

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Potlačování strongylóz v českých chovech koní**

**Doktorská disertační práce**

**autor: Ing. Jana Nápravníková, DiS.**

**školitel: doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, Ph.D.**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že disertační práci „Potlačování strongylóz v českých chovech koní“ jsem vypracovala samostatně, s použitím odborné literatury citované v práci a uvedené v seznamu literatury na konci práce. Současně dávám svolení k tomu, aby tato disertační práce byla používána ke studijním účelům ve smyslu § 60 Zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

V Praze dne 1. 3. 2023



---

Ing. Jana Nápravníková, DiS.

### **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala mému školiteli doc. Ing. Jaroslavu Vadlejchovi, Ph.D. za jeho cenné rady a čas, který mi věnoval nejen v průběhu vedení této disertační práce, ale i během celého doktorského studia. Poděkování patří také všem chovatelům koní za spolupráci při získávání dat a zejména mé rodině, která mě v průběhu studia podporovala.

## Seznam zveřejněných výstupů:

### I. Disertační práce vychází z těchto impaktových publikací:

1. **Nápravníková J, Petrtýl M, Stupka R, Vadlejš J. 2019.** Reliability of three common fecal egg counting techniques for detecting strongylid and ascarid infections in horses. *Veterinary parasitology* 272:53–57. **(WOS Q1, 21 citací)**
2. **Nápravníková J, Várady M, Vadlejš J. 2022.** Total failure of fenbendazole to control strongylid infections in Czech horse operations. *Frontiers in Veterinary Science* 9 (833204). DOI: 10.3389/fvets.2022.833204 **(WOS D1, 1 citace)**

### II. Publikální výstupy související s tématem této disertační práce:

1. **Nápravníková J, Vadlejš J. 2017.** The distribution of family strongylidae nematodes in Czech horse farms. In: 9<sup>th</sup> Workshop on Biodiversity, Jevany. **(WOS – příspěvek na konferenci)**

### III. Další výstupy nesouvisející s tématem této disertační práce:

1. Vadlejš J, Čadková Z, Magdálek J, **Nápravníková J. 2019.** Pomůcka pro zdokonalení diagnostiky ashworthiózy. CZ 32489 U1. **(užžitný vzor)**
2. Ptáček M, Kyriánová IA, **Nápravníková J**, Ducháček J, Husák T, Chay-Canul AJ, Zaragoz-Vera C, Cruz-Bacab L, Vadlejš J. 2021. Do Live Weight, Body Condition Score, Back Muscle or Back-Fat Reserves Create the Suspicion of Goats Infected with *Eimeria* or *Trichostrongylids*? *Animals*, 11(12) (3591). DOI: 10.3390/ani11123591. **(WOS Q2, 2 citace)**
3. Kyriánová IA, **Nápravníková J**, Váradyová Z, Várady M, Vadlejš J. 2018. The field efficacy of herbal plant mixture aqueous extracts against parasitic gastroenteritis in dairy goats. In: 10<sup>th</sup> Workshop on Biodiversity, Jevany. **(WOS – příspěvek na konferenci)**

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>7</b>
<b>2 Literární přehled</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1 Strongylidní hlístice koní</b> .....	<b>8</b>
2.1.1 Klasifikace a identifikace.....	8
2.1.2 Terminologie.....	11
2.1.3 Biologie.....	13
2.1.4 Patogenita .....	14
2.1.5 Intenzita nálezu kvantitativního vyšetření a kontaminační potenciál.....	15
<b>2.2 Ovoskopická diagnostika strongylidních hlístic</b> .....	<b>16</b>
2.2.1 Kvantitativní metody .....	17
2.2.1.1 Spolehlivost.....	18
<b>2.3 Anthelmintická terapie strongylidních hlístic</b> .....	<b>20</b>
2.3.1 Anthelmintika využívaná k potlačování strongylidních hlístic .....	21
2.3.1.1 Benzimidazoly – fenbendazol .....	21
2.3.1.2 Tetrahydropyrimidiny – pyrantel .....	22
2.3.1.3 Makrocyclické laktóny – ivermektin a moxidektin .....	23
2.3.2 Veterinární léčivé přípravky dostupné v ČR .....	24
2.3.3 Anthelmintická rezistence.....	25
2.3.3.1 Fenbendazol .....	26
2.3.3.2 Pyrantel.....	26
2.3.3.3 Makrocyclické laktóny.....	26
<b>3 Vědecké hypotézy a cíle práce</b> .....	<b>27</b>
<b>3.1 Intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic</b> .....	<b>27</b>
<b>3.2 Spolehlivost kvantitativních diagnostických metod</b> .....	<b>27</b>
<b>3.3 Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic</b> .....	<b>28</b>
<b>4 Metody zpracování</b> .....	<b>29</b>
<b>4.1 Intenzita a kontaminační potenciál</b> .....	<b>29</b>
4.1.1 Koprologické vzorky .....	29
4.1.2 Vyšetřovací metoda .....	29
4.1.3 Analýza výsledků.....	29
<b>4.2 Spolehlivost kvantitativních diagnostických metod</b> .....	<b>30</b>
4.2.1 Koprologické vzorky .....	30
4.2.2 Kvantitativní metody .....	31
4.2.3 Statistické analýzy .....	32

<b>4.3 Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic .....</b>	<b>33</b>
4.3.1 Design experimentu .....	33
4.3.2 Test redukce počtu vajíček (FECRT) .....	34
4.3.3 Anthelmintická léčba .....	35
4.3.4 Statistická analýza .....	35
<b>5 Výsledky.....</b>	<b>37</b>
<b>5.1 Intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic a kontaminační potenciál</b>	<b>37</b>
5.1.1 Intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic .....	37
5.1.2 Kontaminační potenciál koní .....	38
<b>5.2 Spolehlivost kvantitativních diagnostických metod.....</b>	<b>39</b>
5.2.1 Časová náročnost metody .....	39
5.2.2 Spolehlivost .....	40
<b>5.3 Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic .....</b>	<b>44</b>
5.3.1 Anthelmintická rezistence v chovech .....	45
5.3.1.1 Fenbendazol .....	45
5.3.1.2 Pyrantel embonát .....	45
5.3.1.3 Ivermektin .....	45
5.3.1.4 Moxidectin .....	45
5.3.2 Celková účinnost anthelmintik .....	47
<b>6 Diskuze.....</b>	<b>48</b>
<b>6.1 Intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic a kontaminační potenciál</b>	<b>48</b>
<b>6.2 Spolehlivost kvantitativních diagnostických metod.....</b>	<b>49</b>
6.2.1 Časová náročnost metod .....	49
6.2.2 Spolehlivost metod .....	50
6.2.2.1 Preciznost .....	50
6.2.2.2 Přesnost .....	50
<b>6.3 Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic .....</b>	<b>51</b>
6.3.1 Fenbendazol.....	52
6.3.2 Pyrantel.....	53
6.3.3 Makrocyclické laktóny .....	53
<b>7 Závěry a doporučení.....</b>	<b>54</b>
<b>8 Seznam tabulek, obrázků a grafů.....</b>	<b>55</b>
<b>9 Seznam použitých zkratk a symbolů.....</b>	<b>57</b>
<b>10 Seznam literatury.....</b>	<b>58</b>
<b>11 Samostatné přílohy .....</b>	<b>I</b>

# 1 Úvod

Koně jsou hostiteli řady gastrointestinálních helmintů. Mezi nejvýznamnější patří strongylidní hlístice, zejména cyathostominy (podčeleď *Cyathostominae*), které se nachází prakticky v každém chovu koní a škrkavky (*Parascaris* spp.), parazitující u zejména u hříbat.

Cyathostominy jsou komplexní skupinou 41 druhů hlístic a kůň je obvykle infikován více než 10 druhy současně. Infekční larvy během svého vývojového cyklu nepodstupují orgánovou migraci, ale pronikají do tkání tlustého střeva, kde encystují. V této fázi může dojít k pozastavení vývoje, tzv. hypobióze. Masivní infekce může vést k zánětu až nekróze tlustého střeva – larvální cyathostominóze, která postihuje zejména mladé koně a má ve značném počtu případů fatální průběh. Encystované larvy jsou citlivé na moxidektin, ale pouze v omezené míře a za předpokladu, že populace cyathostomin není vůči léčivé látce rezistentní.

Silné infekce je nutno řešit terapeutickým zásahem. K léčbě strongylidních hlístic jsou v ČR dostupné preparáty s obsahem léčivé látky fenbendazol, pyrantel embonát, ivermektin a moxidektin.

Příliš častá frekvence podávání anthelmintik a nevhodné praktiky při aplikaci těchto přípravků vedly k rozvoji anthelmintické rezistence. Anthelmintická rezistence je stav, kdy se v populaci parazitů vyskytuje vysoký podíl jedinců, kteří nejsou k léčbě dostatečně vnímaví. Anthelmintická rezistence je celosvětový problém a byla již zaznamenána v mnoha evropských zemích. Včasné odhalení výskytu anthelmintické rezistence prostřednictvím testů redukce počtu vajíček (FECRT) je nezbytnou součástí racionálního anthelmintického programu. FECRT využívá kvantifikačních metod ke zjištění míry poklesu vajíček hlístic po aplikaci anthelmintika, ale tyto metody se mohou lišit svou spolehlivostí – tedy, precizností a přesností.

Cílem této disertační práce je stanovit spolehlivou metodu pro záchyt anthelmintické rezistence a zjistit aktuální stav rezistence strongylidních hlístic vůči všem anthelmintikům dostupným v České republice.

## 2 Literární přehled

### 2.1 Strongylidní hlístice koní

#### 2.1.1 Klasifikace a identifikace

Biologická klasifikace hlístic (Nematoda) je stále otázkou diskuzí, jakožto i celkový počet zaznamenaných i odhadovaných druhů. Tyto počty (25 tis. až více jak 1 milion) se mění v čase a s ohledem na způsob identifikace jednotlivých druhů (Lambshhead 1993; Anderson 2000; Zhang 2013; Blaxter 2016).

Koňovití (Equidae), tedy kůň, osel, zebra a jejich kříženci, jsou hostiteli rozmanité palety parazitických hlístic a zástupci čeledi Strongylidae (strongylidní hlístice) zaujímají z celkového počtu druhů hlístic významný podíl.

Čeď Strongylidae (Baird, 1853; kmen: Nematoda, třída Chromadorea, řád: Rhabditida) se tradičně, na základě morfologických charakteristik dělí na dvě podčeledi: Strongylinae (Railliet, 1885) – druhy s kulovou nebo nálevkovitou ústní kapsulí a Cyathostominae (Nicoll, 1928) – druhy s válcovitou nebo prstenčitou bukální kapsulí (Lichtenfels et al. 2008).

Podčeď Strongylinae čítá celkem 14 druhů a je rozdělena do 5 rodů: *Strongylus* (Müller, 1780), *Oesophagodontus* (Railliet & Henry, 1982), *Triodontophorus* (Looss, 1902), *Bidentostomum* (Tshoijo, 1958) a *Craterostomum* (Boulenger, 1920). Výskyt některých druhů (*Strongylus asini*, *Triodontophorus burchelli* a *T. harmannae*) u koní však zaznamenán nebyl.

Početnější podčeď Cyathostominae (Nicoll, 1928) zahrnuje 50 druhů, které řadíme do 14 rodů: *Cyathostomum* (Molin, 1861), *Coronocylus* (Hartwich, 1986), *Cylicocylus* (Ihle, 1922), *Cylicodontophorus* (Ihle, 1922), *Tridentoinfundibulum* (Tshoijo in Popova, 1958), *Cylicostephanus* (Ihle, 1922), *Skrjabinodontus* (Tshoijo in Popova, 1958), *Petrovinema* (Ershov, 1943), *Parapoteriostomum* (Hartwich, 1986), *Poteriostomum* (Quiel, 1919), *Gyalocephalus* (Looss, 1900), *Hsiungia* (K'ung & Yang, 1964), *Caballonema* (Abuladze, 1937) a *Cylindropharynx* (Leiper, 1911). Deset zástupců této podčeledi bylo zaznamenáno pouze u oslů či zeber (*Skrjabinodontus longiconus*, *Cylicodontophorus reinecke*, *Cylicocylus adersi*, *Cylicoc. asini*, *Cylicoc. gyalocephaloides*, *Cylicoc. triramosus*, *Parapoteriostomum schuermanni*, *Cylindropharynx brevicauda*, *Cylin. intermedia* a *Cylin. longicauda*).



Strongylidní hlístice parazitující pouze u koní tvoří rozsáhlý komplex 52 v současnosti uznávaných druhů – 11 z podčeledi Strongylinae a 41 z podčeledi Cyathostominae (Matthee et al. 2002; Lichtenfels et al. 2008). Systematické řazení strongylidních hlístic koní je pro přehlednost znázorněno v následující tabulce (Tab.1.).

Tradiční klasifikace strongylidních hlístic je primárně založena na základě fenetiky (Durette-Desset et al. 1994; Lichtenfels et al. 1998; Lichtenfels et al. 2008), tedy morfologických charakteristikách (zejména délka těla a tvar bukální kapsule) jednotlivých druhů a jejich vzájemné podobnosti. Kladistická (fylogenetická) klasifikace je naopak zaměřena na příbuzenské vztahy a evoluci druhů a je prováděna pomocí moderních nástrojů sekvenování DNA (Blaxter 2016) a fylogenetické analýzy. Recentním příkladem může být rod *Triodontophorus*, který je tradičně klasifikován jako člen podčeledi Strongylidae, avšak fylogenetické analýzy využívající mitochondriální DNA naznačují jeho příslušnost k podčeledi Cyathostominae (Gao et al. 2017).

Zásadní překážkou při potlačování infekcí způsobených strongylidními hlísticemi je druhová komplexita jejich populací. Morfologická identifikace strongylidních hlístic na základě vajíček nebo ranných stádií larev ( $L_1$ ,  $L_2$ ) je prakticky nemožná, a to ani do úrovně podčeledí. Výjimkou jsou některé druhy rodu *Triodontophorus* (*T. serratus*, *T. tenuicollis*) jejichž vajíčka jsou nápadně větší (Obr. 1) než vajíčka ostatních strongylidních hlístic (Kuzmina et al. 2012). Infekční larvy ( $L_3$ ) lze identifikovat na základě počtu a uspořádání střevních buněk nebo délky ocasní pochvy či filamentu. Podle  $L_3$  je možné identifikovat jen některé rody (*Gyalocephalus*, *Poteriostomum*, *Strongylus* a *Triodontophorus*), ostatní pouze rozřadit do skupin, kdy každá zahrnuje několik rodů (Bevilaqua et al. 1993; Santos et al. 2016). Znaky jako velikost a tvar ústní kapsule, corona radiata, kopulační bursa, gubernákulum a spikuly či reprodukční soustava samic umožňují určit dospělé do jednotlivých druhů. Toto však dokáže jen několik málo odborníků (Lichtenfels 1975; Tolliver 2000; Cernea et al. 2008; Lichtenfels et al. 2008). S ohledem na výše zmíněné limity morfologické identifikace se výzkum zaměřuje spíše na molekulární způsoby identifikace. Výhodou je jeho použitelnost bez ohledu na vývojové stádium parazita (Bredtmann et al. 2017).

**Tab. 1.** Systematické řazení druhů strongylidních hlístic parazitujících u koní

čeleď	podčeleď	rod	druh	
Strongylidae	Strongylinae	<i>Bidentostomum</i>	<i>ivashkini</i>	
		<i>Craterostomum</i>	<i>acuticaudatum</i>	
		<i>Oesophagodontus</i>	<i>robustus</i>	
		<i>Strongylus</i>	<i>edentatus</i>	
			<i>equi</i>	
			<i>vulgaris</i>	
		<i>Triodontophorus</i>	<i>brevicauda</i>	
			<i>minor</i>	
			<i>nipponicus</i>	
			<i>serratus</i>	
	<i>tenuicollis</i>			
	Cyathostominae	<i>Caballonema</i>	<i>longicapsulatum</i>	
		<i>Coronocyclus</i>	<i>agittatus</i>	
			<i>coronatus</i>	
			<i>labiatus</i>	
			<i>labratus</i>	
			<i>ulambajari</i>	
		<i>Cyathostomum</i>	<i>alveatum</i>	
			<i>catinatum</i>	
			<i>montgomeryi</i>	
			<i>pateratum</i>	
		<i>Cylicocyclus</i>	<i>tetracanthum</i>	
			<i>ashworthi</i>	
			<i>auriculatus</i>	
			<i>brevicapulatus</i>	
			<i>elongatus</i>	
			<i>insigne</i>	
			<i>leptostomum</i>	
			<i>nassatus</i>	
		<i>radiatus</i>		
		<i>Cylicodontophorus</i>	<i>ultrajectinus</i>	
			<i>bicoronatus</i>	
			<i>Cylicostephanus</i>	<i>asymmetricus</i>
				<i>bidentatus</i>
				<i>calicatus</i>
				<i>goldi</i>
				<i>hybridus</i>
				<i>longibursatus</i>
			<i>minutus</i>	
			<i>Gyalocephalus</i>	<i>capitatus</i>
		<i>Hsiungia</i>	<i>pekingensis</i>	
		<i>Parapoteriostomum</i>	<i>euproctus</i>	
<i>mettami</i>				
<i>mongolica</i>				
<i>Petrovinema</i>	<i>poculatum</i>			
	<i>skrjabini</i>			
<i>Poteriostomum</i>	<i>imparidentatum</i>			
	<i>ratzii</i>			
<i>Skrjabinodentus</i>	<i>caragandicus</i>			
	<i>tshojoi</i>			
<i>Tridentoinfundibulum</i>	<i>gobi</i>			

## 2.1.2 Terminologie

Biologická nomenklatura, tedy vědecké názvosloví jednotlivých biologických taxonů, umožňuje, společně se zařazením do klasifikačních úrovní, přesné a jednoznačné dorozumívání mezi odborníky. Pro většinu chovatelské veřejnosti ale může být tato terminologie naopak nesrozumitelná, zatěžující a matoucí, a proto se využívá zjednodušeného, ustáleného názvosloví. I v případě odborných textů se autoři často uchylují, po úvodním vysvětlení termínu, k ustálenému názvosloví bez využití taxonomických kategorií, aby dosáhli čtivého a kratšího textu. Ustálené názvosloví použité pro popis strongylidních hlístic ale může být díky možnostem českého jazyka velmi rozmanité a v některých případech zavádějící, či dokonce chybné.

Čeď Strongylidae je, jak je zmíněno v předchozí kapitole, obsáhlou skupinou parazitických hlístic koní Proto je často označujeme souhrnně, a to jako skupinu bez uvedení příslušnosti do jednotlivých podčeďí: „strongylidní hlístice“, „strongylidi“ či „strongylové“. Termíny „strongyloidi“ nebo „strongyloidé“, často chovateli nesprávně užívány jako synonymum pro popis čeďi Strongylidae, mohou definovat celou nadčeď Strongyloidea nebo přímo konkrétní druh hlístice čeďi Strongyloididae, háďe koňské (*Strongyloides westeri*).

Protože i v jiných jazycích je situace s nejasnou terminologií strongylidních hlístic obdobná, byla panelem odborníků vypracována doporučení pro anglické názvosloví (Lichtenfels et al. 2002).

Zástupci podčeďi Strongylinae jsou označováni jako „strongylin(s)“, – česky „strongylin-i/-é“.

V případě podčeďi Cyathostominae byl ustálený název: „cyathostome(s)“ či „small strongyle(s)“ nahrazen termínem „cyathostomin(s)“. Termíny užívané pro onemocnění s nimi související: „cyathostomosis“ či „cyathostomiasis“ nahradil termín „cyathostominosis“. Pokud bychom tato doporučení převzali a aplikovali do české terminologie, termíny „cyathostoma/-y“ či „malí strongylidi/-é“ by měly být nahrazeny pojmem „cyathostomina/-y“ a „cyathostomóza“ nebo „cyathostomiáza“ pojmem „cyathostominóza“.

Od u nás stále chovateli hojně využívaného rozdělení strongylidních hlístic na základě délky těla dospělců, na velké a malé strongylidy, je autory odborných publikací v současné době upouštěno. Důvodem může být postupné přijímání kladistické klasifikace nebo nejednotnost při zařazování jednotlivých druhů do těchto dvou skupin. Do skupiny velkých strongylidů jsou v některých případech řazeny pouze strongylidní hlístice rodu *Strongylus*

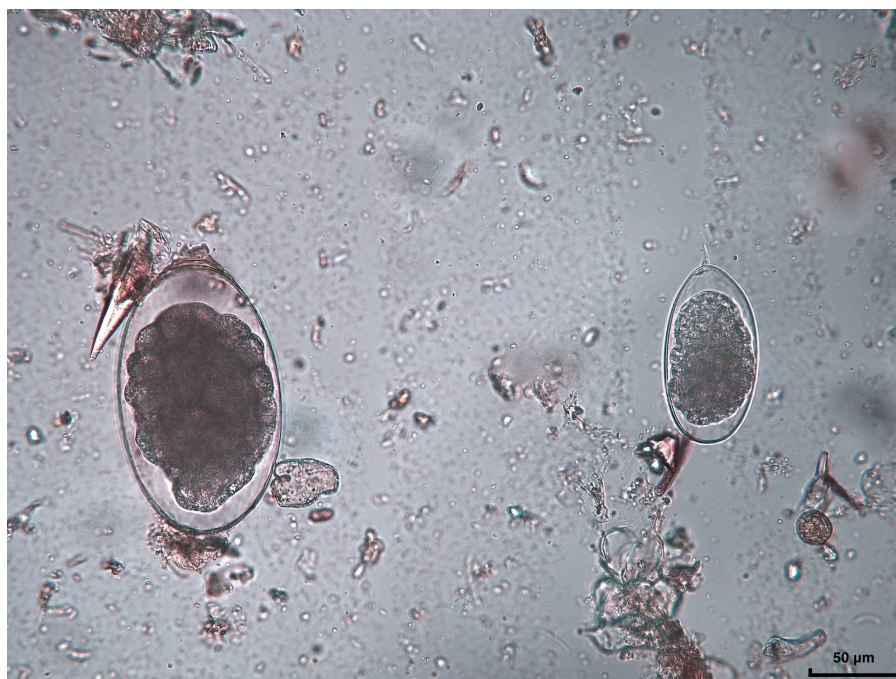
(*S. edentatus*, *S. equinus*, *S. vulgaris*). Jindy lze vidět v této skupině zařazeny i ostatní členy podčeledi Strongylinae a někteří se s ohledem na délku těla dospělců řadí v porovnání s rodem *Strongylus* mezi malé – do 10 mm (*Craterostomum acuticaudatum*, *Bidentostomum ivashkini*).

V rámci terminologie je nutné zmínit také rozdělení strongylidních hlístic na základě schopnosti meziorganové migrace larválních stádií – migratorní a nemigratorní hlístice. Migratorními strongylidními hlísticemi jsou pouze hlístice rodu *Strongylus*, zatímco nemigratorními jsou ostatní zástupci podčeledi Strongylinae společně s celou podčeledí Cyathostominae (ESCCAP 2019).

