

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra zoologie a rybářství**

**Gastrointestinální a plicní hlístice v intenzivních chovech  
domácích a volně žijících přežvýkavců**

.....  
doktorská disertační práce

(soubor vědeckých prací s komentářem)

Autor: **Ing. Iveta Angela Kyriánová**  
Školitel: **doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, PhD.**  
Konzultant: **prof. Ing. Iva Langrová, CSc.**

© Praha 2019

### Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci „Gastrointestinální a plicní hlístice v intenzivních chovech domácích a volně žijících přežvýkavců“ vypracovala samostatně pod vedením doc. Ing. Jaroslava Vadlejcha, PhD. s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou v práci řádně citovány a uvedeny v seznamu literatury. Jako autorka uvedené disertační práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne: 24. 8. 2019

Podpis

## Poděkování

Předně bych ráda poděkovala svému školiteli, doc. Ing. Jaroslavu Vadlejchovi, PhD. za vedení, cenné rady a předané zkušenosti, za trpělivost při konzultacích nad společnými publikacemi a za podporu od bakalářského až po doktorské studium. Dále bych ráda poděkovala své konzultantce prof. Ing. Ivě Langrové, CSc. za velkou podporu během celého doktorského studia. Také bych ráda poděkovala mým spolužákům, Ing. Jaroslavu Poršovi, Ing. Jitce Papouškové, Ing. Silvii Bičíkové a mé blízké kamarádce Bc. Romaně Buriánkové, kteří mě nejen v těžkých začátcích studia velmi podporovali. V neposlední řadě patří velký dík mým kolegům z katedry, kteří mi celé studium pomáhali a vytvořili milé a přátelské pracovní prostředí, obzvláště Ing. Jana Nápravníková, Ing. Tomáš Husák a Ing. Sylva Lanková, a také mé kolegyně Ing. Alena Švepešová, Ing. Helena Táboříková a Ing. Laura Míčková. Poděkování patří i mým blízkým přátelům a mé rodině.

## Obsah

1.	Úvod .....	5
2.	Literární přehled .....	6
2.1	Význam parazitóz v intenzivních chovech přežvýkavců.....	6
2.1.1	Parazitární gastroenteritida přežvýkavců .....	8
2.1.2	Vybraní významní původci parazitární gastroenteritidy.....	10
2.1.3	Verminózní pneumonie přežvýkavců .....	13
2.2	Patologie infekcí vyvolaných GI hlísticemi.....	15
2.2.1	Abomasum .....	15
2.2.2	Tenké a tlusté střevo .....	16
2.3	Patologie infekcí vyvolaných plicními hlísticemi .....	17
2.4	Epizootologie parazitárních infekcí .....	17
2.5	Potlačování výskytu parazitických hlístic.....	20
2.5.1	Management pastvy .....	20
2.5.2	Anthelmintika.....	22
2.5.3	Rezistence na anthelmintika.....	24
2.5.4	Nutraceutika .....	25
3.	Vědecké hypotézy a cíle práce .....	28
4.	Publikované články .....	29
5.	Sumární diskuze .....	61
6.	Závěr.....	67
7.	Seznam obrázků.....	68
8.	Seznam použité literatury .....	69

# 1. Úvod

Parazitózy významně zasahují do ekonomiky chovu přežvýkavců. V dnešní době je kladen velký důraz na welfare zvířat, a tím na změny managementu a chovů tak, aby byl zvířatům umožněn po většinu sezóny přístup na pastviny a přirozený pohyb. A právě pastviny jsou hlavním zdrojem infekcí přežvýkavců. Gastrointestinální hlístice jsou závislé na vývoji ve vnějším prostředí. U plicnivek dochází k vývoji ve vnějším prostředí buď s využitím nebo bez využití meziphostitele, v závislosti na druhu plicnivek. Znalost epizootologie parazitů je tedy důležitým faktorem, který nám umožňuje navrhnout vhodný management pastvy, kterým lze dosáhnout snížení infekčního zatížení pastviny.

V posledních letech dochází k nárůstu zájmu o ekologické chovy a jejich produkty. Zejména chovy koz a kozí produkty se v poslední době dostávají do popředí zájmu. Přesto, že je o tyto produkty velký zájem, informací ohledně parazitóz a jejich vlivu na produkci u malých přežvýkavců, obzvláště u koz je v ČR nedostatek. Dostupnost širokospektrálních anthelmintik sice umožnila intenzifikaci zemědělství, ale s častým a chybným užíváním se objevila rezistence na tato používaná léčiva. Ačkoli k nadužívání či chybnému užívání anthelmintik nedochází záměrně, jedná se spíše o nedostatek informací, současná situace se jeví jako závažná. Se změnou klimatu dochází i ke změnám druhového spektra parazitů, druhy, které byly v našich podmínkách dříve spíše minoritní, nabývají v současnosti na významu. Kratší a teplejší zimy umožňují přezimovat na pastvinách většímu počtu larev hlístic. Samice GI hlístic mohou vylučovat vajíčka do vnějšího prostředí po delší část roku. Pasoucí se zvířata jsou tak vystavena většímu parazitárnímu tlaku. Je potřeba uvědomit si všechny tyto změny a přizpůsobit jim management chovu. Nelze v dnešní době používat stejné principy, které platily před desítkou let či déle. Do budoucna je důležité zaměřit se v chovech spíše na prevenci parazitóz, a tím předcházet a minimalizovat následky parazitárních infekcí. Vzhledem k tomu, že larvy hlístic jsou na porostu běžné a zvířata jsou jim vystavena po celou dobu pastvy, není možné úplně eradikovat endoparazity z těla hostitele. S využitím opatření, která z dlouhodobé perspektivy povedou ke snižování populace endoparazitů, lze udržet optimální úroveň zdraví, produkce a také welfare zvířat, což odpovídá současným trendům. Tato opatření obsahují několik základních principů, které zahrnují omezení vystavení zvířat na pastvě infekčním stádiím parazitů. Toho lze docílit vhodným managementem pastvy. Zvýšením odolnosti zvířat docílíme stavu, kdy si zvíře dokáže s určitou hladinou infekce poradit samo. Vhodný je i chov plemen, která jsou přirozeně odolnější proti parazitózám. Zapojením těchto principů do managementu lze docílit zdravějšího chovu a minimalizovat ekonomické výdaje a ztráty.

## 2. Literární přehled

### 2.1 Význam parazitóz v intenzivních chovech přežvýkavců

Parazitózy nepříznivě ovlivňují produkci a dobré životní podmínky hospodářských zvířat (Fthenakis & Papadopoulos 2018). Téměř všechna pastevně chovaná zvířata se v průběhu roku infikují během pastvy ve větší či menší míře gastrointestinálními (GI) hlísticemi, celosvětově nejrozšířenějšími endoparazity přežvýkavců (Kassai 1999). Závažnost infekce závisí na mnoha faktorech a druhové spektrum parazitů je jedním z nejdůležitějších. Některé druhy GI hlístic jsou pro své hostitele závažnějšími patogeny nežli jiné. V prostředí přirozené infekce je obvykle hostitel infikován několika druhy GI hlístic současně, monoinfekce je vzácná (Leignel & Cabaret 2001; Demeler et al. 2012). Dalšími významnými faktory ovlivňujícími dopady infekcí GI hlísticemi na své hostitele jsou intenzita infekce, zdravotní stav každého jednotlivého zvířete ve stádě, jejich imunita, ale také samotné prostředí farmy, lokální klima a výživa zvířat (Kassai 1999; Zajac 2006).

Ekonomika chovu přežvýkavců je infekcemi, které GI hlístice způsobují do velké míry ovlivněna. Ekonomické ztráty následkem parazitismu hlístic jsou spojovány spíše s vlivem na produkci nežli se samotnou mortalitou zvířat. Proto jsou obvykle infekce způsobené GI hlísticemi klasifikovány jako produkční onemocnění (Marshall et al. 2012). Nejčastějšími GI hlísticemi, které se vyskytují u malých přežvýkavců a jsou zodpovědné za vysoké ekonomické ztráty v chovech, jsou zástupci hlístic nadčeledi Trichostrongyloidea – tzv. trichostrongylidní hlístice *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus* spp. a *Teladorsagia circumcincta* (O'Connor et al. 2006; Gilleard 2013). U skotu a volně žijících přežvýkavců jsou za největší produkční ztráty zodpovědné zejména slezové hlístice *Ostertagia* spp. (Rinaldi & Geldhof 2012), *Spiculoptera* spp. (Chintoan-Uta et al. 2014), *H. contortus* (Simpson 2000), a také *Ashworthius sidemi* (Osińska et al. 2010). Hlavní příčinou ekonomických ztrát v chovech přežvýkavců jsou snížené přírůstky zvířat, hypoproteinemie, snížení mléčné či masné produkce, zhoršený růst a kvalita vlny u ovcí, výdaje za veterinární ošetření a léčiva, ale také zhoršená konverze krmiva, která je důležitým znakem infekcí vyvolaných GI hlísticemi (Fox 1997; Alberti et al. 2014; Charlier et al. 2014; Chintoan-Uta et al. 2014; Lambertz et al. 2018). Zhoršená konverze krmiva následkem parazitismu ovlivňuje reprodukční schopnosti zvířat. V důsledku snížené dostupnosti energie následkem parazitárních infekcí, může docházet ke sníženému počtu ovulací nebo ke zvýšení embryonálních úmrtí v chovu (Dobson et al. 2012). Parazitární infekce mohou být predispozičním faktorem toxémie v březosti, jehož následkem dochází k potratům nebo

i k úmrtí infikovaného zvířete (Papadopoulos et al. 2013; Fthenakis & Papadopoulos 2018). Stejně jako u domácích přežvýkavců, tak i u volně žijících přežvýkavců se infekce GI hlísticemi vyskytují zcela běžně a jejich negativní vliv na hostitele se odráží zejména ve změnách fyziologie, chování a reprodukčního potenciálu (Cole & Viney 2018). V intenzivních chovech volně žijících přežvýkavců se infekce GI hlísticemi projevují také úbytkem na váze, slabostí, hypoproteinemií, nekvalitní srstí a průjmy (Haigh et al. 2002). Parazitární infekce u volně žijících přežvýkavců ovlivňují kondici zvířat a mohou vést k úbytku jejich populace, což může představovat problém při ochraně ohrožených druhů (Smith et al. 2009; Thompson et al. 2010; Kołodziej-Sobocińska et al. 2016).

Infekce plicními hlísticemi jsou u koz méně závažné než u ovcí (Abbot et al. 2012), a proto jsou často přehlíženy (Vadlejch et al. 2016). Patogenní účinky infekcí plicnivkami se mohou zdát nižší v porovnání se střevními či slezovými hlísticemi, ale např. *Muellerius capillaris*, nejčastější plicní hlístice malých přežvýkavců, je spojována nejen s případy respiračních obtíží, ale je uváděna také jako predispoziční agens pro bakteriální infekce (Suarez et al. 2014). Zdravotní obtíže spojené s muelleriózou negativně ovlivňují mléčnou produkci zejména u starších zvířat s těžkou infekcí (Paraud et al. 2005). U mladších zvířat mohou způsobit zhoršený růst a zabřezávání (Paraud et al. 2005; Kyriánová et al. 2019).

Pokud vyhodnocujeme vliv infekcí GI hlísticemi na mléčnou produkci malých přežvýkavců, je potřeba vzít v úvahu intenzitu infekce a druhové složení parazitů. Některé druhy hlístic mohou ovlivnit mléčnou produkci ve větší míře než ostatní druhy (Rinaldi et al. 2007; Alberti et al. 2014; Kyriánová et al. 2017). Strongylidní hlístice mají, v závislosti na intenzitě infekce, vliv na kvalitativní parametry mléka, zejména na obsah proteinu (Rinaldi et al. 2007; Alberti et al. 2014; Kyriánová et al. 2017). Dále je třeba zohlednit stupeň laktace a individuální nádoj konkrétního zvířete, např. kozy s vysokou produkcí mléka jsou více náchylné k endoparazitárním infekcím v důsledku snížené schopnosti vyvinout imunitní reakci proti GI hlísticím, nežli je tomu u koz s nižší produkcí mléka (Etter et al. 2000; Alberti et al. 2014).

Je však potřeba si uvědomit, že dopady parazitóz jsou velmi heterogenní, a to jak mezi jednotlivými zvířaty v rámci jednoho stáda, tak mezi stády a farmami. Variabilitu mezi dopady na produkci jednotlivých zvířat v rámci stáda lze připisovat nejen různým intenzitám infekce, vývojovým cyklům parazitů, ale také např. genetické predispozici jedince k odolnosti, výživě na farmě, složení vegetace či jiným druhotným bakteriálním nebo virovým onemocněním (Charlier et al. 2014).

Infekce způsobené GI hlísticemi ohrožují několik kategorií zvířat. Nejvíce ohrožená jsou mladá zvířata (Sutherland & Scott 2010). V průběhu dospívání dochází u zvířat

k rozvoji imunity a schopnosti potlačit intenzitu infekce na úroveň, která hostitele neohrožuje na životě (Albery et al. 2018). Velmi náchylné na parazitózy jsou samice v době okolo porodu, u kterých dochází v tomto období k fyziologickému poklesu imunity, tzv. fenomén PPRI (Periparturient Relaxation in Immunity – pokles imunity u samic v období okolo porodu). Snížená imunita v poporodním období je charakterizována zvýšeným vylučováním vajíček GI hlístic (tzv. FEC – Faecal Egg Count). U samců dochází vlivem vysoké hladiny testosteronu k narušení funkce imunitního systému, což má za následek zvýšenou citlivost vůči parazitárním infekcím (Decristophoris et al. 2007).

### 2.1.1 Parazitární gastroenteritida přežvýkavců

Přežvýkavci jsou během pastvy infikováni širokým spektrem GI hlístic, které vyvolávají u zvířat onemocnění nazývané parazitární gastroenteritida (PGE). Původcem tohoto onemocnění je více než desítku druhů parazitických hlístic, které infikují slez a střeva (Hoste et al. 2010; 2011). Nejvýznamnějšími původci tohoto onemocnění jsou u malých přežvýkavců *Teladorsagia circumcincta*, *Haemonchus contortus* a *Trichostrongylus axei*, kteří patří mezi slezové hlístice. Dále zástupci hlístic vyskytující se v oblasti střev, a to rody *Trichostrongylus*, *Nematodirus* a *Cooperia* v tenkém střevě a *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum columbianum* v tlustém střevě (Charlier et al. 2017). Méně často se můžeme u malých přežvýkavců setkat i se *Strongyloides papillosus* (Eysker et al. 2005), *Trichuris ovis* (Preston et al. 2014; Lambertz et al. 2018) nebo s *Aonchotheca (Capillaria)* spp. (Zajac & Conboy 2012).

U volně žijících přežvýkavců jsou nejčastěji spojovány s klinickým onemocněním zástupci rodů *Ostertagia*, *Spiculoptera* a *Haemonchus* parazitující ve slezu (Chintoan-Uta et al. 2014). Dalšími četnými zástupci střevních GI hlístic volně žijících přežvýkavců jsou *Trichostrongylus vitrinus*, *T. colubriformis*, *Cooperia pectinata*, *Oesophagostomum venulosum*, *O. sika*, *O. radiatum*, *Nematodirus roscidus*, *N. helvetianus*, *Chabertia ovina*, *Trichuris capreoli*, *T. globulosa*, *T. ovis* (Rehbein et al. 2001; Rehbein & Visser 2007). Méně častými druhy jsou zástupci rodů *Bunostomum*, *Capillaria* a *Strongyloides* (Santín-Durán et al. 2004; Burlinski et al. 2011).

Ovce a kozy jsou hostiteli shodných druhů GI hlístic (Hoste et al. 2008), i když některé údaje naznačují možnost existence rozdílných kmenů GI hlístic pro ovce i kozy (Hoste et al. 2010). Torina et al. (2004) se ve své studii zaměřili na zjištění možné diverzity parazitofauny u koz a ovcí na Sicílii. Kromě šesti dominantních druhů slezových hlístic u ovcí (*T. circumcincta*, *T. pinnata*, *T. trifurcata*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus*



*vitrinus* a *T. colubriformis*) našli také druhy méně zastoupené, z nichž nejčastější byl *H. contortus* a dále *Ostertagia leptospicularis*, *Trichostrongylus capricola*, *Ostertagia ostertagi* a *Skrjabinagia kolchida*. Oproti tomu u koz autoři uvádějí, jako dominantní hlístice ve slezu pouze *T. circumcincta* a *Trichostrongylus axei*, všechny ostatní druhy byly zastoupené méně, nejčastějšími druhy byly *Trichostrongylus vitrinus*, *Teladorsagia pinnata*, *Trichostrongylus capricola* a *H. contortus*. Torina et al. (2004) popisují zjištěné méně zastoupené druhy slezových hlístic u ovcí i koz jako zajímavou ukázkou určitého přizpůsobení parazitů různým hostitelům, protože např. *Ostertagia leptospicularis* nebo *Skrjabinagia kolchida* jsou primárně hlísticemi volně žijících přežvýkavců a *Ostertagia ostertagi* skotu.

V roce 2015 byl na území ČR po čtyřiceti letech opětovně zjištěn výskyt slezové hematofágní hlístice *Ashworthius sidemi* u zebra evropského a následně i u jelena evropského v areálu obory na severu ČR (Vadlejch et al. 2017; Magdálek et al. 2017). Tento nález *A. sidemi* je vůbec prvním zaznamenaným případem této invazivní hlístice u zebra evropského v ČR. Tato slezová hlístice byla v ČR poprvé zaznamenána v sedmdesátých letech minulého století u jelenů sika importovaných z Asie (Kotrlá & Kotrlý 1973; Magdálek et al. 2017). Právě s jeleny sika byl postupně *A. sidemi* introdukovan do celé řady evropských zemí, kde kolonizoval další volně žijící přežvýkavce, jeleny evropské, srnce obecné a muflony (Demiaszkiewicz et al. 2018). V současné době byl *A. sidemi* potvrzen v několika lokalitách ČR s intenzivními chovy volně žijících přežvýkavců, a to jak u srnce obecného, daňka obecného, tak i u losa evropského (Magdálek et al. 2017). Přestože jsou malí přežvýkavci vnímavý k infekci *A. sidemi*, přenos této hlístice z volně žijících na domácí přežvýkavce byl zatím v přirozených podmínkách popsán pouze u skotu (Moskwa et al. 2015). Naopak moderní molekulárně genetické analýzy podporují zjištění, že malí přežvýkavci a divocí přežvýkavci spolu mohou sdílet společnou populaci hematofágní hlístice *H. contortus*. Dále byl také potvrzen výskyt GI hlístic specifických pro domácí přežvýkavce (rody *Nematodirus*, *Trichostrongylus*, *Teladorsagia*, *Chabertia*, *Cooperia* a *Haemonchus*) u srnců na Pyrenejském poloostrově (Pato et al. 2013; Chintoan-Uta et al. 2014).

Na rozdíl od domácích přežvýkavců, kde výživa, reprodukce i pohyb zvířat mezi pastvinami jsou závislé na lidské činnosti a manipulaci, infekce u volně žijících přežvýkavců jsou spojeny s faktory životního prostředí (Billinis 2013). Vzájemný přenos endoparazitů mezi domácími a volně žijícími přežvýkavci je ovlivňován nejen místním klimatem, ale také interakcemi mezi využíváním stanovišť k pastvě a prostředím pastvy. Volně žijící přežvýkavci mohou měnit výběr stanoviště pro pastvu s ohledem na využití a segmentaci

krajiny pro zemědělské a pastevní účely. Překrývání pastevního habitatu pro hospodářské a volně žijící přežvýkavce se může v jednotlivých zemích lišit, stejně jako systémy hospodaření (Pato et al. 2013; Chintoan-Uta et al. 2014).

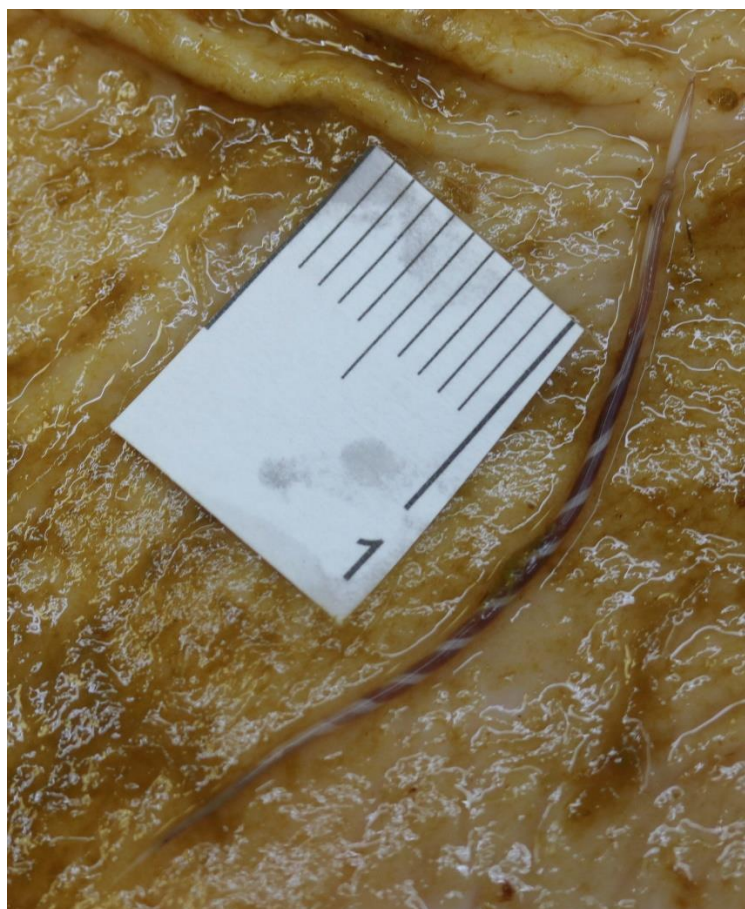
Diagnóza PGE je obecně založena na klinických příznacích, sezónním výskytu onemocnění a je-li to možné, také na vyšetření *post mortem*, které napomůže kvantifikovat parazitární zátěž zvířete dospělci hlístic (Taylor 2010). Ačkoli ve většině případů parazitární gastroenteritida zvíře na životě přímo neohrožuje, následky tohoto onemocnění mají vliv na zdraví a produkci. Dopad parazitárních infekcí na produkci zvířat, a tedy i na ekonomiku chovu se projevuje poškozením tkání trávicího traktu působením parazitů a následným snížením funkce těchto orgánů. Dochází k přesměrování živin a proteinů a jejich využití k regeneraci poškozených tkání (Charlier et al. 2014) a ke snížení příjmu a využití krmiva (Charlier et al. 2014; 2017). Tato změna v dynamice distribuce živin a proteinů způsobuje, že zvíře jeví známky malnutrice (Hoste et al. 2005). Parazitární infekce způsobují řadu patofyziologických změn trávicího traktu, jejichž následkem hostitel vstupuje do stavu relativního deficitu proteinů. Tato skutečnost je podpořena pozorováním, kdy došlo u infikovaných zvířat ke zmírnění projevů infekce po podání doplňkového proteinu (Sutherland & Scott 2010).

### **2.1.2 Vybraní významní původci parazitární gastroenteritidy**

Hematofágní hlístice způsobují u zvířat akutní infekce, které se projevují anémií sliznic. Stav anémie lze posuzovat na základě anemizace sliznice spojivek. K tomuto účelu byla vytvořena metoda FAMACHA<sup>®</sup> nazvaná dle dr. Faffa Malan (van Wyk & Bath 2002), která byla původně vyvinuta jako léčebná strategie pro chudé zemědělce v Jižní Africe (Odoi et al. 2007). Metoda využívá anémii jako hlavní znak pro heamonchózu. Na základě této metody mohou být selektivně léčena pouze zvířata, která vykazují známky těžké anémie (Rinaldi & Cringoli 2012).

Počátky klinických příznaků haemonchózy mohou být velmi náhlé a v akutním stavu mohou vyústit ve smrt zvířete. Kromě anémie lze u akutní haemonchózy pozorovat u zvířat hyperpnoe a tachykardii. U subakutních infekcí může u zvířat v důsledku hypoproteinemie dojít ke vzniku submandibulárního edému. Anémie může být také způsobena motolicí *Fasciola hepatica* a klinické příznaky mohou být shodné s haemonchózou. Je potřeba tento fakt neopomenout. Chronická haemonchóza je, kromě anémie, charakterizována úbytkem hmotnosti, letargií a slabostí (Abbot et al. 2012). U haemonchózy se u zvířat neobjevuje průjem, zvířata spíše trpí zácpou, výkaly jsou formované do tvaru tzv. „peletek“ a hostitel vykazuje střední až vysoký FEC (Taylor 2010). Samička *H. contortus* je velmi plodná a

může klást vajíčka v intervalu jedno vajíčko každých 10 sekund, ale mají delší generační cyklus, prepatentní perioda je zhruba 17–21 dní (Elsheikha 2011).



Obr. 1: Samice hematofágní hlístice *Ashworthius sidemi*. Na snímku je viditelná bílá děloha obtočená okolo střeva naplněného krví hostitele (foto: J. Vadlejch)

Při post mortálním vyšetření slezu, jsou dospělci *H. contortus* na povrchu sliznice snadno detekovatelní. Jejich délka dosahuje rozmezí 2–3 cm. Samice lze na sliznici identifikovat dle bílé dělohy, která je obtočená okolo střeva naplněného krví hostitele (Sutherland & Scott 2010). Při post mortálním vyšetření slezu a přední části duodena by mohlo dojít k záměně *H. contortus* s *A. sidemi*. Na základě jejich morfologie lze od sebe odlišit samce jednotlivých druhů. Spikuly samců *H. contortus* jsou kratší než u *A. sidemi* a jsou zakončeny typicky tvarovanou špičkou. Délka spikul je u obou druhů hlístic variabilní, ale u *H. contortus* obvykle nepřesahuje 500  $\mu\text{m}$ , naopak u *A. sidemi* je průměrná délka spikul větší než 700  $\mu\text{m}$ . Gubernákulum je u *H. contortus* dobře vyvinuté, u *A. sidemi* vyvinuté není. Rozlišit od sebe samice jednotlivých druhů je však složité. Determinace by mohla být založena na morfologii bukální kapsule (Vadlejch et al. 2017). Ashworthióza má obdobné

zdravotní dopady na své hostitele jako haemonchóza, závažné infekce mohou vést ke smrti mladých či slabých zvířat (Lehrter et al. 2016).



Obr. 2: Spikuly a gubernákulum samce hlístice *Haemonchus contortus* (foto: J. Vadlejch)

Infekce způsobené slezovou hlísticí *T. circumcincta* se projevují nechutenstvím, průjmem, dehydratací a sníženou hmotností. V důsledku sníženého příjmu potravy a dehydratace se postižené zvíře jeví jako prázdné s velmi málo naplněným bachorem. Nižší intenzita infekce se může projevit úbytkem hmotnosti bez klinických příznaků onemocnění. Snížené přírůstky jsou důsledkem sníženého apetitu a příjmu potravy a ztrátou plazmatických proteinů v lumen GI traktu (Abbot et al. 2012). Dospělci *T. circumcincta* jsou menší než *H. contortus*. Samičky dosahují průměrné délky 1 cm a samci pouze 6–8 mm, je tedy snadné je v obsahu slezu přehlédnout. Prepatentní fáze trvá 3 týdny a dospělí jedinci žijí několik měsíců (Zajac 2006; Taylor et al. 2007). Teladorsagióza je obvyklá zejména u mláďat během jejich prvního roku na pastvě. Onemocnění se vyskytuje v průběhu léta a je spojené s pozřením značného množství infekčních larev během krátkého období, tzv. teladorsagióza I. typu. U ročních mláďat se objevuje v průběhu jarní pastvy teladorsagióza II. typu, která je způsobená obnovením vývoje hypobiotických larev získaných v průběhu předchozí podzimní pastvy (Abbot et al. 2012).

*Ostertagia ostertagi* je jednou z nejrozšířenějších hlístic skotu (Höglund et al. 2010) i volně žijících přežvýkavců (Haigh et al. 2002). Některé druhy rodu *Ostertagia* byly překlasifikovány do nového rodu *Teladorsagia*, např. hlístice malých přežvýkavců *T. circumcincta* (Mehlhorn 2012). Náchylná k infekcím *O. ostertagi* jsou zejména zvířata prvním rokem na pastvině (Charlier et al. 2010). Mezi všemi druhy GI hlístic skotu je *O. ostertagi* nejzávažnějším patogenem zejména v oblastech mírného klimatu, hostitelé si proti této hlístici nedokáží vyvinout dostatečnou imunitu. Skot zůstává náchylný k infekci mnoho měsíců a vývoj imunity není patrný před druhým rokem věku (Rinaldi & Geldhof 2012). Ostertagióza, se podobně jako teladorsagióza projevuje snížením hmotnosti, nechutenstvím (Charlier et al. 2009), průjmy, anémií (Haigh et al. 2002). Ostertagióza se vyskytuje, stejně jako teladorsagióza ve dvou formách. Ostertagióza I. typu se vyskytuje u telat a mladých zvířat během jejich první pastevní sezóny. Ostertagióza II. typu se vyskytuje u ročních zvířat obvykle na konci zimy nebo na jaře jako následek obnoveného vývoje larev po ukončení hypobiózy (Taylor et al. 2016). Při postmortální diagnostice jsou dospělci viditelní, jako bělavá vlákna na sliznici slezu, ale i na nodulech střevní stěny. Samci dosahují délky 9 mm, samice až 12 mm. Prepatentní perioda je 18–21 dní (Mehlhorn 2012).

Střevní hlístice rodu *Trichostrongylus* jsou malé, světle hnědé nebo načervenalé barvy. Samci měří 4–5,5 mm a samičky 5,5–7,5 mm. Hlavními klinickými příznaky těžkých infekcí jsou rychlá ztráta hmotnosti a tmavý nepříjemně páchnoucí průjem. Při nižší hladině infekce může napadený hostitel vykazovat známky nechutenství a zhoršeného růstu, někdy se mohou vyskytovat i měkké výkaly (Taylor et al. 2016).

