na potencionální vliv epidemiologické situace v jiných

zemích na rozšíření parazita v Polsku. V kontinentálním měřítku, genotyping pomocí EmsB markeru na 571 červech pocházejících od 123 lišek odebraných v různých evropských zemích vedlo k popisu pevninsko-ostrovního systému přenosu s možným šířením parazita, řízeného základními událostmi, z historických oblastí (východní Francie, Německo, Švýcarsko a Rakousko) do periferních oblastí (severní Polsko, Slovensko a Česká republika) (Knapp et al. 2009). V celostátním měřítku bylo Maďarsko považováno za periferní oblast zaměření Evropy vzhledem k analýze 81 červů s ohledem na nízkou genetickou diverzitu (Casulli et al. 2010). Časoprostorový scénář pro expanzi parazita na západ ve Francii byl vyvozen z analýzy 383 červů odebraných z 128 lišek pomocí EmsB (Umhang et al. 2014). Dostupnost červů sebraných z lišek v různých oblastech Polska umožňuje prozkoumat genetickou diverzitu parazita v zemi s cílem přispět k porozumění nedávného prostorového rozšíření parazita a jeho rostoucí prevalence u lišek pozorovaných v Polsku (Umhang et al. 2017).

Celostátní sledování měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných v Polsku poskytuje jasný rozdíl mezi oblastmi s nízkým endemickým výskytem v západní polovině a oblastmi s vysokým endemickým výskytem (12 až 50,0 %) ve východní polovině země. Od roku 2000 byl ve východním Polsku pozorován drastický nárůst prevalence. Genotypizace mikrosatelitů EmsB byla provedena na 301 dospělých měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) odebraných z lišek, které byly pochyty na území celého Polska, což vedlo k identifikaci 29 profilů EmsB. Hlavní profil nazvaný Pol19 byl identifikován po celé zemi a představoval profil 45 % shromážděných červů (Umhang et al. 2017). Shoda 18 polských profilů byla stanovena srovnáním s předchozími profily identifikovanými v Evropě, ale žádný neodpovídal nejběžnějším evropským profilům. Polsko bylo potvrzeno jako okrajová oblast hlavního evropského ohniska s novější kolonizací parazitem. Sdílení společných profilů především sousedními provinciemi bylo potvrzeno shlukovou analýzou, která identifikovala čtyři hlavní skupiny. Zdá se, že rozšíření parazita v Polsku v těchto v rámci těchto skupin je ovlivněno situací v sousedních zemích. Zisk dat o genotypizaci EmsB ze zemí východní Evropy, pro které je hlášeno velmi málo údajů, je nezbytné pro pochopení rozšíření parazita po celé Evropě.

Propojení EmsB genotypizace s velkoplošným dohledem nad rozšířením měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v evropských zemích se již prokázalo být zdrojem relevantních informací týkajících se přenosu parazita ve studovaných oblastech (Casulli et al. 2010; Umhang et al. 2014). Sdílení 18 EmsB profilů s dalšími evropskými zeměmi spolu s 29 profily identifikovanými v Polsku znovu potvrdilo pozici této země v centru zájmu Evropy (Knapp et al. 2009). Výsledkem jediné předchozí studie EmsB, která zahrnovala celou zemi a byla provedena v Maďarsku, další východní evropské zemi, bylo pouze 14 popsáných profilů (Casulli et al. 2010). Byl také identifikován dominantní profil (zahrnoval celkem 55,5 % červů), ale bohužel nekorespondoval s dominantním profilem popsáným v Polsku. Přítomnost tohoto profilu, který byl distribuován po celém území země, ale zároveň je slabě zastoupen v historických evropských endemických oblastech, potvrzuje status Polska jakožto periferní oblasti v pevninsko-ostrovním systému přenosu parazita (Knapp et al. 2009). Zároveň může sloužit jako důkaz pro nedávnou kolonizaci parazitem. Existence tohoto jediného dominantního profilu, který byl již popsán v roce 2009 ale zřídka identifikován v dalších oblastech, by mohla být považována za základní událost, kdy populace parazita pronikala na nové území. Tento

dominantní profil Pol19 byl v Polsku již dříve popsán ale jako dominantní pouze ve vzorcích ze dvou severních provincií (Knapp et al. 2009). Naopak, v předchozích vzorcích z jihovýchodní oblasti (což odpovídá oblastem Podkarpatského regionu a Malopolska) byl tento profil na začátku roku 2000 velmi málo zastoupen, ale zdá se, že byl dominantní zhruba 10 let předtím. V tom samém období se prevalence u lišek drasticky zvýšila v oblasti Malopolska (Lesser Poland voivodeship) a Podkarpatské provincie (Subcarpathian voivodeship) z 0,6 % a 7 % na 47 % (Karamon et al. 2014), což může být vysvětleno důležitými prostorovými změnami lišek infikovaných měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*).

Monitorování měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek v Polsku se ukázalo být nezbytností pro kontrolu rozšíření parazita a růstu jeho prevalence (Karamon et al. 2015). Kombinace genotypingu EmsB se zdravotním dozorem by také mohlo být prospěšné ke studiu progresu nemoci porovnáním vývoje rozložení EmsB profilu a dynamiky infekce v rozdílných oblastech. Nález stejných EmsB profilů o deset let později ve stejných oblastech může být použit jako „in vivo“ důkaz stability EmsB mikrosatelitu a tím pádem i stabilitu této pomůcky pro molekulární epidemiologii měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Distribuce šesti dalších nejvíce známých profilů ukázala, že žádný z profilů není rozšířený po celém území, ale jsou systematicky rozšířeny jen v sousedních oblastech, což naznačuje preferovaná spojení mezi nimi. Geografická vzdálenost byla prokázána jako jediný důležitý faktor spolu s těmi zahrnutými v genetické distribuci parazita (Knapp et al. 2009; Casulli et al. 2010). Preferenční distribuce EmsB profilů naznačují podstatný ekologický dopad na rozšíření parazita, jelikož vycházejí z rozptylového pohybu infikovaných lišek. Jelikož klimatické (roční srážky) a krajinné faktory (zemědělské a zalesněné oblasti) selhaly v potvrzení vztahu s rozdílnou prevalencí pozorovanou mezi východní a západní polovinou Polska (Karamon et al. 2014), zdá se, že přenos měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) může být vysvětlen pouze multifaktoriálním přístupem (Umhang et al. 2017). Tato preferovaná geografická propojení EmsB profilů jsou zdůrazněna také výsledky slučovacího dendrogramu (druh diagramu používaný ke znázornění jednotlivých kroků analýzy) s identifikací čtyř skupin tvořených sousedními oblastmi. Vysoká blízkost dvou ze čtyř těchto skupin naznačuje vliv jedné skupiny na druhou.

Ačkoli mohou být nalezena spojení mezi oblastmi s rozdílnými skupinami, zdá se, že mají nižší důležitost než oblasti ze stejné slučované skupiny. Klesající gradient genetické diverzity může být pozorován v těchto sloučených skupinách, což odráží primární expanzi parazita uvnitř těchto oblastí. V každé sloučené skupině jsou provincie s nejvyšší vykazovanou genetickou diverzitou systematicky lokalizovány na hranicích Polska, jsou tedy napojené na další země, což naznačuje mnohé vlivy na introdukci a expanzi měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v Polsku. EmsB profily, dříve identifikovány v pohraničních zemích s dostupnými genotypickými daty (Německo, Česká republika, Slovensko), byly nalezeny v sloučené skupině ohraničující tyto země, což zdůrazňuje tuto souvislost. Tyto rozdílné vlivy na přesun parazita v Polsku ze zemí s rozdílnou mírou prevalence lišek, což má následek různé infekční tlaky, by mohly pomoci k objasnění rozdílů v mírách prevalence zjištěných v Polsku. V této souvislosti by mohla být nízká prevalence pozorovaná v západních oblastech z druhé skupiny (severozápadní a západní oblasti) vysvětlená hlavním vlivem ze severního Německa, kde je prevalence nižší než v jižní polovině (Berke et al. 2008), spíše než vlivem vysoce

endemické východní poloviny Polska. S výjimkou Litvy a Slovenska, absence dat o prevalenci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) z ostatních pohraničních zemí (Bělorusko, Ukrajina, Česká republika a Ruská Kaliningradská oblast) autorům Umhang et al. (2017) zabraňuje ve vyvození závěrů o přesných vlivech těchto zemí na diverzitu a přenos parazita v Polsku.

Může být pozorována analogie s prezentovanými výsledky z předchozích genetických studií provedených v Polsku s použitím tří mitochondriálních genů (cob, cox1 a nad2) (Karamon et al. 2017). Proběhla také identifikace dominantního polského haplotypu (spolu s 15 identifikovanými), který se vyskytuje napříč většiny polského území. Podobně jako u studie EmsB, vliv typických evropských genotypů je očividný blízko jižní a západní hranice. Navíc tato studie indikuje, že genetická diverzita v Polsku také často souvisí s populací parazita pocházející z východu – některé haplotypy ze severovýchodního Polska byly klasifikovány jako asijský klad. Nicméně i když pět vzorků ze vzorků DNA, klasifikovaných jako asijský haplotyp, bylo ve studii autorů Umhang et al. (2017) také genotypováno pomocí EmsB, žádný z profilů EmsB identifikovaných v Polsku nebyl stejný s dříve získanými asijskými profily (Afonso et al. 2015; Knapp a kol 2007), ačkoliv bylo genotypováno málo asijských vzorků. Nedostatek informací endemických úrovní v pohraničních zemích s Polskem je ještě výraznější s ohledem na dostupnost dat o EmsB. Většina evropských EmsB profilů bylo získáno ze vzorků parazita posbíraných v západní Evropě, jen málo dat bylo sebráno v zemích východní Evropy. Studie autorů Umhang et al. (2017) zdůrazňuje vliv epidemiologické situace v ostatních zemích s ohledem na možnosti rozšíření měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v Polsku, což musí být potvrzeno ostatními daty o EmsB z těchto oblastí. Vliv zemí na východních hranicích Polska je v souladu s předchozím předpokladem souvislosti mezi zaměřením na střední Evropu a velkou endemickou oblastí na území bývalého státu SSSR. Genotypizace vzorků lidské alveolární echinokokózy od polských pacientů, ale také od pacientů z dalších evropských zemí, by mohla mít pozitivní vliv na doplnění kompletního přehledu u člověka. Dokončení sběru EmsB dat z celé Evropy a seskupování těchto dat v otevřené online databázi by představovalo další výzvu pro genotypování EmsB ve velkém měřítku, abychom se mohli pokusit vystopovat historii šíření infekce v Evropě a pokusit se předpokládat budoucí expanzi.

3.2.5 Vliv infekce *Echinococcus multilocularis* na reprodukci mezipřehoditele

Parazitární infekce v období gravidity představuje závažný rizikový faktor, jelikož může ovlivnit průběh gravidity, narušit vztah mezi plodem a matkou, změnit cytokinovou imunoregulaci a v konečném důsledku i způsobit potrat. Cílem studie Antolové et al. (2010) bylo zjistit vliv infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) na reprodukci myši, mezipřehoditele tohoto parazita a sledovat změny vybraných imunologických parametrů u nakažených matek.

Samičky Balb/c, což je laboratorně vyšlechtěný albínský druh myši domácí, byly rozdělené do třech skupin. Myši ve skupině 1 a 2 byly nakaženy 2000 protoskolexy měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) a 60. den po infekci byly připuštěny myši z 1. skupiny. Samice ze 3. skupiny nebyly infikované a byly připuštěné ve stejný den jako myši

z 1. skupiny. U infikovaných zvířat byla sledována hmotnost larvocyst a u připuštěných zvířat počet a četnost vrhů. V průběhu 170 dní byla sledována hladina sérových protilátek IgM (imunoglobuliny M), IgG1 (nejčastější podtřída imunoglobulinu G), IgG2a (imunoglobulin zodpovědný za molekulu IgG ve tvaru „Y“ s disulfidovými vazbami, které nejsou závislé na jiných vazbách) a IgG2b (tento typ imunoglobulinu omezený kvůli disulfidovým vazbám, které připojují ramena k pantu, molekula má potom tvar „T“), hladina sérových cytokinů INF- γ (interferon γ) a TNF (tumor nekrotizující faktor) a zastoupení slezinových CD4+ a CD8+ T-lymfocytů (pomocné lymfocyty). Hmotnost larvocyst měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) byla u obou skupin podobná do 84. dne po infekci, potom se růst cyst u matek po porodu zvýšil a až na konci experimentu se jejich hmotnost u obou skupin vyrovnala (Antolová et al. 2010). U sledovaných matek nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl v počtu vrhů, porodilo 88 % infikovaných a 90 % zdravých matek. Podobně ani rozdíl v četnosti vrhů nebyl statisticky významný, obě skupiny měly v průměru 6-7 mlád'at.

V průběhu gravidity byla u infikovaných matek zaznamenána zvýšená produkce imunoglobulinu IgG2b, zatímco tvorba imunoglobulinu podtřídy IgG2a byla v porovnání s nepřipuštěnou skupinou nižší. Tvorba IgG1 protilátek, souvisejících s Th2 odpovědí, nebyla graviditou ovlivněna, avšak porod způsobil její pokles. Produkce interferonu INF- γ a tumor nekrotizujícího faktoru TNF, které jsou zodpovědné za imunitní odpověď Th1, byla v průběhu gravidity snížena v porovnání s nepřipuštěnými zvířaty. Řada studií přitom prokázala, že pro ochranu proti echinokokové infekci je nezbytná aktivita Th1 buněk charakterizovaná produkcí IL-12, TNF a IFN – γ , zatímco aktivace Th2 buněk a uvolňování cytokinů typu Th2 souvisí s citlivostí na danou infekci (Dvorožňáková et al. 2004). Zastoupení pomocných T-lymfocytů CD4+ a CD8+ bylo ve skupině připuštěných zvířat nižší až do 112. dne po infekci, kdy se jejich počty vyrovnaly. Stejně tak počet CD8+ T-lymfocytů byl v první skupině nižší a tento trend se udržel až do konce sledování (Antolová et al. 2010). Infekce měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) ovlivnila reprodukci myši jen do malé míry, což může být způsobené dominancí Th2 imunitní odpovědi v porovnání s Th1 odpovědí. Právě Th2 odpověď je ve významné míře zodpovědná za úspěšnost gravidity a její přepnutí na Th1 odpověď může způsobit její předčasné ukončení.

3.2.6 Přenos *Echinococcus multilocularis* z meziphostitele na definitivního hostitele

Mnohé parazitické druhy mají komplexní životní cykly, které zahrnují několik druhů hostitelů. U dvou hostitelských parazitů může být larvální stádium v meziphostitelích přeneseno do definitivního hostitele (predátora) jeho pozřením, aby v definitivním hostiteli mohlo dojít k vývinu do reprodukčního stádia. Mnohé studie již popsaly manipulaci parazita hostitelem za účelem větší zranitelnosti hostitele a tím pádem vyšší šance predace a zvýšení šance přenosu parazita (Combes 2001). Interakce mezi predátorem a kořistí je klíčovým faktorem určujícím intenzitu přenosu troficky přenášených parazitů (Raoul et al. 2010).