Terminologie užívaná a doporučená v souvislosti se strongylidními hlísticemi je pro přehlednost uvedena v tabulce (Tab. 2.).

**Tab. 2.** Terminologie

terminologie	anglická		česká	
	původní	doporučená	původní	doporučená
Strongylinae	large strongyles	strongylin/-s	velcí strongylid-i/-é	strongylin-i/-é
	cyathostome/-s		cyathostom-a/-y	
Cyathostominae	small strongyle/-s	cyathostomin/-s	malí strongylid-i/-é	cyathostomin-a/-y
	cyathostomosis		cyathostomóza	
	cyathostomiasis	cyathostominosis	cyathostomiáza	cyathostominóza



**Obr. 1.** Vajíčko *Triodontophorus* spp. (vlevo)

### 2.1.3 Biologie

Strongylidní hlístice jsou 4–50 mm dlouhé a 0,2–2 mm široké. Povrch těla je tvořený kutikulou, disponují hltanem filariformního typu a robustní bukální kapsulí obklopenou vnějšími a vnitřními lístkovitými kutikulárními strukturami (corona radiata). Vyznačují se silným pohlavním dimorfismem, kdy samice jsou větší než samci. Strongylidní hlístice podstupují přímý vývojový cyklus (Volf et al. 2007). Prepatentní perioda cyathostomin se u jednotlivých druhů liší, ale obecně je dlouhá 2,5–3 měsíce. V případě rodu *Strongylus* je prepatentní perioda dlouhá 5–11 měsíců (Round 1969; Love & Duncan 1992).

Vajíčka jsou do prostředí uvolňována společně s výkaly hostitele a za příznivých podmínek (teplota, vlhkost) se z nich líhnou larvy (L<sub>1</sub>). Vývoj larev je spojen se svlékáním původní kutikuly a tvorbou nové (L<sub>1</sub>–L<sub>2</sub>). L<sub>2</sub> si však původní kutikulu ponechává a na ni vrství další ochranný integument (L<sub>3</sub>). Díky tomu infekční larva není schopna přijímat potravu a migruje na okolní vegetaci, kde je společně s ní pozřena hostitelem v průběhu pastvy (Lichtenfels et al. 2008).

Většina larev strongylidních hlístic, s výjimkou rodu *Strongylus*, nepodstupuje meziorgánovou migraci a migruje pouze v rámci tkáně tlustého střeva. Působením žaludečních kyselin dojde k odstranění ochranného integumentu a larvy pronikají do mukózy nebo submukózy céka (50 %), ventrálního (40 %) a dorzálního kolonu (10 %), kde kolem nich organismus hostitele vytvoří fibrózní pouzdro (tzv. encystované larvy). Predilekčním místem není sestupný kolon nebo rektum (Reinemeyer & Herd 1986; Bellaw et al. 2018). Encystované larvy se během této histotropní fáze uvnitř fibrózního pouzdra vyvíjí do L<sub>4</sub>, pronikají do lumen střeva a dospívají. V některých případech (např. nevhodné klimatické podmínky) může dojít k pozastavení vývoje, tzv. hypobióze, která může trvat i více než dva roky (Gibson 1953).

Fibrózní pouzdro encystované larvy patrně částečně nebo zcela zabraňuje proniknutí některých anthelmintik. Encystované larvy proto nejsou v současné době 100% citlivé k žádnému dostupnému anthelmintiku. Částečný účinek má pouze moxidektin (MOX) nebo, pokud není v dané populaci hlístic rozvinuta rezistence, larvicidní dávka fenbendazolu (FBZ; 10 mg.kg<sup>-1</sup> živé hmotnosti zvířete po dobu po sobě jdoucích pěti dní). Pyrantel (PYR) nebo ivermektin (IVM) nemají na encystované larvy účinek žádný (Xiao et al. 1994; Reinemeyer et al. 2015).

#### 2.1.4 Patogenita

V minulosti byly v populacích strongylidních hlístic významnou měrou zastoupeny vysoce patogenní hlístice rodu *Strongylus*, ale s nástupem anthelmintik skupiny makrocyclických laktonů došlo k jejich výraznému potlačení. Nyní se jejich výskyt omezuje zejména na chovy, které anthelmintika neaplikují (Nielsen et al. 2008).

Strongylidní hlístice, obzvláště cyathostominy, jsou díky zvyšující se rezistenci vůči anthelmintikům v současné době nejsledovanějšími koňskými parazity (Matthews, 2014). Vyskytují se prakticky v každém chovu koní (Krecek et al. 1989; Bucknell & Gasser 1995; Gawor 1995; Love et al. 1999; Gawor et al. 2006; Kaplan & Nielsen 2010; Kuzmina 2012) a koinfekce hostitele 10 a více druhů je běžným jevem (Reinemeyer et al. 1984; Chapman et al. 2003; Love & Duncan 1991).

Infekce strongylidními hlísticemi obvykle probíhá skrytě bez klinických příznaků, ale v případě vysokých počtů dospělých hlístic se infekce může projevovat apatií, ztrátou hmotnosti, vyčerpáním a průjmem. Pro svého hostitele jsou ovšem mnohem více patogenní larvální stádia. L<sub>3</sub>, právě pozřené společně s pastvou, způsobují svou migrací do hlubších struktur tkáně tlustého střeva závažné poškození střevní sliznice. Mukózu střeva poté obývají statisíce až miliony encystovaných larev, které sliznici poškozují a tím výrazně omezují metabolismus nutrientů (Collobert-Laugier et al. 2002).

Opouštění cysty L<sub>4</sub> směrem do lumen střeva vede k hemoragii, edému a kongesci, a to v důsledku mechanického poškození tkáně larvou a vyprázdnění obsahu cysty. V případě masivní infekce se tato jednotlivá mikrotraumata spojí a může dojít k těžkému zánětu tlustého střeva a nekróze – tzv. larvální cyathostominóze. Klinickými projevy jsou vodnatý průjem, dehydratace, ztráta kondice, hypoproteinémie, neutrofilie, anémie a ventrální edém. Tento stav je až pro polovinu postižených koní fatální (Love et al. 1999; Smets et al. 1999; Peregrine et al. 2005; Nielsen & Lyons 2017). Larvální cyathostominóza může postihnout koně jakéhokoliv věku. Nejčastěji se však vyskytuje u mladých koní (1–4 roky) a v období, kdy L<sub>4</sub> opouštějí cysty, tedy v období pozdní zimy až časného jara. Spouštěcím faktorem může být proběhlá anthelmintická léčba (Reid et al. 1995).

Na závěr této kapitoly je nutno zmínit, že vůči infekci strongylidními hlísticemi a s nimi souvisejícími patologickými projevy jsou hostitelé různě vnímaví (Lyons et al. 2000). Vnímavost hostitele se vyznačuje nejen různým stupněm manifestace klinických projevů, ale také mírou produkce vajíček ve výkalu a s tím spojenou intenzitou kontaminace prostředí.

### 2.1.5 Intenzita nálezu kvantitativního vyšetření a kontaminační potenciál

Intenzita nálezu je v případě kvantitativního koprologického vyšetření vyjádřena počtem vajíček na 1 gram výkalu (EPG; eggs per gram). Intenzita nálezu však nemusí nutně korelovat s počtem dospělých strongylidních hlístic uvnitř střeva hostitele (Duncan 1974; Uhlinger 1993, Chapman et al. 2003, Nielsen et al. 2010; Denwood et al. 2012; Schneider et al. 2014). Kůň má obvykle smíšenou infekci 10–15 druhů, jejichž samice mají různou plodnost (Kuzmina et al. 2012). Identický počet vajíček ve výkalu může být proto výsledkem velkého množství samic o nízké plodnosti a stejně tak i menšího počtu vysoce plodných samic. Nízká korelace mezi počtem vajíček a dospělců nicméně nepopírá nezbytnost provádění kvantitativního koprologického vyšetření před plánovanou aplikací anthelmintika. Dlouhodobé studie potvrzují, že nízká intenzita nálezu (<100 EPG) obvykle koreluje s nízkým počtem hlístic ve střevě hostitele (Nielsen et al. 2010).

Populace strongylidních hlístic není mezi hostiteli distribuována rovnoměrně (Crofton 1971; Anderson & May 1978; Lind et al. 1999). Významnou roli hraje věk, protože mladší koně obvykle trpí vyšší intenzitou infekce než koně starší. V případě stáda koní starších tří let produkuje většinu vajíček strongylidních hlístic jen malá část koní (>500 EPG; 15–30 %), která je z velké míry (80 %) zodpovědná za kontaminaci prostředí (Kaplan & Nielsen 2010). Koně lze na základě intenzity nálezu vajíček ve výkalu rozdělit na jednotlivce s trvale nízkým, středním a vysokým kontaminačním potenciálem. Stupeň kontaminačního potenciálu je vlastnost, kterou si koně, za předpokladu stabilních podmínek, v průběhu svého života udržují. Kontaminační potenciál daného koně lze vyvodit z výsledků tří po sobě jdoucích vyšetření, které byly provedeny s dostatečným časovým odstupem od poslední aplikace anthelmintika (Nielsen et al. 2006; Becher et al. 2010).

S ohledem na tyto skutečnosti lze předpokládat, že aplikace anthelmintické terapie koním s nejvyšší intenzitou nálezu výrazně sníží úroveň kontaminace prostředí a omezí šíření infekce mezi koňmi sdílejícími pastvinu.

Včasná identifikace a anthelmintická terapie koní s intenzitou nálezu nad určenou hranici počtu nalezených vajíček strongylidních hlístic je principem selektivní anthelmintické terapie (SAT) (Krecek et al. 1994; Becher et al. 2010; Nielsen et al. 2014). SAT lze aplikovat pouze v případě strongylidních hlístic a její výhradní užívání bez použití pravidelné strategické dávky anthelmintika může vést k dokončení vývojového cyklu hlístic rodu *Strongylus* a tím zvýšení prevalence vysoce patogenních hlístic v chovech koní (Nielsen et al., 2006; Nielsen et al. 2012; Tydén et al. 2019).

## 2.2 Ovoskopická diagnostika strongylidních hlístic

Funkční anthelmintická strategie spočívá mimo jiné v korektní detekci a kvantifikaci vajíček strongylidních hlístic. Chybný výsledek vyšetření nebo jeho chybná interpretace mohou společně s nevhodně zvoleným opatřením negativně ovlivnit zdraví koní (Tatz et al. 2012).

Nejspolehlivější diagnostickou metodou je bezesporu parazitologická pitva (Kornaš et al. 2009), která narozdíl od dalších vyšetření dokáže odhalit i prepatentní infekce a stanovit přesné počty helmintů. Tu lze ovšem provést pouze v ojedinělých případech, a proto základem rutinní diagnostiky stále zůstává koprologické vyšetření – tedy detekce a případná kvantifikace parazitických elementů ve vzorku výkalu. Pozitivní nález je však podmíněn přítomností reprodukceschopné populace parazitů, a proto je období prepatentní periody v rámci diagnostiky problematické.

Vajíčka strongylidních hlístic jsou detekovatelná různými koprologickými flotačními metodami, které se ale liší svou spolehlivostí. Proto je nutné používat vhodné a spolehlivé metody pro daný účel vyšetření a tyto postupy standardizovat.

Flotační vyšetření je založeno na principu separace vajíček od zbytku vzorku výkalu za pomoci flotačního roztoku různého složení a o určité hustotě ( $>1,18 \text{ g.cm}^{-3}$ ). Vajíčka strongylidních hlístic mají specifickou hustotu  $1,04\text{--}1,05 \text{ g.cm}^{-3}$  (Norris et al. 2019), a proto ve flotačním roztoku o dostatečné hustotě směřují vzhůru, zatímco nečistoty klesají.

Na principu flotace lze provést jak kvalitativní vyšetření (Stoll 1930; Egwand & Slocombe 1982), které definuje pozitivitu nálezů, tak kvantitativní vyšetření (Roepstorff & Nansen 1998; Cringoli et al. 2010; Godber et al. 2015; Cringoli et al. 2017; Mes et al. 2007; Ghazali et al. 2013; Slusarewicz et al. 2016) které současně udává i počet nalezených propagačních stádií parazita. Zpracování vzorku jednotlivými metodami vyžaduje speciální laboratorní vybavení, čas a zkušeného laboratorního technika.

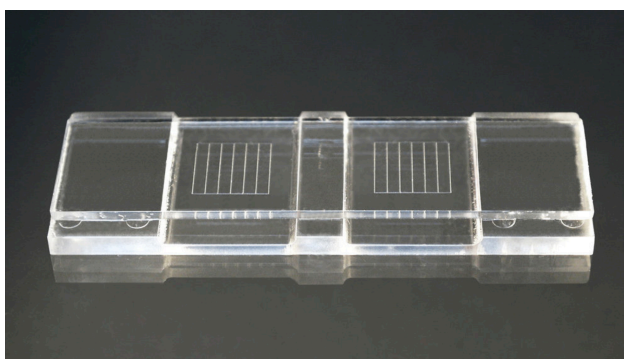
Vliv na konečný výsledek koprologického vyšetření má nejen vyšetřovací metoda, ale také preanalytická fáze. Faktory jako časový odstup od poslední anthelmintické terapie, způsob odběru, skladovací teplota a čas skladování (Nielsen et al. 2010; Schurer 2014; Crawley et al. 2016; Sengupta et al. 2016).



### 2.2.1 Kvantitativní metody

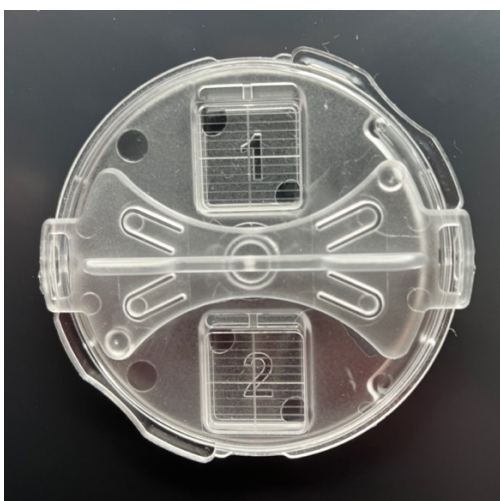
Principem jakékoliv kvantifikační metody je práce s jasně danou hmotností vzorku výkalu a objemem flotačního roztoku. Díky známému ředícímu poměru těchto dvou složek a objemu odečítaného fekálního filtrátu lze díky přepočítávacímu koeficientu vypočítat EPG.

McMasterova metoda (MM; Gordon & Whitlock 1939) patří mezi nejrozšířenější kvantifikační metody (Obr. 2). Různé modifikace originálního protokolu (zejména centrifugace, váha vzorku a ředící poměr s flotačním roztokem) ovlivňují multiplikační koeficient a tím i detekční limit metody (Roepstorff & Nansen 1998).



**Obr. 2.** McMaster sklíčko

S cílem zlepšit citlivost McMasterovy metody byl představen systém FLOTAC (Cringoli et al. 2010) a poté jeho zjednodušená verze Mini-FLOTAC (MF; Cringoli et al. 2017), která je založena na pasivní flotaci (Obr.3).



**Obr. 3.** Mini-FLOTAC

Současné moderní technologie ale nabízejí možnosti i pracovištím, které nedisponují zkušeným personálem v oblasti parazitologické laboratorní diagnostiky. Příkladem jsou systémy FECPAK G2 (Godber et al. 2015), kdy je ovoskopický snímek odeslán k vyhodnocení pověřenému diagnostikovi nebo plně automatizovaný Parasight System (Slusarewicz et al. 2016), který provede kvantifikaci sám pomocí dodávaného softwaru. Tyto moderní diagnostické metody stále procházejí vývojem, ale s nejvyšší pravděpodobností v budoucnu nahradí ty současné.

Využití kvantifikačních metod má nezastupitelnou roli při aplikaci selektivní terapie u dospělých koní (Nielsen et al. 2014), odhalování již rozvinuté anthelmintické rezistence formou FECRT (Coles et al. 1992; Duncan et al. 2002; Nielsen et al. 2016) nebo včasného zachycení rozvíjející se anthelmintické rezistence prostřednictvím stanovení doby znovuoobjevení vajíček po aplikaci anthelmintika (ERP; Egg Reappearance Period) (Nielsen et al. 2016).

American Association of Equine Practitioners (AAEP 2019), European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP 2019) nebo World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP 2002) zmiňují ve svých doporučeních používat rutinně kvantitativní koprologické metody při aplikaci selektivní terapie, volbě vhodného anthelmintika ale i jako kontrolu účinnosti proběhlé anthelmintické léčby.

Indikace vyšetření, výběr nejvhodnější diagnostické metody a následná interpretace výsledků je společně se stanovením vhodného anthelmintického programu v kompetenci veterinárního lékaře.

### **2.2.1.1 Spolehlivost**

Současné studie dokládají, že jednotlivé metody, určené ke kvantifikaci vajíček strongylidních hlístic, se svou spolehlivostí významně liší (Slusarewicz et al. 2016; de Castro et al. 2017; Noel et al. 2017; Scare et al. 2017; Bosco et al. 2018; Paras et al. 2018). Spolehlivá metoda má dvě zásadní vlastnosti, a to vysokou preciznost a přesnost. Preciznost poskytuje prostřednictvím variačního koeficientu informaci o variabilitě výsledků v rámci opakovaného vyšetření jednoho vzorku, zatímco přesnost představuje odchylku výsledků od reálné hodnoty. Mini-FLOTAC disponuje vysokou citlivostí a precizností (Noel et al. 2017; Scare et al. 2017; Paras et al. 2018), zatímco citlivost McMasterovy metody se významně snižuje s nízkou intenzitou infekce. Detekční limity ovlivňují citlivost metody, a proto vzorky s velmi nízkou

intenzitou infekce (pod detekčními limity metody) se jeví jako negativní a mohou být mylně interpretovány. Tato skutečnost vylučuje využití málo citlivých metod pro stanovení FECRT nebo ERP (Vidyashankar et al. 2012).

### 2.3 Anthelmintická terapie strongylidních hlístic

Potlačování infekcí hlístic je v současné době založeno zejména na aplikaci anthelmintik, které vedou ke snížení parazitární zátěže hostitele a tím i snížení kontaminace pastvin vajíčky hlístic. Tato strategie, bez zařazení dalších opatření, není s ohledem na rozvoj anthelmintické rezistence dlouhodobě udržitelná. Pravidelná hygiena pastvin (odstraňování výkalů alespoň 2× týdně) a jejich údržba, hnojení pastvin pečlivě zkompostovaným hnojem a dodržování karanténních opatření v rámci přesunů koní mezi chovy jsou důležitou součástí racionální anthelmintické strategie (ESCCAP 2019).

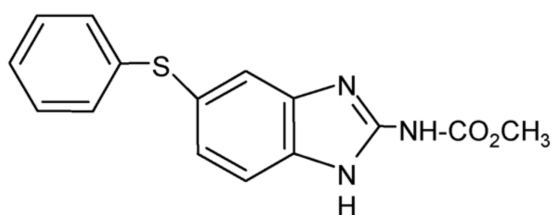
Selektivní anthelmintická terapie využívá faktu, že populace strongylidních hlístic není rovnoměrně rozdělena mezi členy stáda a ti mají vlivem své imunitní odpovědi různou schopnost produkci vajíček potlačovat. Kontaminační potenciál je proto základem selektivní anthelmintické terapie, kdy se anthelmintika podávají pouze koním, kteří mají trvale vysoký nález vajíček ve výkalu. Během prvního roku zahájení selektivní anthelmintické terapie je nutné vyšetřit všechny koně ze stáje nejméně 4× a aplikovat anthelmintika koním, jejichž intenzita nálezů překročila stanovenou hranici. Prahová hodnota ovšem není u koní stanovena, ale obvykle se využívá hodnot 200–500 EPG. Pokud ošetřující veterinární lékař považuje epizootologickou situaci stáje za stabilní, lze snížit četnost diagnostických vyšetření na 3 ročně (začátek, polovina a konec pastevní sezóny). Selektivní terapie je vhodná pouze pro dospělé koně a je určena výhradně pro potlačování cyathostomin. Přítomnost *Strongylus vulgaris* musí být každoročně monitorována provedením larvoskopie ze smíšeného vzorku stáda.

V České republice je nejrozšířenější strategický anthelmintický program. Spočívá v plošné aplikaci anthelmintika stejné léčivé látky, a to celé skupině koní. Podle současných doporučení je vhodný zejména pro hříbata a mladé koně a součástí tohoto programu by mělo být pravidelné ověřování účinnosti používaných léčivých látek pro včasné zachycení anthelmintické rezistence. Nevýhodou strategického přístupu je fakt, že určitá část koní je aplikováno anthelmintikum i přesto, že mají ve střevě žádné nebo minimum hlístic a také doporučená četnost aplikace anthelmintik 4× ročně (ESCCAP 2019).

### 2.3.1 Anthelmintika využívaná k potlačování strongylidních hlístic

K terapii strongylóz koní jsou využívány tři hlavní skupiny anthelmintik – benzimidazoly, makrocyclické laktony a tetrahydropyrimidiny. Vyznačují se snadnou perorální aplikací, širokým spektrem účinku a jsou díky širokému prahu bezpečnosti dobře snášeny.

#### 2.3.1.1 Benzimidazoly – fenbendazol

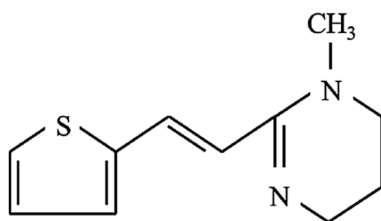


**Obr. 4.** Fenbendazol

Fenbendazol (Obr. 4) se stal svým nástupcem na trh prvním bezpečným a účinným širokospektrálním veterinárním anthelmintikem s nízkou toxicitou (Drudge et al. 1981). Jeho mechanismus účinku spočívá v narušení energetického metabolismu parazita na buněčné úrovni. FBZ se naváže na tubulin hlístice a zablokuje jeho přeměnu na mikrotubuly. Absence mikrotubulů vede k neschopnosti hlístice absorbovat živiny, následnému poklesu glykogenu a smrti (Lacey 1990; Martin 1997).

Obecná jednorázová dávka pro tlumení strongylidních hlístic je  $7,5 \text{ mg.kg}^{-1}$  živé hmotnosti (ž. hm.) zvířete. Pro eliminaci encystovaných larev se FBZ aplikuje v dávce  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$  ž. hm. po dobu 5 dnů. Luminální stádia parazitů jsou postupně vylučována s výkaly v průběhu několika dní po podání anthelmintika.