### **2.1.3 Verminózní pneumonie přežvýkavců**

Infekce plicivkami u malých přežvýkavců neboli verminózní pneumonie, způsobují tři ekonomicky významné druhy hlístic, *Dictyocaulus filaria*, *Protostrongylus rufescens* a *Muellerius capillaris*. Nejvíce patogenní je *D. filaria*, nejčastěji se nachází v oblastech s vlhčím klimatem, které umožňuje přežít volně žijícím infekčním stádiím. Infekční stádium je larva L<sub>3</sub>, larvy L<sub>1</sub> opouštějí tělo hostitele spolu s výkaly a dále se v prostředí vyvíjejí do infekčního stádia. Plicivky rodu *Dictyocaulus* jsou závažnými původci onemocnění i u volně žijících přežvýkavců, kdy může docházet k vzájemné kontaminaci pastviny. Larvy jsou poměrně neaktivní. Studie popisují, že tyto larvy se nacházejí ve vzdálenosti do 5 cm od výkalu. Houby rodu *Pilobolus* vyskytující se ve výkalech jsou důležitými diseminátory larev, jejich sporangium může odhodit larvy plicivek až do vzdálenosti 3 metrů (Haigh et al. 2002). Hostitel se nakazí pozřením infekční larvy během pastvy. Po pozření pronikají

infekční larvy ze slezu do střeva a migrují do mezenterických uzlin v blízkosti ilea, slepého střeva a proximálního tračníku. Larvy L<sub>4</sub> se po týdnu dostávají do plic. Prepatentní perioda trvá 3–4 týdny, ale hypobiózní larvy nebo larvy ve stádiu L<sub>5</sub> mohou toto období prodloužit až na 150 dní (Haigh et al. 2002; Panuska 2006). Důležitým rozdílem v infekci *Dictyocaulus* spp. mezi skotem a jelenovitou zvěří je absence vývoje těžkých lézí alveolárního epitelu u jelenů. Při přirozené infekci jelenovitých je většina reakcí pozorována v blízkosti dýchacích cest. Při mírné infekci může být zaznamenán určitý stupeň infiltrace eozinofilů do stěn průdušek a v blízkosti bronchiolů se mohou vyvíjet lymfoidní folikuly (Haigh et al. 2002).

Celosvětově nejrozšířenějším druhem plicivěk u malých přežvýkavců je *M. capillaris*, který společně s *P. rufescens* zahrnuje do svého životního cyklu mezihostitele – plže (Panuska 2006). K infekci finálního hostitele dojde pozřením plže, který obsahuje infekční larvu plicivky. Tato larva prošla uvnitř plže svlékáním ze stádia L<sub>1</sub> do infekčního stádia L<sub>3</sub> (Paraud et al. 2005). Larvy se z plže uvolňují během trávení, pronikají střevní stěnou, vstupují do mezenterických lymfatických uzlin a migrují do srdce, plicních artérií a plic. Larvy *M. capillaris* v časně fázi L<sub>4</sub> a dospělci se nacházejí v nodulech plicní tkáně. Příležitostně se díky degeneraci nodulů mohou dospělci nacházet i v bronchiolech. Prepatentní perioda je 25–38 dnů. Pozastavení vývoje larev může prodloužit prepatentní periodu až o 6 týdnů. Dospělci v hostiteli přežívají až několik let (Panuska 2006). Larvy a dospělci *P. rufescens* se nacházejí zejména v bronchiolech a plicních alveolách. Prepatentní perioda je v rozmezí 4–9 týdnů (Jabbar et al. 2013).

Muellerióza s věkem hostitele narůstá, starší zvířata vykazují klinické příznaky častěji než mladá (Gorski et al. 2004). Klinická muellerióza se projevuje kašlem či dušností, poruchou výměny plicních plynů, chronickým zánětem a snížením hmotnosti (Berrag et al. 1997; Panuska 2006). Příznaky muelleriózy se liší dle fáze infekce. První fáze je charakteristická mírnými příznaky střevního kataru, který je způsoben průnikem larev uvolněných trávením z mezihostitele střevní stěnou. Druhá fáze je charakteristická kašlem, výtokem z nozder, zrychleným tepem a dýcháním, vysokou horečkou, edémy případně zápallem plic. V této fázi může nastat i smrt zvířete. Ve třetí fázi se objevuje chronický kašel, snížený příjem potravy, ztráta hmotnosti, někdy se mohou objevit i průjmy. Následně vlivem vzniku imunity dochází ke snížení klinických příznaků (Mehlhorn 2012). S výjimkou těžkých infekcí zvíře často nejeví jasné klinické příznaky a infekce tak zůstává přehlížena (Geurden & Vercruyssen 2007; Vadlejch et al. 2016). Muellerióza je také považována za predispoziční agens pro bakteriální infekce (Suarez et al. 2014), které mohou působit ekonomické ztráty celkovým neprospíváním hostitele a snížením produkce mléka (Geurden & Vercruyssen 2007). Infekce *P. rufescens* obvykle nepůsobí závažná klinická onemocnění,

nicméně *post mortem* lze pozorovat patologické změny charakterizované chronickou granulomatózní pneumonií (Jabbar et al. 2013).

## 2.2 Patologie infekcí vyvolaných GI hlísticemi

Parazitární infekce mohou u zvířat způsobovat snížený příjem potravy, změny v metabolismu bílkovin, energie a minerálů a změny ve vodní bilanci organismu, ale také změny v motilitě střev, trávení a absorpci živin. Snížení příjmu krmiva je důležitým rysem parazitárních infekcí GI traktu a široce uznávaným faktorem patogeneze onemocnění (Fox 1997).

### 2.2.1 Abomasum

Slez přežvýkavců funguje podobně jako žaludek monogastrů a produkuje důležité sekrety; vodíkové ionty, hlen, lysozym a pepsinogen. Na rozdíl od monogastrů je ve slezu přežvýkavců konstantně udržováno nízké pH. Pepsinogen se díky nízkému pH přeměňuje na aktivní proteolytický enzym pepsin (Sutherland & Scott 2010). Larvy *T. circumcincta* poškozují parietální buňky slezu v průběhu histotropní fáze svého vývoje, a tím ovlivňují produkci kyseliny chlorovodíkové (Fox 1997; Abbot et al. 2012). Následně dochází během několika hodin ke zvýšení pH slezu. Vzniklé alkalické prostředí negativně ovlivňuje přeměnu pepsinogenu na aktivní pepsin a dochází tak ke zhoršenému trávení proteinů (Fox 1997; Simpson 2000).

Významné změny sekrece ve slezu jsou spojeny s přítomností parazitů v lumen slezu, dospělých nebo nezralých, tzv. juvenilních, dospělců hlístic ve stádiu L<sub>5</sub>, a to v závislosti na délce histotropní fáze. Změny v sekreci se začínají projevovat po 2–4 dnech u ovcí infikovaných *H. contortus*, po 5–6 dnech při infekci *T. circumcincta* nebo po 16 dnech u skotu infikovaného *Ostertagia ostertagi*. Sekrece ve slezu může být ovlivněna i v případě, kdy dospělci hlístic byli přímo vpraveni do trávicí soustavy hostitele, aniž by zde došlo k jejich vývoji. Po vpravení dospělců *O. ostertagi*, *T. circumcincta* nebo *H. contortus* došlo během jednoho dne ke zvýšení pH ve slezu, sérového gastrinu a pepsinogenu. S výjimkou telat, kde došlo jen ke zvýšení sérového pepsinogenu (Simpson 2000).

Vývoj dospělců hematofágní hlístice *H. contortus* způsobuje traumatické poškození povrchu sliznice slezu, hyperplastickou reakci žláz a nodulární léze. Hyperplastická reakce sliznice může mít za následek zvýšenou propustnost epiteliální vrstvy sliznice slezu, což vede k úniku proteinů do lumen slezu. Pepsinogen odchází do krve hostitele, tím se zvyšuje hladina sérového pepsinogenu, což může být využito jako diagnostický test (Hoste 2001;

Elsheikha 2011). *H. contortus* patří mezi nejvíce patogenní hlístice malých přežvýkavců. Patofyziologie haemonchózy a souvisejících klinických příznaků je spojena především s anémií. Úbytek krve lze zaznamenat již v průběhu vývoje larev ve čtvrtém vývojovém stádiu (L<sub>4</sub>), anémii lze poprvé detekovat 10–12 dní od infekce. Závažnost onemocnění hostitele úzce souvisí s počtem jedinců *H. contortus*, existuje silná korelace mezi počtem jedinců a ztrátou krve. Dopad infekce na zdravotní stav hostitele tedy do značné míry závisí na příjmu infekčních larev hostitelem, schopnosti hostitele vypudit díky imunitnímu systému larvy z těla a schopnosti nahradit úbytek krve (Besier et al. 2016). Hematofágní hlístice *A. sidemi* je pro své hostitele také velmi patogenní, histopatologické vyšetření tkáně vykazují infiltraci zánětlivých buněk ve stěnách slezu a duodena, zejména lymfoidních buněk a eozinofilů, edém, slizniční léze a proliferace lymfatických folikulů, a to při různých intenzitách infekce (Osińska et al. 2010). Hematofágní hlístice pozrou spolu s červenými krvinkami také plazmu. Ztráta plazmových proteinů může být příčinou vzniku zánětlivých lézí v trávicím traktu a pokles koncentrace proteinů v plazmě obvykle vede k výskytu submandibulárního edému, často spojovaného s klinickou haemonchózou (Sutherland & Scott 2010).

### 2.2.2 Tenké a tlusté střevo

Většinu GI hlístic parazitujících v tenkém střevě nalezneme v jeho první části (prvních 3–6 metrů), duodenu a v přední části jejunu. Je typické, že patologické změny způsobené přítomností parazitů se omezují na parazitovanou část trávicí soustavy. Patogenní efekt působení parazitů v tenkém střevě je obdobný u celé řady hlístic a obecně zahrnuje atrofii klků, které mohou být někdy zakrnělé, jiného tvaru nebo i zcela chybí, v kombinaci s hyperplazií Lieberkühnových žláz. Současně je obvykle zvýšena celularita lamina propria důsledkem infiltrace mukózy buňkami imunitního systému. Při těžkých infekcích, např. hlísticemi rodu *Trichostrongylus*, se mohou vyskytnout kromě úplné ztráty klků také oblasti eroze reziduálního epitelu, *T. vitrinus* způsobuje závažnější léze (Sutherland & Scott 2010). Může také docházet k neorganizované myoelektrické aktivitě střev, s následky na střevní peristaltiku a průchod chymu. Průchod chymu trávicím traktem je zkrácený a dochází k narušení délky kontaktu střevního obsahu a absorpční sliznice. Velikost těchto strukturálních a funkčních změn souvisí s intenzitou infekce (Hoste 2001).

Paraziti nacházející se v tlustém střevě preferují cékum a proximální část tlustého střeva. Přítomnost parazitů je obvykle doprovázena zánětem sliznice nebo změnami mukózy, které jsou obdobné, jako ve slezu, doprovázené hyperplazií epitelálních buněk.



Patogenní efekt hlístic tlustého střeva má poměrně závažné projevy. Například *Chabertia ovina* může působit na hostitele jako větší patogen, než je tomu u druhů hlístic tenkého střeva. Stejně tak výskyt larev rodu *Oesophagostomum* je spojován s poškozením a záněty různé intenzity, poškození sliznice může umožnit průnik bakterií do tkání (Sutherland & Scott 2010).

### **2.3 Patologie infekcí vyvolaných plicními hlísticemi**

Patogenní působení plicnivek je závislé na jejich lokalizaci v dýchacím traktu, počtu pozřených infekčních larev, imunitě hostitele, výživě a věku zvířat. V průdušnici a průduškách parazituje *Dictyocaulus filaria*, jejichž vajíčka, larvy a vznikající debris negativně ovlivňují značnou plochu plicní tkáně. Dospělci *Protostrongylus rufescens* parazitují zejména v průduškách a *Muellerius capillaris* v plicním parenchymu (Adem 2016). Infekce *M. capillaris* způsobují nodulární léze, ale může dojít i k tvorbě difúzních lézí. Během primární infekce byly pozorovány slabé buněčné reakce, leukofílie v bronchoalveolárních oblastech se projevila již 2 týdny po infekci a znovu po 7–9 týdnech (Panuska 2006). Difúzní léze plicního parenchymu zhoršují výměnu plicních plynů, zejména u starších zvířat (Paraud et al. 2005). Závažnější jsou reakce tkání u sekundárních infekcí, kdy dochází k hyperplazii buněk a tvorbě granulomů okolo parazita. V plicní tkáni se vytvářejí dva typy nodulů, větší noduly obsahují dospělé plicnivky a larvy prvního stádia (nejsou kalcifikované), menší noduly obsahující nezralé plicnivky či pozůstatky dospělců a tyto mohou být kalcifikovány (Panuska 2006). V akutních případech mohou nastat morfologické změny včetně rozšíření plic v důsledku edému a emfyzému. Dochází k hemoragické bronchitidě s množstvím tekutiny v dýchacích cestách společně s dilatací mizních uzlin. Charakteristické jsou také eozinofilní infiltrace, zesílený bronchiální epitel a bronchioly zaplněné exudáty (Adem 2016).

### **2.4 Epizootologie parazitárních infekcí**

Přežvýkavci se během pastvy infikují GI hlísticemi pozřením infekčních larev přítomných na porostu. Vzhledem k tomu, že denní příjem potravy na pastvě je u přežvýkavců poměrně konstantní, denní příjem infekčních larev spolu s potravou bude úměrný koncentraci infekčních larev na porostu (Barger 1999). Všechna vývojová stádia GI hlístic, která se vyvíjejí ve venkovním prostředí, tedy od vajíček až po infekční larvy, jsou zásadním způsobem ovlivněna lokálním klimatem a také mikroklimatem na pastvině. Teplota má zásadní vliv na rychlost vývoje a přežití volně žijících stádií GI hlístic, vlhkost

zabraňuje vyschnutí larev a umožňuje jejich migraci po porostu (Torres-Acosta & Hoste 2008).

Porozumění vlivu vlhkosti na migraci infekčních larev může pomoci předpovědět míru rizika, které představují vyvinuté larvy na porostu pro své hostitele. Distribuci larev ovlivňuje, kromě srážek také mlha nebo rosa. Dešťové kapky mohou pomoci přenést larvy z výkalu. Infekční larvy využívají povrchového napětí vody k migraci. Je tedy zřejmé, že migrace larev z výkalů a po porostu probíhá pomocí vlhkosti či vody například po dešti nebo brzy ráno, když je porost vlhký od rosy. Naopak, pokud je v průběhu dne porost suchý, je migrace larev značně omezená a snižuje se tak jejich dostupnost pro hostitele. Je také potřeba vzít v úvahu přirozenou vlhkost výkalů, která umožňuje vývoj larev až do stádia L<sub>3</sub> (van Dijk & Morgan 2011). Hustota a výška vegetace na pastvině vytvářejí lokální mikroklima a ovlivňují vývoj larev na pastvině. Hustý a splývavý porost vytvářejí chladnější mikroklima a chrání larvy před slunečním zářením. Vzhledem k těmto faktorům ovlivňujícím vývojové cykly, širokému druhovému spektru GI hlístic přítomných na pastvině a vzhledem k tomu, že se tyto faktory v závislosti na místě a čase liší, je obtížné předpovědět infekční zatížení pastvin (Torres-Acosta & Hoste 2008). Kromě teploty a vlhkosti jsou důležité i další faktory ovlivňující volně žijící stádia, např. zvýšená úmrtnost následkem teplotních výkyvů a také sluneční záření. Citlivost volně žijících stádií na ultrafialové (UV) záření se může lišit v průběhu životního cyklu, nicméně přirozená úroveň UV záření zvyšuje úmrtnost infekčních larev hlístic (van Dijk et al. 2009).

Larvy, které přezimovaly na pastvině a také larvy, které se vyvinuly z vajíček produkovaných hlísticemi aktivními po ukončení hypobiózy jsou hlavním zdrojem infekce pro malé přežvýkavce na začátku jara, kdy v ČR začíná pastevní sezóna, (Houdijk et al. 2012). Tyto faktory spolu s PPRI způsobují v jarním období zvýšené vylučování vajíček hlístic samicemi malých přežvýkavců, a tím zvýšenou kontaminaci pastviny, což má vliv na infekci mláďat, která jsou prvním rokem na pastvině a nemají ještě vyvinutou imunitu proti infekcím GI hlísticemi (Houdijk 2008; Sutherland & Scott 2010). Klinické onemocnění se u malých přežvýkavců obvykle vyskytuje v době, kdy jsou infekční larvy nejvíce dostupné pro pasoucí se zvířata nebo krátce po ní (Barger 1999).

V tropických a subtropických oblastech přežívají infekční larvy poměrně krátce, od 1 do 3 měsíců. V podmínkách mírného klimatu je dle druhu hlístice průměrná doba přežití infekční larvy v rozmezí od 6 do 12/18 měsíců. Infekční larva je oproti prvnímu a druhému vývojovému stádiu poměrně odolná na vyschnutí a mráz (Torres-Acosta & Hoste 2008). GI hlístice si vyvinuly vlastní adaptační strategie pro přežití nepříznivých podmínek. Zásadním mechanismem ovlivňujícím epizootologii parazitární gastroenteritidy je schopnost

hypobiózy, která se vyskytuje v určité části vývoje trichostrongylidních hlístic. Hypobióza je schopnost pozastavit endogenní vývoj v hostiteli po dobu nepříznivých podmínek vnějšího prostředí. Jestliže nastanou nepříznivé podmínky pro vývoj hlístic, např. chladnější počasí, pozastaví larvy (zejména časného L<sub>4</sub> stádia) svůj další vývoj, což označujeme jako zimní hypobiózu, charakteristickou pro oblasti s aktivitou hlístic od jara do podzimu. Zimní hypobióza přetrvává do klimaticky příznivějšího období - následujícího jara, kdy opět pokračují ve svém vývoji. Vyvinou se v dospělé, spáří se a samice produkují vajíčka. Infekční larvy mají v tomto příznivém období vhodnější podmínky k přežití na pastvině. V oblastech, kde se střídá období sucha a období dešťů, např. v Austrálii, nastává tzv. letní hypobióza během suchého období. Tehdy jsou hlístice aktivní od podzimu do jara, kdy nastávají pro jejich vývoj vhodnější podmínky (Lee 2002).

Některé druhy hlístic reagují na teplotu vnějšího prostředí odlišně. Tyto rozdílné reakce jsou odrazem klimatických podmínek oblastí, na které jsou tyto druhy hlístic nejlépe adaptovány. Larvy *T. circumcincta* se vyvíjejí při nižších teplotách než *T. colubriformis* a oba druhy hlístic se vyvíjejí při nižších teplotách, než *H. contortus*. Schopnost vajíček odolávat chladným teplotám je zřejmě omezena zeměpisnou šířkou nebo mikroklimatem, v nichž je každý druh hlístic endemický. Vajíčka *T. circumcincta* mají schopnost se vyvíjet i po expozici chladu, který devitalizuje vajíčka *H. contortus* preferující teplejší a vlhčí klima. Vajíčka *H. contortus* jsou nejvíce intolerantní fází životního cyklu tohoto parazita s životaschopností klesající na nulu po týdnu ve výkalech při expozici teplotě 4 °C (Sutherland & Scott 2010). Ačkoli *H. contortus* preferuje spíše teplé a vlhké podmínky prostředí a jeho výskyt je obzvláště vysoký v tropických klimatických oblastech obou hemisfér, dokáže být pozoruhodně adaptabilní k různým podmínkám prostředí. A to zejména díky svému vysokému biotickému potenciálu, který mu umožňuje využít krátká období příznivá pro vývoj volně žijících stádií a díky hypobióze (Besier et al. 2016).

Optimální teplota pro vývoj infekčních larev *T. circumcincta* je 23 °C, přičemž rozhraní teplot je 16–30 °C. Optimální teplota pro vývoj infekční larvy *T. colubriformis* je 25–28 °C, s rozhraním teplot 22–33 °C. Oproti tomu hlístice rodu *Nematodirus* procházejí vývojem do L<sub>3</sub> uvnitř vajíčka s optimální teplotou pro líhnutí v rozmezí 11–13 °C, což je výrazně nižší než u ostatních druhů GI hlístic (Sutherland & Scott 2010).

Epizootologie infekcí vyvolaných plicnivkami je, na rozdíl od trichostrongylidních hlístic, ovlivněna přítomností měkkýše jako mezihostitele, s výjimkou plicnivek rodu *Dictyocaulus*. Kontaminace pastviny plicnivkami souvisí s dešťovými srážkami, které stimulují činnost jak larev, tak mezihostitelů. Vlhkost je pro přežití a vývoj larev nezbytná. Larvy jsou aktivní při teplotě 10–21 °C a při optimálních podmínkách mohou přežít i více

než rok (Adem 2016). Dlouhodobé přežívání plicnívek v hostiteli způsobuje opakovanou a dlouhodobou kontaminaci pastviny larvami L<sub>1</sub>, četnost infekcí definitivního hostitele závisí na přežití larev na pastvinách, na jejich schopnosti infikovat mezihostitele a zejména na samotné přítomnosti mezihostitele. Plž obsahující infekční larvy plicnívek zůstává infekční po celý svůj život, a tím zvyšuje možnost nákazy pasoucím se zvířetem (Panuska 2006). Larvy plicnívek rodu *Dictyocaulus* se vyvíjejí ve vnějším prostředí, bez využití mezihostitele. Rychlost vývoje larev do infekčního stádia L<sub>3</sub> je ovlivněna vlhkostí a teplotou vnějšího prostředí. Při vhodných podmínkách (18–21 °C) může být tento vývoj dokončen za méně než týden. Naopak v chladném počasí je jejich vývoj pozastaven, ale mohou přežít i při teplotě 4,5 °C po dobu až jednoho roku (Haigh et al. 2002).

## **2.5 Potlačování výskytu parazitických hlístic**

Ačkoli existuje celá řada strategií na potlačování výskytu gastrointestinálních hlístic, po celá desetiletí jsou nejhodněji používány aplikace anthelmintik a management pastvy (Sutherland & Scott 2010).

### **2.5.1 Management pastvy**

Metody založené na strategii řízení pastvy mají za cíl vytvoření pastvin, které jsou pro zvířata minimálně infekční. Toho lze dosáhnout snížením hustoty larev v porostu s využitím jejich přirozené úmrtnosti, tzv. rozptýlením v prostoru a čase (Torres-Acosta & Hoste 2008). Rozptýlení v prostoru je pro všechny druhy organismů důležité. Populace omezená na malou oblast je v případě nepříznivých podmínek ohrožena vyhynutím (Rohde 2001). GI hlístice nejsou rovnoměrně rozptýleny mezi jednotlivými zvířaty v rámci stáda. Malá část zvířat (zhruba 10 %) vylučuje velké množství vajíček GI hlístic, mají tzv. vysoké FEC, větší část zvířat vylučuje střední až nižší počet vajíček. Ne všechna zvířata jsou tedy stejným zdrojem infekce pro pastvinu (Houdijk et al. 2012).

V minulosti bylo doporučováno preventivní opatření, tzv. „dose and move“, kdy byla zvířata po aplikaci anthelmintik přesunuta na pastvinu, která není kontaminována infekčními larvami neboli čistou pastvinu. Za čistou pastvinu je v geografických podmínkách střední Evropy považována taková pastvina, na které se malí přežvýkavci nepásli déle než 6 měsíců nebo se na ní nikdy nevyskytovali. Toto opatření je založeno na předpokladu, že zvířata jsou po aplikaci anthelmintik prosta GI hlístic a přesunem na pastvinu, která není infekční, dojde k minimalizaci reinfekce pasoucím se zvířetem (Cabaret et al. 2002). Ačkoli byl tento předpoklad správný, v současné době není považován za efektivní, a to zejména z důvodu

rizika vzniku rezistence na anthelmintika. Pokud je v chovu přítomna rezistence na používaná anthelmintika, po aplikaci zvířata kontaminují pastvinu rezistentními hlísticemi, které léčbu přežily. Další zvířata ve stádě se následně infikují těmito rezistentními hlísticemi. V současné době je doporučováno přesunout zvířata na pastvinu, která je v malé míře kontaminována hlísticemi. V případě rezistence v chovu tak dojde k páření rezistentních parazitů s těmi citlivými a tím postupně k částečnému rozptýlení rezistentních genů v rámci populace hlístic (Kenyon et al. 2009). V této souvislosti jsou důležitá tzv. refugia neboli podíl parazitů, kteří nebyli vystaveny kontrolním opatřením, a tak unikli selekci na rezistenci. V případě gastrointestinálních hlístic se jedná především o volně žijící stádia na pastvinách a o hlístice, které nepřišly do styku s léčivem. Velikost této populace v refugiu má přímý vliv na selekci pro rezistenci (van Wyk 2001).

Další využívanou strategií je alternativní pastva, která je založena na faktu, že většina hlístic každého hostitelského druhu není dostatečně adaptována na alternativního hostitele. Pokud alternativní hostitel pozře s pastvou infekční larvu, bude při pasáži GI traktem devitalizována. Výjimkou je *Trichostrongylus axei*, který má široké spektrum hostitelů, a kromě přežvýkavců napadá i koně (Zajac 2006). Velmi častá, ale zcela nevhodná je společná pastva ovcí a koz, kteří hostí obdobnou škálu GI hlístic, které vyvolávají podobné patologické změny jak u koz, tak u ovcí (Hoste et al. 2008). Kozy mají tendenci zadržovat větší populace hlístic (Edwards et al. 2008) a intenzita infekce GI hlístic je u nich vyšší v porovnání s ovcemi (Hoste et al. 2010). Kozy jsou v porovnání s ovcemi významnějším rezervoárem parazitárních infekcí, což vede k vyššímu infekčnímu zatížení pastviny. Při společné pastvě koz s ovcemi se mohou ovce snadno infikovat GI hlísticemi od koz (Edwards et al. 2008). Díky rozličnému evolučnímu procesu se u koz vyvinula rozdílná strategie regulace infekcí GI parazity než u ovcí. Tato strategie je u koz založená na specifickém potravním chování. Na rozdíl od ovcí kozy nespásají celý porost včetně přízemní vrstvy, ale zaměřují se na střední a terminální části rostlin a porostů (Hoste et al. 2008). Tento rozdíl v potravním chování vedl u koz ke zvýšenému kontaktu se sekundárními metabolity rostlin a ke sníženému kontaktu s infekčními larvami. Dle Hoste et al. (2011) lze tímto potravním chováním vysvětlit sníženou schopnost koz vyvinout imunitní reakci proti GI hlísticím. Kozy se na rozdíl od ovcí nespolehají na vývoj imunitní reakce proti infekcím GI hlísticemi. Strategií koz je investovat méně živin do vyvolání imunitní reakce a tyto živiny využít ke zvýšení odolnosti a obranyschopnosti (Hoste et al. 2008). Možnosti tlumení infekcí GI hlísticemi jsou u koz, vzhledem k jejich náchylnosti k těmto infekcím, omezeny na snížení expozice infekčním larvám, což by znamenalo omezení pastvy nebo snížení intenzity chovu. Další možností jsou anthelmintická ošetření, což může vyústit ve sníženou

účinnost nebo rezistenci na používaná léčiva, protože kozy jsou vystaveny většímu počtu ošetření anthelmintiky v průběhu jejich života, v porovnání s ovci. Chceme-li v chovu eliminovat infekce způsobené GI hlísticemi a zabránit případnému šíření rezistentních kmenů hlístic, je nezbytné, aby proces potlačování výskytu parazitů ve stádech probíhal pod veterinárním dohledem, ideálně jako součást plánovaného managementu zdraví stáda, zahrnující rovněž pravidelné přezkoumání účinnosti zavedených kontrolních opatření (Edwards et al. 2008).

### 2.5.2 Anthelmintika

Anthelmintika jsou chemické látky účinně eliminující parazity v trávicím traktu nebo bránící vývoji již pozřených infekčních larev. Navzdory významnému vlivu hlístic na chov malých přežvýkavců nebylo v posledních padesáti letech objeveno a uvedeno na trh mnoho úspěšných širokospektrých skupin anthelmintik určených pro použití u přežvýkavců (Sutherland & Scott 2010). Pro eliminaci GI hlístic u malých přežvýkavců jsou v současnosti nejvíce využívány tyto skupiny anthelmintik: benzimidazoly, makrocyclické laktony, imidazothiazoly/tetrahydropyrimidiny, acetonitrilové deriváty (Silvestre et al. 2002) a spiroindoly (Little et al. 2010). Vzhledem k tomu, že kozy metabolizují anthelmintika rychleji než ovce, je doporučováno podávat kozám vyšší dávky anthelmintik v porovnání s ovci a tím předejít poddávkování, což má za následek sníženou účinnost podaných léčiv, a také vznik rezistence (Hoste et al. 2010). Coles (1997) doporučuje pro dosažení podobné účinnosti anthelmintik jako u ovcí, podávat kozám benzimidazoly ve dvojnásobné dávce, 1,5× vyšší dávky ivermektinů a 1,6× vyšší dávky levamizolu. V literatuře však existují rozdílné názory na vhodnou dávku ivermektinů u koz, někteří autoři uvádějí dávku ivermektinu kozám až 2× vyšší (Edwards et al. 2008).