Ve východní Francii změny krajiny na náhorních plošinách střední nadmořské výšky zvýšily rozlohu a konektivitu pastvin (Giraudoux et al. 1997), čímž podpořily pravidelná a prostorově asynchronní populační ohniska dvou druhů hlodavců na pastvinách, a to hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) a hraboše polního (*Microtus arvalis*) (Giraudoux et al. 1997;

Delattre et al. 1999). Tito dva drobní savci jsou hlavními mezihostiteli měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) v Evropě a jsou i důležitou složkou potravy pro lišky obecné (*Vulpes vulpes*). V nížinné rovině jsou hustoty populací malých savců mnohem nižší a stabilní (Raoul et al. 2001), což nabízí rozsah situací s kontrastujícími hustotami mezihostitelů.

Reakce predátorů na změny hustoty kořisti byla již dříve zkoumána, aby bylo možné porozumět vzorcům predace. Důsledky reakce na přenos parazitů však zůstávají do značné míry neprozkoumané. Raoul et al. (2010) zkoumali stravovací reakce lišky obecné na změny v hustotě kořisti (hryzec vodní a hraboš polní). Stravovací reakce se u těchto dvou druhů kořisti lišila; nebyla prokázána žádná reakce v souvislosti s hustotou hraboše polního (*Microtus arvalis*) a naopak byla prokázána reakce u hryzce vodního (*Arvicola terrestris*), což ukazuje možné vzájemné ovlivňování s hrabošem polním (*Microtus arvalis*). Reakce lišky na kontaminaci odpovídala reakci stejného typu u oba druhů. Raoul et al. (2010) došli k názoru, že predace lišek je druhově specifická a přenos měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) je pravděpodobně regulován komplexní kombinací predačních a imunologických faktorů. Tyto výsledky by měly vést k lepšímu pochopení biologických a ekologických mechanismů podílejících se na dynamice přenosu troficky přenášených parazitů, pokud je zapojeno více hostitelů. Relevance modelů přenosu parazitů by měla být zvýšena, pokud jsou brány v úvahu nelineární vzorce. Biomasa hryzců vodních (*Arvicola terrestris*) a hrabošů polních (*Microtus arvalis*) co by hlavní kořisti lišek pravidelně dominuje systému v porovnání se druhy netravních stanovišť jako jsou myši nebo norník rudý (*Myodes glareolus*) (Raoul et al. 2001). Tyto naposled jmenované druhy byly konzumovány v mnohem nižší míře než druhy travních stanovišť, což odráží obecné příležitostné chování lišek, které využívají hojných a dostupných zdrojů (Ferrari 1995; Dell'Arte et al. 2007).

Autoři Raoul et al. (2010) se domnívají, že odezva na dostupnou potravu lišky nikdy nebyla prošetřována v kontextu kolísání dvou klíčových druhů. Data naznačují rozdílné chování lišky vzhledem k těmto dvěma druhům. Výskyt hraboše polního (*Microtus arvalis*) ve stravě nebyl na základě dostupnosti na polích předpokládán, zatímco u hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) vycházel ze složité interakce mezi dosažitelností obou druhů. Přehled literatury naznačuje, že stravovací odpověď lišek na druhy kořisti vyskytující se v ohniskových oblastech se liší podle ekologického kontextu, což zahrnuje i demografický vzor ohniskových druhů a hustotu dalších složek potravy. Stravovací odpověď lišek na změny hustoty hraboše polního (*Microtus arvalis*) byly pozorovány ve Francii a Bělorusku, ale v každém případě druhy kořisti kolísaly. Hryzec vodní (*Arvicola terrestris*) měl nízkou hustotu, zatímco další druhy, jako třeba lesní hlodavci, ptáci nebo zajícovci, byly dostupné v hojných počtech (Guislain et al. 2008; Dupuy et al. 2009). V severní Evropě, kde je hraboš mokřadní (*Microtus agrestis*) kolísavým druhem, mělo jeho přidání do potravy lišek souvislost s jeho hustotou na polích a zároveň měly lišky přístup k další kořisti, když byla hustota hraboše mokřadního (*Microtus agrestis*) nízká (Dell'Arte et al. 2007). Naopak, důležitost hraboše (*Microtus*) nebyla spojena s jeho hustotou na polích, která byla vždy vysoká (nad 42 % z požití biomasy) v případě stabilní populace, což naznačuje, že lišky preferují hraboše (*Microtus*) na základě omezeného rozsahu alternativní kořisti. Vzorec kontextově specifické predace byl popsán i u hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) v severní Francii (Guislain et al. 2008) a ve Švýcarsku (Ferrari 1995).

Podle výsledků autorů Raoul et al. (2010) naznačuje lepší přizpůsobení na stravovací odpověď hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) přizpůsobivé chování predátora vůči tomuto druhu. Podobnou stravovací odpověď lišek byla zaznamenána i v případě králíka divokého (*Oryctolagus cuniculus*) ve Španělsku (Delibes-Mateos et al. 2008), kde byl pozorován pokles v rozmanitosti potravy, když byla nízká hustota králíků, což naznačuje shánění potravy na širší potravinové škále. Práh nízké hustoty, nad kterou se lišky rychle soustředily na hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) může být stěží připisován absenci potravních alternativ. Výskyt hraboše (*Microtus*) v této oblasti také kolísá a mimo to lišky mohly konzumovat také ovoce, červy a ptáky. Navíc rozmanitost stravy klesala při nízkém výskytu hrabošů (*Microtus*), což naznačuje, že lišky jsou schopné využít doplňkových zdrojů, když kolísají počty hryzců vodních (*Arvicola terrestris*), což prokázal Weber (1996). Váha hryzců vodních (*Arvicola terrestris*) se pohybuje mezi 80 a 150 g v porovnání s hrabošem polním (*Microtus arvalis*) nebo s hrabošem mokřadním (*Microtus Agrestis*), kteří váží v průměru 20 g a nikdy neváží více než 50 g (Le Louarn & Quéré 2003). S ohledem na optimální strategii shánění potravy je pravděpodobné, že hryzec (*Arvicola terrestris*) je vysoko ziskovou potravou a je proto preferován i přes nízkou hustotu, navzdory své podzemní činnosti. Dostupnost hraboše (*Microtus arvalis*) může vést ke kompletnímu rušení predace hryzce vodního (*Arvicola terrestris*), což naznačuje statistická interakce a pozorovaný lineární vztah. Tyto výsledky zdůrazňují aktuální a důležitá omezení v porozumění funkční odpovědi predátora s několika možnostmi kořisti, jakožto souběžné hledání efektu několika potravních zdrojů na volbu ústřední položky s ohledem na interakce a možné nelineární efekty. Hraboš (*Microtus*), který může být konzumován ve vysokém poměru i při velmi nízké hustotě, je sporný, jelikož tento druh kolísá a je dostupná alternativní potrava. Několik nevýlučných hypotéz je: (1) hryzec vodní (*Arvicola terrestris*) je vysoce výnosný, má širší biomasu (Raoul et al. 2001) a tím pádem silně pohání predaci lišek a výběr kořisti. Nehledě na další dostupnou kořist; (2) hraboš (*Microtus*) žije méně pod zemí než hryzec vodní (*Arvicola terrestris*) (Le Louarn & Quéré 2003) a tím pádem je více dostupný pro lišky a může být snadněji uloven, když mají oba druhy velmi nízkou hustotu. Výsledky autorů Raoul et al. (2010) znovu poukazují na složitost porozumění výběru kořisti, pokud je zahrnuto několik klíčových bodů.

Aby došlo k infekci musí liška ulovit mezipřenositele s plodnou larvální lézí s vyvinutými protoskolexy. Údaje z terénu u těchto procesů nejsou dostupné a experimentální data jsou nedostatečná. Studie provedená autory Kapel et al. (2006) vykazovaly vysokou míru usazování měchožilů 25 dní po experimentální infekci pěti lišek (84 % z původních 20 000 protoskolexů). Byl zaznamenán významný pokles zátěže měchožilem 63 dní po infekci, což naznačuje následnou rychlou imunologickou odpověď (Kapel et al. 2006). Tím pádem požití stovek protoskolexů zvířaty, i kdyby v intervalu několika týdnů, bude mít za následek udržitelnou kontaminaci lišek. Nízká prevalence larválního stádia měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v rámci pár procent v mezipřenositelích ve venkovských oblastech Západní Evropy je obecný vzorec, ale prostorové rozložení je heterogenní. Vyšší prevalence na území 10 m² mikro rozlišení u hraboše polního (*Microtus arvalis*) a hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) (prevalence 10-40 %) byla pozorována na území Francie a Švýcarska (Reperant et al. 2009). Procento fertility cyst se pohybovalo mezi 8 až 30 % u hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) (Stieger et al. 2002). Údaje pro Hraboše polního (*Microtus arvalis*) jsou neoficiální

a z celkově odchycených 914 jedinců v Belgii byl pouze jeden infikován protoskolexy (Hanosset et al. 2008); navíc 94 % plodných lézí bylo zaznamenáno v Haute-Savoie ve Francii Deblockem et al. (1986 Delattre et al. 1988). Aktuální počet protoskolexů na zvíře byl zaznamenán pouze u hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) (Reperant et al. 2009). Hojnost byla vysoce rozptýlena mezi 12 % z 26 plodných cyst, které obsahovaly více jak 100 000 protoskolexů (nesoucí 70 % z celkové biomasy) a 69 % cyst, které obsahovaly více než 1000 protoskolexů. I když byl hraboš (*Microtus*) stěží k nalezení v terénu pomocí vzorkovací metody, jeho výskyt v liščí stravě mohl dosahovat až 20 %. Proto i když mají oba druhy kořisti velmi nízkou hustotu, množství plodných cyst požitých v rámci populace lišek (hlavně predací *Microtus*) je dostatečné k tomu, aby se udržel základní stupeň kontaminace liščí populace dospělými měchožily. Rychlé přepnutí na predaci hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) může mít za následek prudký nárůst kontaminace. Stabilizace kontaminace by měla korespondovat s vyšší úrovní kontaminace lišek v oblasti, která by měla mít hodnotu 60 % prevalence (Raoul et al. 2001).

Několik regulujících faktorů, mezi které by měla patřit i získaná imunita (Torgerson 2008), by mohly fungovat v populaci lišek jako stabilizátory maximální kontaminace kolem 60 %. Je pravděpodobné že myšice a norník rudý (*Myodes glareolus*) mají minimální vliv na přenos parazita v důsledku jejich nízké míry spotřeby predátorem (Guislain et al. 2008). Další faktory jako hustota populace lišek (Raoul et al. 2003), prevalence parazita v mezihostitelích a imunologický status lišek mohou mít také vliv na kontaminaci lišek. Studie autorů Raoul et al. (2010) odhalila, že v systému, kde kolísají hustoty hlavních druhů kořisti a kde jsou dostupné další složky stravy lišky nevykazují obecné predáční chování u těchto dvou kolísajících druhů: Tyto výsledky nepodporují původní predikci. Namísto toho byly interakce mezi kořisti a predátorem specifické a byly pozorovány i složité interakce při výběru kořisti.

V rozporu s predikcí Raoul et al. (2010) odpověď lišek na hustotu mezihostitele vyjadřovala asymptotická (asymptotická křivka popisuje vztah dvou veličin, které se k sobě limitně přibližují) křivka a byla s největší pravděpodobností regulována predací a imunologickými faktory operujícími na úrovni populace. Lze tedy předpokládat, že tato původní terénní data poskytnou důležitá vodítka k objasnění biologických a ekologických mechanismů zahrnutých v dynamice přenosu troficky se šířících parazitů při využití několika hostitelů, což již nastínil Dobson (2004).

3.2.7 Vliv ekologických a biologických faktorů na přenos *Echinococcus multilocularis*

Aby Guislain et al. (2008) mohli určit důležitost ekologických a biologických faktorů podílejících se na přenosu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), odhadli populační hustotu mezihostitele hraboše polního (*Microtus*) a hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) ve vztahu ke stravě definitivního hostitele; lišky obecné (*Vulpes vulpes*), a s prevalencí měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v populaci lišek. Studie autorů Guislain et al. (2008) byla provedena v Ardenách v severovýchodní Francii, což je oblast s vysokým výskytem alveolární echinokokózy. Metody povrchového indexu ukázaly, že hraboš (*Microtus*) byl v této oblasti nejhojnějším mezihostitelem. Kromě toho byl hraboš (*Microtus*) přítomen v jedné třetině z celkem 144 zkoumaných vzorků trusu a 98 vzorků obsahu žaludku

a představoval více než dvě třetiny vyskytujících se hlodavců. Predace hrabošů (*Microtus*) liškou obecnou významně korelovala s relativní abundancí hrabošů (*Microtus*). Naproti tomu relativní četnost hryzců vodních (*Arvicola terrestris*) byla velmi nízká. Tento druh stejně jako norník rudý (*Clethrionomys glareolus*) a myšice (*Apodemus*), byl málo konzumován. Prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek byla stanovena z pitvaných těl a dosáhla 53 %. Intenzita infekce se pohybovala v počtech od 2 do 73 380 červů na lišku, přičemž 72 % červů „hostilo“ 8 % zkoumaných lišek. Vybrané vysvětlující proměnné (pohlaví, rok, věk, zdravotní a nutriční stav a roční období) nedokázaly predikovat míru prevalence a zatížení měchožilem. Vysoká míra prevalence u lišek ukazuje možnost intenzivního přenosu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), kromě období nebo v oblasti příznivých pro výskyt velkých populačních ohnisek hlodavců (grassland rodents).

Dosavadní poznatky o rozšíření měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) ve Francii vycházely zejména z údajů o detekci parazita u lišek, přičemž intenzita odběru vzorků se pohybovala v rozmezí přibližně 1 až 2 lišky na 100 km² v roce každé ze zkoumaných oblastí (Combes et al. 2012, Umhang et al. 2016). V studii autorů Umhang et al. (2022) byly oblasti odběru vzorků menšího rozsahu z důvodu použití vhodného odběru vzorků, ale intenzita odběru byla mnohem vyšší a pohybovala se v rozmezí od 5 do 400 lišek na 100 km² v jednotlivých pěti oblastech odběru vzorků. U žádné z 328 testovaných lišek nebyl měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) ani jeho DNA. Vzhledem k hustotě odebraných lišek vypovídá tento výsledek ve prospěch nepřítomnosti parazita ve zkoumaných oblastech, i když přítomnost měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) nelze zcela vyloučit ze statistického hlediska (horní hranice intervalu spolehlivosti při 95 % prevalenci: 2,5 % u jihozápadní a 4,7 % v jihovýchodní oblasti). Tyto nové údaje, které ukazují, že nebyli zjištěni žádní parazité, jsou v souladu s předchozími poznatky o endemické situaci v oblasti Francii a jsou užitečné pro vymezení nejjihnějšího areálu zeměpisného rozšíření měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) ve Francii.