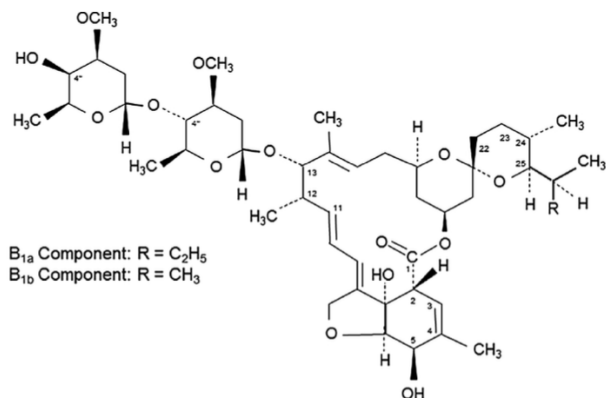
### 2.3.1.2 Tetrahydropyrimidiny – pyrantel



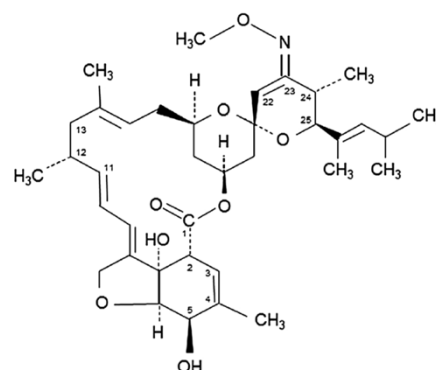
**Obr. 5.** Pyrantel

Léčivá látka pyrantel patří do skupiny tetrahydropyrimidinů, které jsou derivátem imidazothiazolu. U koní se pyrantel využívá ve dvou formách: tartrát a embonát (syn. pamoát). Pyrantel embonát je obsažen v přípravcích registrovaných pro český trh. Mechanismus účinku pyrantelu spočívá ve vyvolání spastické paralýzy parazita. Pyrantel působí selektivně jako agonista synaptických a extrasynaptických nikotinových acetylcholinových receptorů svalových buněk. Vazbou na receptory dochází k depolarizaci neuromuskulárních spojů, což vede ke kontrakci svalů a rozvinutí spastické paralýzy, nikoliv smrti parazita (Martin 1997; Martin & Robertson 2007). Obecná dávka pyrantelu pro léčbu strongylidních hlístic je  $19 \text{ mg.kg}^{-1}$  ž. hm. Pyrantel je účinný pouze na luminální stádia hlístic, protože parenterálně je vstřebáván pouze minimálně a většina léčivé látky je během 48 hodin vyloučena s výkaly (Gokbulut et al. 2001).

### 2.3.1.3 Makrocyclic lactones – ivermectin and moxidectin



Obr. 6. Ivermectin



Obr. 7. Moxidectin

Makrocyclické laktóny se vyznačují rychlým nástupem účinku už při velmi nízkých dávkách (Lanusse & Prichard, 1993). Z této skupiny jsou pro použití u koní registrovány dvě léčivé látky – ivermectin (skupina avermektinů), a moxidectin (skupina milbemycinů). Obě léčivé látky jsou endektocida (účinné na endo- i ektoparazity) a mají shodný mechanismus účinku založený na narušení funkce glutamátom otevíraných chloridových kanálů, což vede k paralýze hlístice. Hlístice není schopna pohybu ani absorpce živin. Moxidectin má vyšší lipofilní schopnosti, a proto se akumuluje se v tukové tkáni, odkud je postupně uvolňován. Na rozdíl od ivermektinu má 60–80% účinnost proti encystovaným larvám strongylidních hlístic (Xiao et al. 1994; Monahan et al. 1995). Ze všech pro koně dostupných léčivých látek má proto nejdelší ERP, a sice 16–22 týdnů v době uvedení na trh (Jacobs et al. 1995; Demeulenaere et al. 1997; DiPietro et al. 1997). Přípravky s obsahem ivermektinu i moxidektinu jsou v ČR dostupné jak samostatně, tak v kombinaci s léčivou látkou praziquantel. Obecná dávka pro ivermectin je 0,2 mg.kg<sup>-1</sup> ž. hm. a pro moxidectin 0,4 mg.kg<sup>-1</sup> ž. hm.

### 2.3.2 Veterinární léčivé přípravky dostupné v ČR

V současné době je v ČR pro použití u koní registrováno 5 léčivých látek a 14 veterinárních léčivých přípravků (Tab. 3) s indikací léčby infekcí strongylidními hlísticemi. Jednotlivé přípravky jsou dostupné v různých lékových formách: pasta, suspenze, granule, prášek, pasta a gel. Jeden z přípravků má lékových forem více. Přípravky s obsahem abamektinu, mebendazolu, piperazinů a albendazolu dostupné již nejsou (ÚSKVBL 2021).

**Tab. 3.** Anthelmintika registrovaná v ČR (k 1. 3. 2023, zdroj ÚSKVBL 2023)

Farmakoterapeutická skupina	Rok první registrace	Léčivá látka	Veterinární léčivý přípravek
Benzimidazoly	1976	Fenbendazol	Panacur HELMIGAL
Tetrahydropyrimidiny	2013	Pyrantel embonát	EQUISTRONG Helminthex
Avermectiny	1986	Ivermectin	NOROMECTIN Ecomectin
Avermectiny + Cholinové deriváty	2005	Ivermectin + Praziquantel	Noromectin Praziquantel Duo Equimax Equiverm
Milbemyciny	1997	Moxidectin	Equest Equimoxin
Milbemyciny + Cholinové deriváty	2006	Moxidectin + Praziquantel	Equest pramox



### 2.3.3 Anthelmintická rezistence

Anthelmintická rezistence je stav, kdy je určitý podíl populace hlístic schopný snášet terapeutickou dávku anthelmintika a tuto vlastnost přenášet na další generace. Jedná se o setrvalý stav a u koní prozatím neexistují studie, které by potvrdily návrat rezistentní populace hlístic zpět k citlivosti vůči dané léčivé látce, a to ani v rámci delšího časového úseku (Kaplan 2002).

Anthelmintická rezistence úzce souvisí s refugiem – populací parazitů, která není vystavena účinku anthelmintika a funguje jako rezervoár citlivých genů. Refugiem jsou koně, kterým nebylo anthelmintikum podáno, nebo jednotlivá vývojová stadia hlístic na pastvině (vajíčko, larvy L<sub>1</sub>–L<sub>3</sub>). Částečně jim mohou být i encystované larvy cyathostomin u léčených zvířat, a to za předpokladu, že jim bylo aplikováno anthelmintikum bez larvicidního účinku. Mezi faktory ovlivňující vznik a rozvoj anthelmintické rezistence patří velikost refugia, která je ovlivněna zejména přístupem k anthelmintické léčbě. Refugium se významně zmenšuje při aplikaci anthelmintika všem koním ve stádě, před vypuštěním na novou pastvinu či v období nepříznivých klimatických podmínek (zima). Čím je refugium menší, tím je nástup anthelmintické rezistence v chovu rychlejší. Dalšími faktory pro vznik rezistence jsou poddávkování či nadužívání anthelmintik (von Samson-Himmelstjerna 2012).

FECRT představuje v současné době jediný spolehlivý způsob, jak anthelmintickou rezistenci v chovu odhalit. Vzhledem k nízké citlivosti FECRT je možné stanovit ERP a tím odhalit i teprve se rozvíjející anthelmintickou rezistenci. Použití in vitro metod, jako např. test líhivosti vajíček (EHT, Egg hatch test) nebo test vývoje larev (LDT, Larval development test), nebylo dosud u koní standardizováno.

S ohledem na omezené terapeutické možnosti u koní je informace o výskytu anthelmintické rezistence v daném chovu pro veterinárního lékaře zásadní pro stanovení účinně anthelmintické léčby. Duální rezistence, tedy nedostatečná citlivost populace hlístic vůči dvěma anthelmintikům současně, je v Evropských chovech velmi častá. V takovém chovu lze pro potlačování strongylidních hlístic používat prakticky jen jednu skupinu anthelmintik. Brazílie (Canever et al. 2013; Flores et al. 2020), Itálie (Milillo et al. 2009; Traversa et al. 2009) a Spojené království (Traversa et al. 2009; Relf et al. 2009) dokonce hlásí multirezistentní výskyt populací strongylidních hlístic.

### 2.3.3.1 Fenbendazol

Anthelmintická rezistence cyathostomin na benzimidazolová anthelmintika byla potvrzena již v polovině 60. let minulého století a od té doby se rozšířila po celém světě (Nielsen 2022). Najdeme ji i v oblastech s limitovaným použitím anthelmintik (Kumar et al. 2016; Seyoum et al. 2017; Salas-Romero et al. 2018) či dokonce u ferálních koní (Kuzmina et al., 2020). Nález chovu s populací strongylidních hlístic citlivých vůči této léčivé látce by byl v současné době raritou, protože rezistence byla opakovaně potvrzena na území České republiky (Chroust 2000; Langrová et al. 2002; Nováková & Koudela 2006; Bodeček & Varouchová 2013) a ve šech 58 studiích provedených v tomto tisíciletí (Nielsen 2022). Fenbendazol však lze úspěšně použít k potlačování infekcí způsobených škrkavkami a roupy (*Parascaris* spp., *Oxyuris equi*), kde je stále lékem první volby.

### 2.3.3.2 Pyrantel

Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic vůči pyrantelu je méně rozšířená než u fenbendazolu. První výskyt byl zaznamenán v roce 1996 (Chapman et al. 1996). Rozvoj anthelmintické rezistence vůči této látce byl patrně urychlen prodejem produktů s kontinuální aplikací (pyrantel tartrát). Ačkoliv je rozšíření anthelmintické rezistence v Evropě značné (Nielsen 2022), v ČR byla potvrzena pouze suspektní rezistence (Bodeček et al. 2018).

### 2.3.3.3 Makrocyklické laktóny

Makrocyklické laktóny jsou v současné době stále nejúčinnější farmakoterapeutickou skupinou pro regulaci strongylidních hlístic u koní. Výskyt anthelmintické rezistence byl potvrzen prostřednictvím FECRT (Edward & Hoffmann 2008; Lyons et al. 2008; Traversa et al. 2009) nebo zkrácení délky ERP, která se z původních 9–13 týdnů pro ivermektin a 16–22 týdnů pro moxidektin v obou případech zkracuje na pouhé čtyři týdny (Lyons et al. 2008; Ihler 2010; Rossano et al. 2010). V ČR nebyla prozatím anthelmintická rezistence strongylidních hlístic na ivermektin nebo moxidektin potvrzena.

### **3 Vědecké hypotézy a cíle práce**

Obečným cílem bylo definovat distribuci intenzity nálezu strongylidních hlístic v českých stádech koní, otestovat spolehlivost kvantifikačních metod pro stanovení míry rezistence strongylidních hlístic a za použití nejvhodnější metody všechna anthelmintika určená k potlačování infekcí strongylidními hlísticemi otestovat na dostatečném vzorku koní a stájí.

#### **3.1 Intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic**

Častým předpokladem českých chovatelů koní je uniformní rozložení strongylidních hlístic v rámci celého stáda. Chovatelé často provádějí koprologické vyšetření směsného vzorku, pocházejícího smícháním vzorků části koní stáda, a na základě výsledků tohoto vyšetření odhadují stav všech členů stáda. Cílem této části disertační práce bylo ověřit, jakým způsobem je v populaci českých koní intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic distribuována.

##### **Hypotéza 1:**

Kontaminační potenciál české populace koní není uniformní a velký podíl koní produkuje jen malý počet vajíček strongylidních hlístic.

#### **3.2 Spolehlivost kvantitativních diagnostických metod**

Spolehlivost, tedy preciznost a přesnost, kvantitativní metody se může lišit v závislosti na individuálních metodách. Cílem této části disertační práce bylo vyhodnotit spolehlivost tří kvantitativních metod při různé intenzitě infekce a poté zvolit tu nejvhodnější pro detekci anthelmintické rezistence strongylidních hlístic.

##### **Hypotéza 2a:**

Typ vajíčka neovlivňuje spolehlivost kvantitativní metody.

##### **Hypotéza 2b:**

Pomocí Mini-FLOTAC metody lze spolehlivě diagnostikovat výskyt anthelmintické rezistence.

### **3.3 Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic**

Rozvoj anthelmintické rezistence v rámci populace parazitů je dynamický jev. Cílem této části disertační práce bylo vyhodnotit aktuální míru anthelmintické rezistence u strongylidních hlístic vůči všem v současnosti užívaným anthelmintikům (fenbendazol, pyrantel, ivermektin a moxidektin) v českých chovech koní.

#### **Hypotéza 3a:**

Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic je v České republice přítomna.

#### **Hypotéza 3b:**

Fenbendazol není s ohledem na výskyt rezistence nadále vhodným anthelmintikem pro potlačování infekce strongylidními hlísticemi.

## 4 Metody zpracování

### 4.1 Intenzita a kontaminační potenciál

#### 4.1.1 Koprologické vzorky

Vzorky výkalů byly získány ze 44 českých chovů koní v letech 2014–2017. Zúčastnění koně neabsolvovali žádnou anthelmintickou léčbu v posledních 12 týdnech od odběru vzorku.

Odběr vzorků probíhal ze země, okamžitě po vykání koně. Vzorek byl uchován v uzavíratelném sáčku, skladován v chladničce při teplotě 4 °C a vyšetřen do 48 hodin. Každý vzorek byl při odběru opatřen jménem koně, rokem narození, lokalitou chovu a informací o poslední anthelmintické léčbě (léčivá látka, datum aplikace).

#### 4.1.2 Vyšetřovací metoda

Kvantitativní vyšetření vzorků bylo provedeno Zjednodušenou McMasterovou metodou (Roepstorf & Nansen 2008) s detekčním limitem 50 EPG (Eggs per gram).

#### 4.1.3 Analýza výsledků

V souboru dat výsledků individuálních odběrů byly stanoveny základní statistické parametry. Výsledky byly vyhodnoceny jako:

- a) intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic;
- b) stanovení kontaminačního potenciálu koní.

Intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic byla hodnocena jako souboru všech vyšetřených vzorků. Získané výsledky byly zaneseny ve vzestupném pořadí do skládaného plošného grafu a rozděleny do tří kategorií:

- |                     |         |      |
|---------------------|---------|------|
| – nízká intenzita   | 0–200   | EPG; |
| – střední intenzita | 201–500 | EPG; |
| – vysoká intenzita  | >501    | EPG. |

Kontaminační potenciál jednotlivých koní byl stanoven na základě průměrné hodnoty minimálně 3 vyšetření, která proběhla u téhož koně. Výsečový graf znázorňuje tři kategorie kontaminačního potenciálu (nízký, střední a vysoký). Parametry pro zařazení do těchto kategorií jsou shodné s parametry pro stanovení kategorií intenzity nálezu.

## 4.2 Spolehlivost kvantitativních diagnostických metod

### 4.2.1 Koprologické vzorky

Spolehlivost jednotlivých kvantitativních metod byla hodnocena jak u laboratorně inokulovaných vzorků vajíčky strongylidních hlístic (*Strongylidae*) a škrkavek (*Parascaris* spp.), ale i u vzorků s přirozenou infekcí těchto dvou hlístic.

Koprologický materiál byl získán ze soukromého chovu koní. Odběr materiálu proběhl ihned po defekaci koně na tvrdou podložku a materiál byl umístěn do uzavíratelného ZIP sáčku, zchlazen a transportován do laboratoře. Negativní vzorek určený pro inokulaci vajíček pocházel od dospělého koně, který podstoupil anthelmintickou léčbu moxidektinem a negativita vzorku byla ověřena koncentrovanou centrifugačně-flotační Cornell-Wisconsin metodou a Mini-FLOTAC metodou v 10 opakováních. Pozitivní vzorek s dostatečným obsahem vajíček strongylidních hlístic byl získán od dospělého koně, u kterého v posledních 3 měsících neproběhla žádná anthelmintická léčba. Pozitivní vzorek s dostatečným obsahem vajíček škrkavek pocházel od hříběte, které podstoupilo anthelmintickou léčbu ivermektinem, ale v důsledku rezistence škrkavek byla jejich vajíčka ve velké koncentraci ve výkalu přítomná i po léčbě. Poslední vzorek, s přirozenou smíšenou infekcí strongylidních hlístic a škrkavek, byl získán opět od hříběte, které podstoupilo poslední anthelmintickou léčbu před 3 měsíci.

Ze dvou vzorků, s vysokým obsahem strongylidních hlístic a škrkavek, byla izolována vajíčka centrifugačně-flotační metodou dle Coles et al. (2006). Principem metody je koncentrace velkého množství vajíček pomocí flotace na krycí sklíčko v centrifuze s výklopným rotorem. Vajíčka byla z krycího sklíčka spláchnuta vodou, zbavena zbytků flotačního roztoku promytím a byla uloženy separátně do 15 ml zkumavek. Izolovaná vajíčka byla naředěna vodou, za použití vortexu pečlivě promíchána a byl stanoven jejich počet v přesně daném objemu tekutiny. Vajíčka byla inokulována v šesti koncentracích (500, 100, 200, 500, 1000 a 3000 EPG) mikropipetou do negativního vzorku, a to ve 30 opakováních pro každou testovanou metodu, koncentraci i hlístici. Počet inokulovaných vajíček odpovídal násobku výchozí váhy vzorku (4–5 g) pro každou testovanou metodu.

Inokulované vzorky byly pečlivě promíchány, aby došlo k zabudování inokulovaných vajíček do struktury koprologického vzorku a rovnoměrné distribuci vajíček v celém objemu vzorku.

#### 4.2.2 Kvantitativní metody

Byly testovány 3 kvantitativní metody: Zjednodušená McMasterova metoda (SMM; Simple McMaster method), Koncentrovaná McMasterova metoda (CMM; Concentrational McMaster method) dle Roepstorff & Nansen (1998) a Mini-FLOTAC (Cringoli et al. 2017). Detaily protokolů jednotlivých metod jsou uvedeny v tabulce (Tab. 4). Pro všechny metody byl použit identický flotační roztok (NaCl+glukóza; 1,28 g.cm<sup>-3</sup>). Odečítání vzorků probíhalo za použití mikroskopu Olympus BX51 při celkovém zvětšení 100×.

**Tab. 4.**

Protokoly testovaných kvantitativních metod

Metoda	Váha faeces (g)	Flotační roztok	Centrifugace (RCF)	Odečítaný objem (ml)	Čas flotace (min)	Multiplikační faktor
SMM	4	NaCl+glukóza; 1,28	–	0,3	5	50
CMM	4	NaCl+glukóza; 1,28	224 ×g 5 min	0,3	5	20
MF	5	NaCl+glukóza; 1,28	–	2,0	10	5

SMM, Zjednodušená McMasterova metoda; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda; MF, Mini-FLOTAC; RCF, relative centrifugation force (relativní centrifugační síla)

SMM a CMM využívají k pasivní flotaci a odečítání McMasterovo sklíčko se dvěma komůrkami o celkovém objemu 1 ml a vajíčka jsou počítána v označených polích o celkovém objemu 0,3 ml. MF disponuje dvěma komůrkami a odečítání probíhá v objemu 2 ml, což umožňuje otočný mechanismus. Součástí metody bylo použití doporučeného zařízení Fill-FLOTAC, které zajišťuje homogenizaci, filtraci a aplikaci tekutiny do sklíčka.

U všech metod byla také sledována časová dotace na zpracování jednoho vzorku – od navážení vzorku po odečtení posledního vajíčka, včetně případné centrifugace. Pro tento účel byl použit vzorek s přirozenou konfekcí a výpočet probíhal formou aritmetického průměru z 10 opakování pro každou metodu.

### 4.2.3 Statistické analýzy

Veškeré statistické vyhodnocení probíhalo v programu Statistica ver. 13 (StatSoft Inc. 2001, [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)). Byly vypočteny základní deskriptivní statistické parametry, jako průměr, medián, směrodatná odchylka a variační koeficient. Pro stanovení významnosti rozdílů mezi metodami byl použit Kruskal-Wallisův test včetně  $P$  hodnot. Pokud byl celkový účinek metody statisticky významný ( $P < 0,05$ ), byla provedena párová srovnání na základě rankových součtů Mann-Whitneyho testu. Výsledky statistických analýz jsou znázorněny v box-plotových grafech (s vyznačením mediánů, percentilů a odlehlých hodnot) vytvořených v softwaru R (Team, R. 2015, [www.R-project.org](http://www.R-project.org)) a za využití balíčku ggplot2 (Wickham 2016).

Preciznost, definovaná variačním koeficientem, byla hodnocena u inokulovaných vzorků i vzorků s přirozenou infekcí. Výpočet variačního koeficientu probíhal pro každý soubor 30 opakování u každé metody, koncentrace i druhu hlístice.

$$CV = \left( \frac{\textit{standard deviation}}{\textit{mean}} \right) \times 100$$

Přesnost je vyjádřena průměrnou odchylkou od počtu inokulovaných vajíček a výpočet přesnosti probíhal pro každý soubor 30 opakování u každé metody.

$$\textit{Accuracy} (\%) = \left( \frac{\textit{mean}}{\textit{spiked concentration}} \right) \times 100$$



## 4.3 Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic

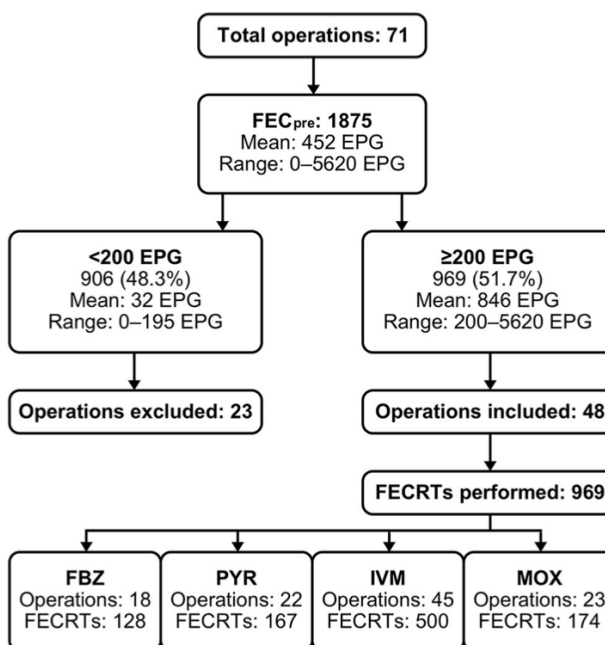
### 4.3.1 Design experimentu

Data o výskytu anthelmintické rezistence byla získána v letech 2019 a 2020 v chovech koní napříč celou Českou republikou. V každém ze 14 krajů byly testovány 2–4 chovy, aby byla získána geograficky rovnoměrně rozložená data. Anthelmintická rezistence byla detekována prostřednictvím FECRT a studie se mohly zúčastnit pouze chovy, které neaplikovaly žádné anthelmintikum v posledních 12 týdnech.

Vývojový diagram (Graf. 1) znázorňuje výběrová kritéria pro testování rezistence a design experimentu.

#### Graf 1.

Vývojový diagram designu experimentu, počtu chovů a koní ( $FEC_{pre}$ , vyšetření před aplikací anthelmintika; EPG, eggs per gam, počet vajíčků/1 g výkalu; FECRT, fecal egg count reduction test, test redukce počtu vajíčků; FBZ, fenbendazol; PYR, pyrantel; IVM, ivermektin; MOX, moxidektin)



### 4.3.2 Test redukce počtu vajíček (FECRT)

Na základě předchozích výsledků, kdy byla testována spolehlivost kvantitativních metod, byla pro provedení FECRT zvolena kvantitativní metoda Mini-FLOTAC, protože vyniká vysokou precizností a dostatečnou citlivostí.