Mechanismus účinku benzimidazolů (např. fenbendazol, albendazol, mebendazol, oxfendazol, flubendazol, triklabendazol) spočívá v narušení vazby  $\beta$ -tubulinu hlístice, což má za následek inhibici polymerace mikrotubulů. Tyto mikrotubuly jsou nezbytné pro přepravu sekrečních granulí a enzymů v cytoplazmě a jejich ztráta narušuje buněčnou integritu, následně dojde k buněčné smrti (Sangster & Dobson 2002). Na základě poznatků farmakokinetiky benzimidazolů se u malých přežvýkavců doporučuje zvíře lačnit 12–24 hodin před aplikací pro dosažení pomalejšího průchodu látky trávicím traktem a tím zlepšení vstřebávání přípravku (Torres-Acosta & Hoste 2008).

Skupina imidazothiazolových/tetrahydropyrimidinových anthelmintik, do které je řazen i levamizol představují cholinergní agonisty se selektivní farmakologií pro synaptické

a extrasynaptické acetylcholinové receptory hlístic. Napodobují působení excitačního neurotransmiteru acetylcholinu a způsobují spastické kontrakce hlístic (Sangster & Dobson 2002). Ačkoli je levamizol chemicky jiná látka než pyrantel a morantel, jejich mechanismus účinku je shodný (Zajac 2006). Farmakokinetika levamizolu se u koz a ovcí liší. Poločas rozpadu levamizolu u koz je 222 minut, většina léčiva (55 %) je vylučována močí a 30 % odchází s výkaly. Méně než 1 % z celkové dávky je vyloučeno do mléka (Smith & Sherman 2009).

Makrocyclické laktony (ivermektin, abamektin, doramektin, eprinomektin, moxidektin) jsou extrémně účinnou skupinou anthelmintik s účinkem proti hlísticím a členovcům (Zajac 2006). Mechanismus účinku těchto léčiv je popisován jako receptory zprostředkovaná potenciace glutamátové brány chloridových kanálů, což má vliv na svaly hltanu a somatické svalstvo. Tento mechanismus vede k neschopnosti pohybu i příjmu potravy následkem trvalého ochrnutí hltanu (Sangster & Dobson 2002). Farmakokinetika makrocyclických laktonů je značně variabilní. Ivermektin podávaný perorálně dosahuje vrcholu v plazmě během 24 hodin a poločas rozpadu trvá přibližně 2,7 dne. Podávání ivermektinu jiným způsobem, např. subkutánně, lokálně nebo jako bolus s postupným uvolňováním významně prodlužuje dobu do koncentrace v plazmě i poločas rozpadu. Eprinomektin má prodloužený poločas rozpadu a nezanechává rezidua v mléce. Moxidectin podávaný perorálně dosahuje rychle koncentrace v plazmě, ale poté následuje relativně dlouhý poločas rozpadu (Sutherland & Scott 2010).

Poměrně mladou skupinou anthelmintik jsou amino-acetonitrilové sloučeniny (AAD). AAD jsou nízkomolekulární prebiotické sloučeniny vzniklé alkyací fenolů s chloracetonem. Ze všech derivátů AAD, které byly testovány, byl pouze u monepantelu zjištěn anthelmintický efekt. Monepantel byl uveden na trh v roce 2009 pod názvem Zolvix<sup>®</sup> (Kaminski et al. 2011). Mechanismus účinku monepantelu spočívá v navázání na receptory hlístic, což způsobí jejich paralýzu. Dostupné informace o farmakokinetice monepanthelu ukazují, že po perorální aplikaci se dostává rychle do plazmy a poté během 2 dnů následuje rychlý pokles plazmatické hladiny, poločas rozpadu v plazmě je uváděn v délce 215 hodin (Kaminsky et al. 2008; Sutherland & Scott 2010). Monepantel je vysoce účinný proti GI hlísticím, včetně těch rezistentních na makrocyclické laktony (Kaminski et al. 2011).

Nová skupina anthelmintik spironoidů zahrnuje přírodní produkty se známou anthelmintickou aktivitou např. paraherquamid nebo derquantel. Derquantel a další spiroindolová anthelmintika jsou nikotinovými cholinergními antagonisty, které blokují kationové kanály v membránách svalových buněk hlístic (Little et al. 2011). Derquantel byl poprvé představen na trhu v roce 2010 pod názvem Startect<sup>®</sup> (Kaminski et al. 2011). Byl

vyvinut jako perorální anthelmintikum pro ovce v kombinaci s abamektinem. Tato kombinace zajišťuje široké spektrum účinku (Little et al. 2011).

### 2.5.3 Rezistence na anthelmintika

Od uvedení širokospektrálních anthelmintik na trh byla tato léčiva hlavním nástrojem potlačování GI hlístic v chovech přežvýkavců (Sangster & Dobson 2002). Moderní širokospektrální anthelmintika jsou široce používána při profylaxi a léčbě nematodóz u hospodářských zvířat. Problém se vznikem rezistence vůči chemoterapeutickým preparátům postupně rostl od ojedinělého výskytu počátkem šedesátých let až do současnosti, kdy rezistence ohrožuje udržitelnost zemědělské výroby. V současné době byla rezistence zaznamenána u většiny komerčně dostupných skupin anthelmintik. Dalším problémem je tzv. multirezistence, kdy dochází ke ztrátě citlivosti vůči několika účinným látkám současně (Várady et al. 2011).

Rezistence je definována jako stav, kdy je v populaci parazitů vysoký počet jedinců, kteří tolerují dávku léčiva jinak účinnou pro vnímavou část populace parazitů (Prichard et al. 1980). Rezistence je geneticky dědičná vlastnost, rezistentní paraziti nesou alelu pro rezistenci a tu předávají svým potomkům. Návrat k původní citlivosti na léčivo je problematický a pomalý. Pravděpodobně proto, že rezistentní geny přetrvávají v populacích parazitů po mnoho generací (Sangster & Dobson 2002).

Terapeutická účinnost anthelmintik je důležitým faktorem, který ovlivňuje rychlost vývoje rezistence. Léčivo s vysokou účinností podstatně zrychluje vývoj rezistence ve srovnání s těmi s nízkou účinností proti parazitům. U některých anthelmintik může prodloužení doby vystavení parazita šoku z léčiva zvýšit účinnost. Ale anthelmintika s dlouhou perzistencí poločasu rozpadu mohou také urychlit vývoj rezistence. Čím nižší je účinnost proti pozřeným rezistentním larvám, tím vyšší bude akumulace rezistentních jedinců a tím bude rychlejší vývoj rezistence (Sutherland et al. 2003). Aby bylo léčivo účinné je potřeba aplikovat správnou dávku, což může být někdy problematické. Zejména v případech, kdy je hmotnost zvířete pouze odhadována. V takových případech dochází k tzv. poddávkování. Pokud jsou paraziti opakovaně vystaveni nižší než doporučené (terapeutické) dávce, dochází k zvýšenému riziku vzniku rezistence na aplikované léčivo (Sangster & Dobson 2002; Torres-Acosta & Hoste 2008).

Vznik rezistence v chovu ovlivňuje mnoho faktorů, mezi nejvýznamnější patří dlouhodobé a nadměrné používání anthelmintik. Variabilita v době expozice parazita aplikovanému léčivu, obzvláště při poddávkování, které je způsobené zejména při tzv.



aplikaci „pour on“ by mohla vést ke zvýšení selekčního tlaku. Dalším faktorem je nedostatečná populace nerezistentních kmenů hlístic v refugích v období aplikace anthelmintika, neboť refugia přispívají k udržení alel citlivých na anthelmintika v populaci parazitů. Refugia jsou klíčovou složkou trvale udržitelného léčebného programu, omezují selekční tlak a tím zpomalují vznik rezistentní populace (van Wyk 2001; Paraud & Chartier 2012). Častá aplikace anthelmintik v průběhu roku, stejně jako zkrácené intervaly mezi jednotlivými aplikacemi urychlují rozvoj rezistence. Následkem zkráceného intervalu aplikace léčiva dochází ke snížení počtu vylučovaných vajíček samicemi hlístic vnímavých na dané léčivo. Vylučovaná vajíčka tedy pocházejí převážně od samic, u kterých je již rozvinuta rezistence (Abbot et al. 2012). Dalším důležitým faktorem je karanténa, riziko zavlečení rezistentních parazitů do chovu při nákupu nového zvířete je vysoká. Rozvoj rezistence ovlivňuje i mnoho faktorů spojených s biologií a epizootologií parazitů, lokálními klimatickými podmínkami, se způsobem aplikace anthelmintik, přirozenou frekvencí rezistentních genů v neselektovaných populacích (Paraud & Chartier 2012). Sníženou účinnost anthelmintik může způsobit i chybné skladování, poškozené dávkovací zařízení nebo expirace preparátu (Torres-Acosta & Hoste 2008).

#### **2.5.4 Nutraceutika**

V současné době dochází ke zvýšení zájmu o tradiční medicínu. Tento zájem se zakládá na myšlence, že vše přírodní je prospěšné. Ve společnosti rostou obavy z reziduí v potravinářských výrobcích, následkem nadužívání moderních syntetických preparátů (Waller et al. 2001).

Rostliny jsou využívány jako fytotherapeutická léčiva nebo bylinné přípravky a jejich užívání je založeno na dlouhých etno-veterinárních či etno-medicínských tradicích napříč všemi kontinenty. V posledních 20 letech se však ve veterinární vědě a helmintologii objevila nová koncepce tzv. nutraceutických rostlin (rostliny kombinující pozitivní účinky jak na výživu zvířat, tak i na jejich zdraví) pro zlepšení potlačování parazitů hospodářských zvířat. Pojem nutraceutika vychází ze slova „nutrition“ a „pharmaceutical“ někdy také popisované jako „funkční potravina“. Nutraceutikem nazýváme jakoukoli látku, která by mohla být považována za potravinu nebo její část, která má příznivé účinky na zdraví, včetně prevence a léčby. Pro veterinární účely můžeme nutraceutika definovat jako krmivo pro hospodářská zvířata, které kombinuje nutriční hodnotu s příznivými účinky na zdraví zvířat. Na rozdíl od farmaceutických léků nejsou nutraceutika syntetické sloučeniny určené pro specifické účely. Určitou subkategorií nutraceutik jsou rostlinné produkty (Hoste et al.

2015), které produkují biologicky aktivní látky s anthelmintickým účinkem a které jsou vhodnou alternativou chemických anthelmintik (Sutherland & Scott 2010).

Aby mohla být určitá látka označena jako anthelmintikum, musí vykazovat vysokou efektivitu (95 % a více) při eliminaci parazitárního zatížení nebo musí zabránit vzniku parazitóz při pozření infekčních larev. Žádné tradiční přípravky založené na rostlinné bázi dosud tohoto standardu nedosáhly. Ve snaze prokázat efektivitu v eliminaci parazitů u hospodářských zvířat byly používány různé části rostlin, ale daleko větší počet studií se zaměřuje na surové nebo rafinované rostlinné extrakty. To pravděpodobně vyplývá z pokusů využívajících farmakologického účinku koncentrace specifických sloučenin, které jsou obsaženy v celých rostlinách (Sutherland & Scott 2010).

V současnosti jsou známy biologicky aktivní látky, které mají negativní vliv na hlístice, např. tetrahydrofurany, mastné kyseliny, alkaloidy, terpeny, saponiny (Rochfort et al. 2008), polyfenoly, bylinné extrakty s obsahem tříslovin neboli taninů a éterických olejů (Váradyová et al. 2017). Mnoho studií již prokázalo účinnost rostlin s vysokým obsahem kondenzovaných tříslovin, které zlepšují imunitní reakci hostitele díky jejich schopnosti vázat bílkoviny. Působením nízkého pH ve slezu, se proteinové komplexy tříslovin oddělí od proteinů, a do tenkého střeva projde větší množství aminokyselin a peptidů, kde jsou absorbovány. Kondenzované třísloviny snižují ruminální degradaci bílkovin (Torres-Acosta & Hoste 2008; Hoste et al. 2012) a současně inhibují aktivitu ruminálních mikroorganismů (Rochfort et al. 2008).

Mohlo by se zdát, že přísev rostlin s obsahem bioaktivních látek na pastevní plochy je nejjednodušším způsobem dodání bioaktivních látek zvířatům. Nicméně slabina této metody spočívá zejména v problematické kontrole dávkování pozřené množství těchto bioaktivních látek zvířetem. Příjem kondenzovaných taninů a jejich využití zvířetem se může lišit v závislosti na chemické povaze tříslovin a druhu zvířete, protože mezi přežvýkavci i mezi jednotlivými zvířaty mohou být fyziologické reakce na třísloviny rozdílné. Množství kondenzovaných tříslovin obsažených v rostlinách, a tedy i množství přijaté zvířetem v potravě se mohou vlivem podmínek vnějšího prostředí lišit (Rochfort et al. 2008).

Rozdíl v účinku kondenzovaných taninů mezi přežvýkavci byl zaznamenán při jejich podávání kozám a ovcím. Zatímco u ovcí došlo k snížení parazitárního zatížení, u koz pokles zaznamenán nebyl (Rochfort et al. 2008). Nicméně, dle *in vivo* studií zaměřených na potlačení hlístic u koz se jeví slibně česnek (palice se stroužky), anona šupinatá neboli láhevnik (list), pelyněk bílý (výhonky), kanaválie (semena), papája obecná (semena), merlík vonný (list), kurbaryl obecný (dužina plodů), máta (list) (Githiori et al. 2006). Ale také

pastva s příměsí čekanky či štírovníku růžkatého (Rochfort et al. 2008). Dlouhodobě je také zkoumán účinek lespedězie klínovité, která je podávána zvířatům nejen v čerstvé formě, ale i jako seno či pelety s obsahem sušených listů přidávané do krmení (Gujja et al. 2013). Je třeba poznamenat, že mnohé rostliny s anthelmintickým účinkem nejsou považovány zvířetem za žádoucí složky potravy a jako takové musí být spíše dodávány, což je mnohem jednodušší u extraktu než u celého rostlinného materiálu (Sutherland & Scott 2010). Ačkoli výsledky *in vitro* studií zaměřených na metanolové nebo vodné extrakty bylin se zdají být slibné, existují i studie o rozdílech mezi *in vitro* a *in vivo* aktivitou sekundárních metabolitů rostlin (Athanasiadou & Kyriazakis 2004). Sloučeniny, které jsou účinné v *in vitro* podmínkách často v *in vivo* podmínkách dosahují horších výsledků (Váradyová et al. 2017). Tyto rozdíly v anthelmintické aktivitě mohou souviset s environmentálními, fyziologickými a chemickými rozdíly mezi *in vitro* podmínkami a komplexními podmínkami hostitelského gastrointestinálního traktu (Hoste et al. 2011). I samotné prostředí farmy, kde jsou zvířata infikována několika druhy hlístic současně, oproti *in vitro* podmínkám, kde jsou testovány spíše monoinfekce, hraje důležitou roli v rozdílu mezi *in vitro* a *in vivo* podmínkami (Kyriánová et al. 2018).

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

#### **Vědecké hypotézy:**

1. Systém hospodaření v chovech přežvýkavců a věk zvířat ovlivňují druhové spektrum gastrointestinálních a plicních hlístic.
2. Intenzita parazitární gastroenteritidy a verminózní pneumonie negativně ovlivňují kvalitu i kvantitu produktů infikovaných zvířat.

#### **Cíle práce:**

1. Zjistit prevalenci a druhové složení autochtonních i alochtonních gastrointestinálních hlístic a plicnívek v intenzivních chovech hospodářských i volně žijících přežvýkavců.
2. Porovnat druhové složení gastrointestinálních hlístic a plicnívek v chovech přežvýkavců s různým systémem hospodaření.
3. Vyhodnotit vliv parazitóz na produkci malých přežvýkavců.

## 4. Publikované články

1. **Kyriánová I.A.**, Kopecký O., Šlosárková S., Vadlejch J. 2019. Comparison of internal parasitic fauna in dairy goats at conventional and organic farms in the Czech Republic. *Small Ruminant Research* **175**: 126–132.

2. **Kyriánová I.A.**, Vadlejch J., Kopecký O., Langrová I. 2017. Seasonal dynamics of endoparasitic infections at an organic goat farm and the impact of detected infections on milk production. *Parasitology Research* **116**: 3211–3219.

3. Vadlejch J., **Kyriánová I.A.**, Rylková K., Zikmund M., Langrová I. 2017. Health risks associated with wild animal translocation: a case of the European bison and an alien parasite. *Biological Invasions* **19**: 1121–1125.

4. **Kyriánová, I.A.**, Vadlejch, J., Langrová, I. 2019. Comparison of lungworm infection in a herd of young and dairy goats at an organic farm. *Scientia Agriculturae Bohemica* **50**: 23–28.

Článek č. 1

**Kyriánová I.A.**, Kopecký O., Šlosárková S., Vadlejch J. 2019. Comparison of internal parasitic fauna in dairy goats at conventional and organic farms in the Czech Republic. *Small Ruminant Research* **175**: 126–132.



Contents lists available at ScienceDirect

## Small Ruminant Research

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/smallrumres](http://www.elsevier.com/locate/smallrumres)

## Comparison of internal parasitic fauna in dairy goats at conventional and organic farms in the Czech Republic

I.A. Kyriánová<sup>a</sup>, O. Kopecký<sup>a</sup>, S. Šlosárková<sup>b</sup>, J. Vadlejch<sup>a,\*</sup><sup>a</sup> Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiological, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 00, Prague, Suchbátol, Czech Republic<sup>b</sup> Department of Immunology, Veterinary Research Institute, Hudcova 296/70, 621 00, Brno, Czech Republic

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Goat  
Faecal flotation  
Parasite  
Infection intensity  
Organic farming

## ABSTRACT

This study evaluated the burdens of parasitic protozoans and helminths in dairy goats in two types of farming system in the Czech Republic. We examined nearly 660 faecal samples collected at 14 conventional and 14 organic farms. All farms tested positive for *Eimeria* oocysts and strongyle-type eggs. The output of coccidial oocysts was highest (86 880 oocysts per gramme - OPG) at a conventional farm, whereas the shedding of nematode strongylid eggs was highest (7400 eggs per gramme - EPG) at an organic farm. The intensities of coccidial and strongylid infections, however, did not differ significantly between conventional and organic farms during our survey. *Eimeria arloingi*, *E. alijevi*, and *E. ninakohlyakimovae* were the most prevalent coccidial species. *Trichostrongylus/Teladorsagia* sp. and *Haemonchus contortus* were the most prevalent gastrointestinal nematodes, and *Muellerius capillaris* was the most common lungworm at farms of both types. Eggs of the tapeworm *Moniezia* were also identified, with prevalences of 14% at conventional farms and 43% at farms applying alternative agricultural practices. Intensity of tapeworm infections was significantly higher ( $p = 0.02$ ) at organic farms (maximum EPG of 1580) than conventional farms (maximum EPG of 60). Trematodes were not detected at any of the farms. The intensity of most prevalent endoparasitic infections did not differ significantly between the farm types probably due to their similar practices of grazing management and drenching frequency of anti-parasitic drugs.

## 1. Introduction

Diseases caused by gastrointestinal parasites are considered major threats to the health and welfare of grazing animals worldwide (Kantzoura et al., 2012). Flint and Woolliams (2008) reported that the cost of parasitic diseases in livestock in the United Kingdom (UK) was £1.7 billion annually, which represents 17% of the impact on production in the UK. Gastrointestinal helminths are the most common etiological agents, and coccidians are amongst the 20 most important pathogens, in ruminant livestock (Fitzpatrick, 2013).

Grazing livestock commonly harbour a broad range of nematodes that infect the digestive tract. Such diseases are referred to as parasitic gastroenteritis (PGE), representing the presence of numerous species in the abomasal and enteric compartments (Sutherland and Scott, 2010). PGE severity depends on many factors such as species composition, intensity of infection, fitness and immunity status of the host, climatic conditions, farm and pasture management, and animal nutrition (Kassai, 1999). Low infection intensities are usually only in subclinical

forms, but severe PGE is accompanied by clinical signs such as weight loss and diarrhoea, and for hematophagous nematodes, anaemia and submandibular oedema (Zajac, 2006). Tissue damage and associated protein loss consequently lead to losses in productivity and biological efficiency (Fitzpatrick, 2013). The impact of PGE on animal health and production is also associated with the redirection of host energy and nutrients from production to repairing damage and to the immune system (Charlier et al., 2017, 2014).

Infections in goats caused by lungworms of the family Protostrongylidae are often overlooked. These infections are often inapparent and less pathogenic than infections caused by lungworms of the family Dictyocaulidae (Panuska, 2006). The pathogenic effect may be lower for lungworms than other nematodes, but cases of respiratory distress, chronic bronchopneumonia, and interstitial pneumonia have been reported (Suarez et al., 2014). Muelleriosis is the most common infection in goats worldwide, with clinical symptoms such as failure to thrive, coughing, and dyspnoea (Geurden and Vercruyse, 2007), which lead to nodular or diffuse lesions. Muelleriosis may also cause serious

\* Corresponding author.

E-mail address: [vadlejch@af.czu.cz](mailto:vadlejch@af.czu.cz) (J. Vadlejch).<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.05.003>

Received 15 January 2019; Received in revised form 3 May 2019; Accepted 3 May 2019

Available online 04 May 2019

0921-4488/ © 2019 Published by Elsevier B.V.

**Table 1**

Number of dairy goats raised and examined at surveyed farms and information regarding antiparasitic drugs administered at farms during this study. Other anthelmintic class administered at one conventional farm represent levamisole. Only diclazuril was used at the farms for coccidiosis control.

conventional farms									
farm	animals		anthelmintics					coccidiostats	
	total number	sampled	drenching		drug class			drenching	
			frequency	period	BZ	IVM	other	frequency	period
1.	94	30	2	spring, autumn	×	×		0	
2.	80	30	2	irregularly		×		1	winter/spring
3.	14	14	2	spring, autumn	×	×		0	
4.	23	15	3	1 × spring, 2 × autumn	×			1	winter/spring
5.	186	30	2	spring, autumn	×	×		1	winter/spring
6.	26	13	2	spring, autumn		×		0	
7.	12	10	1	spring	×			1	winter/spring
8.	24	15	2	spring, autumn	×	×		0	
9.	57	27	1	spring		×	×	1	winter/spring
10.	33	27	2	spring, winter	×	×		1	winter/spring
11.	33	27	2	spring, winter				0	
12.	35	16	2	spring, winter	×	×		0	
13.	99	25	1	winter	×			0	
14.	125	20	1	winter		×		1	winter/spring
organic farms									
farm	animals		anthelmintics					coccidiostats	
	total number	sampled	drenching		drug class			drenching	
			frequency	period	BZ	IVM	other	frequency	period
15.	250	30	1	winter	×			0	
16.	94	30	1	winter	×			1	winter/spring
17.	400	40	2	irregularly	×			0	
18.	300	35	0					0	
19.	99	21	2	spring, autumn	×			0	
20.	35	10	0					1	winter/spring
21.	52	30	2	spring, autumn	×			0	
22.	19	10	1	winter	×			0	
23.	65	40	1	autumn	×			0	
24.	28	25	2	spring, autumn	×	×		0	
25.	30	20	2	spring, autumn	×			0	
26.	21	12	2	spring, autumn	×	×		1	winter/spring
27.	44	28	2	spring, autumn	×			0	
28.	70	29	1	summer	×			0	

histopathological changes of lung parenchyma, and the pathological consequences of these infections can persist even several months after parasite elimination (Vadlejch et al., 2016). Nodular or lobular lesions have been observed in goats with primary and secondary infections (Panuska, 2006). Heavy infections in adult dairy goats may have economic consequences due to the failure to thrive and to decreased milk production (Geurden and Vercruyse, 2007).

Coccidiosis caused by intracellular parasites of the genus *Eimeria* is an economically important parasitic infection in small ruminants that contributes to enteric disease, especially in young or stressed animals under poor farm management. Coccidiosis are associated with animal category, insufficient nutrition, poor hygiene, local microclimatic condition on the pasture (Yusof and Isa, 2016), and the interaction of various species of gastrointestinal parasites (Koudela and Boková, 1998). Interactions of coccidial infections with intestinal microflora are amongst the most pathogenic effects of coccidia, consisting of the destruction of intestinal epithelial cells (Chartier and Paraud, 2012). Reports suggest that healthy goats can resist coccidiosis without developing clinical signs. The balance between host and parasite may be disturbed by stress, which can lead to clinical coccidiosis (Cavalcante et al., 2011).

Many factors can affect the occurrence of endoparasites, one of which is the type of farm management. Goats are traditionally kept in conventional farming systems, but the number of organic farms is

steadily increasing due to the increased demand for organic products. Non-invasive and organic farming systems are associated more with intensive animal grazing than with conventional systems. Pasture is the main source of infective larvae of nematodes and other soil parasites, so focusing on these parasites is necessary (Thamsborg et al., 1999).

Organic farming includes visions of sustainable livestock production, animal welfare, and the production of animal-based products for the prevention of disease without the use of chemical treatment. Organic farming restricts the use of anthelmintics (Cabaret et al., 2002). The European Union (EU) has introduced regulations that may differ from the national regulations in each EU member country, e.g. French and Danish regulations are stricter than the EU regulations. Current regulations allow parasitic treatment twice a year in adult goats and three times a year in young goats. Withdrawal time is twice the statutory time, when there is no withdrawal time a minimum 48 h is required (Cabaret et al., 2002; Cabaret, 2003). The national regulations of the Czech Ministry of Agriculture are consistent with the EU regulations (Eagri, 2016).

Information about goat endoparasites in conventional breeding systems in the Czech Republic is limited. More information is needed about organic goat farms in the Czech Republic and Europe. The aims of this study were therefore to: i) determine the occurrence of endoparasites in goats at conventional and organic farms in the Czech Republic and ii) compare the intensities of protozoan and helminth



infections in both types of farming system under the conditions in the Czech Republic. Our study was based on the hypotheses that goats raised at organic farms harbour a wider spectrum of endoparasites and that infection intensities of endoparasites are much higher in organic than conventional systems of goat production.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Farms

We visited 14 conventional and 14 organic goat farms in autumn 2017. Farms were selected based on the following criteria: (i) region of the Czech Republic; (ii) goat breed (White Shorthaired goat only); (iii) dairy farming; (iv) number of animals reared at the farm (at least ten dairy goats per farm). From each region of the Czech Republic (the CR is divided into 14 regions) one organic and one conventional farm was selected. Faecal samples were collected from one conventional and one organic farm in each region. Goats were on pasture from March to November at most farms, except for one conventional farm. At this particular farm long-time pasture management practices were changed to indoor raising. For many years at this farm animals grazed from spring to autumn. In the year of our study, goats were raised indoor; however, they had access to fresh, green fodder twice a day. During lactation and pregnancy, hay or silage and barley, wheat, oats, and vitamins were available to the goats at all the surveyed farms. Anthelmintics and coccidiostats were periodically administered at both farming systems during winter around the kidding period and in spring or autumn. The drug dosage was usually determined by individual body weight or based on the heaviest animal in the herd. The drugs were administered following the manufacturer's recommendation. The animals had not been treated with antiparasitics for at least six months prior to sampling. For detailed information about antiparasitic treatment at surveyed farms see Table 1.

### 2.2. Sampling procedure and parasitological methods

Representative number of adult animals were individually sampled for coprological examination. For more information about number of examined animals see Table 1. Animals were selected randomly. Faeces were collected directly from the rectum and stored in labelled plastic bags at 4 °C until examination. Coccidial and nematode burdens were quantified using the Concentration McMaster method (Roepstorff and Nansen, 1998), with a sensitivity of 20 parasitic elements (oocysts per gramme OPG or eggs per gramme EPG). Faecal samples were also examined for trematodes using the sedimentation method described by Roepstorff and Nansen (1998). Lungworm larvae were recovered using the flask-recovery procedure described by McKenna (1999). The larvae were counted, and infection intensity (larvae per gramme) was determined.

Coccidia oocysts were identified to species based on morphology, and helminth eggs were identified to genus based on morphology, as described by Taylor et al. (1995) and Taylor et al. (2007), respectively. Precise morphological identification of most strongylid eggs to genus is virtually impossible, so we chose to merge these eggs with the strongyle-type nematode (strongylids) group. Pooled faecal samples were incubated for seven days at 27 °C to obtain infective larvae for detailed strongylid identification. Lungworm L<sub>1</sub> larvae and nematode L<sub>3</sub> larvae were identified to genus or species as described by Roger, J and Mayhew (2013). *Trichostrongylus* and *Teladorsagia* were merged into one group (*Trichostrongylus/Teladorsagia*) due to their similar morphology that prevented precise identification.

Prevalence and intensity of infection were evaluated as described by Bush et al. (1997). Prevalence was expressed as the number of hosts infected with one or more individuals of a species (or other taxon) divided by the number of hosts for that species. Intensity of infection was expressed as the number of individuals of a species in an infected host

(i.e. the number of individuals in an infrapopulation).

### 2.3. Statistical analysis

Data were evaluated using STATISTICA (Statistica 12, StatSoft ČR, 2012). The power of a statistical test was estimated before the survey to calculate the effect of sample size. Data normality was assessed by the Shapiro-Wilk test. The data were not normally distributed, so we used a non-parametric Mann-Whitney test to determine the difference in infection intensity between the organic and conventional farms for *Eimeria* sp., strongylids, *M. capillaris*, and *Moniezia* sp. The level of statistical significance was established as  $\alpha = 0.05$ .

## 3. Results

We examined a total of 659 adult White Shorthaired goats for common internal parasites at 14 conventional and 14 organic farms in various regions of the Czech Republic. All farms tested positive for *Eimeria* oocysts and strongyle-type eggs. Herd prevalence of coccidia and strongylid parasites was very high (up to 100%) for both farming systems. Mean intensity of both *Eimeria* and strongylid infections was classified as low, but animals at the conventional farms had extreme OPGs (86 880), and animals at the organic farms had extreme EPGs (7400) (Table 2). None of the animals had clinical signs of parasitic infection. The intensity of these parasitic infections did not differ significantly ( $p = 0.88$ ) between the conventional and organic goat farms.