V roce 2016 byla DNA měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) zjištěna ze vzorků trusu lišek v Hautes-Alpes (Umhang et al., 2016) v jihovýchodní Francii, přibližně 100 km severně od oblasti Var. Podle mikrosatelitových analýz EmsB získaných z infikovaných vzorků hryzce vodního (*Arvicola terrestris*) ve stejné alpské oblasti (Umhang et al. 2021) se předpokládá, že přítomnost parazita v této oblasti je důsledkem expanze ze severovýchodního historického ohniska. Kromě toho byla DNA parazita zjištěna také ve vlčím a psím trusu v Itálii (Massolo et al. 2018), což naznačuje přítomnost tasemnice v oblasti francouzsko-italském pohraničí. Nejjihnější pozitivní vzorek vlčí trusu z Itálie pocházel z provincie Imperia (západní část regionu Ligurie), vzdálené pouhých 110 km severovýchodně od oblasti Var, který byl v této studii shledán negativním na parazita. To by mohlo být vysvětleno teplým a suchým středomořským klimatem oblasti Var, které je méně příznivé pro přenos měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*), což naznačuje možný ekologický vliv (Umhang et al. 2021).

3.3 Imunologická odpověď meziphostitele na infekci měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*)

Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) indukuje buněčnou a humorální imunitní odpověď meziphostitele specifickou pro parazita (Gottstein & Hemphill 1997). Buněčná imunitní odpověď, vedoucí ke granulomatózní infiltraci meziphostitelské tkáně, hraje dominantní roli v boji s tímto parazitem (Dixon 1997). Aktivace Th1 CD4+ (pomocné lymfocyty) T lymfocytů, která je spojena s kontrolou infekce (Manfras et al. 2004), a reverze na odpověď Th2 může přispět k dlouhotrvající manifestaci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u člověka (Sturm et al. 1995). Makrofágy na periférii periparazitického granulomu můžou nepřetržitě produkovat prozánětlivé cytokiny sloužící jako mediátory akutní fáze sekrece proteinů a fibrogeny (Gottstein & Hemphill 1997). Generace granulomů a fibróza mohou omezit růst larev, ale také mohou snížit transport anthelmintického léčiva do léze a tím mohou být důvodem částečné nebo úplné neúčinnosti léčby (Vuitton 2003). Terapie alveolární echinokokózy může být komplikovaná generalizovanou imunosupresí způsobenou parazitem (Kizaki et al. 1993). Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) je schopen se vyhnout imunitní odpovědi hostitele nebo jí upravit pomocí imunoregulačních molekul (Bennet et al. 2019) tak, aby bylo zajištěno jeho dlouhodobé přežití v organismu meziphostitele (Vuitton et al. 2006). Aplikace imunomodulačních látek by mohly zlepšit imunitní stav hostitele během infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) a omezit růst parazita (Moro & Schantz 2009).

Nové přístupy k terapii alveolární echinokokózy nabízejí využití imunomodulátorů, jelikož výsledek benzimidazolové terapie je komplikovaná imunosupresí pacienta způsobenou metacestodami měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Použití interferonu IFN- γ nebo interleukinu-12 v kombinaci s benzimidazolem zastavilo progres onemocnění nebo snížilo růst metacestody (Vuitton et al. 2006), což naznačuje užitečnost v terapii. Nicméně použití rekombinantních cytokinů v terapii je technicky i finančně náročné. Proto jsou hledány nové způsoby, jež by podpořily sekreci endogenních cytokinů u pacientů. Studie autorů Porubcové et al. (2007) zkoumala roli glukonového imunomodulátoru a/nebo glukonu doplněného o zinek při stimulaci obranných mechanismů hostitele proti infekci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) a vliv imunomodulátoru na antiparazitní účinnosti albendazolu (ABZ). V této studii byl pozorován vliv glukonového imunomodulátoru (GI) a glukonového imunomodulátoru se zinkem (GIZn) podávaných samostatně nebo s albendazolem (ABZ) na buněčnou imunitu myši s alveolární echinokokózou. Stimulační účinek terapie s využitím glukonového imunomodulátoru (GI) a glukonového imunomodulátoru v kombinaci s albendazolem (GI+ABZ) na proliferační odpověď T-lymfocytů byl prodloužen vlivem glukonového imunomodulátoru se zinkem v kombinaci s albendazolem (GIZn+ABZ) od 6. do 14. týdne po infekci (p.i.). Zvýšení proliferace B-lymfocytů byla pozorována během kombinovaných terapií GI+ABZ a GIZn+ABZ od 6. do 12. týdne po infekci (p.i.). Počet slezinných pomocných CD4 T-lymfocytů u myši s GI nebo GI + ABZ terapií byl zvýšen pouze v 6. a 8. týdnu po infekci (p.i.) Terapie GIZn a GIZn+ABZ prodloužila tuto stimulaci z 6. na 14. týden po infekci (p.i.). Koncentrace séra interferonu- γ (IFN – γ) byla zvýšena po terapii GIZn a snížena po terapii GI z 8. týdne na 12. týden po infekci

(p.i.) Terapie GIZn + ABZ měla nejvyšší vliv na vzestup IFN- γ od 8. do 22. týdne po infekci (p.i.) Jak terapie GI, tak GIZn inhibovaly sérovou koncentraci interleukinu-5 (IL-5) od 6 týdne po infekci (p.i.) Produkce superoxidového aniontu byla zvýšena po GI terapii od 6. do 14. týdne po infekci (p.i.) a po terapiích Gi+ABZ a GIZn+ABZ od 12. do 18. týdne po infekci (p.i.). Nejúčinnější antiparazitární terapií alveolární echinokokózy se stala terapie GIZn+ABZ. Cílem Porubcové et al. (2007) bylo prozkoumat imunostimulační účinek rozpustného β - (1,3) D glukanu s nebo bez zinku podávaného samostatně nebo v kombinaci s albendazolem (ABZ) na myších infikovaných měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) a antiparazitní účinnost těchto léků. Glukany jsou β -(1,3) -D polymery glukózy vyskytující se přirozeně v jako součást buněčných stěn bakterií, plísní a kvasinek.

Glukany vyvolávají především nespecifickou stimulaci imunitního systému, zejména proliferaci a funkční aktivitu fagocytárních buněk (makrofágy, NK buňky) jako součást přirozené imunity (Větvicka et al. 1996; Šoltýs & Quinn 1999), ale mohou také ovlivnit specifickou imunitu zvýšením aktivity T-lymfocytů a produkce cytokinů (Sakurai a kol 1997; Kidd 2000). Imunostimulační účinek glukanu lze zvýšit jeho kombinací s druhou složkou – imunoglobulinem G, zinkem (Šoltýs et al. 1996) nebo vitamínem C. Zinek interaguje s cytokiny a proteázou a nepřímo ovlivňuje imunitní systém. Jeho imunostimulační účinek na T-lymfocyty a makrofágy jsou známy (Wellinghausen et al. 1997; Rink & Kirchner 2000), a tak zinek mohl podpořit imunostimulační účinek glukanu během léčby alveolární echinokokózy. Dále, žijící *Echinococcus* potřebuje pro růst a rozmnožování zinek (Chowdhury & Singh 1989). Wellinghausen et al. (1999) potvrdili zjevnou souvislost mezi koncentrací zinkového séra a závažností onemocnění u pacientů s alveolární echinokokózou. V progresivních případech může být snížená koncentrace zinku důsledkem zvýšené imunitní aktivity a také konzumace zinku rostoucím parazitem.

Echinokoková infekce ve studii Porubcové et al. (2007) způsobila inhibici proliferační odpovědi T a B-lymfocytů v rámci 26 týdnů experimentu s nejnižšími hodnotami v časném stádiu infekce (2. a 4. týden po infekci), což je období důležité pro vznik parazitů. Toto zjištění spolu s výsledky dalších autorů (Borošková et al. 2003; Kizaki et al. 1993) je způsobeno imunosupresivními faktory produkovanými protoskolexem měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Proliferační odpověď T-lymfocytů byla zvýšena u infikovaných myší s GI (glukanový imunomodulátor) a GI+ABZ terapií (terapie v kombinaci glukanového imunomodulátoru a albendazolu) od 6. týdne do 10. týdne po infekci během počátečního intenzivního růstu parazita v neléčených infikovaných myších. Stimulační účinek glukanového imunomodulátoru byl prodloužen suplementací zinku po dobu čtyř týdnů. To naznačuje důležitou roli zinku v rámci imunitní odpovědi, např. odpověď lymfocytů na mitogeny. Adekvátní stav zinku je nezbytný pro dělení T-buněk, zrání a diferenciaci (Rink a Kirchner 2000; Baum et al. 2000). Dokonce i po terapii albendazolem byla proliferační aktivita T-lymfocytů během léčby zvýšena od 6. týdne do 12. týdne po infekci (p.i.), podobně jako u ostatních prací (Borošková et al. 2003, Dvorožňáková et al. 2004). Modulační účinek albendazolu by mohl být odvozen od skutečnosti, že lék přímo vyvolává morfologické a strukturální změny stěn parazitárních cyst a protoskolexů (Pérez Serrano et al. 1997), které vedou k odhalení normálně neexponovaných strukturálních antigenů, které jsou prezentovány T-lymfocytům. To má za následek indukci a Th2 odpověď (chronická antigenní stimulace)

nebo Th1 odpověď (malé parazitické léze nebo snížený výstup/rozpoznání antigenu; Abbas et al. 1996). Pozitivní synergický účinek antihelmintik albendazolu a imunomodulátoru s využitím zinku (GIZn) vedl k prodloužené zvýšené proliferaci T-buněk po dobu 8 týdnů po ukončení léčby. Glukanový imunomodulátor ani glukanový imunomodulátor s využitím zinku (GIZn) neindukovaly takový stimulační účinek na proliferaci B buněk; obnovily a pouze krátkodobě potlačily proliferační aktivitu B-buněk v rámci 6. týdne po infekci (p.i.). Podobný obnovující účinek byl pozorován i u jiných parazitárních infekcí škrkavky prasečí (*Ascaris suum*) nebo škrkavky psí (*Toxocara canis*) (Šoltýs et al. 1994,1996; Borošková et al. 1998). Slabší vliv terapie glukanového imunomodulátoru se zinkem (GIZn) na B-buňky než na T-buňky lze vysvětlit tím, že závažné narušení funkce B buněk vlivem nedostatku zinku je pozorováno jen zřídka a také humorální odpověď pacientů s progresivní alveolární echinokokózou nebyla ovlivněna nedostatkem zinku (Wellinghausen et al. 1999). Kombinované terapie glukanového imunomodulátoru a albendazolu (GI+ABZ) a glukanového imunomodulátoru s využitím zinku a albendazolu (GIZn+ABZ) podpořily a zvýšily stimulační účinek albendazolu na B-buňky v experimentu Porubcové et al. (2007) od 6. do 14. týdne po infekci (p.i.), kdy byl pozorován vývoj progresivní cysty u infikovaných neléčených myší.

Funkční stav T-buněk úzce souvisí se dvěma jejich nejdůležitějšími subpopulacemi (CD4+, CD8+) v buněčné odpovědi na infekci měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*). Kizaki et al. (1993) pozorovali časově závislou supresi proliferační odpovědi T-buněk, pokles CD4 a vzestup CD8 T-buněk po stimulaci slezinných buněk pomocí in vitro protoskolexů měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). U alveolární echinokokózy představují CD4 buňky hlavní T subpopulaci a jsou četné v první fázi tvorby periparazitického granulomu. Počet slezinných CD4 T-buněk byl zvýšen u infikovaných myší po terapii glukanovým imunomodulátorem nebo terapii za využití kombinace glukanového imunomodulátoru a albendazolu po krátkou dobu v rámci 6.-8. týdne po infekci (p.i.). Přítomnost zinku pravděpodobně přispěla k prodloužení stimulace CD4 T-buněk u myší léčených terapií glukanovým imunomodulátorem se zinkem (GIZn) a terapií v kombinaci glukanového imunomodulátoru se zinkem a albendazolu (GIZn+ABZ) od 6. týdne do 14. týdne po infekci (p.i.), protože nedostatek zinku redukuje sekreci IL-4 (interleukin 4), což je růstový faktor pro buněčné pomocníky CD4 T-buněk. Toto dlouhodobé zvýšení CD4 T-buněk po terapii GIZn a GIZn+ABZ by mohlo přispět k účinnější ochraně proti parazitům. V regresivních případech alveolární echinokokózy je periparazitický granulom složený z velkého počtu CD4 T-lymfocytů kromě makrofágů a myofibroblastů (Vuitton 1999). U pacientů v proliferačním stádiu onemocnění je buněčná subpopulace CD8 T-buněk zvýšená (Vuitton 1999), ale v této práci infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) nezpůsobila v těchto buňkách u myší žádné značné změny. Subpopulace CD8 T-buněk nebyla ovlivněna imunoterapií, s výjimkou středního zvýšení počtu CD8 T-buněk u infikovaných myší s využitím terapie glukanovým imunomodulátorem se zinkem (GIZn) nebo terapie v kombinaci glukanového imunomodulátoru se zinkem a albendazolem (GIZn+ABZ) ve 12. a 14. týdnu po infekci (p.i.), což by mohlo podpořit rozvoj imunosuprese hostitele. Imunitní odpověď na infekci měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) je regulována rovnováhou cytokinů Th1 a Th2 (Sturm et al. 1995). Možný účinek imunoterapie na rovnováhu Th1/Th2 byl hodnocen podle sérových hladin v průběhu terapie. Největší nárůst hladiny cytokinu IFN- γ

v séru v tomto experimentu byla zjištěna po terapii glukánovým imunomodulátorem se zinkem (GIZn) (Porubcová et al. 2007).

Pozoruhodným zjištěním v účinnosti léčby byl fakt, že přítomnost glukánového imunomodulátoru (GI) v terapii glukánovým imunomodulátorem a albendazolem (GI+ABZ) byla částečně inhibována parazitostatickým účinkem albendazolu, což potvrzují i autoři Xu et al. (2022). Tato situace mohla být způsobena zvýšeným fibrotickým procesem u periparazitického granulomu po GI terapii, což by mohlo sloužit jako bariéra snižující dodávání léčiva albendazolu do vezikulu parazita. Hrčková et al. (2006) objevili profibrotickou aktivitu glukánu při infekci larválním stádiem tasemnice *Mesacestoides corti*, kde glukánová stimulace mononukleárních fagocytů vedla ke zvýšené fibróze jater kolem larvy parazita. Nicméně nejúčinnější antiparazitikum terapie pro léčbu alveolární echinokokózy bylo zjištěno po GIZn+ABZ terapii, které zastavilo růst larvální cysty v hostiteli do 14. týdne po infekci (p.i.). To koreluje s nejvyšší koncentrací cytokinu IFN – γ u experimentu – cytokin s antifibrotickými vlastnostmi (Liance et al. 1998). Cytokin IFN- γ hraje klíčovou roli v regulaci metabolismu kolagenu a může zlepšit jaterní fibrogenézi. Bylo zjištěno, že IFN- γ reguluje expresi genů lisyloxydázy, což je nezbytný katalyzátor pro zesíťování extracelulárního kolagenu a elastinu. V práci autorů Porubcové et al. (2007) by zvýšená produkce IFN- γ po terapii glukánovým imunomodulátorem se zinkem mohla narušit generování ireverzibilní fibrózy u periparazitického granulomu a následně by mohla mít pozitivní vliv na proniknutí antihelmintik do larvocysty. IFN- γ není pouze antifibrotické agens, ale také agens cytokynů Th1, které se podílejí na ochranné imunitní odpovědi proti měchožilovi bublinatému (*Echinococcus multilocularis*) zahrnující fibrogenézi. Autoři Zhang et al. (2006) zjistili korelaci imunitní odpovědi T-buněk a jaterní fibrózy. Hladiny IFN- γ séra negativně korelovaly se serologickými markery fibrózy.