Mini-FLOTAC sklíčko bylo podle doporučení výrobce doplněno Fill-FLOTAC systémem, který zajišťuje homogenizaci, filtraci a aplikaci do sklíčka. Zpracování vzorku proběhlo podle protokolu stanoveného pro použití u čerstvých koprologických vzorků herbivorů (5 g vzorku; 45 ml flotačního roztoku o hustotě  $1,28 \text{ g.cm}^{-3}$ ; multiplikační faktor  $\times 5$ ). Metoda Mini-FLOTAC je založena na pasivní flotaci vajíček hlístic uvnitř flotačních komůrek o celkovém objemu 2 ml a ke zlepšení odečitelnosti využívá otočný disk, který má za úkol oddělit na něj adherovaná vajíčka od zbytku fekálního filtrátu. Odečet vajíček probíhal pomocí mikroskopu Olympus BX51 při celkovém zvětšení  $100\times$ .

V první fázi experimentu byli vyšetřeni všichni koně ze všech přihlášených stájí (FEC<sub>pre</sub>). Po vyhodnocení výsledků bylo rozhodnuto, zda bude stáj v testování rezistence pokračovat. Kritériem pro pokračování bylo, aby chov disponoval alespoň 6 koňmi s dostatečnou intenzitou infekce ( $\geq 200$  EPG). Pokud chov tyto podmínky splnil, koním bylo po odhadu váhy koně páskou na základě doporučení ošetřujícího veterinárního lékaře perorálně aplikováno anthelmintikum s obsahem jedné v ČR dostupných léčivých látek indikovaných k léčbě strongylidních hlístic. Druhý odběr vzorků (FEC<sub>post</sub>) byl proveden 14 dní po podání anthelmintika.

Vzorky byly v obou případech odebrány ihned po defekaci, transportovány v ZIP sáčku do laboratoře a okamžitě zpracovány, případně skladovány ve  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  a zpracovány do 24 hodin.

V jednom chovu byla ověřena účinnost 1–4 anthelmintik. Počet testovaných anthelmintik se odvíjel od celkového počtu koní v daném chovu (při dostatečném počtu koní lze testovat více anthelmintik současně), počtu koní s dostatečnou intenzitou nálezu a od nastavení anthelmintického plánu ošetřujícím veterinárním lékařem – počtu anthelmintických terapií ročně. Jedna stáj mohla testovat více anthelmintik současně nebo individuálně, ale v tomto případě bylo nutné dodržet dostatečný časový odstup, mezi jednotlivými testy.

### 4.3.3 Anthelmintická léčba

Výskyt anthelmintické rezistence byl sledován u všech v ČR registrovaných anthelmintik – fenbendazol, pyrantel embonát, ivermektin a moxidektin.

Koním byl pověřenou osobou perorálně aplikován jeden z následujících veterinárních léčivých přípravků (FBZ: Panacur, Intervet International, Boxmeer, Nizozemí; PYR: EQUISTRONG, Bioveta, Ivanovice na Hané, Česká republika; IVM: NOROMECTIN, Norbrook Laboratories, Monaghan, Irsko; MOX: EQUIMOXIN, Bioveta, Ivanovice na Hané, Česká republika), a to v jednorázové dávce doporučené výrobcem (FBZ 7.5 mg.kg<sup>-1</sup> ž. hm.; PYR 19 mg.kg<sup>-1</sup> ž. hm.; IVM 0.2 mg.kg<sup>-1</sup> ž. hm.; MOX 0.4 mg.kg<sup>-1</sup> ž. hm.). Před aplikací anthelmintika bylo ověřeno datum expirace přípravku.

### 4.3.4 Statistická analýza

Výsledky FECRT byly statisticky zpracovány a vyhodnoceny podle současných kritérií pro stanovení výskytu anthelmintické rezistence u koní (Levecke et al. 2018; AAEP 2019), a to jak ve smyslu ověření účinnosti léčby samotných koní, vyhodnocení stavu rezistence na úrovni stájí i stanovení obecné účinnosti anthelmintik.

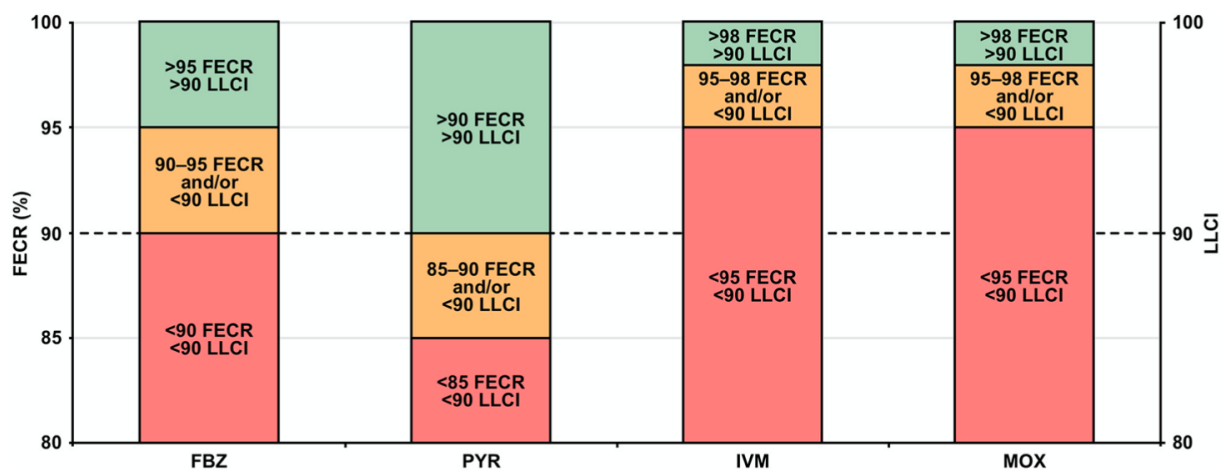
Výsledky vyšetření jednotlivých koní byly zpracovány pomocí analýzy Bayesova hierarchického modelu s použitím výpočtu průměrné hodnoty FECR (%) a 95% kredibilních intervalů (Torgeson et al. 2014; Wang et al. 2018). FECR (%) bylo vypočteno u každého koně, zatímco průměrná hodnota FECR, 95% kredibilní intervaly, průměrné hodnoty FEC<sub>pre</sub> a FEC<sub>post</sub> pro každou stáj. Tabulky s účinností anthelmintik v jednotlivých chovech koní jsou přiloženy jako samostatné přílohy.

Účinnost anthelmintik (normální, suspektní a snížená) byla na úrovni chovů stanovena prostřednictvím průměrné hodnoty FECR (%) a dolní hranice 95% kredibilního intervalu (LLCI; Lower limit of credible interval). Kritéria použitá pro stanovení účinnosti se v závislosti na vyhodnocovaném anthelmintiku liší, a proto jsou zobrazena v grafu (Graf 2).

Pro každé anthelmintikum byla také vypočtena celková účinnost anthelmintika bez ohledu na jednotlivé chovy. Celková účinnost anthelmintika je znázorněna jako posteriorní rozdělení FECR všech koní. Dále byla provedena analýza výsledků podnulových účinností (FECR <0 %). Jedná se o stav, kdy hladina intenzity nálezu byla po aplikaci anthelmintika vyšší než před ním. Součástí analýzy byl výpočet konfidenčních intervalů jednotlivých koní s omezením účinnosti na interval 0 až 1 a náhodnými veličinami mezi chovy.

## Graf 2.

Kritéria pro stanovení účinnosti léčby (normální, zelená; suspektní, oranžová; snížená, červená) pro fenbendazol (FBZ), pyrantel embonát (PYR), ivermektin (IVM) a moxidektin (MOX) – redukce počtu vajíček (FECR, fecal egg count reduction) a dolní hranice 95% kredibilního intervalu (LLCI, Lower limit of credible interval).



## 5 Výsledky

### 5.1 Intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic a kontaminační potenciál

Celkem byl vyšetřen soubor 951 vzorků odebraných opakovaně od 252 koní (3–30 let) ze 44 českých chovů. Všichni vyšetřovaní koně měli umožněn přístup k pastvě. Každý kůň podstoupil minimálně 3 odběry vzorků a jejich vyšetření.

#### 5.1.1 Intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic

Soubor 951 výsledků kvantitativního vyšetření byl rozdělen do tří kategorií (Tab. 5; Graf 3). Z výsledků je patrné, že intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic byla u nadpoloviční většiny vyšetření nízká, tedy  $\leq 200$  EPG. Téměř třetina výsledků všech vyšetření (31,1 %) měla nulový nález (0 EPG). Střední hodnota (medián) souboru činí 150 EPG, minimální hodnota 0 EPG a maximální hodnota 4900 EPG.

**Tab. 5.**

Kategorie intenzit nálezu a jejich četností v souboru 951 vzorků

Intenzita	EPG	Absolutní četnost	Relativní četnost
nízká	0–200	522	54,9 %
střední	201–500	145	16,9 %
vysoká	>501	284	28,2 %

EPG, Eggs per gramm, počet vajíček/1 g výkalu

**Tab. 6.**

Kategorie kontaminačního potenciálu a souboru 252 koní a jejich rozdělení do kategorií podle četnosti

Kontaminační potenciál	Průměrné EPG	Absolutní četnost	Relativní četnost
nízký	0–200	120	47,6 %
střední	201–500	55	21,8 %
vysoký	>501	77	30,6 %

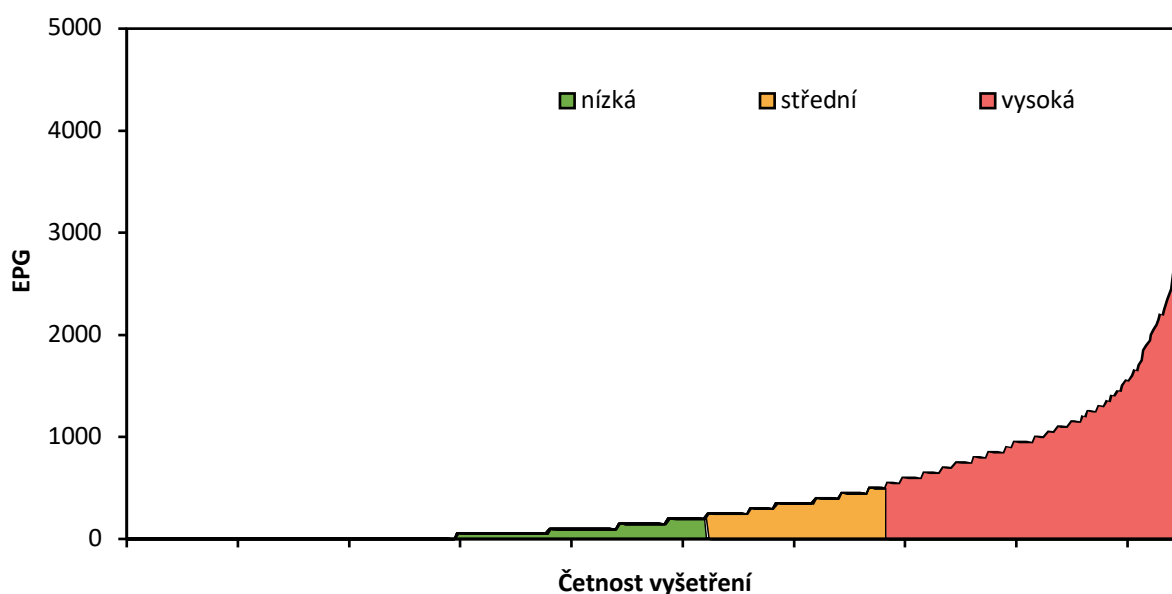
EPG, Eggs per gramm, počet vajíček/1 g výkalu

### 5.1.2 Kontaminační potenciál koní

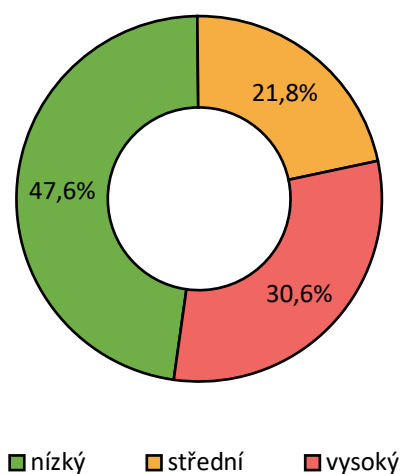
Soubor 252 koní byl rozdělen na základě průměrné hodnoty minimálně tří vyšetření do kategorií na základě jejich kontaminačního potenciálu (Tab. 6.; Graf 4.).

V tomto souboru koní se nacházelo 53 jedinců (21 %) s nulovým kontaminačním potenciálem – tito koně měli výsledky všech vyšetření pod detekčním limitem metody (<50 EPG). Střední hodnota (medián) průměrné hodnoty všech vyšetření činí 318 EPG, minimální hodnota 0 EPG a maximální hodnota 2475 EPG.

**Graf 3.** Intenzita nálezu souboru 951 vyšetření prostřednictvím skládaného grafu



**Graf 4.** Kontaminační potenciál souboru 252 koní v prstencovém grafu



## 5.2 Spolehlivost kvantitativních diagnostických metod

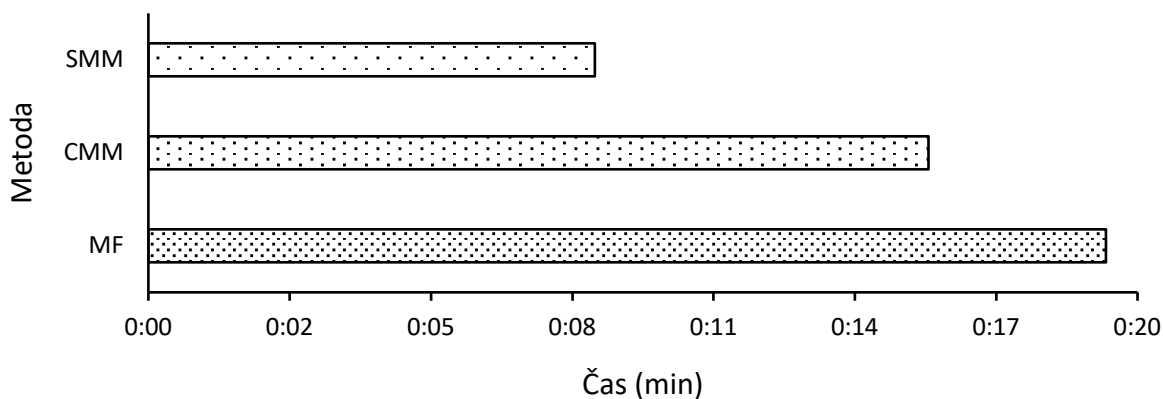
V rámci testování spolehlivosti diagnostických metod bylo celkem vyšetřeno 1170 koprologických vzorků: 540 vzorků inokulovaných vajíčky strongylidních hlístic, 540 vzorků inokulovaných vajíčky škrkavek a 90 vzorků s přirozenou smíšenou infekcí.

### 5.2.1 Časová náročnost metody

Průměrný čas (min:s) pro zpracování jednoho vzorku danou metodou činil 9:06, 15:54 a 19:31 pro SMM, CMM a MF (Graf. 5)

#### Graf. 5.

Časová náročnost na zpracování vzorku kvantitativními metodami (SMM, Zjednodušená McMasterova metoda; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda; MF, Mini-FLOTAC)



## 5.2.2 Spolehlivost

Statistická významnost rozdílů ( $P \leq 0,05$  a  $\leq 0,01$ ) mezi jednotlivými metodami a  $P$  hodnoty jsou uvedeny v tabulce (Tab. 7).

**Tab. 7.**

Porovnání významnosti rozdílů tří kvantitativních koprologických metod u inokulovaných vzorků (IO) vajíček strongylidních hlístic (S) a *Parascaris* spp. (P) v šesti koncentracích a u vzorku s přirozenou infekcí (PI)

vzorek/koncentrace/hlístice	$P$	SMM	CMM	MF
IO/50/S	0,0325	–	–	–
IO/100/S	0,0921	–	–	–
IO/200/S	0,0735	–	–	–
IO/500/S**	0,0000	a	b	a,b
IO/1000/S**	0,0000	a	a	a
IO/3000/S	0,1738	–	–	–
PI–/S**	0,0000	a,b	a	b
IO/50/P*	0,0177	a,b	a	b
IO/100/P*	0,0118	a	–	a
IO/200/P*	0,0257	a,b	a	b
IO/500/P**	0,0000	a	b	a,b
IO/1000/P**	0,0000	a	a	a
IO/3000/P**	0,0000	a	a	a
PI–/P**	0,0000	a	b	a,b

SMM, Zjednodušená McMasterova metoda; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda; MF, Mini-FLOTAC; S, strongylidní hlístice; P, *Parascaris* spp.; \*,  $P \leq 0,05$ ; \*\*,  $P \leq 0,01$ ; písmena definují statisticky významné rozdíly mezi metodami

Výsledky spolehlivosti metod jsou uvedeny v tabulkách (Microsoft Excel, verze 16.16.1). Preciznost metod je u inokulovaných vzorků vajíčky strongylidních hlístic a škrkavek reprezentována variačním koeficientem u každé koncentrace a průměrnou hodnotou variačního koeficientu všech koncentrací u strongylidních hlístic (Tab. 8), škrkavek (Tab. 9) a přirozené infekce oběma hlísticemi (Tab. 10).

Přesnost metod u inokulovaných vzorků vajíčky strongylidních hlístic a škrkavek je reprezentována průměrnou odchylkou s uvedením maximální a minimální hodnoty u každé koncentrace a průměrnou hodnotou výtěžnosti vajíček všech koncentrací u strongylidních hlístic (Tab. 11) a *Parascaris* spp. (Tab. 12). Přesnost nebyla stanovena u přirozeně infikovaného vzorku, protože není známa reálná hodnota počtu vajíček.



Celková spolehlivost metod u inokulovaných vzorků strongylidními hlísticemi a *Parascaris* spp. je uvedena v krabicovém grafu (Graf 6). Jednotlivé grafy (A–F) reprezentují různou koncentraci počtu vajíček, která je vyznačena přerušovanou linií. Spolehlivost metod u přirozeně infikovaných vzorků strongylidními hlísticemi a *Parascaris* spp. uvádí Graf 7. Horizontální linie definuje medián, horní a dolní okraj boxu 1. a 3. kvartil, úsečky min. a max. hodnoty a tečky odlehlé hodnoty. Tabulky s kompletními výsledky jsou přiloženy jako samostatné přílohy.

**Tab. 8.**

Preciznost kvantitativních metod u vzorků inokulovaných vajíčky strongylidních hlístic v šesti koncentracích (EPG)

Strongylidae	50 EPG	100 EPG	200 EPG	500 EPG	1000 EPG	3000 EPG	Preciznost
SMM	87,23	60,91	48,19	32,33	20,94	16,39	44,33
CMM	70,41	52,50	40,03	18,40	19,12	13,36	35,64
MF	33,32	27,99	16,78	14,70	11,78	4,93	18,25

SMM, Zjednodušená McMasterova metoda; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda; MF, Mini-FLOTAC; EPG, eggs per gram

**Tab. 9.**

Preciznost kvantitativních metod u vzorků inokulovaných vajíčky *Parascaris* spp. v šesti koncentracích (EPG)

<i>Parascaris</i> spp.	50 EPG	100 EPG	200 EPG	500 EPG	1000 EPG	3000 EPG	Preciznost
SMM	167,24	88,40	44,70	33,99	25,34	18,04	62,95
CMM	68,93	51,84	32,08	23,95	22,45	15,03	35,71
MF	35,63	30,85	14,35	11,85	7,71	13,33	18,95

SMM, Zjednodušená McMasterova metoda; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda; MF, Mini-FLOTAC; EPG, eggs per gram

**Tab. 10.**

Preciznost kvantitativních metod u vzorků s přirozenou infekcí strongylidních hlístic a *Parascaris* spp.