Only mixed coccidial infections were detected in the animals. *Eimeria arloingi*, *E. alijevi*, and *E. ninakohlyakimovae* oocysts were recovered at most of the farms, but the infection intensities of these coccidial species did not differ significantly ( $p = 0.95$ ) between the two types of farm. *E. caprina* and *E. christenseni* were more prevalent at conventional farms, and *E. hirci*, *E. caprovina*, and *E. jolchijevi* were more prevalent at organic farms. Detailed information about the *Eimeria* species for both types of farming system is shown in Fig. 1.

We found only mixed nematode infections comprising several species of gastrointestinal nematodes, similar to the coccidial infections. *Trichostrongylus/Teladorsagia* species and *Haemonchus contortus* were the most prevalent in both farming systems. *Oesophagostomum columbianum*, *Chabertia ovina*, and *Cooperia* sp. were more prevalent at organic than conventional farms. *Bunostomum trigonocephalum*, though, was more prevalent at conventional farms. A detailed overview of the strongylid species in both farming systems is shown in Fig. 2. *Muellerius capillaris* was the most prevalent lungworm species in both types of farming system (Fig. 3), except the mean intensity of muelleriosis was very low at one conventional farm. *Capillaria* sp., *Nematodirus* sp., and *Trichuris* sp. eggs were also recovered from the faecal samples (Fig. 4). The prevalence of these parasites was significantly lower than the prevalence of PGE causative agents for both farming systems, and the intensities of *Capillaria*, *Nematodirus*, and *Trichuris* infections were very low (maximal EPG 660) compared to strongylid infections.

Eggs of the tapeworm *Moniezia* sp. were also detected in both farming systems, with prevalences of 14% at conventional farms and 43% at organic farms. The intensities of tapeworm infections were significantly higher ( $p = 0.02$ ) at organic than conventional farms (Fig. 5). Maximum EPG was 1580 at organic farms and 60 at conventional farms. The trematode eggs were not identified at any of the farms.

## 4. Discussion

Our study compared the burdens of common parasitic protozoan and helminth infections for goats reared in conventional and alternative farming systems. All surveyed farms tested positive for strongylids and coccidia of the genus *Eimeria*.

Our results for coccidial parasites were consistent with those of other European studies: Vasilková et al. (2004) in Slovakia, Koudela

**Table 2**  
Basic characteristics of infections caused by the most prevalent protozoan and helminth parasite identified at all surveyed conventional and organic farms.

conventional farms		parasite											
number	Prevalence (%)	<i>Eimeria</i> sp.			Strongylids				<i>Muellerius capillaris</i>				
		MIN. OPG	MAX. OPG	Mean	Prevalence (%)	MIN. EPG	MAX. EPG	Mean	Prevalence (%)	MIN. LPG	MAX. LPG	Mean	
1.	90	0	4600	498	97	0	6280	1393	43	0	31413	1060	
2.	63	0	380	51	57	0	460	63	0	0	0	0	
3.	100	100	2880	727	100	460	3000	1399	86	0	50	12	
4.	100	60	2020	432	100	680	2880	1219	73	0	15	1	
5.	100	60	3400	634	100	140	5960	2085	80	0	111	18	
6.	92	0	86 880	8911	100	160	7320	1792	8	0	3	0	
7.	100	120	1260	598	100	160	1240	544	100	1	29	11	
8.	93	0	4460	652	100	40	1580	375	0	0	0	0	
9.	100	40	1760	179	100	160	5120	1430	89	0	73	15	
10.	96	0	1500	277	96	0	3220	910	33	0	16	1	
11.	81	0	6040	444	96	0	4220	696	0	0	0	0	
12.	100	40	1360	421	100	20	1840	849	0	0	0	0	
13.	96	0	83 520	4854	56	0	180	34	0	0	0	0	
14.	95	0	580	168	100	0	1940	568	75	0	13	2	

organic farms		parasite											
number	Prevalence (%)	<i>Eimeria</i> sp.			Strongylids				<i>Muellerius capillaris</i>				
		MIN. OPG	MAX. OPG	Mean	Prevalence (%)	MIN. EPG	MAX. EPG	Mean	Prevalence (%)	MIN. LPG	MAX. LPG	Mean	
15.	90	0	1780	221	97	0	3100	774	13	0	1	0	
16.	87	0	340	95	100	360	4460	1805	83	0	61	6	
17.	91	0	18 440	792	94	0	6100	491	6	0	3	0	
18.	88	0	10 500	720	83	0	1960	398	2	0	0	0	
19.	100	140	4280	609	86	0	1420	343	33	0	33	2	
20.	100	40	220	90	100	140	2820	1520	100	41	61	20	
21.	100	80	5700	635	100	120	2240	905	53	0	38	5	
22.	100	380	10 280	3140	100	800	3840	2498	70	0	83	19	
23.	95	0	37 920	2505	73	0	7400	428	2	0	0	0	
24.	92	0	19 920	905	100	80	2640	1084	50	0	250	15	
25.	100	80	24 880	3769	100	260	4560	1349	80	0	18	4	
26.	100	40	340	182	100	160	980	488	83	0	16	4	
27.	85	0	1140	330	100	240	3400	731	36	0	23	2	
28.	93	0	24 100	1461	96	0	4600	1487	52	0	14	2	

OPG, EPG, LPG – oocyst, eggs and larvae per gram.

and Boková (1998) in the Czech Republic, Balicka-Ramisz (1999) in Poland, and Manfredi et al. (2010) in Italy. All these studies reported high prevalences of coccidial infections. Gorski et al. (2004), however, reported a prevalence of *Eimeria* spp. in Poland of only 44%. Infections caused by *Eimeria* parasites are mainly associated with intensive breeding conditions, poor hygiene, overcrowding, and subsequent

stress of the animals (Chartier and Paraud, 2012). Indoor and/or intensive farming systems provide conditions suitable for the development of coccidians. The high prevalence of *Eimeria* parasites at all farms in our survey could be associated with management practices. All farms (except one conventional farm) represented intensive dairy farms practicing the same grazing management; animals were on pasture

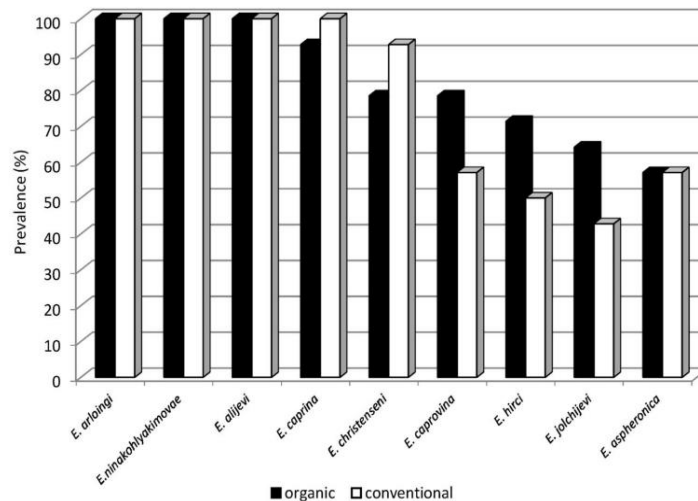


Fig. 1. Prevalence of *Eimeria* species in two farming systems.

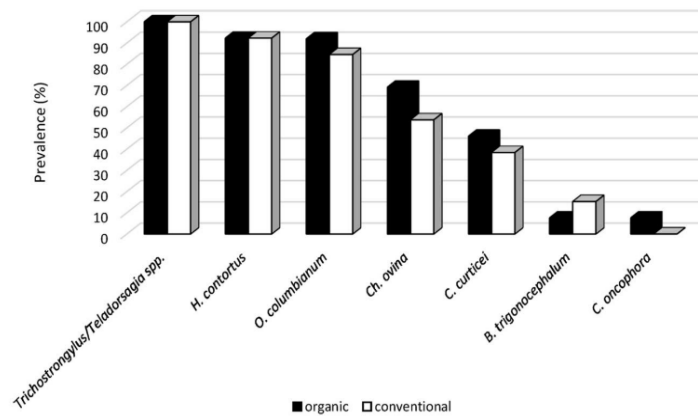


Fig. 2. Prevalence and species composition of gastrointestinal nematodes in two farming systems.

from spring to autumn (grazing season starts in April/May and ends in November/December, depending on the weather). Coccidiostats were not administered to the animals at either the conventional or organic farms during the grazing season and lactation (lactation coincides with the grazing season at most farms).

*E. arloingi*, *E. alijevi*, and *E. ninakohlyakimovae* were the most prevalent coccidial species at both the conventional and organic farms. Andrews (2013) reported that *E. arloingi* was the most common but the least pathogenic coccidian in goats, and *E. ninakohlyakimovae* was the most pathogenic. Mixed infections with non-pathogenic and pathogenic *Eimeria* species are common (Joley and Bardsley, 2006). The species spectrum of coccidians in our study may have been due to the same breeding conditions in both farming systems, which were suitable for their development.

The composition of strongylid species did not differ between the organic and conventional farms. *Trichostrongylus* sp., *Teladorsagia* sp., and *H. contortus* predominated in both farming systems, consistent with the results reported by Hoste and Chartier (1993); Voigt et al. (2016), and Babják et al. (2017). The intestinal species of *Trichostrongylus*, *Teladorsagia*, and *Haemonchus* are amongst the most important nematodes in small ruminants worldwide (Roeder et al., 2013).

Helminth species composition did not differ significantly from other European studies, such as Babják et al. (2017) in Slovakia, Manfredi et al. (2010) in Italy, or Gorski et al. (2004) in Poland. Overall

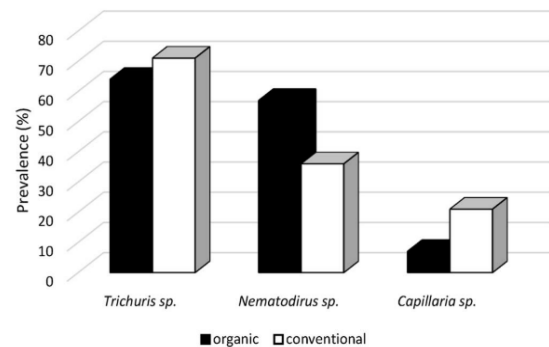


Fig. 4. Prevalence of *Capillaria* sp., *Nematodirus* sp. and *Trichuris* sp. in two farming systems.

prevalences, however, differed mainly in *Moniezia* sp., *Trichuris* sp., and *Nematodirus* sp., which were significantly higher in our study. Helminth prevalence did not differ significantly between the organic and conventional farms in our study, except for *Moniezia* sp. The prevalence of tapeworms was significantly higher at the organic than the conventional farms. These differences could be associated with the class of anthelmintic used. A survey questionnaire conducted amongst farmers

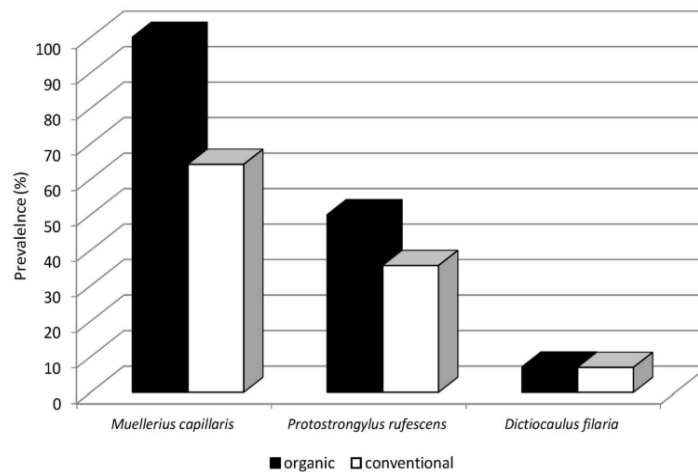


Fig. 3. Prevalence of all lungworms species detected during our survey in two farming systems.

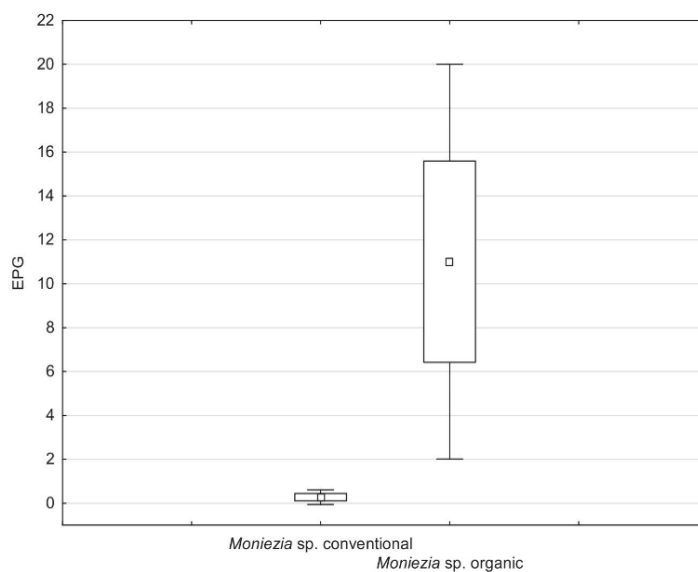


Fig. 5. Comparison of *Moniezia* sp. infection intensity in two farming systems.

indicated that ivermectin drugs were most commonly applied at conventional farms in the Czech Republic. Ivermectin does not affect tapeworms, but residues released in the faeces can have an impact on tapeworm intermediate hosts (oribatid mites) on the pasture (Shoop and Soll, 2002).

*M. capillaris* was the most prevalent species of lungworm. The prevalence of this small lungworm species was 100% at the organic farms and 64% at the conventional farms. Paraud et al. (2005) reported that the prevalence of *M. capillaris* in France ranged from 89 to 95%. In contrast, Voigt et al. (2016) reported lungworm L<sub>1</sub> from pooled faecal samples at 35% of farms in Germany. Differences in the prevalence of small lungworms between these studies and our study may have been due to local climatic conditions, which affect the occurrence of intermediate hosts on pastures. Infection intensity of *M. capillaris* did not differ significantly between the two types of farm.

Data for comparisons of species compositions and intensities of infection at conventional and organic goat farms are lacking. The maximum coccidial oocyst count in our study (86 880 OPG) differed from those in studies by Stadeliené et al. (2014) (above 15 000 OPG) and Vasilková et al. (2004) (7920 OPG). The higher intensities of coccidial infections in our study may have been due to poorer hygienic conditions at the farms. Litter in shelters/stables or food and water in feeders contaminated by faeces can be important sources of infection.

In contrast to oocyst output, the maximum faecal egg output in our survey did not differ from those in other recent reports (Alberti et al., 2012; Voigt et al., 2016). Only Holm et al. (2014) detected a maximum egg output (14 340 EPG) that was higher than in our study. This difference in EPG counts may have been due to differences in the immunity of the animals, pasture management, or method of sample collection. Using pooled samples may lead to inaccurate results (Zajac, 2006; Kyriánová et al., 2017); we collected faecal samples from individual animals. The EPG counts in our study may also have been affected by a lower exposure of the animals to infective larvae on the vegetation. The goats were freely allowed hay or silage (where infective larvae survive less well than on pasture vegetation) in both agricultural systems.

The intensity of helminth infection can be predicted by reduced pressure of anthelmintic treatment on animals at organic farms (Cabaret et al., 2002). Infection intensity in our study did not differ significantly between the conventional and organic farms, apparently

due to the similar both grazing management and the frequency of anthelmintics drenching.

## 5. Conclusions

Our results for the intensities of coccidial and helminth infections and the species spectra of etiological agents of these diseases were consistent with the results from other European studies. Surprisingly, the burdens of the main endoparasites not differ significantly between the conventional and organic farms. This finding could be apparently associated with management practices; grazing management and anthelmintics drenching frequency were similar in the two farming systems. The limited use of anthelmintic drugs in milk-producing animals corresponded to similar parasitic burdens in both types of farming system. The results of this study verified the premise that management practice is an important factor for the spread of parasitic diseases.

## Acknowledgments

This research was supported by the Czech University of Life Sciences Prague Grant Agency No. 20162012 and by the National Agency for Agricultural Research of the Czech Republic, Grant no. QJ1510038. The authors are grateful to Dr. William Blackhall ([www.globalbiologicalediting.com](http://www.globalbiologicalediting.com)) for his proofreading services and farmers for allowing sampling.

## References

- Alberti, E., Zanzani, S., Ferrari, N., Bruni, G., Manfredi, M., 2012. Effects of gastrointestinal nematodes on milk productivity in three dairy goat breeds. *Small Rumin. Res.* 106, 12–17. <https://doi.org/10.1007/s12639-012-0215-z>.
- Andrews, A.H., 2013. Some aspects of coccidiosis in sheep and goats. *Small Rumin. Res.* 110, 93–95. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.11.011>.
- Babják, M., Königová, M., Urda-Dolinská, M., Várady, M., 2017. Gastrointestinal helminth infections of dairy goats in Slovakia. *Helminthologia* 54, 211–217. <https://doi.org/10.1515/helm-2017-0027>.
- Balicka-Ramisz, A., 1999. Studies on coccidiosis in goats in Poland. *Vet. Parasitol.* 81, 347–349. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00258-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00258-1).
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.* 575–583. <https://doi.org/10.2307/3284227>.
- Cabaret, J., 2003. Animal health problems in organic farming: subjective and objective assessments and farmers' actions. *Lives. Prod. Sci.* 80, 99–108. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00309-3](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00309-3).

- Cabaret, J., Bouilhol, M., Mage, Ch, 2002. Managing helminths of ruminants in organic farming. *Vet. Res.* 33, 625–640. <https://doi.org/10.1051/vetres:2002043>.
- Cavalcante, A.C.R., Teixeira, M., Monteiro, J.P., Lopes, C.W.G., 2011. *Eimeria* species in dairy goats in Brazil. *Vet. Parasitol.* 183, 356–358. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.043>.
- Charlier, J., van der Voort, M., Kenyon, F., Skuce, P., Vercruyse, J., 2014. Chasing helminths and their economic impact on farmed ruminants. *Trends Parasitol.* 30 (7), 361–367. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.04.009>.
- Charlier, J., Thamsborg, S.M., Bartley, D.J., Skuce, P.J., Kenyon, F., Geurden, T., Hoste, H., Williams, A.R., Sotiraki, S., Höglund, J., Chartier, C., Geldhof, P., van Dijk, J., Rinaldi, L., Morgan, E.R., von Samson-Himmelstjerna, G., Vercruyse, J., Claerebout, E., 2017. Mind the gaps in research on the control of gastrointestinal nematodes of farmed ruminants and pigs. *Transbound. Emerg. Dis.* 00, 1–18. <https://doi.org/10.1111/tbed.12707>.
- Chartier, Ch, Paraud, C., 2012. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. *Small Rumin. Res.* 103, 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.10.022>.
- Eagri, 2016. MZE ČR - Metodické pokyny pro ekologické zemědělství. (Accessed 14 November 2018). [http://eagri.cz/public/web/file/533392/Metodicke\\_pokyny\\_brozura.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/533392/Metodicke_pokyny_brozura.pdf).
- Fitzpatrick, J.L., 2013. Global food security: the impact of veterinary parasites and parasitologist. *Vet. Parasitol.* 195, 233–248. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.005>.
- Flint, A.P.F., Woolliams, J.A., 2008. Precision animal breeding. *Phil. Trans.* 363, 573–590. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2171>.
- Geurden, T., Vercruyse, J., 2007. Field efficacy of eprinomectin against a natural *Muellerius capillaris* infection in dairy goats. *Vet. Parasitol.* 147 (1), 190–193. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.04.003>.
- Gorski, P., Niznikowski, R., Strzelec, E., Popielarczyk, D., Gajewska, A., Wedrychowicz, H., 2004. Prevalence of protozoan and helminth internal parasite infections in goat and sheep flocks in Poland. *Arch. Tierz. Dummerstorf.* 47 (Special Issue), 43–49.
- Holm, S.A., Sörensen, C.R., Thamsborg, S.M., Enemark, H.L., 2014. Gastrointestinal nematodes and anthelmintic resistance in Danish goat herds. *Parasite* 21, 37. <https://doi.org/10.1051/parasite/2014038>.
- Hoste, H., Chartier, C., 1993. Comparison of the effects on milk production of concurrent infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in high- and low-producing dairy goats. *Am. J. Vet. Res.* 54 (11), 1886–1893.
- Joley, W.R., Bardsley, K.D., 2006. Ruminant coccidiosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 22, 613–621. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2006.07.004>.
- Kantzoura, V., Kouam, M.K., Theodoropoulou, H., Feidas, H., Theodoropoulos, G., 2012. Prevalence and risk factors of gastrointestinal parasitic infection in small ruminants in the Greek temperate mediterranean environment. *Open J. Vet. Med.* 2, 25–33. <https://doi.org/10.4236/ojvm.2012.21005>.
- Kassai, T., 1999. *Veterinary Helminthology*. Butterworth-Heinemann, pp. 260.
- Koudela, B., Boková, A., 1998. Coccidiosis in goats in the Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 76 (4), 261–267.
- Kyriánová, I.A., Vadlež, J., Kopecký, O., Langrová, I., 2017. Seasonal dynamics of endoparasitic infections at an organic goat farm and the impact of detected infections on milk production. *Parasitol. Res.* 116, 3211–3219. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5643-3>.
- Manfredi, M.T., Di Cerbo, A.R., Zanzani, S., Stradiotto, K., 2010. Breeding management in goat farms of Lombardy, northern Italy: Risk factors connected to gastrointestinal parasites. *Small Rumin. Res.* 88 (2), 113–118. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.018>.
- McKenna, P., 1999. Comparative evaluation of two emigration/sedimentation techniques for the recovery of dictyocaulid and protostrongylid larvae from faeces. *Vet. Parasitol.* 80 (4), 345–351. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00223-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00223-4).
- Panuska, C., 2006. Lungworms of ruminants. *Vet. Clin. Food Anim. Pract.* 22, 583–593. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2006.06.002>.
- Paraud, C., Cabaret, J., Pors, I., Chartier, C., 2005. Impact of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on *Muellerius capillaris* larvae in goat faeces. *Vet. Parasitol.* 131 (1), 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.016>.
- Roeder, F., Jex, A.R., Gasser, R.B., 2013. Next-generation molecular-diagnostic tools for gastrointestinal nematodes of livestock, with an emphasis on small ruminants: a turning Point? In: Rollinson, D. (Ed.), *Advances in Parasitology*, 83. Academic Press, Amsterdam, The Netherlands, pp. 267–333 2013.
- Roepstorff, S., Nansen, P., 1998. *Epidemiology, Diagnosis and Control of Helminth Parasites of Swine 3*. FAO, Rome, pp. 161.
- Shoop, W., Soll, M., 2002. Macrocyclic lactones. In: Vercruyse, J., Rew, R.S. (Eds.), *Antiparasitic Therapy*. CABU Publishing, pp. 432 Cabi Series.
- Stadalién, I., Petkevičius, S., Šarkūnas, M., 2014. The impact of grazing management on seasonal activity of gastrointestinal parasites in goats. *Helminthologia* 51 (2), 103–111. <https://doi.org/10.2478/s11687-014-0217-8>.
- Suarez, V.H., Bertoni, E.A., Micheloud, L.F., Cafrune, M.M., Viñabal, A.E., Quiroga, Roger J., Bassanetti, A.F., 2014. First record of *Muellerius capillaris* (Nematoda, Protostrongylidae) in northwestern Argentina. *Helminthologia* 51 (4), 288–292. <https://doi.org/10.2478/s11687-014-0243-6>.
- Sutherland, I., Scott, I., 2010. *Gastrointestinal Nematodes of Sheep and Cattle: Biology and Control*. John Wiley and Sons, West Sussex, pp. 242.
- Taylor, M., Catchpole, J., Marshall, R., Norton, C., Green, J., 1995. *Eimeria* species of sheep. In: Eckert, J., Braun, R., Shirley, M., Coudert, P. (Eds.), *COST 89/820. Biotechnology, Guidelines on Techniques in Coccidiosis Research*, vol. 89. European Commission, Luxembourg, pp. 25–39.
- Taylor, M., Coop, R., Wall, R., 2007. *Veterinary Parasitology*, third edition. Blackwell, Oxford, UK. Ames, Iowa, pp. 600.
- Thamsborg, S.M., Roepstorff, A., Larsen, M., 1999. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. *Vet. Parasitol.* 84 (3–4), 169–186. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(99\)00035-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00035-7).
- Vadlež, J., Makovický, P., Čadková, Z., Langrová, I., 2016. Efficacy and persistent activity of moxidectin against natural *Muellerius capillaris* infection in goats and pathological consequences of muelleriosis. *Vet. Parasitol.* 218, 98–101. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.01.009>.
- van Wyk, J.A., Mayhew, E., 2013. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: a practical lab guide: original research. *Onderstepoort J. Vet.* 80 (1), 1–14. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v80i1.539>.
- Vasilková, Z., Krupiczer, I., Legath, J., Kovalkovicova, N., Pet'ko, B., 2004. Coccidiosis of small ruminants in various regions of Slovakia. *Acta Parasitol.* 49 (4), 272–275.
- Voigt, K., Steber, P.L., Sauter-Louis, C., Knubben-Schweizer, G., Scheuerle, M., 2016. Prevalence of pasture-associated metazoal endoparasites in Bavarian dairy goat herds and farmers' approaches to parasite control. *Berl. Munch. Tierarz. Wochenschr.* 129 (7–8), 323.
- Yusof, A.M., Isa, M.L.M., 2016. Prevalence of gastrointestinal nematodiasis and coccidiosis in goats from three selected farms in Terengganu, Malaysia. *Asian Pac. Trop. Biomed.* 6 (9), 735–739. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.07.001>.
- Zajac, A.M., 2006. Gastrointestinal nematodes of small ruminants: life cycle, anthelmintics and diagnosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 22, 529–541. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2006.07.006>.

Článek č. 2

**Kyriánová I.A.**, Vadlejch J., Kopecký O., Langrová I. 2017. Seasonal dynamics of endoparasitic infections at an organic goat farm and the impact of detected infections on milk production. *Parasitology Research* **116**: 3211–3219.



## ORIGINAL PAPER

# Seasonal dynamics of endoparasitic infections at an organic goat farm and the impact of detected infections on milk production

Iveta A. Kyriánová<sup>1</sup> · Jaroslav Vadlejch<sup>1</sup> · Oldřich Kopecký<sup>1</sup> · Iva Langrová<sup>1</sup>Received: 4 July 2017 / Accepted: 3 October 2017 / Published online: 10 October 2017  
© Springer-Verlag GmbH Germany 2017

**Abstract** This study evaluated patterns and species composition of parasitic infections detected over a 1-year period at an organic goat farm. As a result of coprological examination, the overall prevalence of observed strongylids (99%), coccidia of the genus *Eimeria* (98%), and *Muellerius capillaris* lungworms (93%) was calculated. The most prevalent strongylids recovered from incubated fecal samples were *Haemonchus contortus* (42%), genera *Trichostrongylus* (23%), *Oesophagostomum columbianum* (13%), and *Teladorsagia circumcincta* (11%). A maximum intensity of coccidia infection 5150 oocysts per gram, strongylids infection 9900 eggs per gram and lungworm infection 867.26 larvae per gram were detected. The various effects (including environment, host, and parasites) on milk yield, lactose, protein, and fat were evaluated using generalized linear mixed models. Milk yield ( $P < 0.0001$ ), milk fat ( $P < 0.01$ ), and lactose ( $P < 0.0001$ ) were affected by month, i.e., these parameters were influenced by the month of the year, regardless of the individual goat. With the intensity of infection detected in our study, only protein content was affected ( $P < 0.01$ ) by parasitic infection (exclusively caused by strongylids). Correlation between measurements from one individual revealed that the goat itself can substantially decrease protein content but has much less of an effect on fat, milk yield, and lactose. Based on our results, we can conclude that a low intensity of parasitic infections does not significantly affect milk yield and the qualitative parameters of milk.

**Keywords** Goat · Organic farming · Gastrointestinal tract · Parasite · Epidemiology · Milk

## Introduction

Parasitic infections are among the most common diseases in grazing ruminants worldwide. Infections caused by gastrointestinal (GI) parasites are a serious threat to the health and productivity of grazing animals (Kumar et al. 2013). These parasites represent a major constraint in goat production; losses of marketable products can be as high as 20% (Kantzoura et al. 2012). The main cause of production losses in a susceptible host is a food intake depression, which is an important sign of infections caused by GI nematodes and a main factor in the pathogenesis of the disease (Van Houtert and Sykes 1996; Fox 1997; Alberti et al. 2014). Decreases in body weight, hypoproteinemia, and other pathogenic complications (Kumar et al. 2013) that arise from tissue damage due to parasites in the GI tract (Alberti et al. 2014) indicate parasitic disease, which can lead to economic losses. According to Hoste et al. (2005), nematode parasitism may be comparable to a nutritional disease. Tissue damage in the GI tract usually leads to a diversion of nutrients, which are normally utilized for tissue regeneration. These changes in the dynamics of protein distribution can make the goat, as a host, appear malnourished (Hoste et al. 2005). Various disturbances of certain body systems, including a properly functioning immune system, can be a result of the abovementioned nutrient deficiency.

Dairy products are a source of high-quality proteins; total protein content is one of the main parameters that determine the cost of goat milk (Raynal-Ljutovac et al. 2008). The high protein content in milk increases cheese yield, processability, and quality. A 1% loss in cheese yield may result in economic losses considered unacceptable for cheese producers (Amenu and Deeth 2007).

✉ Iveta A. Kyriánová  
kyrianovai@af.czu.cz

<sup>1</sup> Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 00, Prague–Suchbát, Czech Republic

Many studies have documented decreases in milk production due to GI nematode parasitism in dairy goats (Van Houtert and Sykes 1996; Alberti et al. 2014). GI nematode infection was found to have a more negative effect on milk production among high-producing goats than it did on that of low-producing goats. High-producing goats have an impaired ability to develop an immune response to GI nematode parasitism; therefore, high-producing goats are more vulnerable to parasitic infection than are their low-producing counterparts (Etter et al. 2000; Alberti et al. 2014). There is little information regarding the effects of coccidia and lungworm infections on both milk production and milk components.