Reaktivní kyslíkové metabolity produkované makrofágy se jeví jako další imunologické složky spojené s fibrogenézí. Superoxidový aniont, peroxid vodíku a hydroxylové radikály jsou důležitými stimuly pro indukci genu kolagenu jaterních hvězdicových buněk (HSC=hepatic cellate cells (Itovy buňky); Casini et al. 1997). Syntéza kolagenu a následný vznik sítí pomocí pyridinolinu, což vede k ireverzibilní fibróze v periparazitickém granulomu, je důležitým aspektem hostitelovy imunitní reakce proti růstu parazitů spojená s rezistencí (Guerret et al. 1998). Z tohoto pohledu by zvýšený fibrotický proces mohl být pro hostitele prospěšný. Nadprodukce vazivové tkáně však může být pro hostitele škodlivá, jelikož fibróza je zodpovědná za komplikace spojené s alveolární echinokokózou u lidí: obstrukce vaskulárních a žlučových struktur jater (Vuitton 2003). V experimentu autorů Porubcové et al. (2007) byl nejvyšším iniciátorem uvolňování kyslíku peritoneálními makrofágy (spojené s jaterní fibrózou) právě glukánový imunomodulátor (GI). Na druhé straně GI doplněný zinkem vyvolal krátkodobou a slabší produkci tohoto metabolitu. Zinek hraje důležitou roli jako kofaktor enzymů, které se podílejí na syntéze kolagenu (Anttinen et al. 1984), a suplementace zinkem má příznivé inhibiční účinky na jaterní fibrózu (Kojima-Yuasa et al. 2005). Tato skutečnost může vysvětlit lepší antiparazitární účinnost terapie s glukánovým imunomodulátorem a zinkem (GIZn) a téměř dvojnásobnou a nejvyšší účinnost terapie glukánovým imunomodulátorem se zinkem a albendazolem (GIZn+ABZ) ve srovnání s terapií albendazolem (ABZ). Výsledky Porubcové et al. (2007) naznačují možnou cestu zvýšení

antiparazitární účinnosti albendazolu (ABZ) u infekce měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) stimulací imunitní odpovědi hostitele. Podle imunoprese hostitele a nedostatku zinku u pacientů s alveolární echinokokózou (Wellinghausen et al. 1999), dosáhlo podání GIZn a antihelmintika albendazolu nejúčinnější kontroly nad infekcí s dlouhotrvajícím parazitostatickým efektem i po ukončení terapie a nejvyššího snížení růstu cyst měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Imunostimulační vlastnosti glukanu v buněčné imunitě byly posíleny doplněním zinku, který podporoval odpověď Th1 s významným navýšením IFN- γ . Zinek má pravděpodobně pozitivní snižující účinek na fibrózu jater vyvolanou glukaniem, protože léčba glukanovým imunomodulátorem se zinkem redukovala produkci oxidačního metabolitu O₂, což je aktivátor jaterních hvězdicových buněk s fibrotickou odpovědí.

Výsledky pozorování u lidí a experimentálních studií na zvířatech naznačují, že při absenci plně účinné antiparazitární chemoterapie pro léčbu alveolární echinokokózy by bylo možno předpokládat modulaci imunitní odpovědi hostitele v boji proti parazitovi a pro prevenci onemocnění a/nebo jeho komplikací. Rekombinantní interferon IFN-2 by byl nejlepším kandidátem pro „imunologický lék“. Další přístupy jsou založeny na použití specifických antigenních složek *Echinococcus* sp. jako preventivní nebo terapeutické vakcíny. Vakcína Eg95 již dosáhla terénní validace pro využití pro léčbu infekce měchožilem bublinatým (*Echinococcus granulosus*) u ovcí, a podobné nebo nové antigeny by mohly být adaptovány na infekci měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) mezihostitelů. U alveolární echinokokózy myši předběžné experimentální zprávy naznačují, že několik antigenních sloučenin může poskytnout dobrou ochranu proti primární infekci, například Em14-3-3, Em95, EMY162 a EmTetraspanin (Vuitton et al. 2010). V závislosti na ekonomické a etické proveditelnosti takového přístupu lze teoreticky uvažovat o preventivní vakcíně proti infekci měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) u lidí, zatímco terapeutický přístup si stále zasluhuje další podrobné zkoumání.

3.4 Prevence a léčba napadení měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*)

Larvální stádium měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) způsobuje alveolární echinokokózu (AE), což je závažná helmintozoonóza s vysokou mortalitou u pacientů s pozdní léčbou (Xu et al. 2022). Další formou tohoto onemocnění je cystická echinokokóza, kterou způsobuje měchožil zhoubný (*Echinococcus granulosus*). Onemocnění je charakterizováno infiltrativním, nádoru podobným růstem boubele měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), která obvykle postihuje játra mezihostitele a příležitostně se metastatická ložiska vyskytují i u sekundárně infikovaných orgánů (Moro & Schantz 2009).

V člověku se larvální stádium parazita vyvíjí hlavně v játrech a je charakterizováno, podobně jako tumor, infiltrujícím a destruktivním růstem (Eckert et al. 2011). Dlouhá asymptomatická perioda v rozmezí 5-15 let komplikuje identifikaci průběhu a místě infekce, což komplikuje trasování historie infekce. Úmrtnost u člověka je >90 % 10-15 let od první diagnózy, pokud není nemoc léčena nebo je léčena nedostatečně (Torgerson et al. 2008). Ačkoliv se předpokládalo, že alveolární echinokokóza z Evropy vymizí koncem 20. století,

obzvláště pak kvůli značnému zlepšení veřejného zdraví, sanitaci a rostoucí urbanizaci, počet lidských případů roste v endemických oblastech, ale také v nově popsáných endemických zemích (Vuitton et al. 2015). V roce 2019 bylo v Evropě nahlášených 751 případů echinokokózy a z toho 147 z nich bylo způsobeno měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*), přičemž počet nových případů v posledních desetiletích výrazně stoupá (Obber et al. 2022).

Alveolární echinokokóza se obvykle projevuje symptomy u osob v pokročilém věku; věrně napodobuje jaterní karcinom nebo cirhózu. Ačkoliv se jedná o benigní onemocnění (nezhoubné), růst cysty bývá zpravidla maligního (zhoubného) rázu (Xu et al. 2022). Játra jsou primárním místem výskytu metacestod měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u člověka i u přirozených mezihostitelů. U chronických infekcí alveolární echinokokózy se léze skládá z centrální nekrotické dutiny vyplněné bílým amorfním materiálem, který je pokryt tenkou periferní vrstvou husté fibrózní tkáně. Existují fokální oblasti kalcifikace, stejně jako rozsáhlá infiltrace proliferujícími vezikulami. Mírné bolesti v horním kvadrantu a epigastriu (epigastrium je část břicha, která se nachází nad horizontální čarou spojující nejnižší body obou žeberních oblouků) s hepatomegalií mohou přejít v obstrukční žloutenku. Pacienti nakonec podlehnou jaternímu selhání, invazi do přilehlých struktur nebo vzácněji metastázám do mozku. Mortalita u progresivních, klinicky manifestních případů může být 50–75 %. U lidí s asymptomatickou infekcí však byly zaznamenány případy spontánního odumření cysty v raném stadiu jejího vývoje. Počáteční příznaky alveolární echinokokózy jsou obvykle neurčité v případě jaterní echinokokózy mezi ně může patřit zvětšení jater (s hmatnou hmotou v pravém horním kvadrantu nebo bez ní), bolest v pravém nadbříšku, nevolnost a zvracení. Pokud cysta praskne, může náhlé uvolnění jejího obsahu vyvolat alergické reakce od mírné až po smrtelnou anafylaxi. V plicích mohou být prasklé cysty zcela evakuovány průduškami nebo mohou zůstat zachovány a sloužit jako zdroj (nidus) pro bakteriální nebo plísňovou infekci. Šíření protoskolexů může vést k mnohočetným sekundárním echinokokózám. Může následovat lokální rozšíření léze a metastázy do plic a mozku (Xu et al. 2022). Růst larev v kostech je atypický; pokud k němu dojde, je běžná invaze do dutin kostní dřevě a spongiózy, která způsobuje rozsáhlou erozi kosti. Klinické projevy cystické echinokokózy jsou variabilní a závisí na místě, velikosti a stavu cyst. Rychlost růstu cyst je různá a pohybuje se od 1 do 5 cm v průměru za rok. Pomalu rostoucí echinokoková cysta je často dobře snášena, dokud vzhledem ke své velikosti nezpůsobí poruchu funkce (Moro & Schantz 2009).

Přítomnost cystické masy u osoby, která byla v minulosti v přítomnosti ovčáckých psů v oblastech, kde se měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) endemicky vyskytuje, podporuje diagnózu cystické echinokokózy. Echinokokové cysty je však třeba odlišit od benigních cyst, kavitární plicní tuberkulózy, mykóz, abscesů a benigních nebo maligních novotvarů. Neinvazivního potvrzení diagnózy lze obvykle dosáhnout kombinací radiologického zobrazení a imunodiagnostických technik (Moro & Schantz 2009). Radiografie umožňuje detekovat echinokokové cysty v plicích; v jiných lokalitách je však pro radiografické zobrazení nutná kalcifikace. Počítačová tomografie, magnetická rezonance a ultrasonografie jsou užitečné pro diagnostiku hluboko uložených lézí ve všech orgánech a také pro určení rozsahu a stavu avaskulárních cyst vyplněných tekutinou. Abdominální ultrasonografie se stala nejpoužívanější zobrazovací technikou pro echinokokózu, protože je široce dostupná a užitečná

pro určení počtu, místa, rozměrů a vitality cyst. Přenosné ultrasonografické přístroje byly použity pro terénní vyšetření s vynikajícími výsledky. V současné době se v terénu používá pouze ultrasonografie.

Světová zdravotnická organizace (WHO) vypracovala standardizovaný klasifikační systém pro jaterní cysty zjištěné ultrazvukem. Vyšetření protilátek je užitečné pro potvrzení předpokládané radiologické diagnózy, ačkoli někteří pacienti s cystickou echinokokózou nevykazují detekovatelnou imunitní odpověď. Jaterní cysty vyvolávají imunitní odpověď s větší pravděpodobností než plicní cysty. Bez ohledu na umístění je citlivost sérologických testů nepřímo úměrná stupni sekvence (oddělení části od celku) echinokokových antigenů uvnitř cyst; například zdravé, neporušené cysty mohou vyvolat minimálně detekovatelnou odpověď, zatímco dříve prasklé nebo prosakující cysty jsou spojeny se silnou odpovědí. Nepřímý hemaglutinační test je citlivý, ale v současné době byl pro prvotní screening sér nahrazen enzymovou imunoanalýzou (ELISA). Specifické potvrzení reaktivity lze získat průkazem specifických echinokokových antigenů pomocí imunoblotových testů. Eozinofilie neboli zvýšená hladina eozinofilních granulocytů v krvi nad fyziologickou hladinu, je přítomna u více než 25 % infikovaných osob (Moro & Schantz 2009). U séronegativních osob lze předpokládanou diagnózu potvrdit průkazem protoskolexů nebo hydatidových membrán v tekutině získané perkutánní aspirací cysty. Ultrazvukové vedení punkce, anthelmintické krytí a předvídání možné potřeby léčby alergické reakce minimalizují rizika. Protoskolexy lze někdy prokázat ve sputu neboli hlenu, nebo bronchiálním výplachu; identifikaci háčků usnadňuje barvení kyselinou.

Až do 80. let 20. století byla jedinou možností léčby echinokokových cyst chirurgická léčba, nicméně v poslední době byla zavedena chemoterapie benzimidazolovými sloučeninami a v také léčba pomocí punkce cysty, aspirace, injekční aplikace chemikálií a reaspirace, které stále častěji doplňují nebo dokonce nahrazují chirurgickou léčbu. Výhody a omezení současných možností léčby byly přezkoumány neformální pracovní skupinou WHO pro echinokokózu (Moro & Schantz 2009). Ve farmaceutickém průmyslu není na vývoj léčiv pro toto onemocnění vývíjen dostatečný tlak vlivem nízkého výskytu, a proto jsou zatím jedinou možností pro pacienty mebendazol a albendazol (Xu et al. 2022).

3.4.1 Chirurgická resekce echinokoka

U alveolární echinokokózy je preferovanou léčbou chirurgická resekce celé larvální masy, obvykle vyříznutím celého postiženého laloku jater; při rozsáhlém postižení se lze pokusit o klínovitou resekci léze. Jelikož je alveolární echinokokóza často diagnostikována až v pokročilém stadiu onemocnění, pacienti o tuto možnost přicházejí (Xu et al. 2022). Dlouhodobá léčba mebendazolem (antihelmintikum) (50 mg/kg/den) nebo albendazolem (antiparazitikum) (15 mg/kg/den) potlačuje růst larev měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), omezuje metastázy a zvyšuje kvalitu i délku přežití; tato léčba může být u některých pacientů nakonec larvicidní (likvidující larvy). V jinak terminálních případech byla úspěšně použita transplantace jater. Ve švýcarské studii vedla terapie neresekabilní (neléčitelné) alveolární echinokokózy mebendazolem a albendazolem ke zvýšení míry desetiletého přežití přibližně o 80 % (oproti 29 % u neléčených historických kontrol) a míry

šestnáctiletého až dvacetiletého přežití přibližně o 70 % (oproti 0 % u historických kontrol). Cílem chirurgického zákroku je úplné odstranění cysty s vyloučením nepříznivých následků vylití obsahu (Moro & Schnatz 2009). Obvyklým postupem je pericystektomie, ale v závislosti na lokalizaci a stavu cysty lze použít i prostou drenáž, kapitonáž, marsupializaci a resekci postiženého orgánu. Čím radikálnější zákrok, tím vyšší operační riziko, ale nižší pravděpodobnost recidivy, a naopak.

Chirurgický zákrok je upřednostňován v případech, kdy jsou jaterní cysty velké (> 10 cm v průměru), sekundárně infikované nebo se nacházejí v určitých orgánech (např. v mozku, plicích nebo ledvinách). Chirurgický zákrok je kontraindikován u pacientů, kteří jej odmítají, jsou těhotní, mají již existující onemocnění, které je ohrožuje, nebo mají více obtížně přístupných cyst. Chirurgický zákrok zahrnuje rizika spojená s jakýmkoli chirurgickým zákrokem (např. anestezie, infekce) i rizika specifická pro echinokokózu (např. anafylaxe, sekundární recidiva). Operační mortalita se pohybuje od 0,5 % do 4 %, ale stoupá při opakovaných zákrocích a v případě, že je operace prováděna v nevhodném zařízení (Moro & Schantz 2009). Chirurgické odstranění neporušených cyst, pokud je to v rámci zákroku možné, zůstává léčbou s nejlepším potenciálem odstranění cysty a plného vyléčení infikovaného pacienta. Dle autorů Xu a kol. (2022) vykazuje nejlepší výsledky léčba chirurgickým zákrokem/PAIR v kombinaci s chemoterapií.