	Strongylidae	<i>Parascaris</i> spp.
SMM	39,53	31,20
CMM	25,19	17,92
MF	8,64	14,51

SMM, Zjednodušená McMasterova metoda; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda; MF, Mini-FLOTAC

**Tab. 11.**

Přesnost kvantitativních metod u vzorků inokulovaných vajíčky strongylidních hlístic v šesti koncentracích

<b>Strongylidae</b>	<b>50 EPG</b>	<b>100 EPG</b>	<b>200 EPG</b>	<b>500 EPG</b>	<b>1000 EPG</b>	<b>3000 EPG</b>	<b>Přesnost (%)</b>
SMM	0 (37–73)	0 (71–113)	-50 (153–220)	-50 (393–501)	-50 (979–1145)	-100 (2666–3014)	97,53
CMM	0 (38–66)	-10 (72–107)	-40 (132–178)	-50 (414–475)	-230 (742–856)	-300 (2589–2861)	88,39
MF	-10 (35–45)	-30 (62–76)	-65 (127–144)	-160 (324–361)	-323 (672–734)	-300 (2638–2737)	74,18

SMM, Zjednodušená McMasterova metoda; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda; MF, Mini-FLOTAC; EPG, eggs per gram

**Tab. 12.**

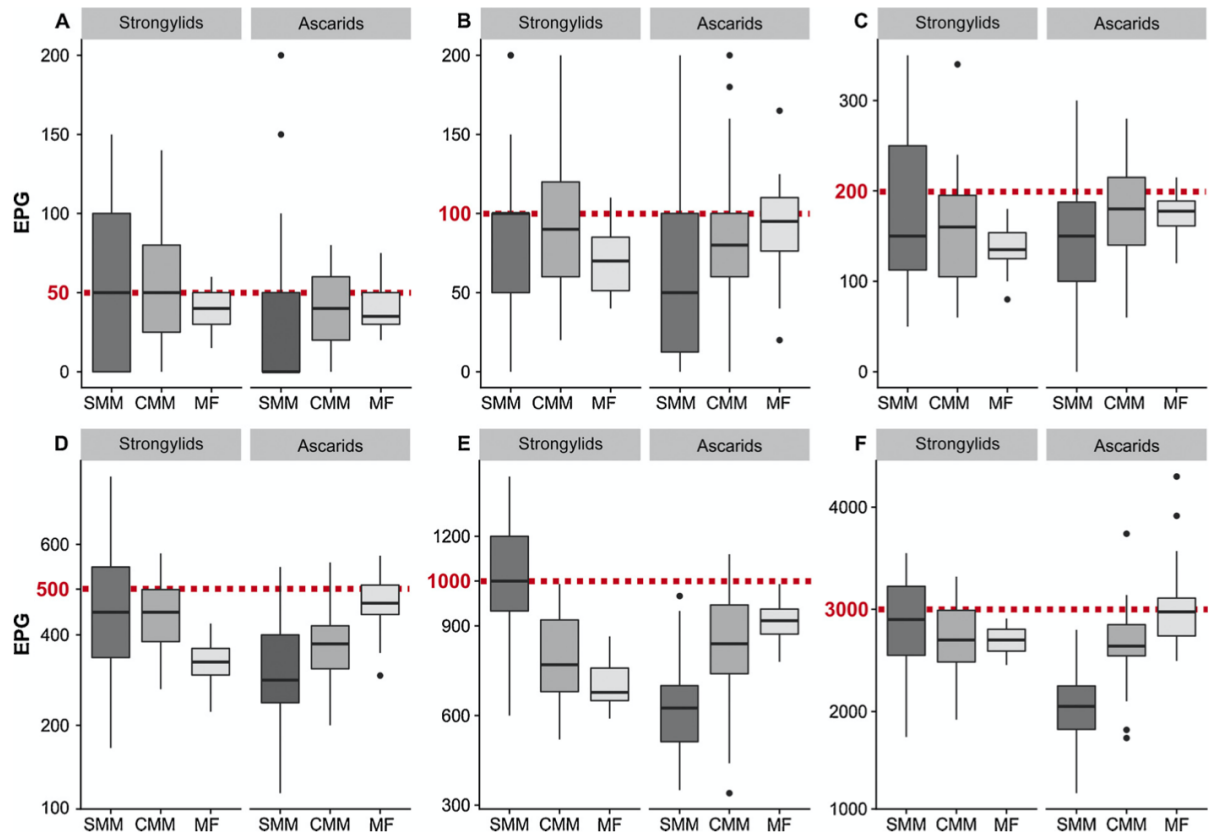
Přesnost kvantitativních metod u vzorků inokulovaných vajíčky *Parascaris* spp. v šesti koncentracích

<b><i>Parascaris</i> spp.</b>	<b>50 EPG</b>	<b>100 EPG</b>	<b>200 EPG</b>	<b>500 EPG</b>	<b>1000 EPG</b>	<b>3000 EPG</b>	<b>Přesnost (%)</b>
SMM	-50 (11–49)	-50 (44–86)	-50 (122–171)	-200 (279–361)	-375 (564–682)	-950 (1917–2193)	65,53
CMM	-10 (30–51)	-20 (69–102)	-20 (154–196)	-120 (334–400)	-160 (761–900)	-360 (2498–2794)	83,18
MF	-15 (33–44)	-5 (81–102)	-23 (165–183)	-30 (448–490)	-83 (886–939)	-25 (2873–3174)	90,28

SMM, Zjednodušená McMasterova metoda; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda; MF, Mini-FLOTAC; EPG, eggs per gram

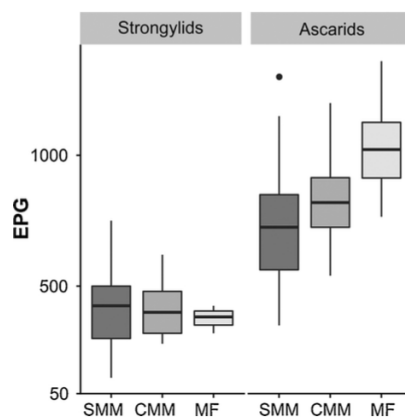
### Graf. 6

Spolehlivost kvantitativních metod (SMM, CMM, MF) u vzorků inokulovaných vajíčky strongyloidních hlístic (Strongylids) a *Parascaris* spp. (Ascarids) v šesti koncentracích (A–F)



### Graf. 7

Spolehlivost kvantitativních metod (SMM, CMM, MF) u vzorků s přirozenou infekcí strongyloidních hlístic (Strongylids) a *Parascaris* spp. (Ascarids)



### 5.3 Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic

Odběr vzorků pro zjištění intenzity infekce před plánovanou aplikací anthelmintika (FEC<sub>pre</sub>) byl proveden u 1875 koní v 71 chovech. Výsledná intenzita nálezu byla u 48,3 % koní nízká (0–195 EPG), 19,7 % střední (200–500 EPG) a 32,0 % vysoká (>505 EPG). Z celého souboru koní mělo 23,3 % výsledek bez nálezu (0 EPG).

Kritéria pro testování rezistence splnilo 48 chovů, zatímco 23 chovů bylo vyřazeno pro nízký počet koní s dostatečnou intenzitou nálezu. Samotného testování rezistence (FECRT) se zúčastnilo 969 koní – klisny, valaši a hřebci ve věku 2–28 let s různým zaměřením (chovní jedinci, sportovní, hobby i hiporehabilitační koně).

Počty zúčastněných stájí a koní, u kterých byl proveden FECRT, jsou společně s účinností anthelmintik uvedeny v Tab. 13. Duální rezistence, tedy rezistence na FBZ a současně suspektní rezistence na PYR, byla potvrzena v pěti chovech (21, 22, 37, 43 a 48).

**Tab. 13.**

Přehled výskytu rezistence na úrovni chovů a koní

	<i>n</i>		Rezistence		Suspektní		Bez rezistence	
	Chovy	Koně	Chovy	Koně	Chovy	Koně	Chovy	Koně
FBZ	18	128	18 (100 %)	122 (95,3 %)	–	1 (0,8 %)	–	5 (3,9 %)
PYR	22	167	–	10 (6,0 %)	7 (31,8 %)	3 (1,8 %)	15 (68,2 %)	154 (92,2 %)
IVM	45	500	–	–	–	–	45 (100 %)	500 (100 %)
MOX	23	174	–	–	–	–	23 (100 %)	174 (100 %)

FBZ, fenbendazol; IVM, ivermektin; MOX, moxidektin; PYR, pyrantel.

### **5.3.1 Anthelmintická rezistence v chovech**

#### **5.3.1.1 Fenbendazol**

Účinek léčby FBZ byl sledován v 18 chovech a u 128 koní. Rezistence byla prokázána ve všech testovaných chovech (FECR 19,1–77,8 %; LLCI 8,1–50,1) díky splnění obou hodnotících faktorů – průměrná hodnota FECR všech koní <90 % a LLCI <90. Podnulová účinnost léčby (FECR <0 %;  $FEC_{pre} < FEC_{post}$ ) byla na úrovni chovů zaznamenána ve 4 případech (22,2 %).

Zvolená statistická analýza však s podnulovou hodnotou nepracuje, a proto byly tyto výsledky převedeny na 0. V grafu (Graf 8A) u jednotlivých stájí lze důsledkem této úpravy vidět pouze kladné průměrné hodnoty FECR. Pokud by nedošlo k úpravě dat a byla by data zpracována včetně podnulových hodnot, hodnota FECR by významně poklesla jak na úrovni koní (–975,0–100 %), tak stájí (–161,6–57,8 %).

#### **5.3.1.2 Pyrantel embonát**

Účinek léčby PYR byl sledován ve 22 chovech a u 167 koní (FECR 88,1–99,1 %; LLCI 72,5–98,5). Dostatečná účinnost byla prokázána v 15 chovech. Podezření na rezistenci bylo zachyceno v 7 chovech. V případě 2 chovů došlo k poklesu hladiny průměrného FECR i LLCI pod stanovenou mez, u dalších 5 klesl LLCI <90. Podnulová účinnost léčby byla zaznamenána pouze u 1 koně (0,6 %). Výsledky testování rezistence na PYR jsou uvedeny v grafu (Graf 8B).

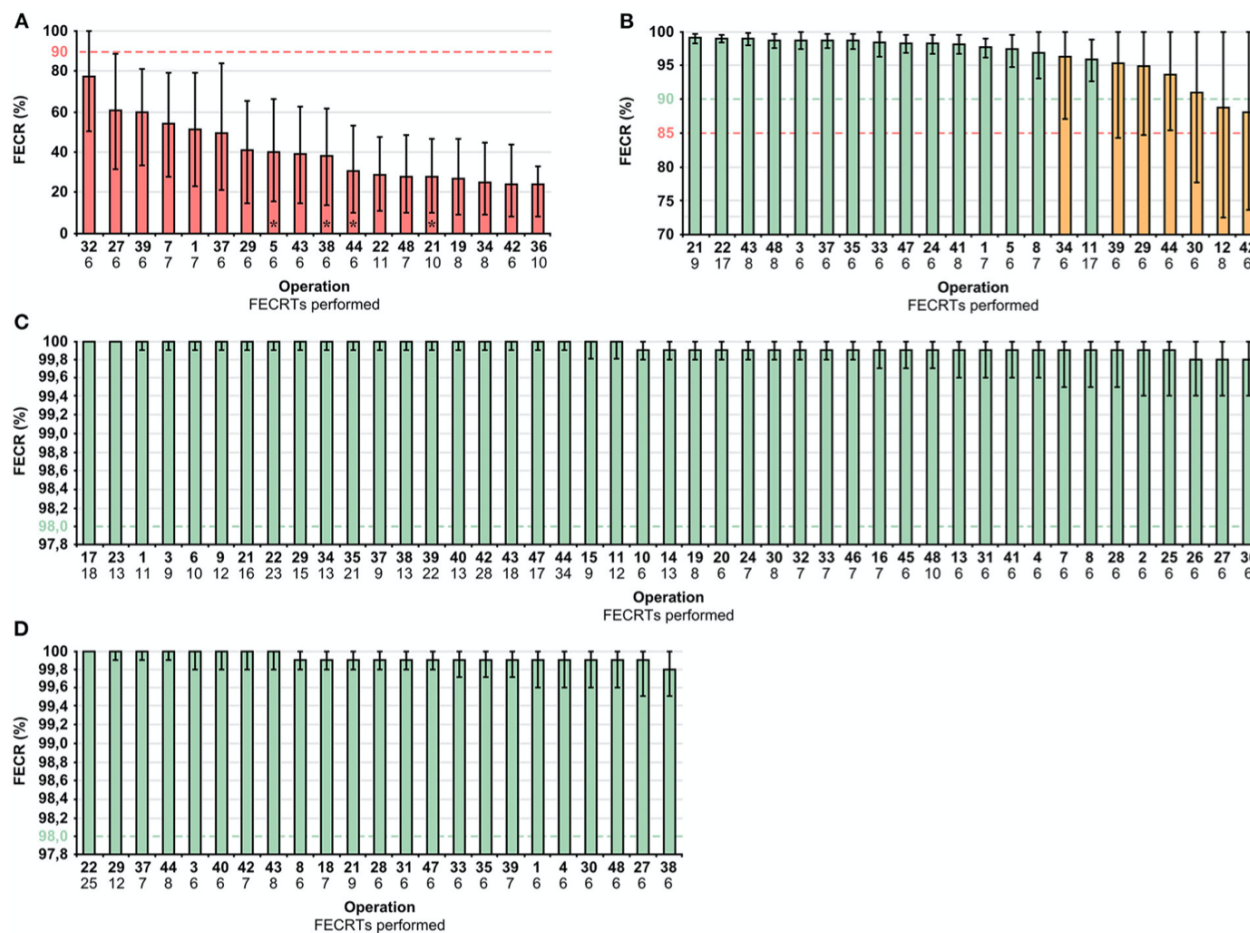
#### **5.3.1.3 Ivermektin**

Účinek léčby IVM byl sledován ve 45 chovech a u 500 koní (FECR 99,8–100 %; LLCI 99,4–100). IVM byl dostatečně účinný ve všech chovech (Graf 8C) a všichni testovaní koně měli při druhém odběru nulový nález (FECR 100 %).

#### **5.3.1.4 Moxidektin**

Účinek léčby MOX byl sledován ve 23 chovech a u 174 koní (FECR 99,8–100 %; LLCI 99,5–100) a ve všech chovech byl dostatečně účinný (Graf 8D). Všichni testovaní koně měli, stejně jako v případě IVM, při druhém odběru nulový nález (FECR 100 %).

**Graf 8.** Anthelmintická rezistence strongyloidních hlístic – fenbendazol (A), pyrantel (B), ivermektin (C) a moxidektin (D) (zelená, bez rezistence; oranžová, suspektní; červená, rezistence) v českých chovech. Přerušované čáry označují kritérium pro hodnocení průměrného FECR% (redukce počtu vajíček); chybové úsečky, 95% kredibilní interval; \*, podnulové hodnoty chovu (FECR < 0 %); horní řada číslic, pořadové číslo chovu; dolní řada číslic, počet testovaných koní.

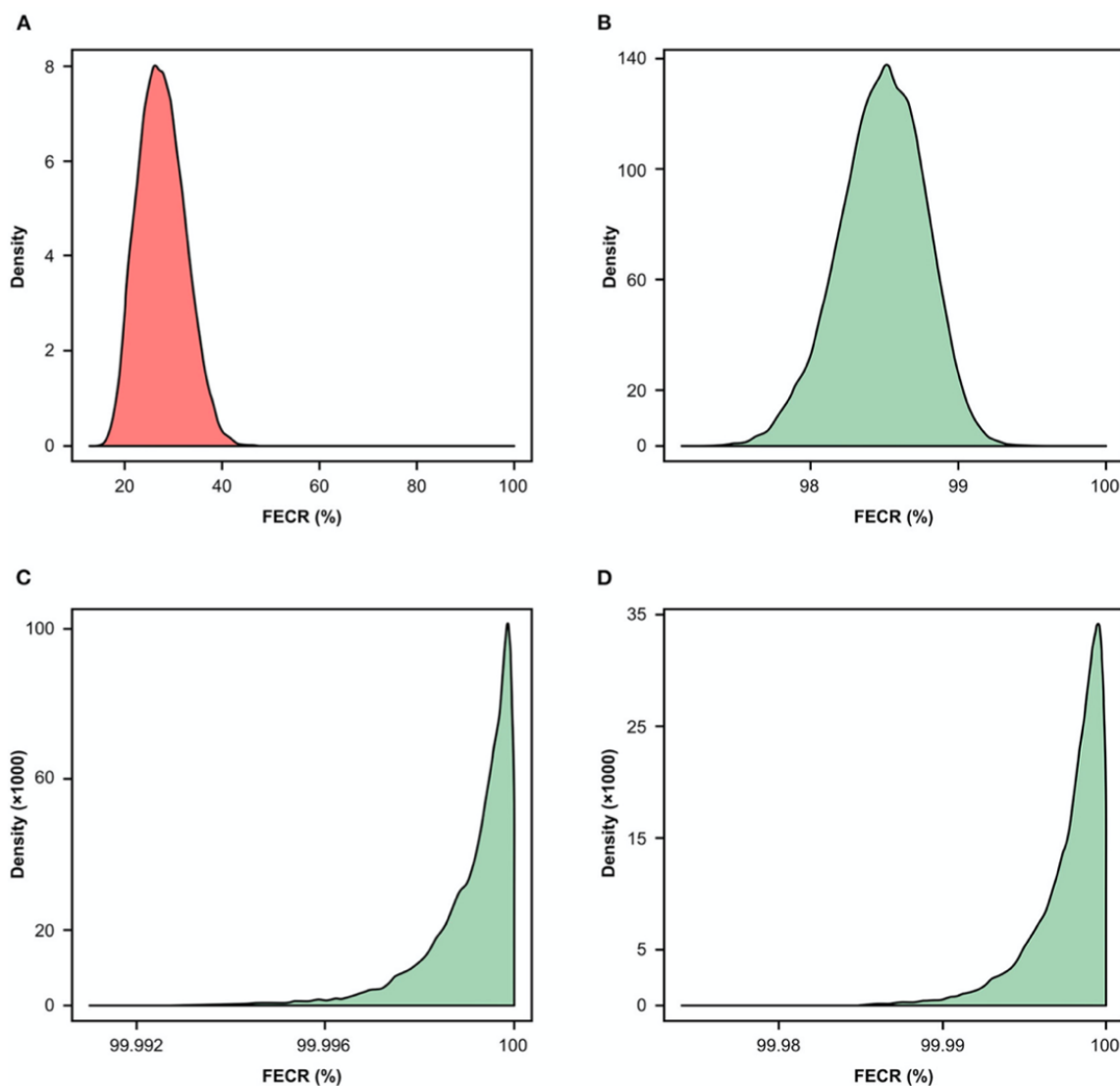


### 5.3.2 Celková účinnost anthelmintik

Graf 9 znázorňuje celkovou účinnost anthelmintik prostřednictvím výpočtu posteriorního rozdělení redukce počtu vajíček FECR (%).

V téměř třetině (29,1 %; CI 21,9–37,6) případů vedla aplikace fenbendazolu k podnulové účinnosti, zatímco výskyt u PYR byl minimální (0,6 %; CI 0,1–4,2) a v případě makrocyclických laktónů, IVM a MOX, nulový. Pravděpodobnost výskytu podnulové účinnosti byla u FBZ a PYR v porovnání s makrocyclickými laktóny statisticky významná ( $P < 0,0001$ ).

**Graf 9.** Posteriorní rozdělení redukce počtu vajíček (FECR%) pro: fenbendazol (A), pyrantel (B), ivermektin (C) a moxidektin (D)



## 6 Diskuze

### 6.1 Intenzita nálezu vajíček strongylidních hlístic a kontaminační potenciál

Skutečnost, že většina hostitelů vylučuje jen málo vajíček parazitů byla popsána nejen u koní (Crofton 1971; Sréter et al. 1994). Fenomén konzistentního vylučování vajíček u koní sledoval Nielsen et al. (2005). V případě koní s opakovaně nízkými nálezy vajíček existuje vysoká pravděpodobnost, že výsledek dalšího vyšetření bude obdobný. Například koně, jejichž poslední dvě vyšetření měly hodnotu 0 EPG, mají 82% pravděpodobnost, že výsledek dalšího odběru bude opět pod detekčním limitem metody a 91% pravděpodobnost nízkého nálezu (<200 EPG).

Detekční limit metody udává, pod jakou hranicí se výsledek jeví jako 0 EPG. Použitá metoda ovlivňuje podíl výsledků s nulovým nálezem. V naší studii distribuce hlístic mezi hostiteli v českých chovech koní třetina vyšetřených vzorků (31 %) měla výsledek pod detekčním limitem použité metody (<50 EPG). Schneider et al. (2014) zaznamenali v německých chovech pod detekčním limitem jimi použité metody (<20 EPG) 44,2 a 59,8 % vzorků pocházejících z chovů se strategickou a selektivní terapií. Při rozdělení výsledků do kategorií s nízkou, střední a vysokou intenzitou nálezu se výsledky mezi chovy aplikující strategický a selektivní anthelmintický plán neliší. Podíl výsledků s nízkou intenzitou nálezu (<200 EPG) je však v německé studii mnohem vyšší (78 %) než u nás (54 %).

Pro stanovení kontaminačního potenciálu je nutné sledovat intenzitu nálezu u téhož koně v delším časovém horizontu a více opakováních. Časová náročnost může být důvodem, proč se studie zabývající distribucí hlístic uvnitř stáda zaměřují hlavně na jednorázové odběry a dlouhodobě koně nesledují. Díky fenoménu konzistentního vylučování vajíček je však možné kontaminační potenciál koně odvodit. Průměrný rozdíl mezi procentuálním zastoupením mezi kategoriemi intenzity nálezu vajíček a kontaminačním potenciálem je v naší studii pouze 4,9 % (2,4–7,3 %).

Většina koní produkuje jen malé množství vajíček strongylidních hlístic a jejich vliv na kontaminaci prostředí je zanedbatelný. Cílem efektivní strategie potlačování helmintóz je včas odhalit jedince, kteří trvale vylučují velká množství vajíček a velkou měrou přispívají ke zvyšování infekčnosti pastvin.



## 6.2 Spolehlivost kvantitativních diagnostických metod

Spolehlivost metod jsme hodnotili na vzorcích s přirozenou infekcí i u vzorků inokulovaných. Oba experimentální modely měly, co se týče preciznosti metody identické výsledky, což se shoduje s výsledky ostatních autorů. Naše studie ale jako vůbec první hodnotila vzorky s obsahem nejen vajíček strongylidních hlístic ale i škrkavek a naše výsledky potvrdily, že SMM byla nejpreciznější metodou pro kvantifikaci vajíček strongylidních hlístic, následovaná CMM a MF. MF naopak exceloval v kvantifikaci vajíček škrkavek, následovaný CMM s SMM měl výsledky nejméně přesné. Výsledky naznačují, že některé metody mohou být vhodnější pro kvantifikaci vajíček strongylidních hlístic a jiné pro kvantifikaci vajíček škrkavek.

### 6.2.1 Časová náročnost metod

Provedení nejpreciznější metody vyžadovalo nejvíce času. Zpracování vzorku pomocí MF zabralo více jak dvojnásobek času v porovnání se SMM. Tyto výsledky se shodují se zjištěním ostatních autorů (Noel et al., 2017). Zvýšený požadavek na čas může být u vysoce precizních metod způsoben nejen delší doporučenou dobou pasivní flotace z důvodu vyššího objemu komůrek MF, ale také koinfekcí hlístic vyžadujících dvojí kvantifikaci a nižším multiplikačním faktorem metody ( $MF \times 5$ ,  $CMM \times 20$ ,  $SMM \times 50$ ), což vyžaduje spočítání poměrově většího počtu vajíček. U MF vidí laboratorní technik v odečítacím poli sklíčka prakticky každé páté vajíčko na 1 g výkalu, zatímco u CMM každé dvacáté a v případě SMM dokonce každé padesáté. Multiplikační faktor a s tím i spojenou citlivost a preciznost kvantifikační metody lze odvodit z výsledku vyšetření. Výsledné číslo je vždy násobkem multiplikačního faktoru použité metody. Z toho plyne, že MF je desetinásobně citlivější než SMM a hodnoty pod detekčním limitem metody jsou  $<5$  pro MF a  $<50$  pro SMM. S ohledem na biologii strongylidních hlístic a běžné užívání kvantitativních metod v rámci rutinního monitoringu intenzity nálezu koní není nižší citlivost metody zásadní problém. Pro ověření účinnosti terapie a potažmo stanovení anthelmintické rezistence prostřednictvím FECRT volíme však metody s vyšší citlivostí a precizností, aby bylo možné testovat i koně s nižší intenzitou nálezu. Pro přesnost stanovení FECR je vhodné, aby vyšetření před i po aplikaci anthelmintika bylo provedeno stejnou metodou. Vysoká variabilita výsledků u méně precizních metod může mít vliv na vyhodnocení úrovně anthelmintické rezistence (Nielsen et al. 2022).

## 6.2.2 Spolehlivost metod

Mezi faktory ovlivňující výsledky testování spolehlivosti metod patří lidský faktor, tedy zkušenost laboratorního technika, charakter vzorku (tmavé vzorky pastevních koní jsou obtížněji odečitatelné), zvolená metoda analýzy dat, laboratorní vybavení a různé intenzity počtů vajíček v použitých vzorcích. Vliv mají také dílčí postupy přípravy vzorku před naplněním fekálního filtrátu do sklíčka, například způsob homogenizace vzorku (Went et al., 2018), flotační roztok a jeho ředící poměr se vzorkem (Cringoli et al., 2004) a použití centrifugy (Zajac et al., 2002).

### 6.2.2.1 Preciznost

Prvním sledovaným aspektem spolehlivosti metod je preciznost – míra variability výsledků při jejich opakování. Předchozí studie naznačovaly, že MF v porovnání s McMaster metodami vyniká vyšší precizností u vzorků s přirozenou infekcí a/nebo inokulovaných vzorků vajíčky strongylidních hlístic (de Castro et al., 2017; Noel et al., 2017; Scare et al., 2017; Bosco et al., 2018; Paras et al., 2018). McMasterovu metodu lze použít v různých modifikacích, které vznikly s cílem ovlivnit výsledný multiplikační faktor. Některé studie sledovaly McMasterovu metodu s multiplikačním faktorem  $\times 25$  (de Castro et al., 2017), další  $\times 50$  (Noel et al., 2017; Bosco et al., 2018) nebo  $66.67\times$  (Scare et al., 2017). Z důvodu vysoké variability použitých modifikací McMasterovy metody je prakticky nemožné porovnat výsledky jednotlivých studií. V naší studii se MF vyznačoval vyšší precizností než SMM a CMM bez ohledu na typ vajíček.