The aims of this study were as follows: (i) to describe the monthly patterns of endogenous parasitic infections on organic goat farm and (ii) to evaluate the influence of detected parasites on quantitative and qualitative parameters of milk. We evaluated the complex effects of all common endoparasites on milk yield, protein, fat, and lactose. Our study was based on the hypothesis that both quantitative and qualitative milk parameters are affected by parasite infection intensity as well as by parasite species composition.

## Materials and methods

### Farm and goat breeds

This study was carried out from January 2014 to December 2014 at one particular organic goat farm in Central Bohemia (49.33 N, 14.18 E). The farm is located 450 m above sea level, and this region has a long-term annual average temperature of 7 °C and an average annual rainfall of 750 mm. Basic climatological parameters obtained from the Czech Meteorological Institute are presented in Fig. 1.

The farm specializes in the production of organic goat products and rears the White Shorthaired goat, a Czech national breed. During the study, the farm was home to more than 300 goats, of which 213 were milked. The remainder of the flock comprised 90 young goats and 5 adult males. Milking was carried out mechanically twice a day (morning and evening). Goats were pastured between milking times throughout the year, and in winter, they were kept in the barn, where kidding took place. Goats had no access to the pasture during the winter (December–March), and these pastures were not used by other ruminants or horses. Goats were allowed to graze freely during the pasture season and were given access to hay and silage, mineral licks (without the addition of plants with an anthelmintic effect), and fresh water. Goats also had access to barley, wheat, oats, and vitamins during lactation and late pregnancy—kidding (they had no any specific food ration during lactation). During the winter and out of lactation period, goats had only silage or hay and mineral licks.

Lactation took place from May to October. Data regarding milk quantity and quality were recorded monthly and taken from alternate morning and evening milking time by the certified commissioner of the Association of Sheep and Goat Breeders of the Czech Republic. The quantity of milk was determined by measuring using the flow devise TRUEtest. The qualitative parameters of milk were determined by infrared absorption analyzer. The same individual goats were evaluated for milk production throughout the study.

Prior to our survey, goats were treated once a year (last time January 2013) with an anthelmintic drug (ivermectin), which was administered, to the entire flock. The drug dosage (double dose than in sheep) was determined according to individual body weight. The animals were not given any antiparasitic drugs during our study.

### Sampling procedure and parasitological methods

Thirty dairy goats were selected to be utilized in our study. Fecal samples were collected individually from the same animal every month. Feces were obtained directly from the rectum and stored in labeled plastic bags at 4 °C until examination. Prevalence and intensity of infection were evaluated according to Bush et al. (1997) as the number of goats infected with one or more individuals (egg/oocyst/larvae) of a particular parasite species. Fecal samples were investigated using a modification of the McMaster method (Coles 2003), with a sensitivity of 50 eggs/oocysts per gram (EPG/OPG); this method was used for quantifying fecal parasite output. Saturated sodium chloride and glucose with a density of 1.28 g cm<sup>-3</sup> was used as a flotation solution. The presence of lungworm larvae was determined using flask recovery procedure according to McKenna (1999). Each sample, in weight of 10 g was folded by a paper tissue, skewed by a piece of wire, and suspended in a conical flask filled with water for 24 h. After standing for 24 h, the feces were discarded, and the fluid in the flask was reduced using water vacuum pump, and sediment was examined for the presence of lungworm larvae.

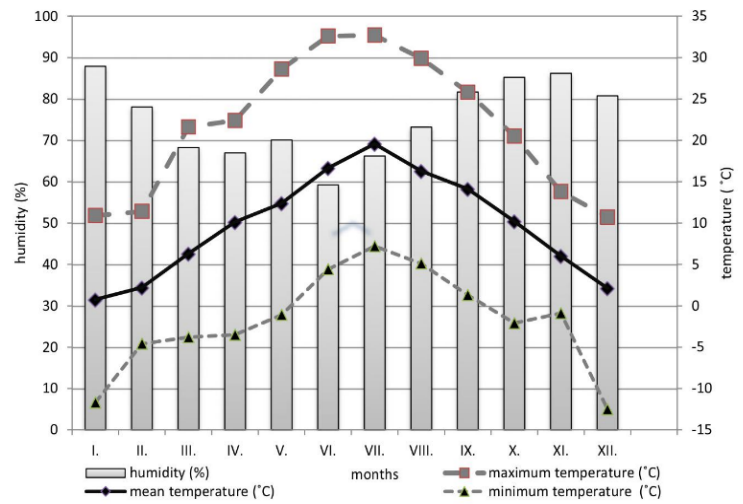
Parasitic elements recovered from feces were identified based on morphology; oocysts were identified to the species level and helminth eggs to the genus level according to Taylor et al. (1995) and (2007), respectively. Because precise morphological identification of most strongylid eggs to the genus level is virtually impossible, we chose to merge these eggs with the strongylid-type nematode (strongylids) group. In order to obtain infective larvae for more detailed strongylid identification, fecal samples were incubated for 7 days at 27 °C. Infective lungworms and nematode larvae were identified to the genus or species level according to van Wyk and Mayhew (2013).

### Statistical analysis

The influence of season on the intensity of infection was statistically evaluated using STATISTICA one-way ANOVA (Statistica



**Fig. 1** Basic climatological parameters at the goat farm during whole survey



12, StatSoft ČR, 2012). The effects of parasitism on milk quality indicators were tested by generalized linear mixed models (GLMM), *lme* function from *nlme* package (Pinheiro et al. 2014; R Core Team 2014). Separate tests for each surveyed response variables i.e., milk quality indicator (fat content, protein content, milk yield, and lactose content) were used. Data of all milk quality indicators have normal distribution. The starting maximal model contains fixed categorical factor month (May, June, July, August, September, and October), fixed numeric factors coccidia, strongylids, lungworms, and random factor goat. This form of starting model reflects situation of repeated measurements on goats during a year. Parasite (coccidia, strongylids, and lungworms) infection intensity was not mutually correlated. Number of goat individuals on one hand and number of factors on the other does not allowed us tested more than two-way interaction among factors. During the following model simplification, we compared

models using *anova* and maximum likelihood method, *method* “ML” (Crawley 2007). Variables which were included in minimal adequate model were recognized as factors with influence on particular indicator of milk quality.

The statistical significance level was established as  $\alpha = 0.05$ . Each minimal adequate model was checked using standard statistical diagnostics in the end, i.e., through residuals and standardized residuals versus fitted and predicted values (Crawley 2007; Pekár and Brabec 2009). All tests were computed using R statistical software, version 3.1.2 (R Development Core Team 2014).

**Results**

We collected 334 fecal samples from dairy goats during a 1-year period. Each sample was examined for the presence

**Table 1** The prevalence and confidence intervals of all detected parasites for each month during the survey

Month	Prevalence (%)/CI (%)				
	Coccidia	Strongylids	<i>Trichuris</i> sp.	<i>Moniezia</i> sp.	Lungworms
I.	96 (80–99)	100 (87–100)	4 (1–20)	36 (20–55)	80 (61–91)
II.	100 (82–100)	100 (82–100)	17 (6–39)	11 (3–33)	53 (31–74)
III.	100 (85–100)	100 (85–100)	3 (1–15)	3 (1–15)	100 (85–100)
IV.	90 (70–97)	100 (84–100)	7 (2–23)	7 (2–23)	100 (84–100)
V.	100 (89–100)	100 (89–100)	0 (0–10)	3 (1–15)	100 (89–100)
VI.	97 (83–99)	97 (83–99)	0 (0–12)	14 (5–31)	90 (74–97)
VII.	97 (85–99)	100 (90–100)	3 (1–15)	9 (3–24)	100 (90–100)
VIII.	100 (90–100)	97 (85–99)	6 (2–19)	3 (1–15)	94 (81–98)
IX.	100 (89–100)	100 (89–100)	3 (1–16)	12 (5–28)	97 (84–99)
X.	100 (89–100)	97 (84–99)	3 (1–16)	6 (2–20)	94 (80–98)
XI.	100 (89–100)	97 (84–99)	3 (1–16)	10 (3–25)	100 (89–100)
XII.	100 (88–100)	100 (88–100)	10 (3–25)	6 (2–21)	93 (77–98)

of common coccidian and helminths parasites. During our study, the overall prevalence of strongylids and coccidia was 99 and 98%, respectively. Recovered lungworms were identified as *Muellerius capillaris*, with an overall prevalence of 93%. The prevalence of all of the identified parasites for each month of our survey is presented in Table 1. Due to the low overall prevalence of the tapeworm *Moniezia* sp. (9%) and the nematode *Trichuris* sp. (4%), these helminths were excluded from further evaluation.

Strongylid infective larvae cultivated from collected feces comprised the following species (and prevalence): *Haemonchus contortus* (42%), *Trichostrongylus* spp. (23%), *Oesophagostomum columbianum* (13%), *Teladorsagia circumcincta* (11%), *Chabertia ovina* (6%), *Bunostomum trigonocephalum* (2%), *Cooperia oncophora* (1%), and *Cooperia curticei* (0.2%). The individual monthly composition of strongylid species is shown in Fig. 2.

The following coccidia species were identified during our study: *Eimeria arloingi*, *E. christenseni*, *E. caprina*, *E. aspheronica*, *E. ninakohlyakimovae*, and *E. alijevi*. The most prevalent *Eimeria* species were *E. arloingi* (44%), *E. ninakohlyakimovae* (25%), and *E. caprina* (17%).

Statistical evaluation revealed significant effect of month on strongylid-type egg counts ( $P < 0.05$ ). Fecal egg counts in monitored animals peaked in May (Fig. 3 and Table 2). Then, strongylid-type egg output gradually decreases until October and then slightly increases in December, when goats were kept in the stable. Coccidia infection intensity was also significantly ( $P < 0.05$ ) influenced by season. The oocyst count peaked in May (Fig. 3). Since then, the OPG levels held with slightly variations on the same level until the end of the year. However, lungworm infection intensity (expressed as fecal larval count) was not affected ( $P > 0.05$ ) by environmental factors during our survey. During our study, parasitic element

(oocysts, eggs, and larvae) counts exhibited significant variability between individual animals (Table 2).

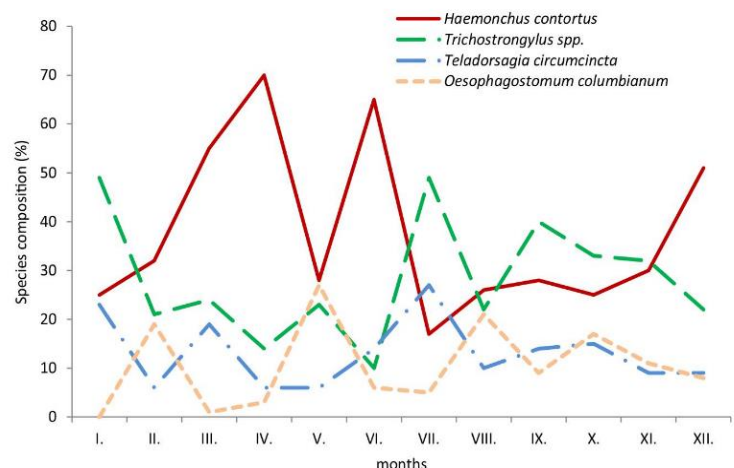
The monitored farm produced an average daily milk yield of 328 kg (2.03 kg per goat), with an average protein and fat content of 2.87 and 4.14%, respectively. Table 3 presents the evaluation of milk yield and milk components during the lactation period.

A minimal adequate model for all indicators of milk quality utilizes the month of the year as the strongest predictor of milk production (yield) and quality (protein, fat, and lactose content) (Table 4). Only protein content was affected by parasite infection intensity (exclusively by strongylid presence). Correlation between measurements for a single individual revealed that the animal (goat) had a strong effect on protein content (ICC = 0.651), but only a slight effect on fat content (ICC = 0.177), milk yield (ICC = 0.067), and lactose content (ICC = 0.330). Fat content, lactose content, and milk yield were affected stronger by month than goat itself, i.e., changes in fat content and yield were influenced by month of the year regardless of the individual goat.

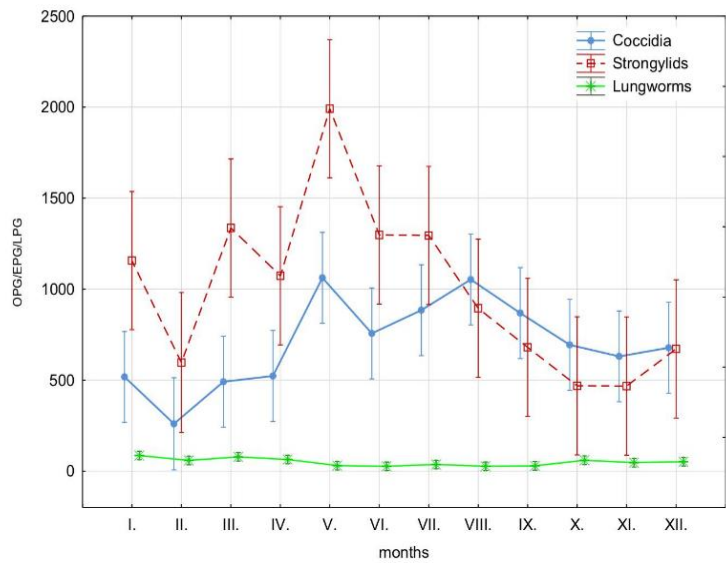
## Discussion

There are many studies dealing with endoparasites of sheep, but there is a lack of studies focusing on parasites of goats, especially at organic farming. A number of factors may influence the results of study. Each farm is unique system; therefore, information about the impact of parasitosis on goat's health and milk production from various geographic areas and different managements are needed. The data about prevalence and parasite species composition in the Czech Republic are missing. Goats are naturally infected by many endoparasites, which can cause mild or serious infections. When studying the influence of parasitic

**Fig. 2** The monthly occurrence of the most prevalent strongylid nematode species cultivated from goat feces during the study



**Fig. 3** Effect of months in mean fecal parasite element (oocysts, eggs, and larvae) counts during whole survey. OPG oocysts per gram, EPG eggs per gram, LPG larvae per gram



infections on milk production, it is necessary to identify as many of these endoparasites as possible.

The overall prevalence of coccidia of the genus *Eimeria* observed in our study does not differ significantly from those of other published studies. Koudela and Boková (1998) described a 92.2% overall prevalence of *Eimeria* in the Czech Republic. Stadalienė et al. (2014) and Manfredi et al. (2010) observed an *Eimeria* prevalence of 97.8 and 91.8%, respectively; by comparison, these results are very similar to ours (98.5%). Balicka-Ramisz (1999) described an 81% prevalence of *Eimeria* spp. in Poland. By comparison, Vasilkova et al. (2004) reported a nearly 100% prevalence in Slovakia.

*Eimeria* spp. species composition identified by the abovementioned authors does not differ from those in our study with the exception of *E. aspheronica*, which was described in our study but not in study of Vasilkova et al. (2004) and Balicka-Ramisz (1999). Balicka-Ramisz (1999) presents that the highest oocyst output in adult goats occurs during the spring-summer season. This also corresponds to our results.

Stadalienė et al. (2014) recorded the maximum oocysts output in Lithuania above 15,000 OPG. Koudela and Boková (1998) described a maximum oocyst output of 12,678 OPG in adult goats, while Vasilkova et al. (2004) recorded a maximum value of 7920 OPG. These OPG values

**Table 2** The evaluation of infections caused by the most prevalent parasitic groups, which were recovered from the fecal samples each month of the survey

Month	Coccidia				Strongylids				Lungworms			
	Min. OPG	Max. OPG	Geomean	CI	Min. EPG	Max. EPG	Geomean	CI	Min. LPG	Max. LPG	Geomean	CI
I.	0	1950	591	516–952	50	9900	813	837–2575	0	272.89	25	19–137
II.	50	1100	337	286–636	100	2700	767	690–1788	0	56.4	3	1–17
III.	50	4050	461	375–1239	50	5100	1388	1439–3232	0.54	160.92	19	1–120
IV.	0	3150	787	560–1245	50	5900	1322	1245–2652	0.07	261.65	7	1–59
V.	50	4450	782	814–1670	200	6250	1740	1771–2920	0.2	79.18	4	8–25
VI.	0	4200	680	603–1260	0	4000	1151	1188–2046	0	35.06	3	3–10
VII.	0	3900	789	707–1299	200	5000	1079	1075–1876	0.1	430.37	9	0–53
VIII.	150	5150	875	825–1504	0	2450	749	766–1210	0	291.13	8	1–35
IX.	150	3750	799	747–1278	50	3000	561	566–1012	0	41.47	11	12–20
X.	50	4560	558	516–1094	0	2050	388	368–707	0	867.26	19	2–106
XI.	150	3550	556	494–1006	0	1950	422	384–716	0.31	236.84	17	15–53
XII.	100	2300	638	605–1221	100	2650	649	623–1184	0	143.49	18	18–46

OPG oocysts per gram, EPG eggs per gram, LPG larvae per gram, CI confidence intervals, min. minimal, max. maximal intensity of infection

**Table 3** The evaluation of milk yield and component values during lactation from selected 30 goats obtained from the Association of sheep and goat breeders of the Czech Republic during the monitoring of performance

Month	Milk yield				Milk protein				Milk fat			
	Min. kg	Max. kg	Geomean	CI	Min. %	Max. %	Geomean	CI	Min. %	Max. %	Geomean	CI
V.	1.8	2.8	2.24	2.15–2.36	2.23	3.68	2.82	2.70–2.98	0.91	6.24	3.51	3.26–4.20
VI.	1.8	3	2.29	2.18–2.44	2.54	3.55	2.74	2.65–2.87	1.13	7.58	3.41	3.10–4.61
VII.	1.8	2.8	2.38	2.26–2.55	2.37	3.67	2.73	2.62–2.88	2.78	8.28	4.49	4.11–5.27
VIII.	1.4	2.4	1.89	1.80–2.02	2.46	4	2.81	2.69–2.95	2.39	8.89	4.50	4.11–5.45
IX.	0.2	2.4	1.55	1.48–1.85	2.51	4.47	3.03	2.90–3.20	2.0	6.43	3.50	3.20–4.11
X.	1	2	1.57	1.47–1.73	2.56	4.78	2.98	2.83–3.18	2.52	7.66	3.95	3.58–4.69

are higher than those observed in our study. These results may be explained by age of the animals and hygiene conditions on the pasture such as dirty litter, contaminated food and water by feces. Results may also be influenced by overcrowding when the goats spend most of the day together at the same place and did not disperse over the pasture. This is also related to the number of shed oocysts.

When comparing the helminth species composition in goat herd from a study of Voigt et al. (2016) from Germany with that of our study, it is evident that *H. contortus* and *Trichostrongylus* spp. predominates in both studies with a prevalence of 30.4 and 27.5%, respectively. Hoste and Chartier (1993) also confirmed *T. colubriformis* and *H. contortus* as the most common nematode species in goat herds in France. Stadalienė et al. (2015) described the following nematode species as the most prevalent among goat herds in Lithuania: *Teladorsagia* spp. (42%), *Trichostrongylus* spp. (26%), *Oesophagostomum* spp. (13%), *Chabertia* spp. (11%), and *H. contortus* (8%). The minor differences in nematode species composition between the abovementioned studies may be due to environmental influences (i.e., the average annual temperature and humidity), which differ between the Czech Republic and Lithuania.

Local conditions on a pasture such as temperature, humidity, and vegetation affect species composition of parasites present on the pasture and their lifecycle. Temperature and humidity are crucial for the development of free-living stages of the most GI nematodes (O'Connor et al. 2006). For example, *H. contortus* prefers a warmer, more humid climate more than *Trichostrongylus* spp. (Zajac 2006). However, the global climatic changes may lead to changes in nematode species composition. The prevalence of *H. contortus* is gradually increasing in northern countries (Höglund et al. 2016).

Strongylid infection intensities differ depending on country and goat breed. The maximum fecal egg count observed by Alberti et al. (2014) reached 10,452 EPG. By comparison, a study of Etter et al. (2000) showed an egg count 200–250. Holm et al. (2014) observed a maximum EPG count of 14,340 in Denmark. In Germany, Voigt et al. (2016) observed

an average EPG count 620. The maximum EPG observed in our study was lower (max. 9900 EPG) than those seen in Italy and Denmark, but higher than those in France and Germany.

The difference in EPG count between these studies may be influenced by the method of samples collecting (individually or pooled), the type of examination method and different farm management. Many studies have used pooled samples to evaluate the effects of parasitosis on milk production and parasite species composition; however, this type of collecting samples may be misleading. Not all animals in the herd have the same EPG count, and pooled sample may contain just animals shedding high or low number of parasite eggs (Zajac 2006). In our study, samples were taken from the same animals every month over a 1-year period. Our study was carried out at one particular organic goat farm; therefore, the effects of various conditions such as altitude, farm management, and goat breed were eliminated. The number of shed eggs in our study may also be influenced by the immune system of the animals and by breeding management. During our study, goats gave preference hay and silage, where the minimum infective larvae survive. Goats spend most of the day nearby shelter or in the stable during grazing season. Their exposure to infective larvae present on the grass was lower.

There are lacks of specific data concerning lungworm prevalence (especially regarding *M. capillaris*, the most common lungworm in goats) in European countries. However, Voigt et al. (2016) found *M. capillaris* first stage larvae in 35.1% of pooled samples collected from seven monitored farms. By comparison, Domke et al. (2013) observed *M. capillaris* larvae in all monitored regions in Norway (31.2%). During our study, *M. capillaris* were observed in most (prevalence 93.1%) of the individually collected samples, although we did observe significant differences between LPG levels of individual goats. The high variability in LPG level between individual goats also confirmed Vadlejch et al. (2016). This variability may be explained, among the other factors (immunity of each animal and age), by examination method used. In our study, we applied the flask method which is more sensitive in recovering of lungworm larvae than more traditional funnel method.

**Table 4** Maximal adequate models for surveyed indicator of milk goat quality (milk yield, protein content, fat content, lactose)

	d.f.	F value	p value
<b>Milk yield</b>			
Month	5	24.562	< .0001
<i>Eimeria</i>	1	1.443	0.2328
Strongylids	1	0.009	0.9254
Lungworms	1	2.307	0.1322
Month: <i>Eimeria</i>	5	1.178	0.3259
Month: Strongylids	5	1.109	0.3613
Month: lungworms	5	1.693	0.1440
<b>Protein content</b>			
Month	5	6.4076	< .0001
<i>Eimeria</i>	1	0.0766	0.7825
Strongylids	1	5.8026	0.0180
Lungworms	1	1.0574	0.3065
Month: <i>Eimeria</i>	5	0.8790	0.4984
Month: Strongylids	5	0.7785	0.5677
Month: lungworms	5	1.9796	0.1547
<b>Fat content</b>			
Month	5	3.4903	0.0062
<i>Eimeria</i>	1	0.0089	0.9251
Strongylids	1	0.1472	0.7021
Lungworms	1	0.2625	0.6096
Month: <i>Eimeria</i>	5	1.2121	0.3097
Month: Strongylids	5	1.9149	0.1732
Month: lungworms	5	1.7562	0.1296
<b>Lactose</b>			
Month	5	5.664	0.0001
<i>Eimeria</i>	1	0.433	0.5119
Strongylids	1	1.189	0.2783
Lungworms	1	3.983	0.0488
Month: <i>Eimeria</i>	5	0.636	0.6725
Month: Strongylids	5	1.350	0.2502
Month: lungworms	5	0.599	0.7006

Significant factors resulting from minimal adequate models are in italic type

Several studies dealing with the impact of GI parasites on milk production have been published (Hoste and Chartier 1993; Etter et al. 2000; Alberti et al. 2012, 2014), but these studies evaluated the impact of only one group of endoparasites on milk yield. Goats are usually infected by a variety of parasite species; evaluating the impact on the milk production of only one group of them can be misleading. There are not many studies that have monitored the impact of GI parasites on the qualitative parameters of goat milk. Moreover, results between the various published studies differ significantly. Rinaldi et al. (2007) indicated that goats had an average 12% permanent increase in milk yield after anthelmintic treatment. Results from our study indicate that monitored parasites

(coccidians, lungworms, and strongylids) do not affect milk yield or fat content at detected infection level. These parameters were more strongly affected by month and microenvironmental conditions, which affect the development and survival of infective stages of parasites on a pasture then by goat itself.

When evaluating the effects of endoparasites on milk production, there is a need to consider the intensity of infection as well as parasite species composition. Some parasite species influence milk production to a greater extent than do others. It is also necessary to consider the stage of lactation and milk yield in every individual goat. High-producing goats are vulnerable to endoparasitic infections due to impaired ability to develop immunity response against GI nematode infections (Etter et al. 2000; Alberti et al. 2014). The effect of endoparasites on milk production may be also affected by the quality and the composition of vegetation on the pasture (some plants may have an anthelmintic effect).

According to Rinaldi et al. (2007), GI nematodes negatively impact milk quality parameters. In comparison to goats without treatment where a 29.9% reduction in fat content, 23.3% in the protein content and simultaneously 19.6% in the lactose was observed. Etter et al. (2000) also confirmed the effect of GI parasites on milk yield and quality. These authors found that *T. colubriformis* induces a constant and significant decrease in milk yield, as well as protein and fat content.

Our study demonstrated that the number of strongylids affected only protein content in milk. This coincides with results presented by Alberti et al. (2014); they confirmed that the level of infection affects milk quality. Their study indicated a significant decrease in protein content caused by a high number of GI nematodes.

According to Elsheikha (2011), decreases in protein levels are attributed to the presence of the adult abomasal nematode *H. contortus*, whose development may result in increased permeability of the abomasal epithelial lining, which allows leakage of protein into the abomasal lumen. Damage to the abomasum could also result in a lack of HCl production and an increase in pH level to 6–7. Pepsinogen cannot be converted into active pepsin; this leads to impaired digestion of protein. Subsequently, protein is directed from productive processes to rebuild damaged tissue (Coop and Holmes 1996).

For farmers and manufacturers, a major consequence of low protein content in milk is reduced cheese yield. Two major categories of milk proteins are casein and whey. Casein is more important than milk fat in the cheese-making process (Lucey and Kelly 1994). The protein  $\alpha$ s1-casein plays a very important role in cheese-making process which low content in milk can be significant. The protein content in milk can have an economic impact on both farmers and manufacturers due to reduced cheese yield (Selvaggi et al. 2014).

In our study, the prevalence of detected helminths and coccidia in grazing animals at organic farm was high, but the intensity of infection caused by detected endoparasites

was mild. Only the amount of protein in milk was affected, by strongylids, at detected intensity of parasitosis in farm conditions. Incorporating these results into the health management on goat farms could result in reduce of anthelmintic treatment and in delay the emergence of anthelmintic clinical resistance.

**Acknowledgments** This study was partially funded by the Czech University of Life Sciences Prague, Grant Agency No. 20162012. The authors are grateful to the farm owner for allowing samplings throughout the entire year, to Martina Pilzová for her assistance in obtaining samples, and to Brian Kavalir for his proofreading services. The authors would like to thank both reviewers who provided helpful comments and constructive corrections to improve the quality of the manuscript.