3.4.2 Chemoterapie echinokoka

Další možnou metodou využívanou při léčbě echinokokózy je již zmíněná chemoterapie. Zkušenosti s chemoterapií pomocí benzimidazolových sloučenin jsou nyní rozsáhlé a tento léčebný postup lze u mnoha pacientů doporučit. Přibližně u třetiny pacientů léčených benzimidazolovými léky došlo k vyléčení (např. k úplnému a trvalému vymizení cysty) a u ještě větší části (30-50 %) byla prokázána významná regrese velikosti cysty a zmírnění příznaků. 20-40 % případů však nereaguje příznivě. Obecně nejlépe reagují malé (<7 mm v průměru), izolované cysty obklopené minimální adventiciální tkání, zatímco komplikované cysty s více kompartmenty, dceřinými cystami nebo s hustou či kalcifikovanou okolní adventiciální tkání jsou proti léčbě relativně odolné. Jako účinný se prokázal albendazol (10-15 mg/kg/den) i mebendazol (40-50 mg/kg/den). Výsledky albendazolu byly ale lepší, pravděpodobně kvůli jeho farmakokinetickému profilu, který podporuje střevní absorpci a průnik do cysty (Moro & Schantz 2009). Minimální délka léčby je 3 měsíce. Nežádoucí reakce (neutropenie, jaterní toxicita, alopecie a další), reverzibilní po ukončení léčby, byly zaznamenány u menšiny pacientů léčených oběma léčivy.

Mezi kontraindikace chemoterapie patří těhotenství, chronická jaterní onemocnění a deprese kostní dřeně. Kombinace praziquantelu a albendazolu byla úspěšně použita při léčbě hydatidózy. Léčba kombinací albendazolu s praziquantelem vykazovala lepší výsledky než léčba samotným albendazolem (Velasco-Tirado et al. 2018).

Benzimidazoly (albendazol [ABZ] a mebendazol) jsou jediné chemoterapeuticky licencované látky pro léčbu alveolární echinokokózy. Dostupná léčba má pouze parazitostatický účinek, a proto se provádí po mnoho let, často během života pacienta.

Nevýhoda benzimidazolů spočívá v jejich vážných vedlejších účincích, nereagování na léčbu některých pacientů a recidivy onemocnění po přerušení terapie (Ammann et al. 2015).

3.4.3 Perkutánní punkce echinokoka

Třetí možností léčby hydatidových cyst v játrech a některých dalších lokalizacích je: perkutánní punkce pod sonografickou kontrolou, aspirace značného množství tekutého obsahu, injekce protoskolicidního přípravku (např. 95% ethanol nebo hypertonický fyziologický roztok) po dobu nejméně 15 minut a reaspirace (PAIR, punkce, aspirace, injekce a reaspirace) (Moro & Schantz 2009). PAIR, což je drenáž cysty, je indikována u pacientů, kteří nemohou podstoupit operaci, a u pacientů, kteří operaci odmítají a mají jednotlivé nebo vícečetné cysty v játrech, dutině břišní, slezině, ledvinách a kostech. PAIR je kontraindikována u nepřístupných nebo povrchově uložených jaterních cyst a u neaktivních nebo kalcifikovaných cystických lézí. Aby se předešlo sklerotizující cholangitidě (chronická choroba jater vyznačující se postižením žlučovýchodů), nesmí se PAIR provádět u pacientů, jejichž cysty mají biliární komunikaci; její přítomnost lze zjistit vyšetřením tekutiny z cysty na přítomnost bilirubinu nebo intraoperačním cholangiogramem (zárok k odstranění žlučníku) či endoskopickou retrográdní cholangiopankreatografií (vyšetření endoskopem). Komplikace zákroku zahrnují sekundární infekci dutiny, akutní alergické reakce a recidivu; tyto komplikace jsou však vzácné. Aplikace PAIR na plicní cysty byla spojena s častými komplikacemi a nedoporučuje se. Lékař používající PAIR musí být připraven na léčbu alergické reakce. Možnost vzniku sekundární echinokokózy v důsledku náhodného rozptýlení při tomto zákroku lze minimalizovat současnou léčbou benzimidazoly. Kombinovaná léčba (PAIR s albendazolem) totiž může přinést lepší výsledky než chemoterapie nebo samotný PAIR (Velasco-Tirado et al. 2018). Doporučená délka léčby je 1 měsíc albendazolem po zákroku PAIR (Moro & Schantz 2009), dle autorů Velasco-Tirado et al. (2018) 1-3 měsíce. Příznivé výsledky byly zaznamenány u více než 2000 zákroků PAIR.

Metaanalýza srovnávající klinické výsledky u 769 pacientů s jaterní cystickou echinokokózou léčených pomocí PAIR plus albendazolem nebo mebendazolem s 952 dobově srovnatelnými historickými kontrolními subjekty, kteří podstoupili chirurgický zákrok, prokázala větší klinickou a parazitologickou účinnost, nižší míru morbidit a mortality a recidivy onemocnění a kratší dobu hospitalizace než u chirurgické léčby. Objektivní odpověď na léčbu se nejlépe hodnotí opakovaným hodnocením velikosti a konzistence cysty v tříměsíčních intervalech pomocí ultrazvuku, počítačové tomografie nebo magnetické rezonance. Vzhledem k tomu, že doba výskytu recidivy je velmi variabilní, mělo by takové sledování pokračovat nejméně po dobu 3 let. Změna hodnot titru (stupeň zředění vyšetřovaného krevního séra) sérologických protilátek není podle autorů Moro & Schantz (2009) sama o sobě spolehlivá pro určení výsledku chemoterapie nebo PAIR.

3.4.4 Programy prevence echinokokózy

Nejstarší úspěšný program prevence byl zahájen na Islandu před téměř 130 lety, kdy bylo zjištěno, že cystickou echinokokózou trpí přibližně každý šestý Islandan. Mimořádně účinná zdravotně osvětová kampaň upozornila na toto onemocnění celou populaci a následná opatření

prakticky eliminovala domácí porážky ovcí, což vedlo k postupné eliminaci přenosu. V 50. letech 20. století byla echinokokóza na Islandu považována za vymýcenou. Programy zahájené na Novém Zélandu (1959) a v Tasmánii (1965) byly založeny především na vzdělávání venkovského obyvatelstva a jeho motivaci ke změně jeho zvyklostí. Klíčovými prvky těchto programů byla přísná kontrola a zákaz porážek na farmách. Původně dobrovolná povaha programů byla s postupem jejich realizace posílena legislativními akty a zesíleným úsilím o jejich prosazování. Tato politika se ukázala jako velmi úspěšná: počet nakažených psů v průběhu kampaní neustále klesal. Poklesu infekce psů předcházela pokles prevalence infekce u ovcí a mladého skotu a snížení počtu každoročně diagnostikovaných případů u lidí. Na Novém Zélandu byl prvním rokem, kdy nebyl zjištěn žádný nakažený pes, rok 1985-1986 a hydatidové cysty u ovcí jsou nyní vzácné. Od roku 1977 nebyl hlášen žádný nový případ onemocnění echinokokózou u dětí nebo dospělých mladších 19 let. Cystická echinokokóza byla na Tasmánii i na Novém Zélandu prohlášena za dočasně vymýcenou (Moro & Schantz 2009).

Program na Kypru těžil z velmi agresivní eliminace toulavých psů a přísné kontroly pracovních psů a psů chovaných v domácnostech. Všichni používali diagnostickou očistu psů arekolinem (stimulační alkaloid) jako techniku dozoru pro sledování účinnosti programu a identifikaci problémových chovů. V Tasmánii byli infikovaní psi a infikovaná stáda ovcí v karanténě. Regionální programy v Argentině (1970), Chile (1978) a Uruguayi využily použití vysoce účinného echinokokcidika praziquantelu. Údaje ze sledování všech těchto programů dokumentovaly snížení prevalence u psů, zvířecích mezipřenositelů a lidí. Slibným pokrokem byl vývoj rekombinantní vakcíny (EG95), která zřejmě poskytuje 96-98 % ochranu před infekcí vyvolanou výzvou. Nedávné pokusy v Austrálii a Argentině s vakcínou EG95 ukázaly, že 86 % očkovaných ovcí bylo po vyšetření 1 rok po imunizaci zcela bez životaschopných cyst. Vakcinace snížila počet životaschopných cyst o 99,3 %. Byla vyvinuta také vakcína proti stádiu tasemnice psí, která poskytla 97-100 % ochranu proti růstu červů a produkci vajíček. Matematické modelování ukázalo, že nejúčinnějším zásahem proti echinokokóze je kombinace vakcinace ovcí a anthelmintické léčby psů. Podle tohoto modelu by při pokrytí 75 % populace ovcí vakcínou stačila šestiměsíční anthelmintická léčba a echinokokóza by se u mezipřenositelů i definitivních hostitelů snížila na velmi nízkou úroveň. Důležitou výhodou této méně intenzivní strategie by byly hlavně nižší náklady. Je třeba poznamenat, že pozitivní výsledky úspěšných programů tlumení, jakkoli významné na místní úrovni, výrazně nezměnily globální rozšíření a význam echinokokózy pro veřejné zdraví. Ve většině endemických oblastí nebylo dosaženo účinné kontroly, nebo se o ni dokonce ani nepokusili. Přitom standardizovaná registrace a prospektivní pozorovací protokoly jsou nezbytné pro řádné posouzení epidemiologie tohoto onemocnění a jeho trendů ve všech zemích Evropy (Vuitton et al. 2015). Existují obavy, že se echinokokóza mohla stát hyperendemickou v oblastech, kde byla kdysi endemická. Například v peruánské centrální vysočině mohlo náhlé ukončení kontrolního programu na konci 70. let 20. století vést k výraznému zvýšení prevalence infekce u mezipřenositelů a definitivních hostitelů a u lidské populace. Existují důkazy, které naznačují, že výskyt cystické echinokokózy se mohl zvýšit v nově nezávislých středoasijských státech (Kazachstán, Uzbekistán, Kyrgyzstán, Tádžikistán, Turkmenistán) v důsledku velkých sociálních a politických změn, které ovlivnily veterinární a zdravotnické služby po rozpadu bývalého Sovětského svazu v roce 1992 (Moro & Schantz 2009). Zvýšení prevalence může být

způsobeno i zvýšeným výskytem parazita u domácích savců coby definitivních hostitelů (Vuitton et al. 2015).

Z hlediska možností identifikace parazitů v rámci prevence lze zmínit studii autorů Riebold et al. (2020), která byla provedena v rámci „Patogenů přenášených hlodavci“ za účelem identifikace zoonotických parazitů u malých hlodavců v Německu. Pro tento účel bylo shromážděno celkem 111 drobných savců. Vzorky stolice a střeva od každého savce byly vyšetřovány mikroskopicky na přítomnost střevních parazitů pomocí Telemannovy koncentrační metody na rozlišení vajíček, Kinoyounova barvení pro rozlišení kokcií a Hendenhaimova barvení na rozpoznání jiných prvoků. Nejčastějšími nalezenými parazity v trusu zkoumaných savců byly kokcie, včetně eimerií (*Eimeria* spp.), kryptosporidií (*Cryptosporidium* spp.) a svalovek (*Sarcocystis* spp.). Prvoci, jako například lamblie střevní (*Giardia intestinalis*) nebo améby, byly detekovány zřídka, s největší pravděpodobností kvůli opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorků během přípravy. Zoonotické patogeny zjištěné ve studii autorů Riebold et al. (2020) mohou být potencionálně přenášeny na člověka pozřením infikované vody, otěrem nebo přenosem vzduchem.

4 Metodika

4.1 Původ odchycených zvířat

Zvířata využitá k pitvě byla odchycena v oblasti Jihovýchodních Čech, konkrétně v oblastech Svaté hory – Smrky (Ořechov) (S), Svaté hory – Buků (B), Svaté hory – Louky (Ořechov) (L), Bojanova – Smrky (BxS) a Bojanova – Buků (BxB). Tato oblast se nazývá Křižanovská vrchovina, jde o součást Českomoravské vrchoviny a zaujímá největší část Vysočiny.

4.2 Helmintologická pitva

Pitva byla zahájena vyjmutím orgánových soustav a makroskopickým ohledáním povrchu orgánů. Poté se orgány rozdělí a vyseparují se konkrétní orgány, které se budou pitvat. Tenké střevo (intestinum tenue) se skládá z dvanáctníku (duodenum), lačnicku (jejunum) a kyčelníku (ileum). Tenké střevo bývá při pitvě jen zřídka plně naplněno tráveninou, většinou jej najdeme prázdné, nebo naplněné řídkou tráveninou. Pitva tenkého střeva probíhá tak, že se střevo nejprve podélně rozstříhne, následně se vodou pročistí obrácená sliznice, kterou pak důkladně prohlédneme. Pokud nalezneme parazita, musíme každého nalezeného jedince zvlášť zafixovat. Obsah střev se postupně promíchává a promývá přes síta. Vzniklý sediment se následně zafixuje a takto upravený vzorek je připraven k vyšetření pomocí mikroskopu (Lanková et al. 2018).

Druhým orgánem kontrolovaným při zjišťování měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) – larválních stádií (boubelů) byla játra. U jater nejdříve prohlédneme barvu a povrchovou strukturu. Boubele fixujeme v čistém alkoholu pro další diagnostiku (Lanková et al. 2018).

5 Výsledky

Celkem bylo vyšetřeno 25 hlodavců (Tabulka č.1). Mezi pitvané hlodavce patřila myšice lesní (*Apodemus flavicolis*), norník rudý (*Myodes glareolus*), hraboš polní (*Microtus arvalis*) a myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*). Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) byl nalezen pouze u jednoho zvířete, a to norníka rudého, kontrétně na játrech. U 11 jedinců byla helmintologická pitva zcela negativní.