### 6.2.2.2 Přesnost

Druhým, neméně významným, aspektem spolehlivosti metody je přesnost, tedy odchylka výsledku od reálného počtu vajíček. Faktory zmíněné v předchozím odstavci mohou být důvodem, proč autoři publikují u MM (McMaster) metody rozdílné výsledky přesností – vysokou (Bosco et al., 2018), střední (Paras et al., 2018) a nízkou (Noel et al., 2017; Scare et al., 2017). Ačkoliv byl MF ve všech diskutovaných studiích použit s jednotným postupem a stejným multiplikačním faktorem (Barda et al., 2013; Godber et al., 2015; de Castro et al., 2017; Noel et al., 2017; Scare et al., 2017; Bosco et al., 2018; Paras et al., 2018), výsledky přesnosti jsou patrně ovlivněny vstupním koprologickým materiálem, tedy různou intenzitou počtu vajíček ve sledovaných vzorcích. Přesnost metody nelze u vzorků s přirozenou infekcí hodnotit, protože nám není znám skutečný počet vajíček. Někteří autoři popisují jako spolehlivější metodu MF (Noel et al., 2017; Scare et al., 2017), zatímco jiní autoři došli k opačným výsledkům (de Castro et al., 2017; Bosco et al., 2018).

### 6.3 Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic

Počet koní v České republice stále stoupá a v roce 2021 poprvé překročil hranici 100 000 registrovaných kusů. Pravidelná anthelmintická terapie patří mezi běžné zásahy v rámci veterinárního managementu chovů, a proto je zásadní znát aktuální stav anthelmintické rezistence strongylidních hlístic na našem území. Veterinární léčivé přípravky s anthelmintickým účinkem určené pro koně jsou vydávány výhradně z rukou ošetřujícího veterinárního lékaře nebo pouze na předpis.

V ČR při aplikaci anthelmintik převládá strategický přístup, kdy je všem koním v chovu aplikováno anthelmintikum v pevně stanovených intervalech, obvykle 2–4× ročně. Ověření účinnosti léčby pro odhalení potenciální anthelmintické rezistence není běžnou praxí. Menší část chovů aplikuje selektivní anthelmintickou terapii v různých modifikacích – výhradní, kombinovanou se strategickou aplikací anthelmintik, s různou četností koprologických vyšetření a s různě nastavenou hranicí pro aplikaci anthelmintik.

Studie zaměřená na anthelmintickou rezistenci, poskytuje první komplexní údaje o účinnosti všech anthelmintik používaných v českých chovech koní. Téměř polovina vyšetřených koní (48,3 %) disponovala nízkou intenzitou nálezů vajíček strongylidních hlístic, a přesto byla většině koní v rámci strategického anthelmintického programu léčba aplikována. Naopak u koní s vysokým kontaminačním potenciálem může být léčba 2× ročně s ohledem na kontaminaci prostředí nedostatečná.

Naše studie potvrdila plně rozvinutou rezistenci na FBZ a suspektní rezistenci na PYR. Účinnost léčby IVM a MOX je prozatím zachována plné míře. FBZ byl uveden na český trh v roce 1976 a IVM o deset let později. I když byla obě anthelmintika používána ve stejných podmínkách, FBZ v současné době účinnost prakticky postrádá a IVM zůstává plně účinný. Proto je nutné zvážit i další faktory pro vznik anthelmintické rezistence. Například léková forma přípravku a velikost jeho balení, které jsou na trhu dostupné, mohou nepřímo ovlivnit dávku léčiva, která je koni aplikována. Perorální prášek či granule (FBZ) vmíchané do koncentrovaného krmiva nemusí být zvířetem ochotně přijímány a tím může docházet k opakovanému poddávkování léčiva (Smith et al. 1999). Dávka v aplikátoru jedné perorální pasty, byla nedostatečná pro většinu teplokrevných koní (např. 450 kg živ. hm. v případě mebendazolu), a to mohlo k poddávkování léčiva z ekonomických či jiných důvodů vést také.

Nakonec i různé přípravky na trhu ze skupiny benzimidazolů (FBZ a mebendazol) mohly zvýšit užívání jedné třídy s falešným dojmem střídání anthelmintik s různým mechanismem účinku (Coles 1977).

### 6.3.1 Fenbendazol

Potvrzení rezistence strongylidních hlístic na fenbendazol ve všech testovaných chovech není s ohledem na celosvětovou situaci ničím překvapivým (Nielsen 2022). Z porovnání našich dat a dat získaných dalšími autory je zřejmé, že hodnoty FECRT v průběhu let setrvale klesají a četnost výskytu podnulových výsledků u jednotlivých koní naopak roste Chroust 2000; Langrová et al. 2002; Bodeček & Vavrouchová 2013). Fenbendazol je však v českých chovech k potlačování strongylidních hlístic stále hojně využíván, zejména na jaře, a je v průběhu roku střídán s makrocyklickými laktóny.

V testovaných chovech byla aplikována anthelmintika v rámci běžného anthelmintického plánu. I přesto, že byl fenbendazol používán nejméně, 17 % testovaných chovů jej má ve svém anthelmintickém plánu zařazený.

Roční potřeba fenbendazolu v ČR byla v roce 2020, v porovnání s ostatními anthelmintiky, při přepočtu na balení přípravků ale druhá nejvyšší. Tato léčivá látka je ovšem aplikována nejen koním, ale i skotu a prasatům (SÚKBL 2021). A proto nelze reálnou spotřebu fenbendazolu u koní odhadnout. Fenbendazol nelze v důsledku plně rozvinuté anthelmintické rezistence strongylidních hlístic k jejich potlačování nadále doporučit, a to s ohledem na ekonomické ztráty chovatele při použití neúčinného anthelmintika a případné dopady na zdravotní stav koní.

Fenbendazol potenciál k využití stále má. A to v potlačování ostatních druhů hlístic (např. *Parascaris* spp., *Strongyloides westeri*, *Oxyuris equi*) u kterých předpokládáme dostatečnou účinnost. Zjištění stavu rezistence, zejména škrkavek, by mělo být předmětem dalšího výzkumu.

### 6.3.2 Pyrantel

Rezistence na pyrantel je celosvětově druhou nejrozšířenější rezistencí u strongylidních hlístic. Při ověření účinku proběhlé léčby bylo zjištěno, že koně nedosahují vždy 100% redukce počtu vajíček strongylidních hlístic a v případě 8 % koní byl pokles nižší než 90 %. Na úrovni chovů žádná průměrná hodnota FECR neklesla pod hranici jasně definující rezistenci. Téměř v třetině chovů došlo k poklesu LLCI pod hranici 90 %, což lze definovat jako suspektní rezistenci. Z celkového počtu četností aplikací anthelmintik byl pyrantel na třetím místě (20 %) a tomu odpovídá i roční spotřeba anthelmintika. S ohledem na výše zmíněné je vhodné v chovech, které pyrantel pravidelně aplikují, pravidelně ověřovat účinnost léčby a případnou rozvíjející se rezistenci včas zaznamenat. Stanovení ERP v těchto chovech může poskytnout důležitou informaci o jejím zkrácení, jako indikátoru počínající rezistence (Baranova et al. 2022). Rozvoj rezistence na PYR je jen otázkou času a společně s plně rozvinutou rezistencí na FBZ může tato potenciální duální rezistence vést k výhradnímu používání makrocyclických laktónů, což vznik rezistence hlístic vůči nim jen urychlí.

### 6.3.3 Makrocyclické laktóny

Makrocyclické laktóny byly v průběhu studie nejčastěji aplikovanými anthelmintiky (IVM 42 %; MOX 21 %). To potvrzuje samotná i roční spotřeba ivermektinu, která je šestinásobná v porovnání s moxidektinem a téměř pětinasobná v porovnání s pyranterem. I přes tuto skutečnost si makrocyclické laktóny zachovaly velmi vysokou účinnost a prozatím v ČR k rozvoji anthelmintické rezistence nedošlo. Import koní ze zahraničí a neúčinná karanténní opatření mohou šíření rezistentních strongylidních hlístic významně urychlit (Nielsen et al. 2020). Rezistence potvrzená v evropských zemích toto riziko jen potvrzuje (Milillo et al. 2009; Traversa et al. 2009; Näreaho et al. 2011; Relf et al. 2014). Rezistence na ML nebyla v průběhu naší studie v ČR zaznamenána a stejných výsledků dosáhli v minulých letech i ostatní autoři (Chroust 2000; Langrová et al. 2002; Bodeček & Vavrouchová 2013). Důvodem, proč k rozvoji rezistence zatím nedošlo, může být nižší roční četnost aplikace anthelmintik v porovnání s ostatními státy, protože nadužívání anthelmintik a ponechání minimálního refugia patří mezi známé faktory pro vznik rezistence (Matthews 2014).

## 7 Závěry a doporučení

Výsledky sledování výskytu strongylidních hlístic v českých chovech koní potvrzují, že jejich distribuce není mezi hostiteli uniformní. V chovech se vyskytuje velký podíl zvířat s velmi nízkou intenzitou infekce.

Koně si kontaminační potenciál v průběhu života udržují a této vlastnosti lze využít při aplikaci selektivní anthelmintické terapie. Včasná terapie koní s vysokým kontaminačním potenciálem výrazně sníží úroveň kontaminace prostředí vajíčky strongylidních hlístic.

Selektivní terapie by však měla probíhat podle současných doporučení, protože může zvyšovat riziko patentní infekce vysoce patogenní hlísticí *Strongylus vulgaris*.

Kvantitativní diagnostické metody se liší svou spolehlivostí. Mini-FLOTAC se vyznačuje nejvyšší precizností při kvantifikaci vajíček strongylidních hlístic i škrkavek, a proto ho lze doporučit jako metodu vhodnou k detekci anthelmintické rezistence (FECRT)

Preciznost výsledku je přímo úměrná času laboratorního technika. Preciznější metody vyžadují více času na zpracování vzorku i odečtení sklíčka.

Spolehlivost metod byla dosud sledována pouze u infekcí strongylidními hlísticemi. Díky testování metod i u vzorků s obsahem vajíček škrkavek jsme zjistili, že druh vajíčka má významný vliv na přesnost výsledku vyšetření. Nejpresnější metoda pro kvantifikaci vajíček strongylidních hlístic může být současně tou nejméně přesnou pro kvantifikaci vajíček škrkavek u inokulovaných vzorků.

Stanovili jsme aktuální status rezistence strongylidních hlístic pro všechna užívaná anthelmintika u koní v České republice. Fenbendazol už není při léčbě účinný a rezistence se v porovnání s předchozími studii plně rozvinula. V případě pyrantelu jsme ve třetině chovů zaznamenali suspektní rezistenci, a proto by měl být používán s vědomím možného vzniku duální rezistence. Makrocyclické laktóny si naopak zachovaly plnou účinnost, kterou je třeba udržet co nejdéle.

Zásadní význam má identifikace rizikových faktorů, které urychlují rozvoj anthelmintické rezistence. Zaměření dalšího výzkumu tímto směrem by mohlo vést k oddálení vzniku rezistence u makrocyclických laktónů.

## 8 Seznam tabulek, obrázků a grafů

### Tabulky

---

<b>Tab. 1.</b>	Systematické řazení druhů strongylidních hlístic parazitujících u koní
<b>Tab. 2.</b>	Terminologie
<b>Tab. 3.</b>	Anthelmintika registrovaná v ČR (k 1. 3. 2023, zdroj ÚSKVBL 2023)
<b>Tab. 4.</b>	Protokoly testovaných kvantitativních metod
<b>Tab. 5.</b>	Kategorie intenzit nálezu a jejich četností v souboru 951 vzorků
<b>Tab. 6.</b>	Kategorie kontaminačního potenciálu a souboru 252 koní a jejich rozdělení do kategorií podle četnosti
<b>Tab. 7.</b>	Porovnání významnosti rozdílů tří kvantitativních koprologických metod u inokulovaných vzorků (IO) vajíček strongylidních hlístic (S) a <i>Parascaris</i> spp. (P) v šesti koncentracích a u vzorku s přirozenou infekcí (PI)
<b>Tab. 8.</b>	Preciznost kvantitativních metod u vzorků inokulovaných vajíčky strongylidních hlístic v šesti koncentracích (EPG)
<b>Tab. 9.</b>	Preciznost kvantitativních metod u vzorků inokulovaných vajíčky <i>Parascaris</i> spp. v šesti koncentracích (EPG)
<b>Tab. 10.</b>	Preciznost kvantitativních metod u vzorků s přirozenou infekcí strongylidních hlístic a <i>Parascaris</i> spp.
<b>Tab. 11.</b>	Přesnost kvantitativních metod u vzorků inokulovaných vajíčky strongylidních hlístic v šesti koncentracích
<b>Tab. 12.</b>	Přesnost kvantitativních metod u vzorků inokulovaných vajíčky <i>Parascaris</i> spp. v šesti koncentracích
<b>Tab. 13.</b>	Přehled výskytu rezistence na úrovni chovů a koní

---

### Obrázky

---

<b>Obr. 1.</b>	Vajíčko <i>Triodontophorus</i> spp. (vlevo)
<b>Obr. 2.</b>	McMaster sklíčko
<b>Obr. 3.</b>	Mini-FLOTAC
<b>Obr. 4.</b>	Fenbendazol
<b>Obr. 5.</b>	Pyrantel
<b>Obr. 6.</b>	Ivermektin
<b>Obr. 7.</b>	Moxidectin

---

## Grafy

---

- Graf 1.** Vývojový diagram designu experimentu, počtu chovů a koní ( $FEC_{pre}$ , vyšetření před aplikací anthelmintika; EPG, eggs per gam, počet vajíček/1 g výkalu; FECRT, fecal egg count reduction test, test redukce počtu vajíček; FBZ, fenbendazol; PYR, pyrantel; IVM, ivermektin; MOX, moxidektin)
- Graf 2.** Kritéria pro stanovení účinnosti léčby (normální, zelená; suspektní, oranžová; snížená, červená) pro fenbendazol (FBZ), pyrantel embonát (PYR), ivermektin (IVM) a moxidektin (MOX) – redukce počtu vajíček (FECR, fecal egg count reduction) a dolní hranice 95% kredibilního intervalu (LLCI, Lower limit of credible interval).
- Graf 3.** Intenzita nálezu souboru 951 vyšetření prostřednictvím skládaného grafu
- Graf 4.** Kontaminační potenciál souboru 252 koní v prstencovém grafu
- Graf 5.** Časová náročnost na zpracování vzorku kvantitativními metodami (SMM, Zjednodušená McMasterova metoda; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda; MF, Mini-FLOTAC)
- Graf 6** Spolehlivost kvantitativních metod (SMM, CMM, MF) u vzorků inokulovaných vajíčky strongylidních hlístic (Strongylids) a *Parascaris* spp. (Ascarids) v šesti koncentracích (A–F)
- Graf. 7** Spolehlivost kvantitativních metod (SMM, CMM, MF) u vzorků s přirozenou infekcí strongylidních hlístic (Strongylids) a *Parascaris* spp. (Ascarids)
- Graf. 8** Anthelmintická rezistence strongylidních hlístic – fenbendazol (A), pyrantel (B), ivermektin (C) a moxidektin (D) (zelená, bez rezistence; oranžová, suspektní; červená, rezistence) v českých chovech. Přerušované čáry označují kritérium pro hodnocení průměrného FECR% (redukce počtu vajíček); chybové úsečky, 95% kredibilní interval; \*, podnulové hodnoty chovu (FECR <0 %); horní řada číslic, pořadové číslo chovu; dolní řada číslic, počet testovaných koní
- Graf 9.** Posteriorní rozdělení redukce počtu vajíček (FECR%) pro: fenbendazol (A), pyrantel (B), ivermektin (C) a moxidektin (D)
-



## 9 Seznam použitých zkratek a symbolů

---

<b>A</b>	Ascaridia	škrkavky
<b>CMM</b>	Concentration McMaster method	Koncentrovaná McMasterova metoda
<b>EHT</b>	Egg hatch test	Test líhnivosti vajíček
<b>EPG</b>	Eggs per gram	počet vajíček/1 g výkalu
<b>ERP</b>	Egg reappearance period	doba znovuobjevení vajíček po terapii
<b>FBZ</b>	fenbendazole	fenbendazol
<b>FEC</b>	Fecal egg count	kvantitativní vyšetření
<b>FEC<sub>post</sub></b>		kvantitativní vyšetření po aplikaci anthelmintika
<b>FEC<sub>pre</sub></b>		kvantitativní vyšetření před aplikací anthelmintika
<b>FECR</b>	Fecal egg count reduction	redukce počtu vajíček
<b>FECRT</b>	Fecal egg count reduction test	test redukce počtu vajíček
<b>IO</b>		inokulované vzorky
<b>IVM</b>	ivermectin	ivermektin
<b>L<sub>1</sub></b>		larva prvního stupně
<b>L<sub>2</sub></b>		larva druhého stupně
<b>L<sub>3</sub></b>		larva třetího stupně
<b>LDT</b>	Larval development test	Test vývoje larev
<b>MM</b>	McMaster	McMaster
<b>MF</b>	Mini-FLOTAC	Mini-FLOTAC
<b>ML</b>	macrocyclic lactones	makrocyclické laktóny
<b>MM</b>	McMaster method	McMasterova metoda
<b>MOX</b>	moxidectin	moxidektin
<b>P</b>	<i>Parascaris</i> spp.	škrkavky
<b>PI</b>		přirozená infekce
<b>PYR</b>	pyrantel	pyrantel
<b>S</b>	strongyles/strongylids	strongylidi/strongylidní hlístice
<b>SAT</b>	selective anthelmintic treatment	selektivní anthelmintická terapie
<b>SMM</b>	Simple McMaster method	Zjednodušená McMasterova metoda

---

## 10 Seznam literatury

- AAEP. AAEP Internal Parasite Control Guidelines. (2019). Available online at: [https://aaep.org/sites/default/files/2021-03/Internal\\_Parasite\\_Guidelines.pdf](https://aaep.org/sites/default/files/2021-03/Internal_Parasite_Guidelines.pdf) (accessed October 20, 2021).
- Anderson RM, May RM (1978). Regulation and stability of host-parasite population interaction. I. Regulatory processes. *J Anim Ecol* 47:219–247
- Anderson RC (2000). *Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission*. Cabi.
- Baranova MV, Panova OA, Polukhina DN, Panova DS. (2022). Reduction of the nematode egg reappearance period in horses after anthelmintic therapy. *Veterinary World*, 15(6), 1530.
- Barda, B. D., Rinaldi, L., Ianniello, D., Zepherine, H., Salvo, F., Sadutshang, T., Albonico, M. (2013). Mini-FLOTAC, an innovative direct diagnostic technique for intestinal parasitic infections: experience from the field. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(8), e2344.
- Becher, A. M., Mahling, M., Nielsen, M. K., & Pfister, K. (2010). Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): An investigation into strongyle egg shedding consistency. *Veterinary Parasitology*, 171(1-2), 116-122.
- Bellaw, J. L., Krebs, K., Reinemeyer, C. R., Norris, J. K., Scare, J. A., Pagano, S., & Nielsen, M. K. (2018). Anthelmintic therapy of equine cyathostomin nematodes—larvicidal efficacy, egg reappearance period, and drug resistance. *International journal for parasitology*, 48(2), 97-105.
- Bevilaqua, C. M. L., Rodrigues, M., de, L., and Concordet, D. (1993). Identification of infective larvae of some common nematode strongylids of horses. *Rev. Med. Vet.* 144, 989–995.
- Blaxter, Mark. Imagining Sisyphus happy: DNA barcoding and the unnamed majority. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2016, 371.1702: 20150329.
- Bodeček, S., Svetlikova, J., Hargitaiova, K., Kecerova, Z., & Mrackova, M. (2018). Monitoring the avermectin and pyrantel resistance status of nematode parasites of horses in the Czech Republic. *Veterinární medicína*, 63(7), 299-305.
- Bodeček Š, Vavrouchová E. Monitoring of anthelmintic resistance in small strongyles in the Czech Republic in the years 2006–2009. *Acta Vet Brno.* (2013) 82:243–8. doi: 10.2754/avb201382030243

- Bosco, A., Maurelli, M. P., Ianniello, D., Morgoglione, M. E., Amadesi, A., Coles, G. C., Rinaldi, L. (2018). The recovery of added nematode eggs from horse and sheep faeces by three methods. *BMC veterinary research*, 14, 1-6.
- Bredtmann CM, Krücken J, Murugaiyan J, Kuzmina T and von Samson-Himmelstjerna G (2017) Nematode Species Identification—Current Status, Challenges and Future Perspectives for Cyathostomins. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 7:283. doi: 10.3389/fcimb.2017.0028.
- Bucknell, D. G., Gasser, R. B., & Beveridge, I. (1995). The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Australia. *International Journal for Parasitology*, 25(6), 711-724.
- Canever, R. J., Braga, P. R., Boeckh, A., Grycajuck, M., Bier, D., Molento, M. B. (2013). Lack of Cyathostomin sp. reduction after anthelmintic treatment in horses in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 194(1), 35-39.
- Cernea, M., et al. Atlas of diagnosis of equine strongylidosis. Atlas of diagnosis of equine strongylidosis., 2008.
- Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F. H. M., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, M. A., & Waller, P. J. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary parasitology*, 44(1-2), 35-44.
- Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., ... & Vercruyse, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary parasitology*, 136(3-4), 167-185.
- Coles GC. The biochemical mode of action of some modern anthelmintics. *Pestic Sci.* (1977) 8:536–43. doi: 10.1002/ps.2780080518
- Collobert-Laugier, C., Hoste, H., Sevin, C., & Dorchies, P. (2002). Prevalence, abundance and site distribution of equine small strongyles in Normandy, France. *Veterinary Parasitology*, 110(1-2), 77-83.
- Crawley, J. A., Chapman, S. N., Lummaa, V., & Lynsdale, C. L. (2016). Testing storage methods of faecal samples for subsequent measurement of helminth egg numbers in the domestic horse. *Veterinary Parasitology*, 221, 130-133.
- Cringoli G, Maurelli MP, Levecke B, Bosco A, Vercruyse J, Utzinger J, Rinaldi L. 2017. The Mini-FLOTAC technique for the diagnosis of helminth and protozoan infections in humans and animals. *Nature Protocols* 12:1723–32.