## References

- Alberti E, Zanzani S, Ferrari N, Bruni G, Manfredi M (2012) Effects of gastrointestinal nematodes on milk productivity in three dairy goat breeds. *Small Rumin Res* 106:12–17. <https://doi.org/10.1007/s12639-012-0215-z>
- Alberti EG, Zanzani SA, Gazzonis AL, Zanatta G, Bruni G, Villa M, Rizzi R, Manfredi MT (2014) Effects of gastrointestinal infections caused by nematodes on milk production in goats in a mountain ecosystem: comparison between a cosmopolite and a local breed. *Small Rumin Res* 120(1):155–163. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.04.017>
- Amenu B, Deeth H (2007) The impact of milk composition on cheddar cheese manufacture. *Aust J Dairy Technol* 62(3):171
- Balicka-Ramisz A (1999) Studies on coccidiosis in goats in Poland. *Vet Parasitol* 81(4):347–349. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00258-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00258-1)
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J Parasitol*:575–583. <https://doi.org/10.2307/3284227>
- Coles G (2003) Strategies to minimise anthelmintic resistance in large animal practice. In *Pract* 25(8):494–494. <https://doi.org/10.1136/inpract.25.8.494>
- Coop R, Holmes P (1996) Nutrition and parasite interaction. *Int J Parasitol* 26(8):951–962. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(96\)80070-1](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(96)80070-1)
- Crawley MJ (2007) Statistical modelling. The R Book, 2nd edn. pp 388–448
- Domke AVM, Chartier C, Gjerde B, Leine N, Vatn S, Stuen S (2013) Prevalence of gastrointestinal helminths, lungworms and liver fluke in sheep and goats in Norway. *Vet Parasitol* 194(1):40–48. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.023>
- Elsheikha HM (2011) Major nematode infections. In: Elsheikha HM, Khan NA (eds) *Essentials of veterinary parasitology*. Horizon Scientific Press, Poole, p 221
- Etter E, Hoste H, Chartier C, Pors I, Koch C, Brouqua C, Coutineau H (2000) The effect of two levels of dietary protein on resistance and resilience of dairy goats experimentally infected with *Trichostrongylus colubriformis*: comparison between high and low producers. *Vet Res* 31(2):247–258. <https://doi.org/10.1051/vetres:2000120>
- Fox M (1997) Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. *Vet Parasitol* 72(3–4):285–308. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00102-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00102-7)
- Höglund J, Gustafsson K, Ljungström BL, Skarin M (2016) Failure of ivermectin treatment in *Haemonchus contortus* infected-Swedish sheep flock. *Vet Parasitol Reg Stud Rep*. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2016.02.001>
- Holm SA, Sörensen CR, Thamsborg SM, Enemark HL (2014) Gastrointestinal nematodes and anthelmintic resistance in Danish goat herds. *Parasite* 21. <https://doi.org/10.1051/parasite/2014038>
- Hoste H, Chartier C (1993) Comparison of the effects on milk production of concurrent infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in high- and low-producing dairy goats. *Am J Vet Res* 54(11):1886–1893
- Hoste H, Torres-Acosta JF, Paolini V, Aguilar-Caballero A, Etter E, Lefrileux Y, Chartier C, Broqua C (2005) Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Rumin Res* 60(1):141–151. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.06.008>
- Kantzoura V, Kouam MK, Theodoropoulou H, Feidas H, Theodoropoulos G (2012) Prevalence and risk factors of gastrointestinal parasitic infections in small ruminants in the Greek temperate Mediterranean environment. *Open J Vet Med* 2(01):25. <https://doi.org/10.4236/ojvm.2012.21005>
- Koudela B, Boková A (1998) Coccidiosis in goats in the Czech Republic. *Vet Parasitol* 76(4):261–267
- Kumar N, Rao TKS, Varghese A, Rathor VS (2013) Internal parasite management in grazing livestock. *J Parasit Dis* 37(2):151–157. <https://doi.org/10.1007/s12639-012-0215-z>
- Lucey J, Kelly J (1994) Cheese yield. *Int J Dairy Technol* 47(1):1–14. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1994.tb01264.x>
- Manfredi MT, Di Cerbo AR, Zanzani S, Stradiotto K (2010) Breeding management in goat farms of Lombardy, northern Italy: risk factors connected to gastrointestinal parasites. *Small Rumin Res* 88(2):113–118. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.018>
- McKenna P (1999) Comparative evaluation of two emigration/sedimentation techniques for the recovery of dictyocaulid and protostrongylid larvae from faeces. *Vet Parasitol* 80(4):345–351. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00223-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00223-4)
- O'Connor LJ, Walkden-Brown SW, Kahn LP (2006) Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Vet Parasitol* 142(1):1–115. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.035>
- Pekár S, Brabec M (2009) Moderní analýza biologických dat: Zobecněné lineární modely v prostředí R. Scientia
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, R Core Team (2014) nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1.2
- R Core Team (2014) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>
- Raynal-Ljutovac K, Lagriffoul G, Paccard P, Guillet I, Chilliard Y (2008) Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Ruminant Res* 79(1):57–72. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.07.009>
- Rinaldi L, Veneziano V, Cringoli G (2007) Dairy goat production and the importance of gastrointestinal strongyle parasitism. *T Roy Soc Trop Med H* 101(8):745–746. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2007.03.010>
- Selvaggi M, Laudadio V, Dario C, Tufarelli V (2014) Major proteins in goat milk: an updated overview on genetic variability. *Mol Biol Rep* 41(2):1035–1048. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2949-9>
- Stadaliénė I, Petkevičius S, Šarkūnas M (2014) The impact of grazing management on seasonal activity of gastrointestinal parasites in goats. *Helminthologia* 51(2):103–111. <https://doi.org/10.2478/s11687-014-0217-8>
- Stadaliénė I, Höglund J, Petkevičius S (2015) Seasonal patterns of gastrointestinal nematode infection in goats on two Lithuanian farms. *Acta Vet Scand* 57(1):16. <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0105-3>
- Taylor M, Catchpole J, Marshall R, Norton C, Green J (1995) *Eimeria* species of sheep. In: Eckert J, Braun R, Shirley M, Coudert P (eds) *COST 89/820, Biotechnology, Guidelines on techniques in coccidiosis research*. vol 89. European Commission, Luxembourg, pp 25–39
- Taylor M, Coop R, Wall R (2007) *Veterinary parasitology*, 3rd edn. Blackwell, Oxford, Ames, p 600

- Vadlejch J, Makovický P, Čadková Z, Langrová I (2016) Efficacy and persistent activity of moxidectin against natural *Muellerius capillaris* infection in goats and pathological consequences of muelleriosis. *Vet Parasitol* 218:98–101. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.01.009>
- Van Houtert MF, Sykes AR (1996) Implications of nutrition for the ability of ruminants to withstand gastrointestinal nematode infections. *Int J Parasitol* 26(11):1151–1167. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(96\)00120-8](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(96)00120-8)
- Vasilkova Z, Krupicer I, Legath J, Kovalkovicova N, Pet'ko B (2004) Coccidiosis of small ruminants in various regions of Slovakia. *Acta Parasitol* 49(4):272–275
- Voigt K, Sieber PL, Sauter-Louis C, Knubben-Schweizer G, Scheuerle M (2016) Prevalence of pasture-associated metazoal endoparasites in Bavarian dairy goat herds and farmers' approaches to parasite control. *Berl Munch Tierarz Wochenschr* 129(7–8):323
- van Wyk JA, Mayhew E (2013) Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: a practical lab guide: original research. *Onderstepoort J Vet* 80(1):1–14. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v80i1.539>
- Zajac AM (2006) Gastrointestinal nematodes of small ruminants: life cycle, anthelmintics, and diagnosis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 22(3):529–541. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2006.07.006>

Článek č. 3

Vadlejch J., **Kyriánová I.A.**, Rylková K., Zikmund M., Langrová I. 2017. Health risks associated with wild animal translocation: a case of the European bison and an alien parasite. *Biological Invasions* **19**: 1121–1125.



## Health risks associated with wild animal translocation: a case of the European bison and an alien parasite

Jaroslav Vadlejch · Iveta A. Kyriánová ·  
Kateřina Rylková · Miloslav Zikmund ·  
Iva Langrová

Received: 2 July 2016 / Accepted: 27 October 2016  
© Springer International Publishing Switzerland 2016

**Abstract** Introducing an animal into a new location could be hazardous in the form of disease transmission, especially with respect to infections that are often overlooked. Such introduced infectious agents, including parasitic ones, then pose potential danger to the native animal population. Within the conservation program, the European bison was introduced into many European countries. However, this largest European herbivore was recognized as a new host for an invasive parasitic nematode, *Ashworthius sidemi*, in Poland in 1998. Since then, the prevalence of this non-native parasite in Poland has increased not only in bison but also in other wild ruminants. In 2011 five European bison individuals were transported from Poland to the Czech Republic. In the current study, we examined the

gastrointestinal tracts of two European bison and two red deer culled in the Židlov game reserve. *A. sidemi* was identified in all investigated animals using both morphological and molecular methods; infection intensity was higher in bison than in deer. Our findings represent the first record of this invasive parasite in European bison at the Czech territory. The results of this study indicate changes in epidemiological patterns of *Ashworthius* infections in the climatic condition of Central Europe as well as the need to verify the reliability of ashworthiosis intravital diagnostics. One can expect *A. sidemi* to spread gradually in the Czech Republic and colonize other native ruminant hosts.

**Keywords** *Bison bonasus* · *Ashworthius sidemi* · Morphometry · Sequencing · Diagnostics

J. Vadlejch (✉) · I. A. Kyriánová · I. Langrová  
Department of Zoology and Fisheries, Faculty of  
Agrobiology, Food and Natural Resources, Czech  
University of Life Sciences Prague, Kamýcká 957,  
165 21 Prague 6, Suchbát, Czech Republic  
e-mail: vadlejch@af.czu.cz

K. Rylková  
Department of Genetics and Breeding, Faculty of  
Agrobiology, Food and Natural Resources, Czech  
University of Life Sciences Prague, Kamýcká 957,  
165 21 Prague 6, Suchbát, Czech Republic

M. Zikmund  
Department of Game Management and Wildlife Biology,  
Faculty of Forestry and Wood Sciences, Czech University  
of Life Sciences Prague, Kamýcká 1176,  
165 21 Prague 6, Suchbát, Czech Republic

### Introduction

*Ashworthius sidemi* is a haematophagous trichostrongylid nematode that was originally described from the sika deer *Cervus nippon hortulorum* in an area near Vladivostok, Russia (Schulz 1933). This abomasal parasite occurs primarily in Asiatic cervids; apart from sika deer, red deer *Cervus elaphus sibiricus* and sambar *Cervus unicolor* serve as typical hosts (Drózd 1973). Introducing sika deer into many European countries brought about the colonization of local wild ruminant species by this invasive parasite.

To date *A. sidemi* has been observed in a wide range of wild ruminants, e.g., red deer *Cervus elaphus* (Demiaszkiewicz et al. 2009), roe deer *Capreolus capreolus* (Demiaszkiewicz et al. 2009), fallow deer *Dama dama* (Kowal et al. 2012), or moose *Alces alces* (Demiaszkiewicz et al. 2013). Domestic sheep *Ovis aries* and cattle *Bos taurus* are also sensitive to ashworthiosis (Kotrlá et al. 1976; Moskwa et al. 2015). *A. sidemi* is a non-native species to the Czech Republic, and it was introduced into this country through sika deer in the previous century (Kotrlá and Kotrlý 1973). This parasite was last detected in the above-mentioned ruminant host in the late 1970s (Kotrlá and Kotrlý 1977), and there are no reports of ashworthiosis in Czech territory since that time.

The European bison *Bison bonasus* is the largest native herbivore in Europe. In the prehistoric period, this species occurred throughout the majority of Europe. Due to human activities (changes in original habitats, agricultural activities, unlimited hunting etc.) the bison population has dramatically decreased, and by the beginning of the 20th century, this animal was extinct in the wild. Only a handful of individuals have survived in captivity. Recently, the European bison has been placed under special protection and has been classified as an endangered species in the Red List of Threatened Species (Pucek et al. 2004). Thanks to a successful conservation program, this ruminant is returning into the wild of many European countries, including the Czech Republic (Dostál et al. 2012). The largest herd of European bison in the Czech Republic is found in the Židlov game reserve, which is managed by the Military Forests and Farms of the Czech Republic. Four bison females from the Białowieża Primeval Forest (Poland) and one bison male from the Kampinos National Park (Poland) were transported to this game reserve in 2011. In 1998 the European bison was recognized as a new host for *A. sidemi* (Drózdź et al. 1998). Since then, the prevalence of this invasive parasite in bison has gradually increased (Drózdź et al. 2003), and currently ashworthiosis poses a serious health threat to the wild bison population (Osińska et al. 2010; Radwan et al. 2010).

To evaluate the presence of *A. sidemi* in wild ruminants within the Czech territory, nematodes recovered from the abomasum and duodenum of two culled bison and two culled red deer from the Židlov game reserve were identified using morphological and molecular methods.

## Report

This survey was conducted in the Židlov game reserve, which is located in North Bohemia (14°49'E, 50°36'N). With a total area of 3786 ha, Židlov is the second largest game reserve in the Czech Republic, and European bison are kept in this area along with roe deer, fallow deer, mouflon and wild boar. A border fence prevents the migration of any wild ruminants into the reserve. The transport of bison from Poland to the Czech Republic was carried out in accordance with standard EU border and veterinary procedures. However, fascioloidosis was detected in one transported animal upon arrival in the Czech Republic. All bison spent approximately eighteen months in quarantine where they were treated for the above mentioned fluke infection before being released into the Židlov reserve. Ashworthiosis was not detected while the animals were in quarantine. In 2015 the game reserve management received permission from the Ministry of the Environment to cull two selected adult bison males to avoid inbreeding in the herd. Other wild ruminants are hunted throughout the year in accordance with standard hunting laws of the Czech Republic. Our team was invited to take part in this parasitological research in 2015. Between December 2015 and February 2016, two bison (4 and 9 years of age) and two red deer (2 and 10 years of age) were culled, and their gastrointestinal tracts were extracted and transported to our parasitological laboratory.

In the interest of this survey, the abomasum and duodenum were processed using standard parasitological techniques. The organ content was combined with mucosa washings and passed through an appropriate mesh sieve. The recovered nematodes were preserved in 70% ethanol and subsequently studied using an Olympus BX51 microscope; the morphometric characters were measured by QuickPHOTO MICRO 3.0 software. All adult nematodes were morphologically identified as *A. sidemi* according to Drózdź et al. (1998). All of the examined animals tested positive for ashworthiosis; however, infection intensities varied significantly (see Table 1). The organs were also examined for presence arrested larvae. The opened and washed organs were placed in a bowl containing lukewarm normal saline solution and left overnight. Only *A. sidemi* arrested larvae were identified from the animal tissue (Table 1).

Ten of the morphologically identified adult nematodes were selected, and these individuals were

**Table 1** The number and sex ratio of *Ashworthius sidemi* individuals recovered from wild ruminants culled in the winter of 2015/2016 in the Židlov game reserve

Host species	Age of host (years)	Month of necropsy	Total nematode count	Male	Female	Larvae	Sex ratio
European bison 1	9	December	425	172	237	16	1.38
European bison 2	4	February	11,500	4690	6490	320	1.38
Red deer 1	2	December	66	20	43	3	2.15
Red deer 2	10	December	281	95	181	5	1.9

The larvae population consisted of arrested stages only

identified using molecular techniques. Genomic DNA was extracted from individual nematodes using the QIAamp Tissue Kit (Quiagen) according to the manufacturer's protocol. The rDNA region, consisting of the ITS-1 and 5.8 gene, was amplified by a polymerase chain reaction (PCR) using a universal pair of primers—forward NC5 5'-GTAGGTGAACCTGCG GAAGGATCATT-3' and reverse NC2 5'-TTAGTT TCTTTTCTCCGCT-3' (Zhu et al. 2000). The content and profile of the PCR reaction was carried out on a MJ Mini<sup>TM</sup> thermocycler (Bio-Rad) according to Rylková et al. (2015). The PCR products were purified and sequenced by Macrogen Inc., Korea. Each sample was sequenced from both (3' and 5') ends of both fragments using the same primers that were used for double strand PCR amplification. The raw chromatograms were manually assembled and checked for potential mistakes using the BioEdit 5.0.9. software. Sequences were compared with the on-line GenBank (NCBI) nucleotide database using the BLASTn 2.3.1 + program (Morgulis et al. 2008). Search results were used to identify isolates to the species level. The total length of gained sequences was 500 bp. All samples were split into two haplotypes, which differed in two single nucleotides. Both haplotypes were 99% identical to the *Ashworthius sidemi* sequence (acc. No. EF467325). Sequences representing two haplotypes of the rDNA region consisting of ITS-1 and 5.8 gene were deposited into the GenBank database under the following accession numbers: KX228148 and KX228149.

In order to compare post-mortem and intravital assessments of *Ashworthius* infection intensity, faeces were collected from the anus of culled animals. Faecal samples were then examined simultaneously by two methods commonly used to diagnosis parasitic infections—the Concentration McMaster and Cornell-

Wisconsin egg counting technique (for more details see Zajac and Conboy 2012). Both of the above-mentioned methods were found to be inaccurate. The Concentration McMaster technique detected only negligible faecal strongyle-type egg counts (EPG 0 and 40) in bison; faecal samples from two deer tested negative. The Cornell-Wisconsin method recovered also negligible faecal egg counts (0 and 5 eggs in the bison and 0 and 2 eggs in the deer). Because precise morphological identification of most strongyle nematode eggs to the genus level is practically impossible, the remaining faeces were incubated under standard conditions in order to obtain infective larvae. However, this method failed and no *Ashworthius* infective larvae were obtained.

## Discussion

All of the wild ruminants investigated in this survey tested positive for *Ashworthius* infection. Species identification of the recovered nematodes was confirmed using both traditional morphometry and DNA sequencing. The morphometric characters of nematodes observed in our study correspond to those in previously published articles (Schulz 1933; Kotrlá and Kotrlý 1973; Drózdž et al. 1998). *Ashworthius* males can be distinguished from *Haemonchus* males by their spicule length, morphology, and the absence of a gubernaculum. The average spicule lengths of *Ashworthius* males evaluated in our study were 776–791 µm depending on host, and terminated with a cuticular sheath; the gubernaculum was absent. In comparison, *Haemonchus contortus* spicules have an average length of 467 µm, are terminated with tips, and their gubernaculum is well developed (Vadlejch et al. 2014). Even though *Ashworthius* and

*Haemonchus* females are difficult to distinguish from each other, identification could be based on buccal capsule morphology.

Post-mortem identification is reliable enough to diagnose and quantify *Ashworthius* infection, whereas an intravital ashworthiosis diagnosis requires improvement. It is common knowledge that faecal egg counts in the majority of strongylid species do not reflect infection levels (Eysker and Ploeger 2000). This phenomenon was also observed in our study when traditional faecal flotation techniques failed to accurately estimate *Ashworthius* infection intensity. Even if the animal harboured 11,500 nematodes, only negligible faecal egg counts were detected. Due to the morphological similarity between strongylid nematode eggs, faeces cultivation and the identification of infective larvae is necessary for a precise diagnosis. Moskwa et al. (2014) developed a simple and effective PCR tool based on the detection of specific *Ashworthius* DNA derived from infective larvae. This method is a welcome choice for detecting the above-mentioned parasite; however, it is limited by a sufficient amount of infective larvae. Moreover, as is evident from our survey results, this could be a weakness of this tool. A precise and reliable diagnosis of parasitic infections is necessary, especially in invasive parasites like *A. sidemi*. An inaccurate diagnosis could have resulted in introduction of this non-native parasite species into the Židlov game reserve.

The failure of ashworthiosis intravital diagnosis in our study could be explained due to a special *A. sidemi* survival strategy. The majority of trichostrongylid nematodes found in harsh environmental conditions arrest their larval development in the host (Gibbs 1986), and as a result, only a small percentage of these parasites reach maturity. During this period, nematodes do not produce eggs, and for this reason, a diagnosis based on faecal egg counts cannot be accurate. Drózdź et al. (2003) recorded the arrested development phenomenon in this parasite in Poland in 2003; only *A. sidemi* larvae were recovered from European bison and red deer in the winter months. These results are inconsistent with our observations. The arrested larvae included only a small proportion of the *Ashworthius* population we recovered from animals culled in December and February. This interesting observation indicates that arrested development is not the main survival strategy of this Asiatic nematode, which occurs in the recently changing climatic

conditions of Central Europe. Although a high number of adult nematodes was detected in our survey, females contained only non-embryonated eggs. This may shed light on a special survival strategy of this nematode; however, this hypothesis should be further investigated.

Although finding a source of *Ashworthius* infection in the Židlov game reserve is a very intricate process, there are several facts to support our hypothesis regarding the introduction of an alien parasite through animal translocation. Typical *Ashworthius* hosts, such as the sika deer, were never kept in the Židlov game reserve, and there were no records of ashworthiosis in this area prior to the introduction of the European bison. Standard veterinary procedures commonly applied during animal translocation failed to prevent the introduction of infectious disease, which was most likely due to an inaccurate intravital diagnosis. Our study is the first in the last forty years to demonstrate the presence of this non-native nematode species in the Czech Republic, and simultaneously, it is the first record of *A. sidemi* in European bison within Czech territory. The detection of *A. sidemi* in bison as well as in red deer confirmed this parasite has a broad host range, and transmission to other ruminants is possible. Because invasive parasites can have a potential negative impact on both native ruminant hosts and parasite populations (Sheath et al. 2015), monitoring *A. sidemi* in the Czech Republic is of paramount importance. Due to a lack of information, further research focusing on verifying intravital diagnosis reliability, pathogenicity, epidemiology patterns, and *A. sidemi* infection control measures is highly needed.

**Acknowledgements** We are very grateful to the Military Forests and Farms management for permission to conduct this survey, as well as to Ondřej Salaba for his technical assistance. We would also like to thank to Brian Kavalir for his proofreading services, as well as both reviewers for their constructive corrections and suggestions which helped improve the quality of the original submission. This research was partially supported by the Czech University of Life Sciences Prague Grant Agency, Project No. 20162012 and by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Project NAAR No. QJ1510038).

## References

- Demiaszkiewicz AW, Lachowicz J, Osinska B (2009) *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae) in wild ruminants in Białowieża Forest. Pol J Vet Sci 12:385–388

- Demiaszkiewicz AW, Kuligowska I, Lachowicz J, Pyziel AM, Moskwa B (2013) The first detection of nematodes *Ashworthius sidemi* in elk *Alces alces* (L.) in Poland and remarks of ashworthiosis foci limitations. *Acta Parasitol* 58:515–518. doi:10.2478/s11686-013-0164-4
- Dostál D, Jirků M, Konvička M, Čížek L, Šálek M (2012) Návrat zubra evropského (*Bison bonasus*) do České republiky. Potenciální přínosy a perspektivní lokality. Česká krajina o.p.s, Brno in **Czech**
- Drózd J (1973) Materials contributing to the knowledge of the helminth fauna of *Cervus (Russa) unicolor* Kerr and *Muntjac muntjak* Zimm. of Vietnam, including two new nematode species: *Oesophagostomum labiatum* sp. n., and *Trichocephalus muntjaci* sp. n. *Acta Parasitol* 33:465–474
- Drózd J, Demiaszkiewicz AW, Lachowicz J (1998) *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae) a new parasite of the European bison *Bison bonasus* (L.) and the question of independence of *A. gagarini*. *Acta Parasitol* 43:75–80
- Drózd J, Demiaszkiewicz AW, Lachowicz J (2003) Expansion of the Asiatic parasite *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae) in wild ruminants in Polish territory. *Parasitol Res* 89:94–97. doi:10.1007/s00436-002-0675-7
- Eysker M, Ploeger HW (2000) Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Parasitology* 120(7):S109–119
- Gibbs HC (1986) Hypobiosis in parasitic nematodes - an update. *Adv Parasitol* 25:129–174. doi:10.1016/S0065-308X(08)60343-7
- Kotrlá B, Kotrlý A (1973) The first finding of the nematode *Ashworthius sidemi* Schulz, 1933 in Sika nippon from Czechoslovakia. *Folia Parasitol (Praha)* 20:377–378
- Kotrlá B, Kotrlý A (1977) Helminths of wild ruminants introduced in Czechoslovakia. *Folia Parasitol (Praha)* 24:35–40
- Kotrlá B, Kotrlý A, Koždoň O (1976) Studies on the specificity of the nematode *Ashworthius sidemi* Schulz, 1933. *Acta Vet Brno* 45:123–126
- Kowal J, Nosal P, Bonczar Z, Wajdzik M (2012) Parasites of captive fallow deer (*Dama dama* L.) from southern Poland with special emphasis on *Ashworthius sidemi*. *Ann Parasitol* 58:23–26
- Morgulis A, Coulouris G, Raytselis Y, Madden TL, Agarwala R, Schäffer AA (2008) Database Indexing for Production MegaBLAST Searches. *Bioinformatics* 24:1757–1764. doi:10.1093/bioinformatics/btn322
- Moskwa B, Bień J, Goździk K, Cabaj W (2014) The usefulness of DNA derived from third stage larvae in the detection of *Ashworthius sidemi* infection in European bison, by a simple polymerase chain reaction. *Parasit Vectors* 7:215. doi:10.1186/1756-3305-7-215
- Moskwa B, Bień J, Cybulska A, Kornacka A, Krzysiak M, Cencek T, Cabaja W (2015) The first identification of a blood-sucking abomasal nematode *Ashworthius sidemi* in cattle (*Bos taurus*) using simple polymerase chain reaction (PCR). *Vet Parasitol* 211:106–109. doi:10.1016/j.vetpar.2015.04.013
- Osińska B, Demiaszkiewicz AW, Lachowicz J (2010) Pathological lesions in European bison (*Bison bonasus*) with infestation by *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae). *Pol J Vet Sci* 13:63–67
- Pucek Z, Belousova IP, Krasieńska M, Krasieński ZA, Olech W (2004) European bison. Status survey and conservation action plan, IUCN
- Radwan J, Demiaszkiewicz AW, Kowalczyk R, Lachowicz J, Kawalko A, Wojcik JM, Pyziel AM, Babik W (2010) An evaluation of two potential risk factors, MHC diversity and host density, for infection by an invasive nematode *Ashworthius sidemi* in endangered European bison (*Bison bonasus*). *Biol Cons* 143:2049–2053. doi:10.1016/j.biocon.2010.05.012
- Rylková K, Tůmová E, Brožová A, Jankovská I, Vadlejš J, Čadková Z, Frýdlová J, Peřínková P, Langrová I, Chodová D, Nechybová S, Scháňková Š (2015) Genetic and morphological characterization of *Trichuris myocastoris* found in *Myocastor coypus* in the Czech Republic. *Parasitol Res* 114:3969–3975. doi:10.1007/s00436-015-4623-8
- Schulz RE (1933) *Ashworthius sidemi* n. sp. (Nematoda, Trichostrongylidae) aus einem Hirsch (*Pseudaxis hortulorum*) des fernen Ostens. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 5:735–739
- Sheath DJ, Williams CF, Reading AJ, Britton JR (2015) Parasites of non-native freshwater fishes introduced into England and Wales suggest enemy release and parasite acquisition. *Biol Invasions* 17:2235–2246. doi:10.1007/s10530-015-0857-8
- Vadlejš J, Lukešová D, Vašek J, Vejl P, Sedlák P, Čadková Z, Langrová I, Jankovská I, Salaba O (2014) Comparative morphological and molecular identification of *Haemonchus* species in sheep. *Helminthologia* 51:130–140. doi:10.2478/s11687-014-0220-0
- Zajac AM, Conboy GA (2012) *Veterinary Clinical Parasitology*, 8th edn. Blackwell, Iowa
- Zhu XQ, Gasser RB, Jacobs DE, Hung GC, Chilton NB (2000) Relationships among some ascaridoid nematodes based on ribosomal DNA sequence data. *Parasitol Res* 86:738–744. doi:10.1007/PL00008561

Článek č. 4

**Kyriánová, I.A.,** Vadlejch, J., Langrová, I. 2019. Comparison of lungworm infection in a herd of young and dairy goats at an organic farm. *Scientia Agriculturae Bohemica* **50**: 23–28.



## COMPARISON OF LUNGWORM INFECTION IN A HERD OF YOUNG AND DAIRY GOATS AT AN ORGANIC FARM\*

I.A. Kyriánová, J. Vadlejch, I. Langrová

*Czech University of Life Sciences Prague, Faculty of Agrobiological Sciences, Department of Zoology and Fisheries, Prague, Czech Republic*

The prevalence and intensity of infection of the lungworm *Muellerius capillaris* in dairy and young goats were evaluated at one organic farm in the Czech Republic. A total of 605 faecal samples were collected from rectum of thirty selected dairy and thirty young goats; each individual was examined monthly throughout a year. Data were statistically evaluated to verify the existence of differences in values of larvae count per gram (LPG) in dairy and young goats. Further, dairy goats were divided into three groups depending on the number of lactations and the differences in LPG values between groups were statistically evaluated. The species *M. capillaris* was the only lung parasite identified during our study with an overall prevalence 87.2 % and 93.1 % for young goats and dairy goats, respectively. The difference in the larvae count between young and dairy goats was not statistically significant. The comparison of larvae counts in goat groups depending on the number of lactation showed significant differences between dairy goats on the first and second lactation and between goats on the second and third lactation ( $P < 0.05$ ) contrary to larvae count between goats on the first and third lactation.

small ruminants, lungs, Nematoda, *Muellerius capillaris*



doi: 10.2478/sab-2019-0004

Received for publication on December 15, 2017

Accepted for publication on May 3, 2018

### INTRODUCTION

The lungworm *Muellerius capillaris* (Mueller, 1889) is a common protostrongylid nematode of grazing sheep and goats worldwide (Smith, Sherman, 2009; Suarez et al., 2014). The prevalence of *M. capillaris* depends on many factors – local climatic conditions, favourable ecological conditions for intermediate host, humidity, temperature, farm management, and immunity of the animals itself (Adem, 2016).

The adults of *M. capillaris* are found in lungs as well as in bronchioles, pulmonary alveoli, and subpleural tissue (Suarez et al., 2014). Clinical signs of *M. capillaris* infection in goats are often not apparent and remain overlooked (Vadlejch et al., 2016) because they are usually less obvious in goats than in sheep or other ruminants (Adem, 2016).

Muelleriosis is considered to be cumulative with age, the older goats exhibit clinical signs more often than young animals due to heavier infection (Gorski et al., 2004). Clinical muelleriosis is associated with coughing, dyspnoea (Geurden, Vercrusse, 2007), impaired pulmonary gas exchange, reduced weight, and chronic inflammation. Secondary infection results in pulmonary tissue changes which lead to chronic inflammation and granulomatous reaction around adults in the lungs (Berrag et al., 1997; Panuska, 2006). *M. capillaris* is also considered as a predisposing agent for bacterial infections and heavy infections may cause economic losses (Suarez et al., 2014) due to failure to thrive and lower milk production in dairy goats (Geurden, Vercrusse, 2007).

The life cycle of this nematode is indirect, and it involves small ruminants as definitive hosts and terres-

\* Supported by the Internal Grant Agency of the Czech University of Life Sciences Prague (CIGA), Project No. 20162012, and by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, Project No. QJ1510038.

trial snails and slugs as intermediate hosts (P a n u s k a , 2006). Intermediate host becomes infected by penetration of infective larvae in the first development stage ( $L_1$ ) into its body and molluscs remain infective for at least one year (S m i t h , S h e r m a n , 2009; M a t t h e w s , 2011).  $L_1$  larvae, resistant to desiccation and freezing temperatures, undergo two molts to the  $L_3$  stage within the snail. Goats become infected after eating contaminated snails or slugs while grazing (P a r a u d e t a l . , 2005). Larvae released during digestion process penetrate the host intestinal wall and through the mesenteric lymph nodes enter the heart, pulmonary arteries, and finally lungs (P a n u s k a , 2006).

Anthelmintic treatment of muelleriosis may be complicated, available anthelmintic drugs such as benzimidazole or ivermectin partly reduce the larval count and are not fully effective in elimination of adult lungworms from the host organism (P a r a u d e t a l . , 2005; G e u r d e n , V e r c r u y s s e , 2007; V a d l e j c h e t a l . , 2016). On the other hand, study of G e u r d e n , V e r c r u y s s e (2007) and V a d l e j c h e t a l . (2016) confirmed the high efficacy of eprinomectin and moxidectin on larvae count, respectively. Both anthelmintics are used as drugs in cattle and sheep, but they have not been registered for use in goat breedings (G e u r d e n , V e r c r u y s s e , 2007; V a d l e j c h e t a l . , 2016).