Tabulka č. 1: Druhy zvířat a jejich napadení helminty v okolí Svaté hory – Smrky (Ořechov) (S), Svaté hory – Buků (B), Svaté hory – Louky (Ořechov) (L), Bojanova – Smrky (BxS) a Bojanova – Buků (BxB)

Datum odchyty	Druh	Pohlaví	Označení	Helmintí
31.03.2022	Myšice lesní (B)	F	B4	roupi, tenkohlavci, tasemnice
31.03.2022	Myšice lesní (B)	F	B3	negativní na nález
29.03.2022	Myšice lesní (B)	F	B1	Heligmosomoides
31.03.2022	Myšice lesní (B)	F	B2	negativní na nález
29.03.2022	Myšice lesní (BxB)	F	B1B	negativní na nález
29.03.2022	Myšice lesní (L)	F	L1B	kapilárie
29.03.2022	Myšice lesní (B)	M	B1	roupi
31.03.2022	Myšice lesní (BxB)	M	B3B	negativní na nález
31.03.2022	Myšice lesní (BxB)	M	B4B	negativní na nález
31.03.2022	Myšice lesní (SxB)	M	S7B	Heligmosomoides
29.03.2022	Myšice lesní (SxB)	M	S1B	negativní na nález
29.03.2022	Myšice lesní (S)	M	S7	Heligmosomoides, Syphacia
29.03.2022	Myšice lesní (SxB)	M	S3B	tasemnice
29.03.2022	Myšice lesní (SxB)	M	S5B	tenkohlavec
29.03.2022	Myšice křovinná (S)	F	S6	negativní na nález
30.03.2022	Myšice křovinná (S)	M	S4	Heligmosomoides
29.03.2022	Myšice křovinná (B)	M	B5	roupi
29.03.2022	Norník rudý (S)	F	S2	negativní na nález
29.03.2022	Norník rudý (S)	F	S3	negativní na nález
31.03.2022	Norník rudý (S)	F	S5	negativní na nález
31.03.2022	Norník rudý (BxB)	M	B5B	negativní na nález
31.03.2022	Norník rudý (SxB)	M	S8B	tasemnice, roupi
29.03.2022	Norník rudý (BxB)	M	B2B	Larvální stádium tasemnice
29.03.2022	Norník rudý (BxB)	M	B3B	Heligmosomoides
29.03.2022	Hraboš polní (B)	F	L1	Heligmosomoides, tenkohlavec

6 Diskuse

Z literární rešerše vyplývá, že počet pozitivních odchycených mezihostitelů, kteří jsou využíváni pro určení prevalence echinokoka, je velmi nízký. Přitom jsou údaje z mezihostitelů velmi důležité pro poskytnutí dalších informací, z již známých endemických oblastí. K určení prevalence nemusí být využíváno jen mezihostitelů, ale lze využít i diagnostiku pomocí koprologie nebo pitvy hlavních definitivních hostitelů (lišek).

Informace o nízké prevalenci pocházejí hned z několika zemí. Ve Francii byli například během roku 2017 odchyceni pouze 4 infikovaní hraboši, během roku 2018 pak další dva hraboši. Z toho plyne velmi nízká prevalence 0,8 % (Umhang et al. 2021). Další screening parazitických lézí v játrech hryzců vodních (konkrétně 1238 kusů) prováděl Umhang et al. v roce 2021. Šlo o jednice odchycené z historických, ale opomíjených ohniskových oblastí v centru Francie (region Auvergne). Tento screening identifikoval 6 hrabošů infikovaných měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) v oblasti Haues-Alpes, avšak žádného infikovaného hraboše z regionu Auvergne (Puy-de-Dome). Nepřítomnost infikovaných hrabošů v regionu Auvergne lze vysvětlit především obecně nízkou prevalencí zaznamenanou u mezihostitelů (Umhang et al. 2021).

Zajímavý je fakt, že je nízká prevalence hlášená i z ohniskových oblastí výskytu alveolární echinokokózy, jako je například již zmíněný region Auvergne ve Francii. Dříve hlášená prevalence měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných na počátku 80. let byla 7 % (Pétavy & Deblock 1983), po novějším výzkumu v sousední oblasti Cantal byla hlášena prevalence 9 % (Combes et al. 2012).

Hlavní nevýhodou výzkumu na mezihostitelích je obecně nízká nahlášená prevalence (Guraudoux et al. 2002), což vyžaduje značné úsilí při odchytu. Avšak může být využito již probíhajících odchytů při kontrole zemědělských škůdců ve známých endemických oblastech, kde se obvykle neprovádí diagnostika parazitů, ale mohou zde být získána užitečná molekulární data. V této konkrétní oblasti (Francie) postupně klesá počet případů nakažení alveolární echinokokózou u člověka. (Umhang et al. 2021).

Další zemí s potvrzeným výskytem echinokoka je Polsko. Zde prevalence od roku 2000 postupně roste, a to i v oblastech s nízkým endemickým výskytem (Karamon et al. 2015). Není ale zcela jasné, proč prevalence stoupá zrovna v těchto oblastech. Možný vliv na rostoucí prevalenci echinokoka má i fakt, že se v Polsku v rámci posledních dvou desetiletí až zčtyřnásobil počet lišek (Umhang et al. 2017).

Při odchytu hraboše polního (*Microtus arvalis*) Belgie, kdy bylo neoficiálně odchyceno 914 jedinců, byl pouze jeden infikovaný protoskolexy (Hanosset et al. 2008).

Z výsledků hlodavců odchycených na jaře roku 2022 v lokalitách Svaté hory – Smrky (Ořechov) (S), Svaté hory – Buků (B), Svaté hory – Louky (Ořechov) (L), Bojanova – Smrky (BxS) a Bojanova – Buků (BxB) je patrné, že i zde v Čechách je velmi nízká prevalence. Pouze u jednoho normíka rudého nalezena larvální stádium tasemnice na játrech, které bylo později určeno jako tasemnice *Versteria mustelae*.

Lze tedy říct, že literární rešerše i praktická pitva se shodují v tom, že je u měchožila obecně nízká prevalence výskytu u mezihostitelů. Tento fakt lze vysvětlit tím, že infikovaní drobní savci jsou dříve sežráni definitivními hostiteli, nežli se stihnou chytit do pastí.

7 Závěr

Výsledky, během kterých bylo larvální stádium tasemnice (později určeno jako larvální stádium tasemnice *Versteria mustelae*) diagnostikováno pouze u jediného pitvaného zvířete, se shodovaly se zmiňovanou nízkou prevalencí uváděnou v literární rešerši. Obecně je prevalence měchožila zhoubného (*Echinococcus multilocularis*) velmi nízká. Dá se tedy předpokládat, jak již bylo zmíněno v diskusi, že infikování hlodavci mohou být z důvodu jejich oslabení sežráni liškami, které slouží jako definitivní hostitelé pro měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Toto může být jedno z možných vysvětlení proč nejsou drobní savci infikováni měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) nalézáni v souboru odchycených hlodavců.

Z důvodu zmíněné nízké prevalence je třeba monitorovat výskyt tohoto parazita i u finálních hostitelů. K tomuto účelu lze využít již méně invazivních metod k určení infekce parazita, jako je například koprologické vyšetření trusu.

Dobrou prevencí pro člověka, u kterého může infekce měchožilem vyvolat alveolární echinokokózu, je odpovídající chování hlavně v lese, kde se mohou lišky, coby finální hostitelé, pohybovat. Nejvíce ohrožení jsou pak myslivci, lesníci, farmáři a obecně obyvatelé oblastí s vysokým výskytem měchožilů u lišek. V tomto případě je tedy na místě zvýšená pozornost a dodržování hygienických návyků jako je například mytí rukou nebo odklizení výkalů. V místech s vysokou prevalencí měchožila je taky vhodné zvážit jako prevenci podávání antihelmintik psům a kočkám v určitých intervalech.

I přes preventivní opatření a zdokonalující se monitoringové systémy pro sledování prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) by se onemocnění způsobované tímto parazitem nemělo podceňovat, jelikož se stále jedná o jednu z nejrizikovějších helmintických zoonóz.

8 Slovník

Abundance = počet jedinců jednoho druhu na určitém místě (populace)

ABZ = albendazol, jde o anthelmitikum, což je léčivá látka, která je využívána k léčbě helmintických infekcí

Antropogenní pohyb/pochod= změna krajiny vzniklá činností člověka

Balb/c = kmen myši citlivý k infekci

Benzimidazol = heterocyklická aromatická sloučenina, derivát benzimidazolu, jde o anthelmitikum, které vazbou na tubulin brání polymeraci a vzniku, resp. Prodlužování mikrotubulů, což způsobuje narušení tvorby mitotického vřetenka a tím brání buněčnému dělení

Benzimidazolová terapie = léčba s využitím benzimidazolů, což jsou anthelmitika

CD4+ Th lymfocyt = pomocný lymfocyt, který má na povrchu membrány receptory pro rozpoznávání antigenu a další diferenciální molekuly, konkrétně molekulu CD4

Cytokin INF- γ = interferon γ , má antivirový účinek, produkován makrofágy

Cytokiny Th1 = molekuly zajišťující přenos informací mezi buňkami, jde o cytokiny uplatňující se v buněčné imunitě

Cytokiny Th2 = cytokiny uplatňující se v buněčné imunitě, patří sem např. IL-12

Difyletický druh = druh, který má dva předky

EmsB marker = molekulární mikrosatelit, který se používá při genotypových studiích měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*)

Endemický výskyt= častý výskyt v určité geografické oblasti či populaci

Etiologický agens= patogen neboli biologický faktor, který může způsobit onemocnění hostitele

Fenbendazol= léčivá látka, kterou řadíme mezi benzimidazoly. Jde o širokospektrální anthelmitikum a používá se k odčervování.

Fibrogenese = systéza mezibuněčné hmoty

Fibróza jater = onemocnění, při kterém dochází k zmožení vaziva v jaterní tkáni

GenBank= komplexní veřejná databáze nukleotidových a proteinových sekvencí s podpůrnou bibliografickou a biologickou anotací

Generalisti = paraziti, kteří nejsou specializovaní na konkrétní hostitele a mají více než jednoho hostitele

Genotypizace = metoda vizualizace jednoho nebo více genů v živém organismu

GI = glukanový imunomodulátor

GIZn = glukanový imunomodulátor s využitím zinku

IgG1= nejčastější podtřída (podtřída 1) imunoglobulinu G, důležitý pro zprostředkování protilátkové odpovědi proti virovým patogenům

IgG2 = imunoglobulin G, podtřída 2 v séru.

IgG2a = imunoglobulin zodpovědný za molekulu IgG ve tvaru „Y“ s disulfidovými vazbami, které nejsou závislé na jiných vazbách

IgG2b= na rozdíl od IgG2a je tento typ imunoglobulinu omezený kvůli disulfidovým vazbám, které připojují ramena k pantu, molekula má potom tvar „T“

IgM protilátky = imunoglobuliny M, tvoří buněčný receptor na povrchu B lymfocytů, jde o první typ protilátek, který se vytvoří po setkání s antigenem (PRIMÁRNÍ ODPOVĚĎ)

Imunomodulátory = látky schopné měnit rozsah imunitní odpovědi, stimulují činnost imunitního systému

Interleukin-12 = cytokin imunitního systému, který zprostředkovává přechod od imunity vrozené k imunitě adaptivní, řídí zánětlivou odpověď

Kodon=triplet, tři za sebou jdoucí báze mRNA. Určuje druh aminokyseliny.

Komezálismus = soužití, ze kterého má jedna strana výhodu díky využití druhé strany, ale zároveň druhé straně neškodí

Lysyloxidáza = extracelulární enzym zajišťující vznik příčných vazeb mezi vlákny kolagenu

Mebendazol= léčivá látka, řadíme ji mezi benzimidazoly. Je to antihlemintikum a používá se jak ve veterinární, tak humánní medicíně proti hlísticím a tasemnicím.

Metacestoda= vývojové larvální stádium tasemnic v mezihostiteli

Mitogen = látka spouštějící mitózu, využívá se ke stimulaci/ dělení lymfocytů

Myofibroblasty= diferencované buňky, které se podílejí na hojivých procesech, aktivují je fibroblasty

NCBI= Národní centrum biotechnologických informací (National Center for Biotechnology Information), pod jejich záštitou funguje GenBank

Paratenický hostitel = hostitel, který stojí mimo vývojový cyklus parazita, není tedy ani pravým hostitelem ani pravým mezihostitelem

Polymorfismus= stav, kdy v populaci existují pro určitý znak minimálně 2 genetické alely neboli varianty.

Proliferační odpověď T lymfocytů = množení buněk v rámci buněčné odpovědi organismu

Protoskolex = zárodek tasemnice

Pst = určuje, jak jsou populace vzdáleny a rozprostřeny od průměrné hodnoty

Pyridinolin = příčná vazba kolagenu, jejímž základem je pyridinový heterocyklus se substituenty na pozici 1, 3, 4 a 5

Spp. = zkratka pro různé druhy

Sylvatický životní cyklus= životní cyklus probíhající v lesním prostředí

Sympatrický výskyt, sympatrie = označení pro stav, kdy se areály výskytu různých organismů částečně nebo úplně překrývají

Th = zkratka pro T hepler buňky/pomocné buňky,

Th1= imunitní odpověď, která spouští protizánětlivé reakce a imunitní reakce proti intracelulárním parazitům (viry, bakterie)

Th2= imunitní odpověď, která spouští reakci proti extracelulárním parazitům (helminti), imunitní odpovědi Th1 a Th2 podléhají vzájemné regulaci

TNF = tumor nekrotizující faktor, uplatňuje se při buněčné imunitě

Troficky přenášený parazit = parazit, který se přenáší pozřením mezihostitelem

Vezikuly = transportní váčky

Vyhledávání podobnosti BLAST=nástroj používaný pro porovnávání sekvencí s knihovnou či databází sekvencí

9 Literatura

Abbas AK, Murphy KM, Sher A. 1996. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* **383**: 787-793.

Afonso E, Knapp J, Tete N, Umhang G, Reiffel D, van Kesteren F, Ziadinov I, Craig PS, Torgerson PR, Giraudoux P. 2015. *Echinococcus multilocularis* in Kyrzgyzstan: similarity in the Asian EmsB genotypic profiles from village populations of Eastern mole voles (*Ellobius tancrei*) and dogs in the Alay valley. *Journal of Helminthology* **89**: 664-70.

Ammann RW, Stumpe KDM, Grimm F, Deplazes P, Huber S, Bertogg K, Fisher DR, Müllhaupt B. 2015. Outcome after Discontinuing Long-Term Benzimidazole Treatment in 11 Patients with Non-resectable Alveolar Echinococcosis with Negative FDG-PET/CT and Anti-EmII/3-10 Serology. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **9**. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003964.

Andresiuk M V, Ponce Gordo F, Cuesta Bandera C, Elissondo M C, Dopchiz M, Denegri G. 2009. *Echinococcus granulosus*: biological comparison of cattle isolates from endemic regions of Argentina and Spain. *Revista Argentina de Microbiología* **41**:218-225.

Anttinen H, Ryhänen L, Puistola U, Arranto A, Oikarinen A. 1984. Decrease in Liver Collagen Accumulation in Carbon tetrachloride-Injured and Normal Growing Rats Upon Administration of Zinc. *Gastroenterology* **86**: 532-539.

Antolová D, Reiterová K. 2010. Vplyv infekcie *Echinococcus multilocularis* na reprodukciu a imunitnú odpoveď myši. *Parazitologický ústav SAV, Košice*.

Arrabal JP, Avila HG, Rivero MR, Camicia F, Salas MM, Costa SA, Nocera CG, Rosenzvit MC, Kamenetzky L. 2017. *Echinococcus oligarthus* in the subtropical region of Argentina: First integration of morphological and molecular analyses determines two distinct populations. *Veterinary Parasitology* **240**: 60-67.

Badaraco J L, Ayala F J, Bart J M, Gottstein B, Haag K L. 2008. Using mitochondrial and nuclear markers to evaluate the degree of genetic cohesion among *Echinococcus* populations. *Experimental Parasitology* **119**:453-459.

Baker D G. 2006. Parasitic Diseases. Pages 453-478 in Suckow M A, Weibroth S H, Franklin C L editors. *The Laboratory Rat*. Academic Press. Cambridge, Massachusetts.

Baker D G. 2007. *Flynn's Parasites of Laboratory Animals*. Blackwell Publishing. New Jersey, USA.