- Cringoli G, Rinaldi L, Maurelli MP, Utzinger J. 2010. FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nature Protocols* 5:503.
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., & Scala, A. (2004). The influence of flotation solution, sample dilution and the choice of McMaster slide area (volume) on the reliability of the McMaster technique in estimating the faecal egg counts of gastrointestinal strongyles and *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Veterinary parasitology*, 123(1-2), 121-131.
- Crofton HD (1971) Quantitative approach to parasitism. *Parasitol* 62:179–193
- de Castro LLD, Abrahão CL, Buzatti A, Molento MB, Bastianetto E, Rodrigues DS, Lopes LB, Silva MX, de Freitas MG, Conde MH, Borges FA. 2017. Comparison of McMaster and Mini-FLOTAC fecal egg counting techniques in cattle and horses. *Veterinary Parasitology* 10:132–5.
- Demeulenaere D, Vercruyse J, Dorny P, Claerebout E. 1997. Comparative studies of ivermectin and moxidectin in the control of naturally acquired cyathostome infections in horses. *Veterinary Record* 141:383–6.
- Denwood MJ, Love S, Innocent GT, Matthews L, McKendrick IJ, Hillary N, Smith A, Reid SW (2012) Quantifying the sources of variability in equine faecal egg counts: implications for improving the utility of the method. *Vet Parasitol* 188:120–126
- Derycke, Sofie, et al. Investigating the ecology and evolution of cryptic marine nematode species through quantitative real-time PCR of the ribosomal ITS region. *Molecular Ecology Resources*, 2012, 12.4: 607-619.
- DiPietro JA, Hutchens DE, Lock TF, Walker K, Paul AJ, Shipley C, Rulli D. 1997. Clinical trial of moxidectin oral gel in horses. *Veterinary Parasitology* 72:167–77.
- Drudge JH, Lyons ET, Tolliver SC, Kubis JE. 1981. Clinical-trials of oxibendazole for control of equine internal parasites. *Modern Veterinary Practice* 62:679–82.
- Duncan JL (1974) Field studies on the epidemiology of mixed strongyle infection in the horse. *Vet Rec* 94:337–345
- Duncan, J. L., Abbott, E. M., Arundel, J. H., Eysker, M., Klei, T. R., Krecek, R. C., ... & Slocombe, J. O. D. (2002). World association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP): of guidelines for evaluating the efficacy of equine anthelmintics. *Veterinary parasitology*, 103(1-2), 1-18.

- Durette-Desset, M.-C., Beveridge, I., & Spratt, D. M. (1994). The origins and evolutionary expansion of the Strongylida (Nematoda). *International Journal for Parasitology*, 24(8), 1139–1165. doi:10.1016/0020-7519(94)90188-0
- Edward CL, Hoffmann AA. 2008. Ivermectin resistance in a horse in Australia. *Veterinary Records* 162:56–8. efficacy of ruminant anthelmintics. *Veterinary Parasitology* 49:123–58.
- Egwand TG, Slocombe JO. 1982. Evaluation of the Cornell-Wisconsin centrifugal flotation technique for recovering trichostrongylid eggs from bovine feces. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 46:133–7.
- ESCCAP. A guide to the treatment and control of equine gastrointestinal parasite infections. 2019.
- Flores, A.G., Osmari, V., Ramos, F., Marques, C.B., Ramos, D.J., Botton, A.S., Vogel, F.S. F., Sangioni, L.A., 2020. Multiple resistance in equine cyathostomins: a case study from military establishments in Rio Grande do Sul, Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 29, e003820.
- Gao, Yuan, et al. Mitochondrial DNA evidence supports the hypothesis that *Triodontophorus* species belong to Cyathostominae. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1444.
- Gawor J, Kornas S, Kharchenko V, Nowosad B, Skalska M. Intestinal parasites and health problems in horses in different breeding systems. *Med Weter.* 2006;3:331–4.
- Gawor JJ. The prevalence and abundance of internal parasites in working horses autopsied in Poland. *Vet Parasitol.* 1995;58:99–108.
- Ghazali KH, Alsameraai RSH, Mohamed Z. 2013. Automated system for diagnosis intestinal parasites by computerized image analysis. *Modern Applied Science* 7:98.
- Gibson, T. E. (1953). The effect of repeated anthelmintic treatment with phenothiazine on the faecal egg counts of housed horses, with some observations on the life cycle of *Trichonema* spp. in the horse. *Journal of Helminthology*, 27(1-2), 29-40.
- Godber OF, Phythian CJ, Bosco A, Ianniello D, Coles G, Rinaldi L, Cringoli G. 2015. A comparison of the FECPAK and Mini-FLOTAC faecal egg counting techniques. *Veterinary Parasitology* 207:342–5.
- Gokbulut C, Nolan AM, McKellar QA. 2001. Pharmacokinetic disposition and faecal excretion of pyrantel embonate following oral administration in horses. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics* 24:77–9.
- Gordon HM, Whitlock HV. 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Council Scientific & Industrial Research* 12:50–2.

- Chapman MR, French DD, Klei TR (2003) Prevalence of strongyle nematodes in naturally infected ponies of different ages and during different seasons of the year in Louisiana. *J Parasitol* 89:309–314
- Chapman MR, French DD, Monahan CM, Klei TR. 1996. Identification and characterization of a pyrantel pamoate resistant cyathostome population. *Veterinary Parasitology* 66:205–12.
- Chapman MR, Kearney MT, Klei TR. Equine cyathostomin populations: accuracy of species composition estimations. *Vet Parasitol.* 2003;116:15–21.
- Chroust K. Occurrence of anthelmintic resistance in strongylid nematodes of sheep and horses in the Czech Republic. *Vet Med.* (2000) 45:233–9.
- Ihler CF. 2010. Anthelmintic resistance. An overview of the situation in the Nordic countries. *Acta Veterinaria Scandinavica* 52:24. isolation protocol. *Nature Protocols* 2:486.
- Jacobs DE, Hutchinson MJ, Parker L, Gibbons LM. 1995. Equine cyathostome infection: suppression of faecal egg output with moxidectin. *Veterinary Record* 137:545.
- Kaplan RM. 2002. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. *Veterinary Research.* 33:491–507.
- Kaplan, R. M., & Nielsen, M. K. (2010). An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60s anymore. *Equine Veterinary Education*, 22(6), 306-316.
- Kornaś, S., Skalska, M., Nowosad, B., Gawor, J., Kharchenko, V., & Cabaret, J. (2009). Occurrence of strongyles (Strongylidae) in horses from small farms on the basis of necropsy. *Pol. J. Vet. Sci*, 12, 225-230.
- Krecek RC, Guthrie AJ, Van Nieuwenhuizen LC, Booth LM: A comparison between the effects of conventional and selective antiparasitic treatments on nematode parasites of horses from two management schemes. *JS Afr vet Assoc* 1994, 1994:97–100.
- Krecek RC, Reinecke RK, Horak IG. Internal parasites of horses on mixed grassveld and bushveld in Transvaal, Republic of South Africa. *Vet Parasitol.* 1989;34:135–43.
- Kumar, S., Garg, R., Kumar, S., Banerjee, P.S., Ram, H., Prasad, A., 2016. Benzimidazole resistance in equine cyathostomins in India. *Vet. Parasitol.* 218, 93–97.
- Kuzmina, T. A., et al. Fecundity of various species of strongylids (Nematoda: Strongylidae) – parasites of domestic horses. *Parasitology research*, 2012, 111: 2265-2271.
- Kuzmina, T.A., Zvegintsova, N.S., Yasynetska, N.I., Kharchenko, V.A., 2020. Anthelmintic resistance in strongylids (nematoda: strongylidae) parasitizing wild and domestic equids in the askania nova biosphere reserve, Ukraine. *Ann. Parasitol.* 66, 49–60.
- Lacey E. 1990. Mode of action of benzimidazoles. *Parasitology Today* 6:112–15.

- Lambhead, P. J. D. Recent developments in marine benthic biodiversity research. *Oceanis*, 1993, 19: 5-24.
- Langrová I, Borovský M, Jankovská I, Navrátil J, Slavík V. The benzimidazole resistance of cyathostomes on five horse farms in the Czech Republic. *Helminthologia*. (2002) 39:211–6.
- Lanusse CE, Prichard RK. 1993. Relationship between pharmacological properties and clinical Levecke B, Kaplan RM, Thamsborg SM, Torgerson PR, Vercruysse J, Dobson RJ. How to improve the standardization and the diagnostic performance of the fecal egg count reduction test? *Vet Parasitol*. (2018) 253:71–8. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.02.004
- Lichtenfels JR, Kharchenko VA, Dvojnok GM. Illustrated identification keys to strongylid parasites (strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). *Vet Parasitol*. 2008;156:4–161.
- Lichtenfels, J. ., Kharchenko, V. ., Krecek, R. ., & Gibbons, L. . (1998). An annotated checklist by genus and species of 93 species level names for 51 recognized species of small strongyles (Nematoda: Strongyloidea: Cyathostominae) of horses, asses and zebras of the world. *Veterinary Parasitology*, 79(1), 65–79. doi:10.1016/s0304-4017(98)00149-6
- Lichtenfels, J. R. (1975). Helminths of Domestic Equids. Illustrated keys to genera and species with emphasis on North American forms. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 42, 1–83.
- Lichtenfels, J. Ralph; Gibbons, L. M.; Krecek, R. C. Recommended terminology and advances in the systematics of the Cyathostominae (Nematoda: Strongyloidea) of horses. *Veterinary Parasitology*, 2002, 107.4: 337-342.
- Lind, E. O., Höglund, J., Ljungström, B. L., Nilsson, O., & Ugglå, A. (1999). A field survey on the distribution of strongyle infections of horses in Sweden and factors affecting faecal egg counts. *Equine Veterinary Journal*, 31(1), 68-72.
- Love S, Duncan J: Development of cyathostome infection of helminth naive foals. *Equine Vet J*. 1992, 93-98. Suppl 13
- Love S, Duncan JL. Could the worms have turned? *Equine Vet J*. 1991;23:152–4.
- Love, S.; Murphy, D.; Mellor, D. Pathogenicity of cyathostome infection. *Veterinary parasitology*, 1999, 85.2-3: 113-122.
- Lyons ET, Tolliver SC, Ionita M, Lewellen A, Collins SS. 2008. Field studies indicating reduced activity of ivermectin on small strongyles in horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitology Research* 103:209–15.
- Lyons, E. T.; Drudge, J. H.; Tolliver, Sharon C. Larval cyathostomiasis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 2000, 16.3: 501-513.

- Martin RJ, Robertson AP. 2007. Mode of action of levamisole and pyrantel, anthelmintic resistance, E153 and Q57. *Parasitology* 134:1093.
- Martin RJ. 1997. Modes of action of anthelmintic drugs. *The Veterinary Journal* 154:11–34.
- Matthee, S., Krecek, R.C., Gibbons, L.M., 2002. *Cylicocyclus asinus* n.sp. (Nematoda: Cyathostominae) from donkeys, *Equus asinus*, in South Africa. *Syst. Parasitol.* 51, 29–35.
- Matthews JB. Anthelmintic resistance in equine nematodes. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* (2014) 4:310–5. doi: 10.1016/j.ijpddr.2014.10.003
- Mes THM, Eysker M, Ploeger HW. 2007. A simple, robust and semi-automated parasite egg
- Milillo, P., Boeckh, A., Cobb, R., Otranto, D., Lia, R.P., Perrucci, S., di Regalbono, A.F., Beraldo, P., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Bartolini, R., Traversa, D., 2009. Faecal cyathostomin egg count distribution and efficacy of anthelmintics against cyathostomins in Italy: a matter of geography? *Parasites Vectors* 2 (Suppl. 2), S4.
- Monahan CM, Chapman MR, French DD, Taylor HW, Klei TR. 1995. Dose titration of moxidectin oral gel against gastrointestinal parasites of ponies. *Veterinary Parasitology* 59:241–8.
- Näreaho, A., Vainio, K., Oksanen, A., 2011. Impaired efficacy of ivermectin against *Parascaris equorum*, and both ivermectin and pyrantel against strongyle infections in trotter foals in Finland. *Vet. Parasitol.* 182, 372–377.
- Nielsen MK., et al. Risk factors associated with strongylid egg count prevalence and abundance in the United States equine population. *Veterinary parasitology*, 2018, 257: 58-68.
- Nielsen MK, Banahan M, Kaplan RM. Importation of macrocyclic lactone resistant cyathostomins on a US thoroughbred farm. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* (2020) 14:99–104. doi: 10.1016/j.ijpddr.2020.09.004
- Nielsen MK, Baptiste KE, Tolliver SC, Collins SS, Lyons ET (2010) Analysis of multiyear studies in horses in Kentucky to ascertain whether counts of eggs and larvae per gram of feces are reliable indicators of numbers of strongyles and ascarids present. *Vet Parasitol* 174:77–84
- Nielsen MK, Haaning N, Olsen SN (2006) Strongyle egg shedding consistency in horses on farms using selective therapy in Denmark. *Vet Parasitol* 135:333–335
- Nielsen MK, Pfister K, von Samson-Himmelstjerna G: Selective Therapy in equine parasite control - Application and limitations. *Vet Parasitol* 2014, 202:95–103.
- Nielsen MK. 2016. Evidence-based considerations for control of *Parascaris* spp. infections in horses. *Equine Veterinary Education* 28:224–31.



- Nielsen, MK. (2022). Anthelmintic resistance in equine nematodes: Current status and emerging trends. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*.
- Nielsen, M. K. (2022). Anthelmintic resistance in equine nematodes: Current status and emerging trends. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*.
- Nielsen, MK., & Lyons, E. T. (2017). Encysted cyathostomin larvae in foals—progression of stages and the effect of seasonality. *Veterinary parasitology*, 236, 108-112.
- Nielsen, MK., Vidyashankar, A. N., Andersen, U. V., DeLisi, K., Pilegaard, K., & Kaplan, R. M. (2010). Effects of fecal collection and storage factors on strongylid egg counts in horses. *Veterinary parasitology*, 167(1), 55-61.
- Nielsen, MK., Vidyashankar, A. N., Olsen, S. N., Monrad, J., & Thamsborg, S. M. (2012). *Strongylus vulgaris* associated with usage of selective therapy on Danish horse farms—Is it reemerging?. *Veterinary Parasitology*, 189(2-4), 260-266.
- Nielsen, M. K., von Samson-Himmelstjerna, G., Kuzmina, T. A., van Doorn, D. C., Meana, A., Rehbein, S., ... & Reinemeyer, C. R. (2022). World association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP): of guideline for evaluating the efficacy of equine anthelmintics. *Veterinary Parasitology*, 303, 109676.
- Noel ML, Scare JA, Bellaw JL, Nielsen MK. 2017. Accuracy and precision of Mini-FLOTAC and McMaster techniques for determining equine strongyle egg counts. *Journal of Equine Veterinary Science* 48:182–7.
- Norris, J. K., Slusarewicz, P., & Nielsen, M. K. (2019). Pixel by pixel: real-time observation and quantification of passive flotation speeds of three common equine endoparasite egg types. *International journal for parasitology*, 49(11), 885-892.
- Nováková, K., & Koudela, B. (2006). Výskyt rezistence na anthelmintika v chovech koní na Moravě.
- Paras KL, George MM, Vidyashankar AN, Kaplan RM. 2018. Comparison of fecal egg counting methods in four livestock species. *Veterinary Parasitology* 257:21–7.
- Peregrine, A. S., McEwen, B., Bienzle, D., Koch, T. G., & Weese, J. S. (2006). Larval cyathostominosis in horses in Ontario: an emerging disease?. *The Canadian Veterinary Journal*, 47(1), 80.
- Reid, S. W. J., et al. Epidemiological risk factors associated with a diagnosis of clinical cyathostomiasis in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 1995, 27.2: 127-130.
- Reinemeyer CR, Smith SA, Gabel AA, Herd RP. The prevalence and intensity of internal parasites of horses in the U.S.A. *Vet Parasitol.* 1984;15:75–83.

- Reinemeyer, C. R., & Herd, R. P. (1986). Comparison of two techniques for quantitation of encysted cyathostome larvae in the horse. *American Journal of Veterinary Research*, 47(3), 507-509.
- Reinemeyer, C. R., Prado, J. C., & Nielsen, M. K. (2015). Comparison of the larvicidal efficacies of moxidectin or a five-day regimen of fenbendazole in horses harboring cyathostomin populations resistant to the adulticidal dosage of fenbendazole. *Veterinary Parasitology*, 214(1-2), 100-107.
- Relf VE, Lester HE, Morgan ER, Hodgkinson JE, Matthews JB. 2014. Anthelmintic efficacy on UK Thoroughbred stud farms. *International Journal for Parasitology* 44:507–14.
- Roepstorff A, Nansen P. 1998. Epidemiology, Diagnosis and Control of Helminth Parasites of Swine, *FAO Animal Health Manual*. Rome. 3:51–4.
- Rossano MG, Smith AR, Lyons ET. 2010. Shortened strongyle-type egg reappearance periods in naturally infected horses treated with moxidectin and failure of a larvicidal dose of fenbendazole to reduce fecal egg counts. *Veterinary Parasitology* 173:349–52.
- Round MC: The prepatent period of some horse nematodes determined by experimental infection. *J Helminthol*. 1969, 43 (1): 185-192. 10.1017/S0022149X00004016.
- Salas-Romero, J., Gómez-Cabrera, K.A., Salas, J.E., Vázquez, R., Arenal, A., Nielsen, M. K., 2018. First report of anthelmintic resistance of equine cyathostomins in Cuba. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 13, 220–223.
- Santos, D. W., Dias de Castro, L. L., Giese, E. G., and Molento, M. B. (2016). Morphometric study of infective larvae of cyathostomins of horses and their distribution. *J. Equine Vet. Sci.* 44, 49–53. doi: 10.1016/j.jevs.2016. 02.237
- Scare JA, Slusarewicz P, Noel ML, Wielgus KM, Nielsen MK. 2017. Evaluation of accuracy and precision of a smartphone based automated parasite egg counting system in comparison to the McMaster and mini-FLOTAC methods. *Veterinary Parasitology* 247:85–92.
- Sengupta, M. E., Thapa, S., Thamsborg, S. M., & Mejer, H. (2016). Effect of vacuum packing and temperature on survival and hatching of strongyle eggs in faecal samples. *Veterinary Parasitology*, 217, 21-24.
- Seyoum, Z., Zewdu, A., Dagnachew, S., Bogale, B., 2017. Anthelmintic resistance of strongyle nematodes to ivermectin and fenbendazole on cart horses in gondar, northwest Ethiopia. *BioMed Res. Int.* 2017, 5163968.

- Schneider, S., Pfister, K., Becher, A. M., & Scheuerle, M. C. (2014). Strongyle infections and parasitic control strategies in German horses—a risk assessment. *BMC veterinary research*, 10(1), 1-9.
- Schurer, J., Davenport, L., Wagner, B., & Jenkins, E. (2014). Effects of sub-zero storage temperatures on endoparasites in canine and equine feces. *Veterinary Parasitology*, 204(3-4), 310-315.
- Slusarewicz P, Pagano S, Mills C, Popa G, Chow KM, Mendenhall M, Rodgers DW, Nielsen MK. 2016. Automated parasite faecal egg counting using fluorescence labelling, smartphone image capture and computational image analysis. *International Journal for Parasitology* 46:485–93.
- Smets, K., Shaw, D. J., Deprez, P., & Vercruyse, J. (1999). Diagnosis of larval cyathostomiasis in horses in Belgium. *Veterinary Record*, 144(24), 665-668.
- Smith G, Grenfell BT, Isham V, Cornell S. Anthelmintic resistance revisited: under-dosing, chemoprophylactic strategies, and mating probabilities. *Int J Parasitol.* (1999) 29:77–91. doi: 10.1016/S0020-7519(98) 00186-6
- Sréter, T., Molnár, V., & Kassai, T. (1994). The distribution of nematode egg counts and larval counts in grazing sheep and their implications for parasite control. *International Journal for Parasitology*, 24(1), 103-108.
- Stoll, N. R. (1930). On methods of counting nematode ova in sheep dung. *Parasitology*, 22(1), 116-136.
- Tatz, A. J., Segev, G., Steinman, A., Berlin, D., Milgram, J., & Kelmer, G. (2012). Surgical treatment for acute small intestinal obstruction caused by *Parascaris equorum* infection in 15 horses (2002–2011). *Equine Veterinary Journal*, 44, 111-114.
- Tolliver, Sharon Craig. A practical method of identification of the North American cyathostomes (small strongyles) in equids in Kentucky. Lexington: University of Kentucky, Department of Veterinary Science, 2000.
- Torgerson PR, Paul M, Furrer R. Evaluating faecal egg count reduction using a specifically designed package “eggCounts” in R and a user friendly web interface. *Int J Parasitol.* (2014) 44:299–303. doi: 10.1016/j.ijpara.2014. 01.005
- Traversa, D., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Milillo, P., Schurmann, S., Barnes, H., Otranto, D., Perrucci, S., di Regalbano, A.F., Beraldo, P., Boeckh, A., Cobb, R., 2009. Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, United Kingdom and Germany. *Parasites Vectors* 2 (Suppl. 2), S2.”

- Tydén, E., Enemark, H. L., Franko, M. A., Höglund, J., & Osterman-Lind, E. (2019). Prevalence of *Strongylus vulgaris* in horses after ten years of prescription usage of anthelmintics in Sweden. *Veterinary Parasitology*, 276, 100013.
- Uhlinger CA (1993) Uses of fecal egg count data in equine practice. *Comp Cont Ed Pract Vet* 15:742–749
- Vidyashankar AN, Hanlon BM, Kaplan RM. 2012. Statistical and biological considerations in evaluating drug efficacy in equine strongyle parasites using fecal egg count data. *Veterinary Parasitology* 185:45–56.
- Volf, P., & Horák, P. (2007). *Paraziti a jejich biologie*. Triton.
- von Samson-Himmelstjerna G. 2012. Anthelmintic resistance in equine parasites – detection, potential clinical relevance and implications for control. *Veterinary Parasitology* 185:2–8.
- Wang C, Torgerson PR, Kaplan RM, George MM, Furrer R. Modelling anthelmintic resistance by extending eggcounts package to allow individual efficacy. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* (2018) 8:386–93. doi: 10.1016/j.ijpddr.2018.07.003
- Went, H. A., Scare, J. A., Steuer, A. E., & Nielsen, M. K. (2018). Effects of homogenizing methods on accuracy and precision of equine strongylid egg counts. *Veterinary parasitology*, 261, 91-95.
- Wickham, H., Chang, W., & Wickham, M. H. (2016). Package ‘ggplot2’. Create elegant data visualisations using the grammar of graphics. Version, 2(1), 1-189.
- Xiao, L., Herd, R. P., & Majewski, G. A. (1994). Comparative efficacy of moxidectin and ivermectin against hypobiotic and encysted cyathostomes and other equine parasites. *Veterinary Parasitology*, 53(1-2), 83-90.
- Zajac, A. M., Johnson, J., & King, S. E. (2002). Evaluation of the importance of centrifugation as a component of zinc sulfate fecal flotation examinations. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38(3), 221-224.
- Zhang, Zhi-Qiang. *Animal biodiversity: (addenda 2013)*. *Zootaxa*, 2013, 3703.1: 5–11-5–11.