The aim of this study was to evaluate the difference of *M. capillaris* infection in herd of young and dairy goats at one organic goat farm. The study was based on preliminary hypothesis that the prevalence and intensity of infection of *M. capillaris* larvae may have an increasing trend depending on their cumulation during the growing age of the animals.

## MATERIAL AND METHODS

### Farm and goats

The present study was carried out at an organic goat farm located in Central Bohemia (49.33N, 14.18E) at an altitude of 450 m a.s.l. The long-term annual average temperature is 7°C with an average annual rainfall of 750 mm. Local climatological parameters obtained from the Czech Meteorological Institute are presented in the Fig. 1.

The farm has 90 ha of pastures and rear goats of the Czech national breed White Shorthaired goat. During our study, which was conducted from January 2014 to December 2014, 308 goats were on the farm (213 dairy goats, 90 young goats, and 5 adult males).

Dairy goats were on the pasture from April to December; from May to October (during the lactation period) they had access to the stable twice a day for milking. During the winter season (December–March), dairy goats had no access to the pasture; they were kept in the stable for kidding. Young goats were gradually on two pastures during our study; from January to October they were on winter pasture; in April, they were moved to new, summer pasture. The summer pasture was rich in vegetation and moist due to the flowing stream around the pasture. From December, young goats were kept in the stable without access to the pasture. Dairy and young goats stayed in the stable until the end of our study.

On the pasture, there was a shelter; water was provided by a mobile tank. Hay and mineral licks were also available to goats (without addition of plants with anthelmintic effect).

Fig. 1. Local climatological parameters

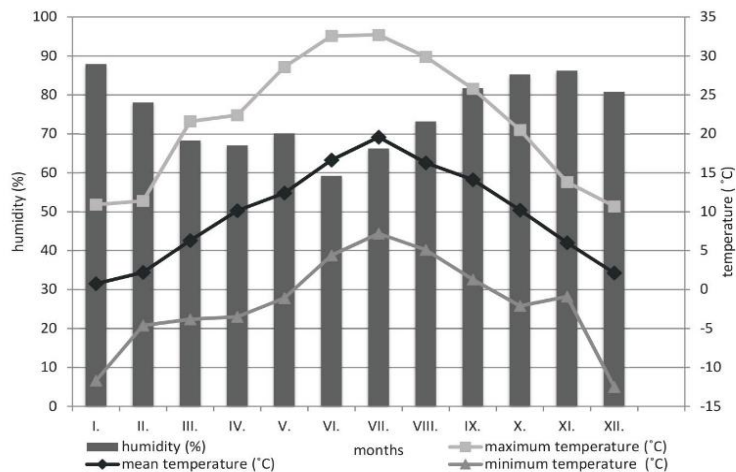




Table 1. Prevalence of the lungworm *Muellerius capillaris* in young and dairy goats, confidence intervals (CI) and minimum – maximum counts of its larvae per gram of faeces (LPG) during one-year survey

Month	Prevalence (CI) (%)		Young goats		Dairy goats	
	young goats	dairy goats	min. LPG	max. LPG	min. LPG	max. LPG
1	64 (47–79)	80 (61–91)	0	40.2	0	272.9
2	57 (39–73)	54 (31–74)	0	20.6	0	56.4
3	74 (55–84)	100 (85–100)	0	15.5	0.5	605.2
4	100 (80–100)	100 (84–100)	0.3	137.7	0.1	261.7
5	100 (85–100)	100 (84–100)	0.2	23.0	0.2	79.2
6	95 (85–100)	90 (74–97)	0	44.4	0	35.1
7	90 (70–97)	100 (90–100)	0	25.3	0.1	430.4
8	94 (74–99)	94 (81–98)	0	15.1	0	291.1
9	94 (75–99)	97 (84–99)	0	43.8	0	41.5
10	100 (87–100)	94 (80–98)	4.1	58.7	0	867.3
11	95 (79–99)	100 (89–100)	0	65.6	0.3	236.8
12	100 (88–100)	92 (77–98)	2.1	89.5	0	143.5

Prior to our survey, goats were treated once a year with ivermectin drugs (Ivomec), which was administered to the entire flock. The drug dosage was determined according to individual body weight. The last dose of antiparasitic drugs was given to the animals one year before our survey (January 2013). Throughout our study, animals were not medicated.

#### Sampling procedure and parasitological methods

For the purpose of our study, thirty dairy goats and thirty young goats were selected. Further, dairy goats were divided depending on the number of lactation into three groups of ten animals being in first, second, and third lactation. Faecal samples were collected directly from the rectum, repeatedly every month from each preselected animal through the whole survey. Samples were stored in labelled plastic bags at 4°C until further processing.

The presence of lungworm larvae was examined using modification of flask recovery procedure (McKenna, 1999) and determined to the species according to van Wyk, Mayhew (2013).

#### Statistical analysis

Data were statistically evaluated using non-parametric Mann-Whitney U-test (STATISTICA 12, 2012) to verify the existence of difference in values of larvae count per gram in young and dairy goats. The statistical significance level was established as  $\alpha = 0.05$ . Prevalence was evaluated according to Bush et al. (1997), and calculated for each month separately for young and dairy goats during whole survey.

## RESULTS

In our study, we collected 605 faecal samples in total (334 from dairy goats and 271 from young goats). Lungworms larvae were identified as *Muellerius capillaris* with an overall prevalence 87.2 % and 93.1 % for young goats and dairy goats, respectively.

Table 1 shows the monthly prevalence, confidential intervals and minimum – maximum values of LPG count in both, young and dairy goats during our survey. In herd of young goats, the prevalence reached 100 % in April and did not fall below 90 % till the end of our study. In young goats, apparent decline of LPG was found during January–March while significant maximum occurred in April (137.7). During the rest of the year until December, the declined LPG count was maintained without any significant fluctuations. The second significant year maximum appeared in December (89.5).

In herd of dairy goats, the prevalence reached 100 % in March and like in young goats, it did not fall below 90 % till the end of our study. Dairy goats reached the highest larval count in March, July, and October, while the lowest LPG occurred always in the previous month – February, June, and September (Table 1). Statistical analysis did not show statistically significant effect in larvae count between young and dairy goats ( $P > 0.05$ ) (Fig. 2).

When comparing dairy goats by number of lactations (Table 2), the highest LPG count during whole survey was observed in goats on the first lactation, with high LPG in March and July and maximum in October (867.3). The goats on the second lactation had the highest larval counts in January, April, and

Table 2. Minimum – maximum counts of *Muellerius capillaris* larvae per gram of faeces (LPG) of dairy goats on first, second, and third lactation

Month	First lactation goats		Second lactation goats		Third lactation goats	
	min. LPG	max. LPG	min. LPG	max. LPG	min. LPG	max. LPG
1	5.5	17.6	0	272.9	0	264.0
2	0	0	0	51.1	0	56.4
3	8.3	605.2	0.5	89.5	4.2	22.3
4	3.2	261.7	0.4	137.3	0.1	21.6
5	0.3	79.2	0.3	51.0	0.2	61.6
6	0	35.1	0	16.3	0.4	8.7
7	0.1	430.4	3.5	26.5	2.4	25.2
8	0	291.2	1.6	20.4	4.7	23.8
9	5.1	33.0	0	41.5	6.0	28.4
10	0	867.3	0	102.5	12.4	94.6
11	1.3	30.4	0.3	35.6	10.5	236.8
12	2.5	56.5	0	143.5	10.8	106.0

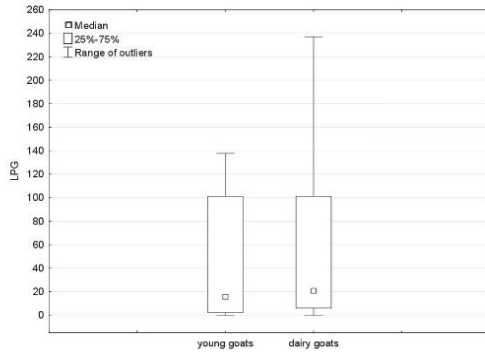


Fig. 2. Comparison of LPG count between young and dairy goats

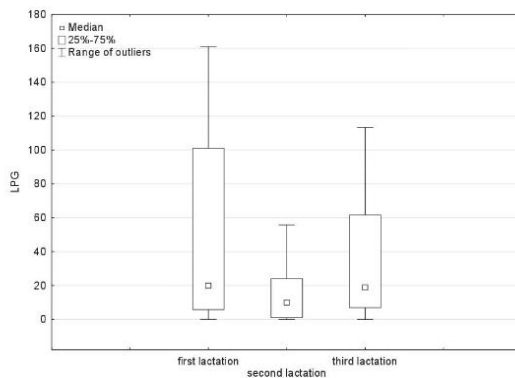


Fig. 3. Comparison of LPG count in dairy goats on first, second and third lactation

December, goats on the third lactation in January and November. Statistical analysis showed significant differences in larvae counts between goats on the second lactation ( $P < 0.05$ ), contrary to larvae counts between goats on the first and third lactation ( $P > 0.05$ ) (Fig. 3).

## DISCUSSION

*Muellerius capillaris* was the only lungworm found in our study of goats of different ages from a farm in the Czech Republic. Even though this nematode is known as the most common lungworm in young goats, there is a lack of detailed studies, particularly those focussing on larval counts in various age categories of the animal.

Domke et al. (2013) reported the occurrence of *M. capillaris* in goats in all monitored regions in Norway and its prevalence was 31.2%; Voigt et al. (2016) found the first stage larvae in 35.1% samples collected from pastures of seven farms in Germany. Panuská (2006) described the prevalence of 64% and 68% in Maryland and Georgia (USA), respectively. Compared to above-mentioned studies, our study recorded higher overall prevalence of the nematode in goats, namely 87.2% for young goats and 93.1% for dairy goats. The highest prevalence up to 100% was recorded in goats from Stara Zagora (Bulgaria) by Georgiev et al. (2003). It should be remembered that the examination method could affect the results. Many above quoted studies have used pooled coprological samples while we applied individual sampling for the same animals every month during one-year period, which gives us more accurate information about the prevalence and intensity of infection at the monitored farm.

Health problems caused by *M. capillaris* infections tend to accumulate with age and older goats exhibit

clinical symptoms rather than young goats (Gorski et al., 2004). The high prevalence in young goats recorded in our study may be also caused by the age distribution of goats in monitored herd. Several ill adults, already lactating goats, were added to the herd of young goats to recover, and thus the heavily infected individuals might affect the presence of larvae on the common pasture and the higher infestation of snails.

During our study we observed significant differences between nematode LPG counts in goats of various age categories (first, second, and third lactation) as well as between individual host animals. These differences may be explained mainly by the immunity status of each goat which depends individually on its age and e.g. timing and level of infection load. As we applied a more sensitive method in recovering lungworm larvae (flask method) than the traditional funnel method, it was possible to identify also differences between individuals of the same age.

According to Panská (2006), long-term survival of adult nematodes in goats allows contamination of pasture by first stage larvae for long time. Frequency of new infections of definitive hosts depends on the survival of larvae on the pasture, their ability to infect intermediate molluscan hosts, and on the presence of an intermediate host. Parasite's ability to survive throughout mollusc's life increases its availability for grazing animals.

The degree of infection of intermediate mollusc hosts is primarily related to temperature and frequency of rainfall, and secondarily to excretion of larvae in faeces (Lahmar et al., 1990). Moisture is essential for survival and development of young lungworm larvae on the pasture. Rainfall stimulates the activity of both, molluscs and parasite larvae, which is related to intensity of infection on the pasture (Tewodros, 2015). In our study, we recorded a sharp LPG count increase in herd of young goats in April which coincides with the transition of young goats from the winter pasture to new, summer pasture, which was, compared to winter pasture, rich in vegetation and moist (bordered by the stream). In the herd of dairy goats, the increase of LPG counts occurred repeatedly, always with increasing humidity (for detailed climatological parameters see Fig. 1). In general, the best environmental conditions for *M. capillaris* larvae are represented by cool, damp surrounding with long herbage, where they are most active at moderate temperature of 10–21°C (Tewodros, 2015).

## CONCLUSION

The prevalence of *M. capillaris* lungworms may be affected by many factors, such as the presence of intermediate molluscan host on the pasture (or stable, shelter), number of larvae ingested by final mammalian host, immunity and age of each animal, lack of

feeding, overstocking, and local micro-environmental climate. Some of these factors (immunity of animals, feeding, and pasture management) may be affected by farm management to reduce the impact of lungworm infections on animals. The transfer of adult animals (or ill animals) to herd of young goats may lead to increasing prevalence or intensity of infection in young goats that do not have fully developed immunity (several young goats died during the year on the farm, and the subsequent autopsy showed severe lung parenchyma damages caused by lungworms). This may be resulting in economic consequences due to reduced weight, impaired fertility, and reduced milk production of farmed ruminants.

## REFERENCES

- Adem J (2016): Lungworm infection of small ruminant in Ethiopia: A review. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, 2, 22–43.
- Berrag B, Rhalem A, Sahibi H, Dorchie P, Cabaret J (1997): Bronchoalveolar cellular responses of goats following infections with *Muellerius capillaris* (Protostrongylidae, Nematoda). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 58, 77–88. doi: 10.1016/S0165-2427(96)05741-8.
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW (1997): Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of Parasitology*, 575–583. doi: 10.2307/3284227.
- Domke AVM, Chartier C, Gjerde B, Leine N, Vatn S, Stuenkel S (2013): Prevalence of gastrointestinal helminths, lungworms and liver fluke in sheep and goats in Norway. *Veterinary Parasitology*, 194, 40–48. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.12.023.
- Georgiev DM, Kostadinova A, Georgiev BB (2003): Land snails in the transmission of protostrongylids on pastures in Southern Bulgaria: Variability of infection levels related to environmental factors. *Acta Parasitologica*, 48, 208–217.
- Geurden T, Verercruysse J (2007): Field efficacy of eprinomectin against a natural *Muellerius capillaris* infection in dairy goats. *Veterinary Parasitology*, 147, 190–193. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.04.003.
- Gorski P, Niznikowski R, Strzelec E, Popielarczyk D, Gajewska A, Wedrychowicz H (2004): Prevalence of protozoan and helminth internal parasite infections in goat and sheep flocks in Poland. *Archiv Tierzucht Dummerstorf*, 47, 43–49.
- Lahmar S, Cabaret J, Cheniti T (1990): Land snails and periods at high risk for protostrongylid infection on a sheep-grazed pasture of northeast Tunisia. *Veterinary Parasitology*, 36, 105–115. doi: 10.1016/0304-4017(90)90098-V.
- Matthews JG (2011): *Diseases of the goat*. John Wiley and Sons, Inc.
- McKenna P (1999): Comparative evaluation of two emigration/sedimentation techniques for the recovery of dictyocaulid and protostrongylid larvae from faeces. *Veterinary Parasitology*, 80, 345–351. doi: 10.1016/S0304-4017(98)00223-4.

- Panuska C (2006): Lungworms of ruminants. *Veterinary Clinic Food Animal Practice*, 22, 583–593. doi: 10.1016/j.cvfa.2006.06.002.
- Paraud C, Cabaret J, Pors I, Chartier C (2005): Impact of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on *Muellerius capillaris* larvae in goat faeces. *Veterinary Parasitology*, 131, 71–78. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.04.016.
- Smith MC, Sherman DM (2009): *Goat medicine*. John Wiley and Sons, Inc.
- Suarez VH, Bertoni EA, Micheloud LF, Cafrune MM, Vinabal AE, Quiroga Roger J, Bassanetti AF (2014): First record of *Muellerius capillaris* (Nematoda, Protostrongylidae) in northwestern Argentina. *Helminthologia*, 51, 288–292. doi: 10.2478/s11687-014-0243-6.
- Tewodros AE (2015): A review on: Lungworm infection in small ruminants. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, 1, 149–159.
- Vadlejch J, Makovicky P, Cadkova Z, Langrova I (2016): Efficacy and persistent activity of moxidectin against natural *Muellerius capillaris* infection in goats and pathological consequences of muelleriosis. *Veterinary Parasitology*, 218, 98–101. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.01.009.
- van Wyk JA, Mayhew E (2013): Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 80, 1–14. doi: 10.4102/ojvr.v80i1.539.
- Voigt K, Sieber PL, Sauter-Louis C, Knubben-Schweizer G, Scheurle M (2016): Prevalence of pasture-associated meta-zoal endoparasites in Bavarian dairy goat herds and farmers' approaches to parasite control. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 129, 7–8.

---

*Corresponding Author:*

Ing. Iveta Angela Kyriánová, Czech University of Life Sciences Prague, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Department of Zoology and Fisheries, Kamýcká 129, 165 00 Prague 6-Suchbát, Czech Republic, phone: +420 224 383 645, e-mail: kyrianovai@af.czu.cz

---

## 5. Sumární diskuze

### Článek č. 1 - **Comparison of internal parasitic fauna in dairy goats at conventional and organic farms in the Czech Republic**

Dosud publikované studie (Silvestre et al. 2000; Cabaret et al. 2002) uvádějí, že ekologické farmy mají bohatší zastoupení druhového spektra GI hlístic než chovy konvenční, a to především z důvodu omezeného používání anthelmintik na ekologických farmách. Prevence nemocí v ekologických chovech je založena na předpokladu, že výživa, ustájení a péče o zvířata umožňuje zvířatům vybudovat si přirozenou odolnost proti chorobám (Kijlstra & Eijck 2006). V ekologickém zemědělství je používání anthelmintik omezeno, a je stanoven maximální počet ošetření za rok. V případě ošetření však platí dvojnásobná ochranná lhůta, oproti konvenčním chovům (Cabaret et al. 2002; Cabaret 2003). Každý členský stát si ale tyto podmínky může upravit, ČR se řídí nařízením EU. Ekologické farmy zahrnuté do naší studie anthelmintické preparáty používali. Frekvence ošetření koz ale byla oproti konvenčním chovům nižší.

Výsledky naší studie se neztotožňují se závěry Silvestre et al. (2000) a Cabaret et al. (2002), že snížená diverzita endoparazitů u konvenčních chovů je spojována s častějším anthelmintickým ošetřením. Je třeba rozlišit, zda se jedná o chovy pro mléčnou nebo masnou produkci. Jak uvádí Dubeuf et al. (2004), většina koz je v evropském měřítku využívána pro mléčnou produkci a následnou výrobu produktů z kozího mléka. Všechny farmy zahrnuté do naší studie byly zaměřeny na mléčnou produkci. Byly tedy závislé na délce laktačního období, které se většinou shoduje s pastevním obdobím.

Z našich výsledků je zřejmé, že u obou systémů hospodaření docházelo k použití anthelmintik zejména v jarním období, před anebo na začátku pastvy, a/nebo na podzim či v zimě po ukončení pastvy. V průběhu laktace, nebylo-li to ze zdravotních důvodů jednotlivých zvířat nutné, anthelmintika aplikována nebyla. Používání anthelmintik během zimního období však není zcela vhodné, a to zejména z důvodu hypobiózy hlístic, která nastává s měnícími se podmínkami prostředí a působí na vývojové fáze parazita (Sargison et al. 2007).

Druhové spektrum GI a plicních hlístic, ale ani intenzita infekce na ekologických a konvenčních farmách se dle výsledků naší studie statisticky neliší. Naše zjištění potvrzuje i da Silva et al. (2013). Ve studii da Silva et al. (2013) nebyly zjištěny statisticky významné

rozdíly v počtu vyloučených vajíček strongylidních hlístic mezi oběma systémy hospodaření. Přestože ekologické farmy zahrnuté do studie da Silva et al. (2013) ošetření anthelmintiky nepoužívali vůbec, počet vyloučených vajíček na monitorovaných ekologických farmách nepřesáhl 1 000 EPG, oproti konvenčním chovům, kde anthelmintické ošetření používáno bylo a nejvyšší hodnoty v počtu vyloučených vajíček dosáhly 710 EPG. Během naší studie byly zaznamenány nejvyšší počty vyloučených vajíček na konvenční farmě 7 320 EPG a na ekologické farmě 7 400 EPG. Je však potřeba zdůraznit, že oproti studii da Silva et al. (2013) bylo během naší studie anthelmintické ošetření aplikováno jak u konvenčních, tak i u ekologických chovů. Ačkoli nebyl u obou výše zmiňovaných studií prokázán statisticky významný rozdíl v intenzitě infekce mezi oběma systémy hospodaření, během naší studie byly zaznamenány mnohem vyšší hodnoty v počtech vyloučených vajíček. Dle da Silva et al. (2013), byla očekávána vyšší parazitární zátěž u koz v ekologických chovech vzhledem k zákazu používání anthelmintik v ekologických chovech v Brazílii a dále uvádějí, že tyto výsledky mohou naznačovat vyšší parazitární zátěž v důsledku zvýšeného používání pastvin v ekologických chovech.

Rozloha pastvin a délka období, po které jsou zvířata uzavřena na zimu uvnitř stájí jsou spojovány s intenzitou infekce a druhovou diverzitou GI hlístic (Silvestre et al. 2000). Výsledky studie Silvestre et al. (2000) však nepotvrzují spojení mezi rozlohou a využíváním pastvin s druhovou diverzitou GI hlístic. Opačně je tomu u délky období, po které jsou zvířata zavírána na zimu bez přístupu na pastvu. Zde Silvestre et al. (2000) uvádějí negativní korelaci mezi délkou uzavírání zvířat na zimu a druhovým spektrem GI hlístic. Většina farem ve studii Silvestre et al. (2000) udržovala kozy po aplikaci anthelmintik během zimního období uvnitř stájí. Farmy zahrnuté do naší studie používaly stejný systém. Anthelmintické ošetření spolu s managementem chovu představují další faktor ovlivňující intenzitu infekce a druhové spektrum GI hlístic přítomných na pastvině (Skorping & Read 1998). Rezistence na anthelmintika je u mléčných koz závažným problémem (Cabaret 2000) ovlivňujícím intenzitu infekce a druhové spektrum GI hlístic v závislosti na výskytu rezistentních druhů hlístic (Silvestre et al. 2000).

Námi zjištěné druhové spektrum GI hlístic koreluje s jinými publikacemi z evropských zemí např. Manfredi et al. (2010); Vieira et al. (2014); Voigt et al. (2016); Babják et al. (2017) a Lambert et al. (2018). V naší studii bylo druhové spektrum nejčastěji zastoupených druhů shodné u obou systémů hospodaření (*Trichostrongylus/Teladorsagia* a *H. contortus*). Z dalších druhů GI hlístic byly častěji zastoupené v ekologických chovech *O. columbianum*, *Ch. ovina* a *Cooperia* spp., oproti tomu *Bunostomum trigonocephalum* bylo častější v konvenčních chovech. Tyto rozdíly však nebyly statisticky významné.

Naši hypotézu, že druhové spektrum a intenzita infekce endoparazitóz bude vyšší u ekologických chovů v porovnání s konvenčními chovy jsme nepotvrdili. Spektrum endoparazitů ani intenzita infekce se mezi jednotlivými systémy hospodaření statisticky nelišily. Naše zjištění lze odůvodnit zaměřením produkce sledovaných farem. U obou systémů hospodaření je během laktace omezeno užívání anthelmintik. Ekologické i konvenční chovy mají vzhledem k laktaci shodná omezení. Výsledky naší studie ověřily předpoklad, že druhové spektrum endoparazitů je ovlivněno spíše samotným prostředím farmy a zaměřením chovu, managementem pastvy a klimatickými podmínkami. Teplota a vlhkost jsou klíčovými parametry přežití volně žijících stádií GI hlístic (O'Connor et al. 2006). Vzhledem ke globálnímu oteplování se prodlužuje teplejší období roku a současně s tím jsou propagační stadia endoparazitů vylučována svými hostiteli do vnějšího prostředí po delší část roku (Hudson et al. 2006; Knapp-Lawitzke et al. 2016).

## Článek č. 2 - Seasonal dynamics of endoparasitic infections at an organic goat farm and the impact of detected infections on milk production

Většina dosud publikovaných prací uvádí, že GI hlístice významně ovlivňují kvalitativní a kvantitativní parametry mléka (Hoste & Chartier 1993; van Houtert & Sykes 1996; Hoste et al. 2002; Rinaldi et al. 2007; Alberti et al. 2012, 2014). Chartier & Hoste (1997) zveřejnili poznatky o negativním vlivu GI hlístic *H. contortus* a *T. colubriformis* na mléčnou produkci u koz s vysokou dojivostí. Etter et al. (2000) ve své studii zaměřené na vliv *T. colubriformis* na mléčnou produkci potvrdili, že kozy s vysokou dojivostí nevytváří takovou imunitní odpověď na parazitární zátěž, jako kozy s nižší mléčnou produkcí. Výsledky naší studie, ale také studie May et al. (2017) uvádějí, že strongylidní hlístice nemají na kvalitativní a kvantitativní parametry mléka tak výrazný vliv, jak popisují výše zmíněné studie. Je potřeba při vyhodnocení vlivu strongylidních hlístic na produkční parametry mléka zvážit i další faktory. Všechny výše zmiňované studie porovnávají pouze vliv strongylidních hlístic na produkční ukazatele mléka. Nicméně, kozy jsou obvykle v případě přirozené infekce hostiteli bohatého druhového spektra strongylidních hlístic (Waller 2006), které mohou mezi sebou vzájemně interagovat. V naší studii byly statisticky vyhodnocovány všechny skupiny endoparazitů s nejvyšší prevalencí (strongylidní hlístice, kokcidie rodu *Eimeria* a plicivky *M. capillaris*) společně s klimatickými parametry v průběhu sezóny a s produkčními ukazateli.

Vyhodnocení vlivu GI hlístic na produkční ukazatele mohou být ovlivněny mnoha faktory jako je např. samotné prostředí farmy, které je pro každou farmu jedinečné. Dále je

potřeba při samotném vyhodnocení zohlednit faktory jako parazitofauna, jak již bylo zmíněno, některé druhy mají na produkční ukazatele větší vliv, a také intenzitu infekce. Výsledky naší studie ukazují, že zjištěná intenzita infekce strongylidních hlístic ovlivnila pouze obsah proteinu v mléce. Ostatní kvantitativní a kvalitativní ukazatele mléčné produkce na farmě nebyly statisticky významně ovlivněny žádnou ze skupin přítomných parazitů ve zjištěné intenzitě infekce. Obsah tuku, laktózy a dojivost byly více ovlivněny průběhem sezóny tedy klimatologickými parametry jednotlivých měsíců než samotným zvířetem a jeho imunitním statutem. Studie Alberti et al. (2014), prokázala pokles obsahu bílkovin způsobený vysokou intenzitou infekce. Námi zjištěná intenzita infekce dosahovala spíše středních hodnot. Naši hypotézu, že kvalitativní i kvantitativní parametry mléka jsou ovlivněny intenzitou infekce a druhovým spektrem parazitů jsme nepotvrdili. Nelze však vyloučit, že při vyšší intenzitě infekce by nedošlo k ovlivnění více parametrů mléka.

Obsah tuku, laktózy a množství mléka byly v naší studii ovlivněny průběhem sezóny, tedy lokálními klimatickými faktory. Při vyhodnocování vlivu infekcí GI hlísticemi na produkční ukazatele je potřeba zaměřit pozornost na celkové spektrum endoparazitů v hostiteli a další vnitřní i vnější faktory, které mohou parazitofaunu ovlivňovat. Nelze opomenout ani prostředí farmy, výživu, složení pastvy a chovatele samotného.

### Článek č. 3 - **Health risks associated with wild animal translocation: a case of the European bison and an alien parasite**

Parazitózy jsou významnou hrozbou pro populace volně žijících přežvýkavců a pro ohrožené druhy, o jejichž přežití usilují programy pro zachování druhů (Kołodziej-Sobocińska et al. 2018). Naše studie byla provedena v druhé největší české oboře, v níž jsou mimo jiné, v rámci záchranného programu, chováni i zubři evropští. Zubři byli do této obory převezeni z Polska a po anthelmintickém ošetření proti zjištěné fascioloidóze a karanténě, která trvala 18 měsíců, byli vypuštěni mezi ostatní zvířata v oboře.

*A. sidemi* je původním druhem hematofágní hlístice asijských jelenovitých, se kterými byl introdukován do evropských zemí (Drózdź et al. 2003). Migrujícími jelenovitými byl introdukován i do Polska (Demiaszkiewicz et al. 2018). První záznam o nález *A. sidemi* u zubra evropského v Polsku pochází z roku 1997 (Drózdź et al. 1998). Od té doby prevalence *A. sidemi* zejména u zubrů v Polsku neustále roste (Demiaszkiewicz et al. 2009). Přesto, že při přesunu zubrů evropských z Polska do obory v ČR byly dodrženy standardní veterinární postupy, zavlečení *A. sidemi* do ČR se nepodařilo zabránit. Tento nález *A. sidemi* je vůbec prvním zaznamenaným případem této invazivní hlístice u zubra



evropského v ČR. Pyziel et al. (2018) potvrzují, že právě přesun zubrů evropských do nových lokalit představuje z hlediska šíření těchto invazivních parazitů závažný problém. Tito introdukovaní parazité se mohou rozšířit na ostatní zvířata v oboře, ale i na hospodářská zvířata (Demiaszkiewicz et al. 2009; Demiaszkiewicz et al. 2013; Moskwa et al. 2015, Vadlejch et al. 2017; Pyziel et al. 2018). Výskyt *A. sidemi* byl již potvrzen v ČR na více lokalitách s intenzivními chovy volně žijících přežvýkavců, zejména u jelenů evropských, srnců obecných, daňků obecných, ale i losa evropského (Magdálek et al. 2018). Přenos *A. sidemi* z volně žijících přežvýkavců na domácí v přirozených podmínkách byl zatím potvrzen u skotu (Moskwa et al. 2015), ale v podmínkách experimentální infekce již došlo i k přenosu na ovce (Kotrlá et al. 1976).