Bart JM, Morariu S, Knapp J, Ilie MS, Pitulescu M, Anghel A, Cosoroaba I, Piarroux R. 2006. Genetic typing of *Echinococcus granulosus* in Romania. *Parasitology Research* **98**: 130-137.

Bart JM, Knapp J, Gottstein B, El-Garch F, Giraudoux P, Glowatzki ML, Berthoud H, Maillard S, Piarroux R. 2006. EmsB, a tandem repeated multi-loci microsatellite, new tool to

investigate the genetic diversity of *Echinococcus multilocularis*. *Infection, Genetics and Evolution* **6**: 390-400.

Baum MK, Shor-Posner G, Campa A. 2000. Zinc status in human immunodeficiency virus infection. *The Journal of Nutrition* **130**: 14215-14235.

Beato S, Parreira R, Calado M, Grácio M A A. 2010. Appaarent dominance of the G1-G3 genetic cluster of *Echinococcus granulosus* strains in the central inland region of Portugal. *Parasitology International* **59**: 638-642.

Beck R, Mihaljević Ž, Brezak R, Bosnić S, Lohman Janković I, Deplazes P. 2018. First detection of *Echinococcus multilocularis* in Croatia. *Parasitology Research* **117**: 617-621.

Bennett J E, Dolin R, Blaser M J. 2019. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practise of Infectious Diseases*. ELSEVIER Health Sciences. ISBN: 9780323550277.

Berke O, Romig T, von Keyserlingk M. 2008. Emergence of *Echinococcus multilocularis* among red foxes in northert Germany, 1991-2005. *Veterinary Parasitology* **155**: 319-322.

Borecka A, Gawor J, Malczewska M, Malczewski A. 2008. Occurence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in southern Poland. *Helminthologia* **45**: 24-27.

Borošková Z, Dvorožňáková E, Dubinský P, Velebný S, Tomašovičová O, Machnická B. 1998. Effect of free and liposomized albendazole on the immune responses in healthy and *Toxocara canis*-infected mice. *Veterinárni medicína* **43**: 293-300.

Borošková Z, Dvorožňáková E, Ševčíková Z. 2003. Cellular immune reactions of mice with Alveolar echinococcosis after albendazole therapy. *Helminthologia* **40**: 187-194.

Bowles J, Blair D, McManus DP. 1992. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Molecular and Biochemical Parasitology* **54**: 165-173.

Bowles J, Blair D, McManus D P. 1994. Molecular genetic characterisation of the cervid strain („northern form“) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* **109**(2): 215-221.

Bradley DG, Magee DA. 2006. Genetics and the origins of domestic cattle. *Documenting Domestication: New Genetic and Archeological Paradigms* 317-328.

Brown WM, George MJr, Wilson AC. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the national academy of sciences* **76**: 1967-1971.

Busi M, Šnábel V, Varcasia A, Garippa G, Poerrone V, De Liberato C, D'Amelio S. 2007. Genetic varioation within and between G1 and G3 genotypes of *Echinococcus granulosus* in Italy revealed by multilocus DNA sequencing. *Veterinary Parasitology* **150**: 75-83.

Casini A, Ceni E, Salzano R, Biondi P, Parola M, Galli A, Foshi M, Caligiuri A, Pinzani M, Surrenti C. 1997. Neutrophil-derived superoxide anion induces lipid peroxidation and stimulates collagen synthesis in human hepatic stellate cells: role of nitric oxide. *Hepatology* **25**: 361-367.

- Casulli A, Széll Z, Pozio E, Sréter T. 2010. Spatial distribution and genetic diversity of *Echinococcus multilocularis* in Hungary. *Veterinary Parasitology* **174**: 241-246.
- Casulli A, Interisano M, Sreter T, Chtimia L, Kirkova Z, La Rosa G, Pozio E. 2012. Genetic variability of *Echinococcus granulosus* sensu stricto in Europe inferred by mitochondrial DNA sequences. *Infection, Genetics and Evolution* **12**: 377-383.
- Combes C. 2001. *Parasitism: The Ecology and Evolution of Intimate Interactions*. University of Chicago Press, Chicago.
- Combes B, Comte S, Raton V, Raoul F, Boué F, Umhang G, Favier S, Dunoyer Ch, Woronoff N, Giraudoux P. 2012. Westward Spread of *Echinococcus multilocularis* in Foxes, France, 2005-2010. *Emerging Infectious Diseases* **18**(12): 2059-2062.
- Delattre P, De Sousa B, Fichet E, Quéré JP, Girauoux P. 1999. Vole outbreaks in landscape context: Evidence from a six year study of *Microtus arvalis*. *Landscape Ecology* **14**: 401-412.
- Delibes-Mateos M, Delibes M, Ferreras P, Villafuerte R. 2008. Key Role of European Rabbits in the Conservation of the Western Mediterranean Basin Hotspot. *Conservation Biology* **22**: 1106-1117.
- Dell'Arte G L, Laaksonen T, Norrdahl K, Korpimäki E. 2007. Variation in the diet composition of generalist predator, the red fox, in relation to season and density of main prey. *Acta Oecologica* **31**: 276-281.
- Deplazes P, Eichenberger RM, Grimm F. 2019. Wildlife-transmitted Taenia and Versteria cysticercosis and coenurosis in humans and other primates. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **9**: 342-358.
- Dixon JB. 1997. Echinococcosis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **20**: 87-94.
- Dobson A. 2004. Population dynamics of pathogens with multiple host species. *The American Naturalist* **164**: 564-568.
- Dupuy G, Giraudoux P, Delattre P. 2009. Numerical and dietary responses of predator community in a temperate zone of Europe. *Ecography* **32**: 277-290.
- Dvorožňáková E, Hřčková G, Borošková Z, Velebný S, Dubinský P. 2004. Effect of treatment with free and liposomized albendazole on selected immunological parameters and cyst growth in mice infected with *Echinococcus multilocularis*. *Parasitology International* **53**: 315-325.
- Eckert J, Deplazes P. 1999. Alveolar Echinococcosis in Humans: The Current Situation in Central Europe and the Need for Countermeasures. *ELSEVIER*. **15**: 315-319.
- Eckert J, Conraths F J, Tackmann K. 2000. Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis? *International Journal of Parasitology* **30**: 1283-1294.

Eckert J, Gemmell M, Meslin F, Pawłowski Z. 2001. WHO/OIE manual on Echinococcosis in humans and animals: A public health problem of global concern. Parasitology. Cambridge University Press, Cambridge.

Ferrari N. 1995. Influence of abundance of food resources on the feeding habits of the red fox, *Vulpes vulpes*, in western Switzerland. Journal of Zoology **236**: 117-129.

Giraudoux P, Delattre P, Habert M, Quéré JP, Deblay S, Defaut R, Duhamel R, Moissenet MF, Salvi D, Truchetet D. 1997. Population dynamics of fossorial water vole (*Arvicola terrestris scherman*): a land use and landscape perspective. Agriculture, Ecosystems & Environment **66**: 47-60.

Giraudoux P, Delattre P, Takahashi K, Raoul F, Quéré JP, Craig P, Vuitton D. 2002. Transmission Ecology of *Echinococcus multilocularis* in Wildlife: What Can Be Learned from Comparative Studies and Multiscale Approaches? IOS Press: 251-266.

Gottstein B, Hemphill A. 1997. Immunopathology of Echinococcosis. Chemical Immunology **66**: 177-208.

Gottstein B, Stojkovic M, Vuitton D A, Millon L, Marcinkute A, Deplazes P. 2015. Threat of Alveolar Echinococcosis to public health – a challenge for Europe. Trends in Parasitology **31**: 407-412.

Guerra D, Hegglin D, Bacciarini L, Schnyder M, Deplazes P. 2014. Stability of the southern European border of *Echinococcus multilocularis* in the Alps: evidence that *Microtus arvalis* is a limiting factor. Parasitology, DOI: 10.1017/S0031182014000730.

Guerret S, Vuitton DA, Liance M, Pater C, Carbillet JP. 1998. *Echinococcus multilocularis*: relationship between susceptibility/resistance and liver fibrogenesis in experimental mice. Parasitology research: **84**:657-667.

Guislain M H, Raoul F, Giraudoux P, Terrier M E, Froment G, Ferté H, Poulle M L. 2008. Ecological and biological factors involved in the transmission of *Echinococcus multilocularis* in the French Ardennes. Journal of Helminthology **82** (2): 143-151.

Haag KL, Zaha A, Araújo Am, Gottstein B. 1997. Reduced genetic variability within coding and non-coding regions of the *Echinococcus multilocularis* genome. Parasitology **115**: 521-529.

Hanosset R, Saegerman C, Adant S, Massart L, Losson B. 2008. *Echinococcus multilocularis* in Belgium: prevalence in red foxes (*Vulpes vulpes*) and in different species of potential intermediate hosts. Veterinary Parasitology **151**: 212-217.

Haukisalmi V, Henttonen H, Hardman LM. 2006. Taxonomy and diversity of *Paranoplocephala* spp. (Cestoda: Anoplocephalidae) in voles and lemmings of Beringia, with description of three new species. Biological Journal of the Linnean Society **89**: 277-299.

Haukisalmi V, Henttonen H, Niemimaa J, Rausch R L. 2022. Description of *Paranoplocephala etholeni* n. sp. (Cestoda: Anoplocephalidae) in the meadow vole *Microtus*

pennsylvanicus, with synopsis of *Paranoplocephala* s. l. in holarctic rodents. *Parasite* **9**: 305-314.

Hrčková G, Velebný S, Daxnerová Z, Solár P. 2006. Praziquantel and liposomized glucan-treatment modulated liver fibrogenesis and mastocytosis in mice infected with *Mesocestoides vogae* (*M. corti*, Cestoda) tetrathyridia. *Parasitology* **132**: 581-594.

Hüttner M, Nakao M, Wassermann T, Siefert L, Boomker J D F, Dinkel A, Sako Y, Mackenstedt U, Romig T, Ito A. 2008. Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis Ortlepp* 1937 (Cestoda: Taeniidae) from the African lion. *International Journal of Parasitology* **38**: 861-868.

Cho SH, Kim TS, Na BK, Sohn WM. 2013. Tetrathyridia of *Mesocestoides lineatus* in Chinese Snakes and Their Adults Recovered from Experimental Animals. *Korean Journal of Parasitology* **51**: 531-536.

Chowdhury N, Singh R. 1989. Distribution of zinc in parasitic helminths. *Journal of Helminthology* **63**: 149-152.

Jenkins D J, Romig T, Thomson R C A. 2005. Emergence/re-emergence of *Echinococcus* spp. – a global update. *International Journal for Parasitology* **35**: 1205-1219.

Kamenetzky L, Gutierrez AM, Canova SG, Haag KL, Guarnera EA, Parra A, García GE, Rozensvit MC. 2002. Several strains of *Echinococcus granulosus* infect livestock and humans in Argentina. *Infection, Genetics and Evolution* **2**: 129-136.

Kapel CMO, Torgerson PR, Thompson RCA, Deplazes P. 2006. Reproductive potential of *Echinococcus multilocularis* in experimentally infected foxes, dogs, racoon dogs and cats. *International Journal for Parasitology* **36**: 79-86.

Karamon J, Sroka J, Cencek T, Michalski MW, Zieba P, Karwacki J. 2011. Prevalence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes in two eastern provinces of Poland. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* **55**: 429-433.

Karamon J, Kochanowski M, Sroka J, Cencek T, Rozycki M, Chmurzynska E, Bilaska-Zajac E. 2014. The prevalence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes in Poland – current results (2009-2013). *Parasitology research* **113**: 317-322.

Karamon J, Kochanowski M, Dabrowska J, Sroka J. 2015. Dynamics of *Echinococcus multilocularis* infection in red fox populations with high and low prevalence of this parasite in Poland (2007-2014). *Bulletin of Veterinary Institute in Pulawy* **59**: 213-217.

Karamon J, Stojcecki K, Samorek-Pierog M, Bilaska-Zajac E, Rozycki M, Chmurzynska E, Sroka J, Zdybel J, Cencek T. 2017. Genetic diversity of *Echinococcus multilocularis* in red foxes in Poland: the first report of haplotype of probable Asian origin. *Folia Parasitologica* DOI: 10.14411/fp.2017.007.

Kidd PM. 2000. The use of mushroom glucans and proteoglycans in cancer treatment. *Alternative Medicine review: A Journal of Clinical therapeutic* **5**: 4-27.

Kizaki T, Ishige M, Kobayashi S, Bingyan W, Kumagai M, Day NK, Good RA, Onoé K. 1993. Suppression of T-cell proliferation by CD8+ T cells induced in the presence of protoscolices of *Echinococcus multilocularis* in vitro. *Infection and Immunity* **61**: 525-533.

Knapp J, Bart JM, Glowatzki ML, Ito A, Gerard S, Maillard S, Piarroux R, Gottstein B. 2007. Assessment of use of microsatellite polymorphism analysis for improving spatial distribution tracking of *Echinococcus multilocularis*. *Journal of Clinical Microbiology* **45**: 2943-50.

Knapp J, Bart JM, Giraudoux P, Glowatzki ML, Breyer I, Raoul F, Deplazes P, Duscher G, Martinek K, Dubinsky P, Guislain MH, Cliquet F, Romig T, Malczewski A, Gottstein B, Piarroux R. 2009. Genetic diversity of cestode *Echinococcus multilocularis* in red foxes at a continental scale in Europe. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **3**(6): e452.

Kojima-Yuasa A, Umeda K, Ohkita T, Opare Kennedy D, Nishiguchi S, Matsui-Yuasa I. 2005. Role of active oxygen species in zinc deficiency-induced hepatic stellate cell activation. *Free Radical Biology and Medicine* **39**: 631-640.

Lalle M, Fiorillo A. 2019. The protein 14-3-3: A functionally versatile molecule in *Giardia duodenalis*. *Advances in Parasitology* **106**: 51-103.

Lanková S, Langrová I, Jankovská I, Knížková I, Vadlejch J, Kunc P. 2018. Postup helmintologické pitvy a postmortální detekce helmintů vyskytujících se u domácích přežvýkavců v České republice. Powerprint Praha

Le Louarn H, Quéré JP. 2003. Les Rongeurs de France: Faunistique et biologie. INRA, Paris.

Lee LM, Wallace RS, Clyde VL, Gendron-Fitzpatrick A, Sibley SD, Stuchin M, Lauck M, O'Connor DH, Nakao M, Lavikainen A, Hoberg EP, Goldberg TL. 2016. Definitive hosts of *Versteria* tapeworms (Cestoda: Taeniidae) causing fatal infection in North America. *Emerging Infectious Diseases* **22**: 707-710.

Liance M, Ricard-Blum S, Emery I, Houin R, Vuitton DA. 1998. *Echinococcus multilocularis* infection in mice: *in vivo* treatment with low dose of IFN- μ decreases metacestode growth and liver fibrogenesis. *Parasite* **5**: 231-237.

Machado-Pinto J, Laborne L. 2016. *Tropical Dermatology*. Elsevier Inc., Edinburgh.

Malczewski A, Rocki B, Ramisz A, Eckert J. 1995. *Echinococcus multilocularis* (Cestoda), the causative agent of alveolar echinococcosis in humans: first record in Poland. *Parasitology* **81**(2): 18-21.