## 11 Samostatné přílohy

### Samostatná příloha I:

Výsledky SMM metody při vyšetření vzorků inokulovaných vajíčky strongylidních hlístic

SMM, S	EPG					
	Opakování	50	100	200	500	1000
1	0	200	150	450	800	3250
2	100	100	300	450	1050	3050
3	50	100	100	500	1000	2750
4	50	100	150	650	1400	1800
5	100	0	200	500	950	2200
6	50	50	150	300	1050	2900
7	0	100	50	450	1150	3000
8	0	100	200	550	1100	2550
9	100	150	350	550	1200	2500
10	100	100	100	150	800	3250
11	0	50	300	450	650	2400
12	100	50	150	250	1050	2700
13	0	50	100	250	1400	1750
14	50	100	50	550	1300	3150
15	100	100	350	600	1400	2800
16	100	50	200	650	800	3350
17	100	200	100	600	1200	2700
18	0	50	300	450	1050	3050
19	0	150	150	400	1400	3350
20	50	0	150	350	1050	2900
21	50	100	200	400	950	2650
22	0	0	300	400	1000	2550
23	0	200	100	350	800	3350
24	100	50	300	600	900	3450
25	150	100	250	750	1100	2400
26	50	50	150	250	1400	3450
27	0	150	150	300	1050	3100
28	150	100	250	250	600	2900
29	50	150	50	550	1250	2400
30	50	50	250	450	1000	3550
<b>medián</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>150</b>	<b>450</b>	<b>1050</b>	<b>2900</b>
<b>preciznost</b>	<b>87,23</b>	<b>60,91</b>	<b>48,19</b>	<b>32,33</b>	<b>20,94</b>	<b>16,39</b>
<b>přesnost</b>	<b>110,00</b>	<b>91,67</b>	<b>93,33</b>	<b>89,33</b>	<b>106,17</b>	<b>94,67</b>

EPG, počet vajíček/1 g výkalu; S, strongylidní hlístice; SMM, Zjednodušená McMasterova metoda

**Samostatná příloha II:**

Výsledky SMM metody při vyšetření vzorků inokulovaných vajíčky škrkavek

SMM, P Opakování	EPG					
	50	100	200	500	1000	3000
1	1	0	0	150	500	650
2	2	0	50	150	550	1000
3	3	50	50	100	350	700
4	4	0	0	250	300	500
5	5	0	50	200	250	450
6	6	0	50	50	300	650
7	7	0	100	100	300	550
8	8	0	50	50	400	550
9	9	50	0	100	400	600
10	10	0	50	150	350	750
11	11	100	150	200	300	700
12	12	0	200	100	250	450
13	13	0	0	150	400	800
14	14	50	150	150	400	850
15	15	0	100	150	250	650
16	16	0	100	200	400	750
17	17	0	0	100	350	750
18	18	50	100	200	400	950
19	19	50	50	100	250	650
20	20	150	50	100	300	500
21	21	0	100	150	250	600
22	22	200	0	150	400	350
23	23	100	200	300	250	350
24	24	0	100	100	300	450
25	25	50	50	150	50	700
26	26	0	50	250	200	650
27	27	0	50	250	350	600
28	28	0	0	0	150	550
29	29	50	0	150	500	450
30	30	0	100	150	150	550
<b>medián</b>	<b>0</b>	<b>50</b>	<b>150</b>	<b>300</b>	<b>625</b>	<b>2050</b>
<b>preciznost</b>	<b>167,24</b>	<b>88,40</b>	<b>44,70</b>	<b>33,99</b>	<b>25,34</b>	<b>18,04</b>
<b>přesnost</b>	<b>60,00</b>	<b>65,00</b>	<b>73,33</b>	<b>64,00</b>	<b>62,33</b>	<b>68,50</b>

EPG, počet vajíček/1 g výkalu; P, škrkavky; SMM, Zjednodušená McMasterova metoda

**Samostatná příloha III:**

Výsledky CMM metody při vyšetření vzorků inokulovaných vajíčky strongylidních hlístic

CMM, S Opakování	EPG					
	50	100	200	500	1000	3000
1	40	60	60	280	680	2380
2	40	160	180	560	900	2740
3	40	40	180	400	920	3040
4	60	80	100	480	780	2500
5	60	60	160	560	1020	2380
6	0	100	240	420	820	2540
7	20	20	80	460	740	2480
8	100	100	240	500	920	1920
9	20	60	220	460	1000	2720
10	140	140	140	360	680	2440
11	80	160	80	440	880	2600
12	40	100	200	560	760	2320
13	60	100	120	380	960	2420
14	80	100	160	460	1020	3000
15	0	200	140	580	520	2660
16	40	120	160	460	660	2880
17	0	80	80	360	960	3280
18	100	100	120	460	820	3140
19	40	140	160	500	900	3220
20	20	40	100	400	1000	3320
21	0	60	200	540	760	3220
22	80	60	220	520	620	2680
23	120	80	200	440	700	2860
24	0	120	100	340	680	2760
25	60	140	340	380	640	2560
26	80	20	80	300	540	2960
27	60	40	120	440	740	3260
28	40	140	160	400	620	2580
29	80	20	180	560	1040	2880
30	60	40	120	340	680	2020
<b>medián</b>	<b>50</b>	<b>90</b>	<b>160</b>	<b>450</b>	<b>770</b>	<b>2700</b>
<b>preciznost</b>	<b>70,41</b>	<b>52,50</b>	<b>40,03</b>	<b>18,40</b>	<b>19,12</b>	<b>13,36</b>
<b>přesnost</b>	<b>104,00</b>	<b>89,33</b>	<b>77,33</b>	<b>88,93</b>	<b>79,87</b>	<b>90,84</b>

EPG, počet vajíček/1 g výkalu; S, strongylidní hlístice; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda

**Samostatná příloha IV:**

Výsledky CMM metody při vyšetření vzorků inokulovaných vajíčky škrkavek

CMM, P Opakování	EPG					
	50	100	200	500	1000	3000
1	20	80	180	420	940	2960
2	80	100	240	400	980	2480
3	60	60	240	380	840	3080
4	0	100	160	460	820	2860
5	0	100	260	440	880	3140
6	80	80	180	400	740	2540
7	20	120	180	420	900	2660
8	40	0	180	420	580	3120
9	80	40	160	360	340	1740
10	20	40	160	360	840	1820
11	40	80	120	340	680	2120
12	20	40	120	380	440	2620
13	40	20	240	340	760	2880
14	0	100	280	420	820	2580
15	40	60	200	380	760	2600
16	80	180	120	300	840	2820
17	80	60	180	460	780	3740
18	80	120	160	380	680	2760
19	60	60	80	540	720	2660
20	60	60	100	360	1060	2520
21	20	80	180	240	680	2580
22	60	200	260	240	860	2560
23	40	160	60	560	1060	2140
24	20	140	260	260	840	2100
25	20	100	180	400	740	2800
26	20	60	160	320	1140	2600
27	20	60	140	200	1020	2680
28	40	80	140	380	1000	2620
29	80	100	120	200	1100	2740
30	0	80	220	260	1080	2860
<b>medián</b>	<b>40</b>	<b>80</b>	<b>180</b>	<b>380</b>	<b>840</b>	<b>2640</b>
<b>preciznost</b>	<b>68,93</b>	<b>51,84</b>	<b>32,08</b>	<b>23,95</b>	<b>22,45</b>	<b>15,03</b>
<b>přesnost</b>	<b>81,33</b>	<b>85,33</b>	<b>87,67</b>	<b>73,47</b>	<b>83,07</b>	<b>88,20</b>

EPG, počet vajíček/1 g výkalu; P, škrkavky; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda



**Samostatná příloha V:**

Výsledky MF metody při vyšetření vzorků inokulovaných vajíčky strongylidních hlístic

MF, S	EPG						
	Opakování	50	100	200	500	1000	3000
1		60	110	155	340	755	2840
2		40	85	180	370	660	2650
3		40	70	105	230	845	2725
4		50	40	105	415	690	2745
5		40	75	155	335	710	2820
6		35	95	140	400	620	2815
7		60	90	150	360	660	2910
8		15	80	115	370	620	2710
9		55	90	155	425	730	2805
10		50	90	155	275	630	2470
11		50	45	135	300	775	2830
12		35	95	145	325	865	2595
13		30	85	100	355	840	2530
14		55	55	130	355	830	2685
15		60	65	135	370	840	2565
16		35	70	110	420	655	2515
17		40	50	125	310	720	2610
18		55	45	80	395	760	2850
19		25	55	125	360	655	2745
20		35	60	145	415	650	2460
21		45	70	130	335	590	2870
22		15	45	130	370	595	2655
23		25	40	175	335	785	2745
24		45	65	130	275	665	2680
25		30	90	120	305	650	2740
26		30	45	130	315	650	2510
27		25	50	170	340	620	2455
28		30	80	140	305	600	2690
29		30	70	155	235	730	2590
30		60	65	135	340	705	2805
<b>medián</b>		<b>40</b>	<b>70</b>	<b>135</b>	<b>340</b>	<b>677,5</b>	<b>2700</b>
<b>preciznost</b>		<b>33,32</b>	<b>27,99</b>	<b>16,78</b>	<b>14,70</b>	<b>11,78</b>	<b>4,93</b>
<b>přesnost</b>		<b>80,00</b>	<b>69,00</b>	<b>67,67</b>	<b>68,53</b>	<b>70,33</b>	<b>89,57</b>

EPG, počet vajíček/1 g výkalu; S, strongylidní hlístice; MF, Mini-FLOTAC

**Samostatná příloha VI:**

Výsledky MF metody při vyšetření vzorků inokulovaných vajíčky škrkavek

MF, P	EPG						
	Opakování	50	100	200	500	1000	3000
1		20	70	165	510	930	2740
2		50	40	140	515	1010	2920
3		25	165	210	425	780	3060
4		30	90	120	310	910	3015
5		20	110	175	510	820	2720
6		35	115	150	450	890	2770
7		30	75	180	385	1030	2610
8		55	80	150	515	830	2560
9		55	120	215	470	940	3085
10		60	95	140	490	945	3115
11		30	85	185	495	960	2740
12		30	115	185	520	905	3570
13		35	105	190	460	840	4300
14		45	95	160	470	1015	3095
15		35	100	210	550	815	3345
16		75	105	170	420	925	2900
17		20	80	180	510	945	2935
18		40	120	200	445	985	2700
19		30	70	180	470	780	3015
20		30	125	190	575	905	3070
21		45	100	165	465	920	3530
22		20	65	170	360	870	2790
23		50	20	120	510	960	2495
24		55	55	210	505	880	3290
25		50	85	175	460	1040	2895
26		35	65	165	500	895	3165
27		40	110	180	420	975	3915
28		35	115	155	485	830	3080
29		25	100	200	425	915	2540
30		50	80	185	445	935	2735
<b>medián</b>		<b>35</b>	<b>95</b>	<b>177,5</b>	<b>470</b>	<b>917,5</b>	<b>2975</b>
<b>preciznost</b>		<b>35,63</b>	<b>30,85</b>	<b>14,35</b>	<b>11,85</b>	<b>7,71</b>	<b>13,33</b>
<b>přesnost</b>		<b>77,00</b>	<b>91,83</b>	<b>87,00</b>	<b>93,80</b>	<b>91,27</b>	<b>100,78</b>

EPG, počet vajíček/1 g výkalu; P, škrkavky; MF, Mini-FLOTAC

**Samostatná příloha VII:**

Výsledky SMM, CMM a MF metody při vyšetření vzorků s přirozenou koinfekcí

Opakování	SMM		CMM		MF	
	S	P	S	P	S	P
1	250	750	440	840	420	1100
2	750	850	380	860	385	1080
3	350	750	360	840	380	1250
4	450	850	480	640	320	910
5	400	1150	580	620	375	1180
6	500	1100	500	980	380	1045
7	750	1300	320	780	410	1135
8	300	950	280	900	370	880
9	500	350	540	860	400	925
10	700	600	300	700	335	1070
11	150	500	540	1000	395	955
12	500	400	460	720	405	790
13	150	600	400	740	340	1075
14	200	700	460	920	425	1360
15	550	750	620	740	350	880
16	150	650	340	540	405	1240
17	300	550	360	720	325	1045
18	300	700	400	1100	345	970
19	500	700	280	860	395	1145
20	450	850	300	1020	415	1000
21	300	1000	420	800	380	935
22	550	550	480	740	415	865
23	450	900	560	860	330	1170
24	300	850	280	1200	390	945
25	450	550	560	720	320	1060
26	400	950	400	700	355	820
27	300	500	320	980	410	965
28	350	750	280	1000	385	835
29	500	700	360	760	370	765
30	450	350	300	740	420	1170
<b>medián</b>	<b>425</b>	<b>725</b>	<b>400</b>	<b>820</b>	<b>383</b>	<b>1023</b>
<b>preciznost</b>	<b>39,53</b>	<b>31,20</b>	<b>25,19</b>	<b>17,92</b>	<b>8,64</b>	<b>14,51</b>

EPG, počet vajíček/1 g výkalu; P, škrkavky; S, strongylidi; MF, Mini-FLOTAC; CMM, Koncentrovaná McMasterova metoda; SMM, Zjednodušená McMasterova metoda

**Samostatná příloha VIII:**

Účinnost fenbendazolu v chovech seřazených sestupně podle FECR

Fenbendazol		FEC <sub>pre</sub> (EPG)		FEC <sub>post</sub> (EPG)		FECR (95% CI)
Chov	<i>n</i>	Průměr	Rozsah	Průměr	Rozsah	
32	6	933	240–1725	1213	0–3870	77.8 % (50.1–100)
27	6	476	250–890	218	0–585	60.6 % (31.2–89.2)
39	6	741	200–1710	331	10–825	59.6 % (33.3–81.5)
7	7	1271	300–3735	427	80–1305	53.8 % (27.9–80.0)
1	7	829	370–1300	532	0–1045	51.5 % (23.5–79.5)
37	6	782	220–1530	988	435–2190	49.6 % (21.0–83.9)
29	6	533	240–1230	408	35–965	40.9 % (14.5–65.1)
5	6	1112	595–1990	836	35–2115	40.1 % (15.4–66.0)
43	6	954	320–2035	638	205–1475	39.8 % (14.5–62.4)
38	6	645	225–1110	384	180–665	38.6 % (13.8–62.0)
44	6	650	325–995	577	185–1290	31.0 % (10.4–53.3)
22	11	1429	405–3855	975	200–2560	29.0 % (11.2–48.0)
48	7	656	260–1735	536	170–1140	28.2 % (9.8–49.2)
21	10	636	210–1285	531	100–915	27.5 % (9.9–46.4)
19	8	759	240–1265	638	255–910	27.2 % (9.3–46.8)
34	8	702	315–2235	659	175–2040	25.4 % (9.3–44.7)
42	6	788	250–1955	842	195–1900	24.6 % (8.7–44.2)
36	10	885	375–1550	976	410–2100	19.1 % (8.1–33.4)

CI, kredibilní interval; EPG, počet vajíček/1 g výkalu; FEC<sub>post</sub>, počet vajíček/1 g výkalu po aplikaci anthelmintika;FEC<sub>pre</sub>, počet vajíček/1 g výkalu před aplikací anthelmintika; FECR, redukce počtu vajíček.

**Samostatná příloha IX:**

Účinnost pyrantelu v chovech seřazených sestupně podle FECR

Pyrantel		FEC <sub>pre</sub> (EPG)		FEC <sub>post</sub> (EPG)		FECR (95% CI)
Chov	<i>n</i>	Průměr	Rozsah	Průměr	Rozsah	
21	9	718	220–2010	6	0–20	99.1 % (98.3–99.7)
22	17	674	210–2020	7	0–30	99.0 % (98.5–99.6)
43	8	619	240–1145	6	0–20	99.0 % (98.0–99.8)
48	8	484	255–935	5	0–15	98.8 % (97.6–99.7)
3	6	553	205–1145	5	0–15	98.8 % (97.5–99.9)
37	6	871	255–2220	10	0–25	98.7 % (97.6–99.7)
35	6	658	210–1855	9	0–40	98.7 % (97.4–99.7)
33	6	541	410–810	7	0–20	98.4 % (96.3–100)
47	6	584	205–935	9	0–20	98.3 % (96.9–99.5)
24	6	543	300–950	9	0–35	98.3 % (96.7–99.6)
41	8	696	365–1085	10	0–20	98.2 % (96.7–99.5)
1	7	1294	250–3010	34	0–100	97.8 % (96.2–99.0)
5	6	1124	590–2115	20	0–35	97.4 % (94.8–99.5)
8	7	787	270–1525	19	0–45	96.8 % (97.7–100)
34	6	608	460–955	28	0–150	96.4 % (87.1–100)
11	17	782	275–1260	48	0–385	95.9 % (92.6–98.9)
39	6	653	205–1310	49	0–265	95.3 % (84.2–100)
29	6	798	255–1880	56	0–270	95.0 % (84.7–100)
44	6	553	250–725	38	0–115	93.6 % (85.4–100)
30	6	673	200–1145	57	0–300	91.0 % (77.7–100)
12	8	814	215–2035	81	0–315	88.8 % (72.5–100)
42	6	1052	245–2170	150	0–600	88.1 % (73.6–100)

CI, kredibilní interval; EPG, počet vajíček/1 g výkalu; FEC<sub>post</sub>, počet vajíček/1 g výkalu po aplikaci anthelmintika; FEC<sub>pre</sub>, počet vajíček/1 g výkalu před aplikací anthelmintika; FECR, redukce počtu vajíček.

**Samostatná příloha X:**

Účinnost ivermektinu v chovech seřazených sestupně podle FECR

Ivermektin		FEC <sub>pre</sub> (EPG)		FEC <sub>post</sub> (EPG)		FECR (95% CI)
Chov	<i>n</i>	Průměr	Rozsah	Průměr	Rozsah	
17	18	1691	335–3780	0	–	100 % (100–100)
23	13	1485	295–4635	0	–	100 % (100–100)
1	11	825	375–1800	0	–	100 % (99.9–100)
3	9	969	200–2150	0	–	100 % (99.9–100)
6	10	827	200–2230	0	–	100 % (99.9–100)
9	12	804	220–2040	0	–	100 % (99.9–100)
21	16	1028	295–2470	0	–	100 % (99.9–100)
22	23	720	200–1650	0	–	100 % (99.9–100)
29	15	1223	330–2935	0	–	100 % (99.9–100)
34	13	1278	245–3150	0	–	100 % (99.9–100)
35	21	798	210–1465	0	–	100 % (99.9–100)
37	9	1391	215–4850	0	–	100 % (99.9–100)
38	13	526	210–1540	0	–	100 % (99.9–100)
39	22	822	200–1875	0	–	100 % (99.9–100)
40	13	649	200–2630	0	–	100 % (99.9–100)
42	28	836	200–4110	0	–	100 % (99.9–100)
43	18	524	220–1050	0	–	100 % (99.9–100)
47	17	749	250–2140	0	–	100 % (99.9–100)
44	34	756	205–2525	0	–	100 % (99.9–100)
15	9	853	245–1300	0	–	100 % (99.8–100)
11	12	710	225–2480	0	–	100 % (99.8–100)
10	6	1085	675–2235	0	–	99.9 % (99.8–100)
14	13	466	215–1025	0	–	99.9 % (99.8–100)
19	8	638	255–910	0	–	99.9 % (99.8–100)
20	6	1292	285–3440	0	–	99.9 % (99.8–100)
24	7	838	315–1760	0	–	99.9 % (99.8–100)
30	8	869	225–3850	0	–	99.9 % (99.8–100)
32	7	921	220–3725	0	–	99.9 % (99.8–100)
33	7	845	320–2215	0	–	99.9 % (99.8–100)
46	7	868	240–1865	0	–	99.9 % (99.8–100)
16	7	756	250–1295	0	–	99.9 % (99.7–100)
45	6	856	275–1375	0	–	99.9 % (99.7–100)
48	10	477	275–710	0	–	99.9 % (99.7–100)
13	6	677	385–1220	0	–	99.9 % (99.6–100)
31	6	653	270–1135	0	–	99.9 % (99.6–100)

41	6	748	205–1120	0	–	99.9 % (99.6–100)
4	6	715	200–1375	0	–	99.9 % (99.6–100)
7	6	582	220–1305	0	–	99.9 % (99.5–100)
8	6	548	470–755	0	–	99.9 % (99.5–100)
28	6	535	215–885	0	–	99.9 % (99.5–100)
2	6	464	200–740	0	–	99.9 % (99.4–100)
25	6	503	220–1335	0	–	99.8 % (99.4–100)
26	6	439	205–1100	0	–	99.8 % (99.4–100)
27	6	513	205–1250	0	–	99.8 % (99.4–100)
36	6	443	255–720	0	–	99.8 % (99.4–100)

---

CI, kredibilní interval; EPG, počet vajíček/1 g výkalu; FEC<sub>post</sub>, počet vajíček/1 g výkalu po aplikaci anthelmintika;

FEC<sub>pre</sub>, počet vajíček/1 g výkalu před aplikací anthelmintika; FECR, redukce počtu vajíček.

## Samostatná příloha XI: Účinnost moxidektinu v chovech seřazených sestupně podle FECR

Moxidectin		FEC <sub>pre</sub> (EPG)		FEC <sub>post</sub> (EPG)		FECR (95% CI)
Chov	<i>n</i>	Průměr	Rozsah	Průměr	Rozsah	
22	25	1056	235–3455	0	–	100 % (100–100)
29	12	1251	220–2200	0	–	100 % (99.9–100)
37	7	1558	720–2990	0	–	100 % (99.9–100)
44	8	997	250–1505	0	–	100 % (99.9–100)
3	6	1570	505–4900	0	–	100 % (99.8–100)
40	6	1417	325–2545	0	–	100 % (99.8–100)
42	7	1158	200–2745	0	–	100 % (99.8–100)
43	8	944	325–1345	0	–	100 % (99.8–100)
8	6	1131	545–1730	0	–	99.9 % (99.8–100)
18	7	832	370–1600	0	–	99.9 % (99.8–100)
21	9	646	255–1320	0	–	99.9 % (99.8–100)
28	6	1155	290–2610	0	–	99.9 % (99.8–100)
31	6	790	270–5620	0	–	99.9 % (99.8–100)
47	6	1107	380–1850	0	–	99.9 % (99.8–100)
33	6	523	255–2135	0	–	99.9 % (99.7–100)
35	6	458	275–1950	0	–	99.9 % (99.7–100)
39	7	704	265–1100	0	–	99.9 % (99.7–100)
1	6	604	230–905	0	–	99.9 % (99.6–100)
4	6	695	335–1940	0	–	99.9 % (99.6–100)
30	6	323	200–1365	0	–	99.9 % (99.6–100)
48	6	678	255–1140	0	–	99.9 % (99.6–100)
27	6	493	205–915	0	–	99.9 % (99.5–100)
38	6	503	255–995	0	–	99.8 % (99.5–100)

CI, kredibilní interval; EPG, počet vajíček/1 g výkalu; FEC<sub>post</sub>, počet vajíček/1 g výkalu po aplikaci anthelmintika; FEC<sub>pre</sub>, počet vajíček/1 g výkalu před aplikací anthelmintika; FECR, redukce počtu vajíček.