Manfras BJ, Reuter S, Wendland T, Boehm BO, Kern P. 2004. Impaired Th1 CD4 memory T-cell generation in chronic-persisting liver infection with *Echinococcus multilocularis*. *International Immunology* **16**: 43-50.

Marchiondo AA, Cruthers LR, Fourie JJ. 2020. Chapter 2: Nematoda. Pages 135-335 in Marchiondo AA, Cruthers LR, Fourie JJ editors. *Parasiticide Screening, Volume 2*. Academic press. Cambridge, Massachusetts.

Massolo A, Valli D, Wassermann M, Cavallero S, D'Amelio S, Meriggi A, Torretta E, Serafini M, Casulli A, Zambon L, Bonu CB, Ori M, Romig T, Macchioni F. 2018. Unexpected *Echinococcus multilocularis* infections in shepherd dogs and wolves in south-western Italian Alps: A new endemic area? *International Journal of Parasitology: Parasites and Wildlife* **7**: 309-316.

Meneghelli UG, Martinelli AL, Belluci AD, Villanova MG, Velludo MA, Magro JE. 1992. Polycystic hydatid disease (*Echinococcus vogeli*). Treatment with albendazole. *Annals of tropical medicine and Parasitology* **86**: 151-156.

Milevic M, Rajičić M, Umhang G, Bajic B, Bjelic-Čabrilo P, Budinski I, Blagojevic JV. 2023. Cryptic species *Hydatigera kamiyaki* and other taeniid metacestodes in populations of small mammals in Serbia. *Parasites & Vectors* **16**, DOI: 10.1186/s13071-023-05879-x.

Monge-Maillo B, Olmedo Samperio M, Pérez-Molina JA, Norman F, Mejía CR, Chamorro Tojeiro S, López-Vélez R. 2019. Osseous cystic echinococcosis: A case series study at a referral unit in Spain. *PLOS Neglected tropical Diseases* **13**: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007006>.

Montgomery S, Sapp SGH. 2022. 279- Diphyllotriidae, *Dipylidium* and *Hymenolepis* Species. Pages 1431-1435 in Long SS editor. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. Elsevier. Amsterdam.

Moro P, Schantz P M. 2009. Echinococcosis: a review. *International Journal of Infectious Diseases*. **13**: 125-133.

Nakao M, Sako Y, Ito A. 2003. Isolation of polymorphic microsatellite loci from the tapeworm *Echinococcus multilocularis*. *Infection, Genetics and Evolution* **3**: 159-163.

Nakao M, McManus D P, Schnatz P M, Craig P S, Ito A. 2007. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology* **5**: 713-722.

Nakao M, Yanagida T, Okamoto M, Knapp, Nkouawa A, Sako Y, Ito A. 2010. State-of-the-art *Echinococcus* and *Taenia*: phylogenetic taxonomy of human-pathogenic tapeworms and its application to molecular diagnosis. *Infection, Genetics and Evolution* **4**: 444-452.

Nakao M, Lavikainen A, Iwaki T, Haukisalmi V, Konyaev S, Oku Y, Okamoto M, Ito A. 2013. Molecular phylogeny of the genus *Taenia* (Cestoda: Taeniidae): proposals for resurrection of *Hydatigera Lamarck*, 1816 and the creation of a new genus *Versteria*. *International Journal of Parasitology* **43**: 427-437.

Obber F, Celva R, Da Rold G, Trevisiol K, Ravagnan S, Danesi P, Cenni L, Rossi Ch, Bonato P, Capello K, Hauffe H C, Massolo A, Cassini R, Citterie CV. 2022. A highly endemic area of *Echinococcus multilocularis* identified through a comparative re-assessment of prevalence in red fox (*Vulpes vulpes*), Alto Adige (Italy:2019-2020). *PLOS ONE*. (PMID: 35511816) DOI: 10.1371/journal.pone.0268045.

Oksaken A, Slies-Lucas M, Karamon J, Possenti A, Conraths F J, Romig T, Wysocki P, Mannocci A, Mipatrini D, La Torre G, Boufana B, Casulli A. 2016. The geographical distribution and prevalence of *Echinococcus multilocularis* in animals in the European Union and adject countries: A systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors* **9**, DOI: 10.1186/s13071-016-1746-4.

Otto GM, Franklin CL, Clifford ChB. 2015. *Biology and Diseases of Rats*. Academic Press. **3**:151-207.

Pétavy AF, Deblock S. 1983. Connaissance du foyer auvergnat d'échinococcose alvéolaire. *Annales de parasitologie humaine et comparée* **58**:439-453.

Pérez-Serrano J, Denegri G, Casado N, Rodríguez-Caabeiro F. 1997. *In vivo* effect of oral albendazole and albendazole sulphoxide on development of secondary echinococcosis in mice. *International Journal for Parasitology* **27**: 1341-1345.

Petruzela J, Ribas A, de Bellocq JG. 2021. Mitogenomics and Evolutionary History of Rodents Whipworms (*Trichuris* spp.) Originating from Three Biogeographic Regions. *LIFE-BASEL*. (PMID: 34207698) DOI 10.3390/life11060540.

Petry F, Jakovi V, Tessema TS. 2010. Host immune response to *Cryptosporidium parvum* infection. *Experimental Parasitology* **126**: 304-309.

Porubcová J, Dvorožňáková E, Ševčíková Z. 2007. Immunomodulative effect of glucan and/or glucan supplemented with zinc in albendazole therapy for murine Alveolar Echinococcosis. *Parasitology Research* **101**:751-760.

Pour AA, Hosseini SH, Shayan P. 2011: Comparative genotyping of *Echinococcus granulosus* infecting buffalo in Iran using cox1 gene. *Parasitology Research* **108**: 1229-1234.

Raoul F, Deplazes P, Nonaka N, Piarroux R, Vuitton DA, Giraudoux P. 2001. Assessment of the epidemiological status of *Echinococcus multilocularis* in foxes in France using ELISA coprotests on fox faeces collected in the field. *International Journal of Parazitology* **31**: 1579-1588.

Raoul F, Deplazes P, Reiffel D, Lamberd J C, Giraudoux P. 2010. Predator dietary response to prey density variation and consequences for cestode transmission. *Oecologia* **164**:129-139. DOI: 10.1007/s00442-010-1647-8.

Rausch RL. 1995. Life cycle patterns and geographic distribution of *Echinococcus* species. Pages 88-134 in Thomson RCA, Lymbery AJ editors. *Echinococcus* and hydatid disease. CAB International, Wallingford, United Kingdom.

Reibold D, Russow K, Schlegel M, Wollny T, Thiel J, Freise J, Hüppop O, Eccard J A, Plenge-Bónig A, Loebermann M, Ulrich RG, Klammt S, Mettenleiter T Ch, Reosinger E Ch. 2020. Occurrence of Gastrointestinal Parasites in Small Mammals from Germany. *Vector-Borne as Zoonotic Diseases*. **20**: 125-133

- Reperant LA, Hegglin D, Tanner I, Fisher C, Deplazes P. 2009. Rodents as shared indicators for zoonotic parasites of carnivores in urban environments. *Parasitology* **136**: 329-337.
- Rink L, Kirchner H. 2000. Zinc-altered immune function and cytokine production. *The Journal of Nutrition* **130**: 14075-14115.
- Romig T, Dinkel A, Mackenstedt U. 2006. The present situation of Echinococcosis in Europe. *Parasitology International* **55**: S187-S191.
- Romig T. 2009. *Echinococcus multilocularis* in Europe – state of art. *Veterinary Research Communications* **33**: 31-34.
- Sakurai T, Kaise T, Yadomae T, Matsubara C. 1997. Different role of serum components and cytokines on alveolar macrophage activation by soluble fungal (1-3) -beta-D-glucan. *European Journal of Pharmacology* **334**: 255-263.
- Scott J C, Stefaniak J, Pawlowski Z S, McManus D P. 1997. Molecular genetical analysis of human cystic hydatid cases from Poland: identification of a new genotypic group (G9) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* **114**: 37-43.
- Smyth JD, Smyth DD. 1964. Natural and experimental hosts of *Echinococcus granulosus* and *E. multilocularis*, with comments on the genetics of speciation in the genus *Echinococcus*. *Parasitology* **54**: 493-514.
- Sturm D, Menzel J, Gottstein B, Kern P. 1995. Interleukin-5 is the predominant cytokine produced by peripheral blood mononuclear cells in Alveolar echinococcosis. *Infection and Immunity* **63**: 1688-1697.
- Šoltýs J, Benková M, Borošková Z. 1994. Immunorestorative effect of glucan immunomodulator on guinea pigs with experimental ascariasis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **42**: 379-388.
- Šoltýs J, Borovská Z, Dubinský P, Tomašovičová P, Auer H, Aspöck H. 1996. Effect of glucan immunomodulator on the immune response and larval burdens in mice with experimental toxocarosis. *Applied Parasitology* **37**: 161-167.
- Šoltýs J, Quinn MT. 1999. Modulation of endotoxin – and enterotoxin-induced cytokine release by in vivo treatment with beta-(1,6) -branched beta-(1,3) -glucan. *Infection and Immunity* **67**: 244-252.
- Šulc K. 1930. Změny v žaludeční stěně hraboše (*Microtus arvalis*), způsobené cizopasním červem *Heligmosoides polygyrus*. Spisy lékařské fakulty Masarikovy Univerzity v Brně. Svazek IX. 11.
- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. 2015. *Veterinary parasitology*. John Wiley & Sons, Incorporated. Hoboken U.S.
- Thompson RC, Lymbery AJ, Constantine CC. 1995. Variation in *Echinococcus*: towards a taxonomic revision of the genus. *Advances in parasitology* **35**: 145-176.

Thompson RC, MnManus DP. 2002. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends in Parasitology* **18**(10): 452-457.

Thompson RC. 2008. The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Experimental Parasitology* **19**: 439-446.

Torgerson PR, Schweiger A, Deplazes P, Pohar M, Reichen J, Ammann RW, Tarr PE, Halkic N, Müllhaupt 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.

Troy CS, MacHugh DE, Bailey JF, Magee DA, Loftus RT, Cunningham P, Chamberlain AT, Sykes BC, Bradley DG. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* **410**: 1088-1091.

Umhang G, Knapp J, Hormaz V, Raoul F, Boué F. 2014. Using the genetics of *Echinococcus multilocularis* to trace the history of expansion from endemic area. *Infection, Genetics and Evolution* **22**: 142-149.

Umhang G, Comte S, Hormaz V, Boucher J M, Raton V, Favier S, Raoul F, Giraudoux P, Combes B, Boué F. 2016. Retrospective analyses of fox feces by real-time PCR to identify new endemic areas of *Echinococcus multilocularis* in France. *Parasitology Research* **115**: 4437-4441.

Umhang G, Karamon J, Hormaz V, Knapp J, Cencek T, Boué F. 2017. A step forward in the understanding of the presence and expansion of *Echinococcus multilocularis* in Eastern Europe using microsatellite EmsB genotyping in Poland. *Infection, Genetics and Evolution* **54**:176-182.

Umhang G, Demerson JM, Legras L, Boucher JM, Peytavin de Garam C, Bastid V, Vannard E, Pinot A, Giraudoux P, Boué F. 2021. Rodent control programmes can integrate *Echinococcus multilocularis* surveillance by facilitating parasite genotyping: the case of *Arvicola terrestris* voles screening in France. *Springer's Nature*. **120**:1903–1908.

Umhang G, Richomme C, Caillot Ch, Bastid V, Boucher J M, Moyen J L, Novella C, Richoux B, Davoust B, Boué F. 2022. Towards delimitation of the *Echinococcus multilocularis* parasite's southernmost range in France. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. (PMID:35431062) DOI: 10.1016/J.vprsr.2022.107724.

Větvicka V, Thornton BP, Ross GR. 1996. Soluble beta-glucan polysaccharide binding to the lectin site of neutrophil or natural killer cell complement receptor type 3 (CD11b/CD18) generates a primed state of the receptor capable of mediating cytotoxicity of iC3b-opsonized target cells. *The Journal of Clinical Investigation* **98**:50-61.

Velasco-Tirado V, Alonso-Sardón M, Loper-Bernus A, Romero-Alegria Á, Burguillo FJ, Muro A, Carpio-Pérez A, Bellido JLM, Pardo-Iledias J, Cordero M, Belhassen-García M. 2018. Medical treatment of cystic echinococcosis: systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases* **18**; DOI:10.1186/s12879-018-3201-y.

- Vuitton DA. 1999. New trends in the treatment of Echinococcosis. *Helminthologia* **36**: 167-170.
- Vuitton DA. 2003. The ambiguous role of immunity in Echinococcosis: Protection of the host or of the parasite? *Acta Tropica* **85**: 119-132.
- Vuitton DA, Zhang SL, Yang Y, Godot V, Beurton I, Manton G, Bresson-Hadni S. 2006. Survival strategy of *Echinococcus multilocularis* in the human hosts. *Parasitology International* **55**: S51-S55.
- Vuitton D A, Gottstein B. 2010. *Echinococcus multilocularis* and Its Intermediate Host: a Model of Parasite-Host Interplay. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. (PMID: 20339517) DOI:10.1155/2010/923193.
- Vuitton DA, Demonmerot F, Knapp J, Richou C, Grenouillet F, Chauchet A, Vuitton L, Bresson-Handi S, Millon L. 2015. Clinical Epidemiology of Human AE in Europe. *Veterinary Parasitology* **213**: 110-120.
- Vural G, Baca AU, Gauci ChG, Gagci O, Gicik Y, Lightoxlers MW. 2008. Variability in the *Echinococcus granulosus* Cytochrome C oxidase 1 mitochondrial gene sequence from livestock in Turkey and re-appraisal of the G1-3 genotype cluster. *Veterinary Parasitology* **154**:347-350.
- Weber JM. 1996. Food selection by adult red foxes *Vulpes vulpes* during water vole decline. *Wildlife Biology* **2**: 283-288.
- Wellinghausen N, Kirchner H, Rink L. 1997. The Immunobiology of Zinc. *Trends in Immunology* **18**: 519-521.
- Wellinghausen N, Jöchle W, Reuter S, Flegel WA, Grünert A, Kert P. 2002. Zinc status in patients with Alveolar echinococcosis is related to disease progression. *Parasite Immunology* **21**: 237-241.
- Xiao N, Qiu J, Nakao M, Li T, Yang W, Chen X, Schnatz PM, Craig P S, Ito A. 2005. *Echinococcus shiquicus* n. sp., a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *International Journal for Parasitology* **6**: 693-701.
- Xu X, Qian X, Gao C, Pang Y, Zhou H, Zhu L, Wang Z, Pang M, Wu D, Yu W, Kong F, Shi D, Guo Y, Su X, Hu W, Yan J, Feng X, Fan H. 2022. Advances in the pharmacological treatment of hepatic alveolar echinococcosis: from laboratory to clinic. *Frontiers in Microbiology* DOI: 10.3389/fmicb.2022.953846.
- Zhang Z, Lipman JM, Diener RM, Thomas P. 2006. Comparative immunotoxicity evaluation of amphotericin B and ABELCET, an amphotericin B lipid complex. *International Journal of Toxicology* **25**: 487-492.