Dospělci *A. sidemi* byly v naší studii získány parazitologickou pitvou dvou zubrů evropských a dvou jelenů evropských a následně určeny na základě morfologických znaků dle Drózdž et al. (1998). Aby bylo možné porovnat intenzitu parazitózy s využitím intravitálních a post mortálních technik, byly odebrány vzorky výkalů usmrcených zvířat a provedeno koprologické vyšetření. Pro koprologické vyšetření byly vybrány dvě běžně používané metody, Koncentrovaná McMasterova metoda dle Roepstorff a Nansen (1998) a Cornell-Wiskonsin metoda dle Egwand & Slocombe (1982). V porovnání s počtem dospělců získaných ze slezů usmrcených zvířat (např. u jednoho zubra 11 500 dospělců, u druhého 425 dospělců) diagnostika pomocí koprologických metod selhala. Koprologickými metodami byly zjištěny pouze zanedbatelné počty vajíček strongylidního typu (koncentrovaný McMaster – 0 a 40 EPG, Cornell-Wiskonsin – 0 a 5 vajíček). Je tedy zřejmé, že diagnostiku ashworthiózy nelze zakládat pouze na intravitálních diagnostických metodách. Ostatně i Eysker & Ploeger (2000) uvádějí, že počet vyloučených vajíček u většiny strongylidních hlístic neodráží skutečnou intenzitu infekce.

Potencionální přenos této invazivní hlístice sdílením pastviny domácích a volně žijících přežvýkavců není vyloučený a představuje značné riziko pro chovy hospodářských přežvýkavců, ale i pro populace parazitů, které mohou být působením této hlístice ovlivněny. Abychom minimalizovali zavlečení ashworthiózy na území ČR, je potřeba dbát na důsledná preventivní opatření před převozem zvířat na území ČR.

#### Článek č. 4 - Comparison of lungworm infection in a herd of young and dairy goats at an organic farm

Přesto, že je *Muellerius capillaris* běžným parazitem malých přežvýkavců (Foreyt et al. 2009), není mnoho studií zaměřených na parazitární zátěž těmito plivnicami u různých

věkových kategorií koz. Během naší studie bylo celkem vyšetřeno více než 300 vzorků od dojných koz a téměř 280 vzorků od kůzlat. Získané larvy byly determinovány jako *M. capillaris*. Celková prevalence těchto plicnivek zjištěná v naší studii byla v porovnání s již publikovanými studiemi (Domke et al. 2013; Voigt et al. 2016) značně vyšší. V porovnání se studií Georgiev et al. (2003), kteří popisují prevalenci 100 % mají výše zmíněné studie celkovou prevalenci *M. capillaris* nižší.

Výskyt plicnivek *M. capillaris* v oblasti je závislý především na klimatických podmínkách a na přítomnosti mezihostitele. K infekcím dochází nejčastěji ve vlhčích měsících v roce (Adem 2016). Vlhkost na pastvině stimuluje aktivitu larev i mezihostitelů (Tewodros 2015). Frekvence infekcí definitivního hostitele závisí na přežití larev plicnivek na pastvině a na jejich schopnosti infikovat mezihostitele. Infikovaný mezihostitel zůstává infekční po celý svůj život. Parazit tak zvyšuje svoji dostupnost pro zvířata na pastvině (Panuska 2006). Muelleriáza má spíše kumulativní charakter. Starší zvířata vykazují častěji klinické příznaky v porovnání s mláďaty či mladými zvířaty (Gorski et al. 2004). Vysoká prevalence u kůzlat zaznamenaná v naší studii může být následkem nevhodně zvoleného managementu chovatele, který zařazoval nemocné starší, již laktující kozy do stáda kůzlat, aby se zotavily. Tato starší zvířata mohla být silně infikována a mohlo dojít ke zvýšenému vylučování larev plicnivek do vnějšího prostředí. Což mohlo ovlivnit promořenost mezihostitelů na pastvině.

Výsledky naší studie neprokázaly statisticky významný rozdíl v intenzitě infekce u dojných koz v porovnání s kůzlaty. Nicméně prokázaly statisticky významný rozdíl u dojných koz na druhé laktaci v porovnání s kozami na první a třetí laktaci. Rozdíly v intenzitě infekce byly také mezi jednotlivými sledovanými zvířaty.

Infekce plicnivkami *M. capillaris* jsou ovlivněny mnoha faktory. Faktory související s lokálním klimatem lze těžko ovlivnit, ale samotnou přítomnost mezihostitelů na pastvinách či stájích a přístřešcích částečně ovlivnit lze. A to jednak používáním moluskocidů a dále zamezením přístupu zvířat na vlhká místa na pastvinách. Plži se také vyskytují v dřevěných přístřešcích na pastvinách např. pod starým dřevem nebo pod trámy a vzhledem k potravnímu chování koz, je jejich pozření velmi pravděpodobné.

Aplikováním chovatelských opatření, jako např. posílení imunity zvířat vhodnou výživou, oddělení různých věkových kategorií apod., lze do určité míry docílit zmírnění vlivu parazitóz na chovaná zvířata.

## 6. Závěr

Tato disertační práce je zaměřena na gastrointestinální a plicní hlístice u hospodářských a volně žijících přežvýkavců. Součástí práce jsou vědecké publikace, které naplňují cíle stanovené pro předloženou disertační práci.

Stanovené hypotézy disertační práce nebyly potvrzeny. Systém hospodaření farem neovlivnil druhové spektrum gastrointestinálních a plicních hlístic. Bylo zjištěno, že druhové spektrum parazitů bylo ovlivněno klimatickými faktory a mezi ekologickými a konvenčními farmami nebyl zjištěn rozdíl v intenzitě infekce ani v druhovém spektru GI hlístic a plicnivek. Všechny vyšetřované farmy byly zaměřené na mléčnou produkci. Laktace u zvířat na farmách zaměřených na mléčnou produkci omezuje u obou systémů hospodaření užívání anthelmintik. Vzhledem k tomuto omezení není systém hospodaření rozhodujícím faktorem, který ovlivňuje druhové spektrum parazitů. Jak ekologické, tak i konvenční chovy po většinu roku zvířata pasou a jsou tedy shodně vystavena infekčním larvám na pastvinách. Je potřeba zaměřit pozornost spíše na minimalizaci kontaktu pasoucích zvířat s infekčními larvami a aplikovat v chovech vhodná preventivní opatření zaměřená na změnu managementu pastvy.

Hypotéza, že intenzita parazitární gastroenteritidy a verminózní pneumonie negativně ovlivňují kvalitu i kvantitu produktů infikovaných zvířat nebyla potvrzena. Ve sledovaném chovu byla zjištěna mírná až střední intenzita infekce strongylidních hlístic a tato hladina infekce měla vliv pouze na obsah proteinu v mléce. Ostatní zjištěné skupiny parazitů sledované parametry mléčné produkce neovlivnily. Mohlo by se zdát, že dle našich zjištění nemají endoparazitózy ve sledovaném chovu velké ekonomické dopady, ale je to právě obsah proteinu v mléce, který je důležitý pro výtěžnost mléka a jeho následné zpracování na sýry či jogurty. Následkem snížené výtěžnosti mléka je nižší množství vyrobených produktů i jejich snížená kvalita.

GI a plicní hlístice představují zdravotní riziko jak pro hospodářské, tak i pro volně žijící přežvýkavce. V současné době, kdy jsou intenzivní chovy přežvýkavců ohroženy stále rostoucí rezistencí na anthelmintika, je potřeba dbát na preventivní opatření a parazitózám se snažit předcházet. Jedním z těchto opatření je i často opomíjená karanténa, a to nejen při převozu či dovozu hospodářských nebo volně žijících přežvýkavců v rámci programů na ochranu ohrožených druhů. Zavlečení rezistentních kmenů parazitů do chovu nebo zavlečení alochtonních druhů parazitů představuje značný problém, který může ovlivnit druhové složení autochtonních GI hlístic a v konečném důsledku celý chod chovu či farmy.

## 7. Seznam obrázků

Obr. 1: Samice hematofágní hlístice *Ashworthius sidemi*. Na snímku je viditelná bílá děloha obtočená okolo střeva naplněného krví hostitele

Obr. 2: Spikuly a gubernákulum samce hematofágní hlístice *Haemonchus contortus*

## 8. Seznam použité literatury

- Abbot KA, Taylor MA, Stubbings LA. 2012. Sustainable Worm Control Strategies for Sheep. A Technical Manual for Veterinary Surgeons and Advisors. 4th ed. Scops Context Publishing.
- Adem J. 2016. Lungworm infection of small ruminant in Etiopia: A review. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences* **2**: 22–43.
- Alberti E, Zanzani S, Ferrari N, Bruni G, Manfredi M. 2012. Effects of gastrointestinal nematodes on milk productivity in three dairy goat breeds. *Small Ruminant Research* **106**: 12–17.
- Alberti EG, Zanzani SA, Gazzonis AL, Zanatta G, Bruni G, Villa M, Rizzi R, Manfredi MT. 2014. Effects of gastrointestinal infections caused by nematodes on milk production in goats in a mountain ecosystem: comparison between a cosmopolite and a local breed. *Small Ruminant Research*. **120**: 155–163.
- Albery GF, Kenyon F, Morris A, Morris S, Nussey DH, Pemberton JM (2018). Seasonality of helminth infection in wild red deer varies between individuals and between parasite taxa. *Parasitology* **145**: 1410–1420.
- Athanasiadou S, Kyriazakis I. 2004. Plant secondary metabolites: antiparasitic effects and their role in ruminant production systems. *Proceedings of the Nutrition Society* **63**: 631–639.
- Babják M, Königová M, Urda-Dolinská M, Várady M. 2017. Gastrointestinal helminth infections of dairy goats in Slovakia. *Helminthologia* **54**: 211–217.
- Barger IA. 1999. The role of epidemiological knowledge and grazing management for helminth control in small ruminants. *International Journal for Parasitology* **29**: 41–47.
- Berrag B, Rhalem A, Sahibi H, Dorchies P, Cabaret J. 1997. Bronchoalveolar cellular responses of goats following infections with *Muellerius capillaris* (Protostrongylidae, Nematoda). *Veterinary Immunology and Immunopathology* **58**: 77–88.
- Besier RB, Kahn LP, Sargison ND, van Wyk JA. 2016. The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of *Haemonchus contortus* Infection in Small Ruminants. *Advances in Parasitology* **93**: 1–49.

- Billinis C. 2013. Wildlife diseases that pose a risk to small ruminants and their farmers. *Small Ruminant Research* **110**: 67–70.
- Burlinski P, Janiszewski P, Krol A, Gonkowski S. 2011. Parasitofauna in the gastrointestinal tract of the Cervids (Cervidae) in northern Poland. *Acta Veterinaria (Beograd)* **61**: 269–282.
- Cabaret J. 2000. Anthelmintic resistance in goats: from fiction to facts. Pages 793–794 in *Proceedings of the Seventh International Conference on Goats*. Tours-Poitiers, France.
- Cabaret J, Bouilhol M, Mage Ch. 2002. Managing helminths of ruminants in organic farming. *Veterinary Research* **33**: 625–640.
- Cabaret J. 2003. Animal health problems in organic farming: subjective and objective assessments and farmers' actions. *Livestock Production Science* **80**: 99–108.
- Cole R, Viney M. 2018. The population genetics of parasitic nematodes of wild animals. *Parasites & Vectors* **11**: 590
- da Silva JB, Fagundes GM, Soares JPG, Fonseca AH. 2013. Dairy goat health management and milk production on organic and conventional system in Brazil. *Semina: Ciências Agrárias* **34**: 1273–1280.
- Decristophoris PMA, von Hardenberg A, McElligott AG. 2007. Testosterone is positively related to the output of nematode eggs in male Alpine ibex (*Capra ibex*) faeces. *Evolutionary Ecology Research* **9**: 1277–1292.
- Demeler J, Schein E, von Samson-Himmelstjerna G. 2012. Advances in laboratory diagnosis of parasitic infections of sheep. *Veterinary Parasitology* **189**: 52–64.
- Demiaszkiewicz AW, Lachowicz J, Osinska B. 2009. *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae) in wild ruminants in Bialowieza Forest. *Polish journal of veterinary sciences* **12**: 385–388.
- Demiaszkiewicz AW, Kuligowska I, Lachowicz J, Pyziel AM, Moskwa B. 2013. The first detection of nematodes *Ashworthius sidemi* in elk *Alces alces* (L.) in Poland and remarks of ashworthiosis foci limitations. *Acta Parasitologica* **58**: 515–518.
- Demiaszkiewicz AW, Merta D, Kobielski J, Filip KJ. 2018. A further increase in the prevalence and intensity of infection with *Ashworthius sidemi* nematodes in red deer in the Lower Silesian Wilderness. *Annals of Parasitology* **64**: 189–192.

- Dobson H, Fergani C, Routly, JE, Smith RF. 2012. Effects of stress on reproduction in ewes. *Animal Reproduction Science* **130**: 135–140.
- Domke AVM, Chartier C, Gjerde B, Leine N, Vatn S, Stuen S. 2013. Prevalence of gastrointestinal helminths, lungworms and liver fluke in sheep and goats in Norway. *Veterinary Parasitology* **194**: 40–48.
- Drózdź J., Demiaszkiewicz, A.W., Lachowicz, J., 1998. *Ashworthius sidemi* (Nematoda Trichostrongylidae) a new parasite of European bison *Bison bonasus* L. and the question of independence of *A. gagarini*. *Acta Parasitologica* **43**: 75–80.
- Drózdź J, Demiaszkiewicz AW, Lachowicz J. 2003. Expansion of the Asiatic parasite *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae) in wild ruminants in Polish territory. *Parasitology Research* **89**: 94–97.
- Dubeuf JP, Morand-Fehr P, Rubina R. 2004. Situation, changes and future of goat industry around the World. *Small Ruminant Research* **51**: 165–173.
- Edwards GT, Mitchel S, Harwood DG. 2008. Anthelmintic use in goats. *The Veterinary record* **161**:763–764.
- Elsheikha HM. 2011. Major Nematode Infections, 37–70 in Elsheikha HM, Khan NA, editors. *Essentials of Veterinary Parasitology*, Horizon Scientific Press, UK.
- Etter E, Hoste H, Chartier C, Pors I, Koch C, Brouqua C, Coutineau H. 2000. The effect of two levels of dietary protein on resistance and resilience of dairy goats experimentally infected with *Trichostrongylus colubriformis*: comparison between high and low producers. *Veterinary Research* **31**: 247–258.
- Eysker M, Ploeger HW. 2000. Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections in ruminants. *Parasitology* **120**: 109–119.
- Eysker M, Bakker N, Kooyman FNJ, Ploeger HW. 2005. The possibilities and limitations of evasive grazing as a control measure for parasitic gastroenteritis in small ruminants in temperate climates. *Veterinary Parasitology* **129**: 95–104.
- Egwand EG, Slocombe JO. 1982. Evaluation of the Cornell-Wisconsin centrifugal flotation technique for recovering trichostrongylid eggs from bovine feces. *Canadian journal of comparative medicine and veterinary science* **46**: 133–137.

- Foreyt WJ, Jenkins EJ, Appleyard GD. 20019. Transmission of lungworms (*Muellerius capillaris*) from domestic goats to bighorn sheep on common pasture. *Journal of Wildlife Diseases* **45**: 272–278.
- Fox M. 1997. Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. *Veterinary Parasitology* **72**: 285–308.
- Fthenakis GC, Papadopoulos E. 2018. Impact of parasitism in goat production. *Small Ruminant Research* **163**: 21–23.
- Georgiev DM, Kostadinova A, Georgiev BB. 2003. Land snails in the transmission of protostrongylids on pastures in Southern Bulgaria: Variability of infection levels related to environmental factors. *Acta Parasitologica* **48**: 208–217.
- Geurden T, Vercruyse J. 2007. Field efficacy of eprinomectin against a natural *Muellerius capillaris* infection in dairy goats. *Veterinary Parasitology* **147**: 190–193.
- Gilleard JS. 2013. *Haemonchus contortus* as a paradigm and model to study anthelmintic drug resistance. *Parasitology* **140**: 1506–1522.
- Githiori JB, Athanasiadou S, Thamsborg SM. 2006. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. *Veterinary Parasitology* **139**: 308–320.
- Gorski P, Niznikowski R, Strzelec E, Popielarczyk D, Gajewska A, Wedrychowicz H. 2004. Prevalence of protozoan and helminth internal parasite infections in goat and sheep flocks in Poland. *Archiv Tierzucht Dummerstorf* **47**: 43–49.
- Gujja S, Terrill TH, Mosjidis J., Miller JE, Mechineni A, Kommuru DS, Shaik SA, Lambert BD, Cherry NM, Burke JM. 2013. Effect of supplemental *sericea lespedeza* leaf meal pellets on gastrointestinal nematode infection in grazing goats. *Veterinary Parasitology* **191**: 51–58.
- Haigh JC, Mackintosh C, Griffin F. 2002. Viral, parasitic and prion diseases of farmed deer and bison. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)* **21**: 219–248.
- Höglund J, Dahlstrom F, Engstrom A, Hessle A, Jakubek EB, Schnieder T, Strube C, Sollenberg S. 2010. Antibodies to major pasture borne helminth infections in bulk-tank milk samples from organic and nearby conventional dairy herds in south-central Sweden. *Veterinary Parasitology* **171**: 293–299.



- Hoste H, Chartier C. 1993. Comparison of the effects on milk production of concurrent infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in high- and low-producing dairy goats. *American Journal of Veterinary Research* **54**: 1886–1893.
- Hoste H. 2001. Adaptive physiological processes in the host during gastrointestinal parasitism. *International Journal for Parasitology* **31**: 231–244.
- Hoste H, Le Frileux Y, Goudeau C, Chartier C, Pors I, Broqua C, Bergeaud JP. 2002. Distribution and repeatability of nematode faecal egg counts in dairy goats: a farm survey and implications for worm control. *Research in Veterinary Science* **72**: 211–215.
- Hoste H, Torres-Acosta JFJ, Paolini V, Aguilar-Caballero AJ, Etter E, Lefrileux Y, Chartier Ch, Broqua C. 2005. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Ruminant Research* **60**: 141–151.
- Hoste H, Torres-Acosta JFJ, Aguilar-Caballero AJ. 2008. Nutrition – parasite interactions in goats: is immunoregulation involved in the control of gastrointestinal nematodes? *Parasite Immunology* **30**: 79–88.
- Hoste H, Sotiraki S, Landau SY, Jackson F, Beveridge I. 2010. Goat–Nematode interactions: think differently. *Trends in Parasitology* **26**: 376–381.
- Hoste H, Sotiraki S, Torres-Acosta JFJ. 2011. Control of Endoparasitic Nematode Infections in Goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **27**: 163–173.
- Hoste H, Manolaraki F, Brunet S, Arroyo López C, Martínez-Ortiz de Montellano C, Sotiraki S, Torres-Acosta F. 2011. The anthelmintic properties of tannin-rich legume forages: from knowledge to exploitation in farm conditions. *Options Méditerranéennes* **99**: 295–304.
- Hoste H, Martínez-Ortiz-De-Montellano C, Manolaraki F, Brunet S, Ojeda-Robertos N, Fourquaux I, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA. 2012. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. *Veterinary Parasitology* **186**: 18–27.
- Hoste H, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Mueller-Harvey I, Sotiraki S, Louvandini H, Thamsborg SM, Terrill TH. 2015. Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Veterinary Parasitology* **212**: 5–17.

- Houdijk JG. 2008. Influence of periparturient nutritional demand on resistance to parasites in livestock. *Parasite Immunology* **30**: 356–360.
- Houdijk JG, Kyriazakis I, Kidane A, Athanasiadou S. 2012. Manipulating small ruminant parasite epidemiology through the combination of nutritional strategies. *Veterinary Parasitology* **186**: 38–50.
- Hudson PJ, Cattadori IM, Boag B, Dobson AP. 2006. Climate disruption and parasite-host dynamics: patterns and processes associated with warming and the frequency of extreme climatic events. *Journal of Helminthology* **80**: 175–182.
- Charlier J, Høglund J, von Samson-Himmelstjerna G, Dorny P, Vercruyssen J. 2009. Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: impact on production, diagnosis and control. *Veterinary Parasitology* **164**: 70–79.
- Charlier J, Demeler J, Høglund J, von Samson-Himmelstjerna G, Dorny P, Vercruyssen J, 2010. *Ostertagia ostertagi* in first-season grazing cattle in Belgium, Germany and Sweden: general levels of infection and related management practices. *Veterinary Parasitology* **171**: 91–98.
- Charlier J, van der Voort M, Kenyon F, Skuce P, Vercruyssen J. 2014. Chasing helminths and their economic impact on farmed ruminants. *Trends in Parasitology* **30**: 361–367.
- Charlier J, et al. 2017. Mind the gaps in research on the control of gastrointestinal nematodes of farmed ruminants and pigs. *Transbound Emerging Diseases* **00**: 1–18.
- Chartier C, Hoste H. 1997. Response to challenge infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in dairy goats. Differences between high and lowproducers. *Veterinary Parasitology* **73**: 267–276.
- Chintoan-Uta C, Morgan ER, Skuce PJ, Coles CG. 2014. Wild deer as potential vectors of anthelmintic-resistant abomasal nematodes between cattle and sheep farms. *Proceedings of the Royal Society B* **281**: 2013–2985.
- Jabbar A, Mohandas N, Jex AR, Gasser RB. 2013. The mitochondrial genome of *Protostrongylus rufescens* – implications for population and systematic studies. *Parasites & Vectors* **6**: 263.
- Kaminsky R, et al. 2008. Identification of the amino-acetonitrile derivative monepantel (AAD 1566) as a new anthelmintic drug development candidate. *Parasitology Research* **103**: 931–939.

- Kaminski R, Bapst B, Stein PA, Strehlau GA, Allan BA, Hosking BC, Rolfe PF, Sager H. 2011. Differences in efficacy of monepantel, derquantel and abamectin against multi-resistant nematodes of sheep. *Parasitology Research* **109**: 19–23.
- Kassai T. 1999. *Veterinary Helminthology*. Butterworth-Heinemann, UK.
- Kenyon F, et al. 2009. The role of targeted selective treatments in the development of refugia-based approaches to the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. *Veterinary Parasitology* **164**: 3–11.
- Kijlstra A, Eijck IAJM. 2006. Animal health in organic livestock production systems: a review. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences* **54**: 77–94.
- Knapp-Lawitzke F, von Samson-Himmelstjerna G, Demeler J. 2016. Elevated temperatures and long drought periods have a negative impact on survival and fitness of strongylid third stage larvae. *International Journal for Parasitology* **46**: 229–237.
- Kołodziej-Sobocińska M, Demiaszkiewicz AW, Lachowicz J, Borowik T, Kowalczyk R. 2016. Influence of management and biological factors on parasitic invasions in the wild -Spread of the blood-sucking nematode *Ashworthius sidemi* in European bison (*Bison bonasus*). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **5**: 286–294.
- Kołodziej-Sobocińska M, Demiaszkiewicz AW, Pyziel AM. 2018. Increased Parasitic Load in Captive-Released European Bison (*Bison bonasus*) has Important Implications for Reintroduction Programs. *EcoHealth* **15**: 467–471.
- Kotrlá B, Kotrlý A. 1973 The first finding of the nematode *Ashworthius sidemi* Schulz, 1933 in sika nippon from Czechoslovakia. *Folia Parasitologica* **20**: 377–378.
- Kotrlá B, Kotrlý A, Kozdon O. 1976. Studies on the specificity of the nematode *Ashworthius sidemi* Schulz, 1933. *Acta Veterinaria Brno* **45**: 123–126.
- Kyriánová IA, Vadlejch J, Kopecký O, Langrová I. 2017. Seasonal dynamics of endoparasitic infections at an organic goat farm and the impact of detected infections on milk production. *Parasitology Research* **116**: 3211–3219.
- Kyriánová IA, Nápravníková J, Váradyová Z, Várady M, Vadlejch J. 2018. The field efficacy of herbal plant mixture aqueous extracts against parasitic gastroenteritis in dairy goats 43–50 in Kubík Š, Barták M. editors. 10th Workshop on biodiversity, Jevany, Česká zemědělská univerzita v Praze.

- Lambertz C, Pouloupoulou I, Wuthijaree K, Gauly M. 2018. Endoparasitic infections and prevention measures in sheep and goats under mountain farming conditions in Northern Italy. *Small Ruminant Research* **164**: 94–101.
- Lee DL. 2002. The life cycles, 141-161 in Lee DL editor. *The Biology of Nematodes*. CRC Press, New York.
- Lehrter V, Jouet D, Liénard E, Decors A, Patrelle C. 2016. *Ashworthius sidemi* (Schulz, 1933) and *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) in cervids in France: integrative approach for species identification. *Infection, Genetics and Evolution* **46**: 94–101.
- Leignel V, Cabaret J, 2001. Are *Teladorsagia circumcincta* (Nematoda) morphs equally able to survive under anthelmintic treatment in sheep on pastures? *Parasitology Research* **87**: 687–692.
- Little PR, Hodge A, Watson TG, Seed JA, Maeder SJ. 2010. Field efficacy and safety of an oral formulation of the novel combination anthelmintic, derquantel-abamectin, in sheep in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* **58**: 121–129.
- Little PR, Hodge A, Maeder SJ, Wirtherle NC, Nicholas DR, Cox GC, Conder GA. 2011. Efficacy of a combined oral formulation of derquantel–abamectin against the adult and larval stages of nematodes in sheep, including anthelmintic-resistant strains. *Veterinary Parasitology* **181**: 180–193.
- May K, Brügemann K, Yin T, Scheper C, Strube Ch, König S. 2017. Genetic line comparisons and genetic parameters for endoparasite infections and test-day milk production traits. *Journal of Dairy Science* **100**: 1–15.
- Magdálek J, Kyriánová IA, Vadlejš J. 2017. *Ashworthius sidemi* in hunting areas (Cervidae) in the territory of the Czech Republic, 66–71 in: Kubík Š, Barták M. editors. 9th Workshop on biodiversity, Jevany, Česká zemědělská univerzita v Praze.
- Manfredi MT, Di Cerbo AR, Zanzani S, Stradiotto K. 2010. Breeding management in goat farms of Lombardy, northern Italy: Risk factors connected to gastrointestinal parasites. *Small Ruminant Research* **88**:113–118.
- Marshall R. Gebrelul S., Gray L., Ghebreyessus Y. 2012. Mixed species grazing of cattle and goats on gastrointestinal infections of *Haemonchus contortus*. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* **7**: 31–68.

- Mehlhorn H. 2012. Animal parasites. Diagnosis, Treatment, Prevention. Springer International Publishing Switzerland.
- Moskwa B, Bien J, Cybulska A, Kornacka A, Krzysiak M, Cencek T, Cabaja W. 2015 The first identification of ablood-sucking abomasal nematode *Ashworthius sidemi* in cattle (*Bos taurus*) using simple polymerase chain reaction (PCR). *Veterinary Parasitology* **21**: 106–109.
- O'Connor LJ, Walkden-Brown SW, Kahn LP. 2006. Ecology of the freeliving stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Veterinary Parasitology* **142**: 1–15.
- Odoi A, Gathuma JM, Gachuiru ChK, Omore A. 2007. Risk factors of gastrointestinal nematode parasite infections in small ruminants kept in smallholder mixed farms in Kenya. *BMC Veterinary Research* **3**: 6.
- Osińska B, Demiaszkiewicz AW, Lachowicz J. 2010 Pathological lesions in European bison (*Bison bonasus*) with infestation by *Ashworthius sidemi*. (Nematoda, Trichostrongylidae). *Polish Journal of Veterinary Sciences* **13**: 63–67.
- Panuska C. 2006. Lungworms of Ruminants. *Veterinary Clinic Food Animal Practice* **22**: 583–593.
- Papadopoulos E, Mavrogianni VS, Mitsoura A, Ptochos S, Spanos, SA, Fthenakis GC. 2013. Potential association between trematode infections and development of pregnancy toxemia in sheep. *Helminthologia* **50**: 161–166.
- Paraud C, Cabaret J, Pors I, Chartier C. 2005. Impact of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on *Muellerius capillaris* larvae in goat faeces. *Veterinary Parasitology* **131**: 71–78.
- Paraud C, Chartier C. 2017. Facing Anthelmintic Resistance in Goats, 267-292 in Simões J, Gutiérrez C. editors, Sustainable Goat Production in Adverse Environments. Volume I. Springer, Cham.
- Pato FJ, et al. 2013 Gastrointestinal nematode infections in roe deer (*Capreolus capreolus*) from the NW of the Iberian peninsula: assessment of some risk factors. *Veterinary Parasitology* **196**: 136–142.
- Preston SJM, Sandeman M, Gonzales J, Piedrafita D. 2014. Current Status for Gastrointestinal Nematode Diagnosis in Small Ruminants: Where Are We and Where Are We Going? *Journal of Immunology Research*. Vol. 2014, Article ID 210350, 12

pages. <https://doi.org/10.1155/2014/210350>.

- Prichard RK, Hall CA, Kelly JD, Martin ICA, Donald AD. 1980. The problem of anthelmintic resistance in nematodes. *Australian Veterinary Journal* **56**: 239–250.
- Pyziel AM, Björck S, Wiklund R, Skarin M, Demiaszkiewicz AW, Höglund J. 2018. Gastrointestinal parasites of captive European bison *Bison bonasus* (L.) with a sign of reduced efficacy of *Haemonchus contortus* to fenbendazole. *Parasitology Research* **117**: 295–302.
- Rehbein S, Lutz W, Visser M, Winter R. 2001. Beiträge zur Kenntnis der Parasitenfauna des Wildes in Nordrhein-Westfalen. Der Endoparasitenbefall des Damwildes. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft* **47**: 1–16.
- Rehbein S, Visser M. 2007. Die Endoparasiten des Sikawildes (*Cervus nippon*) in Österreich. *Wiener Klinische Wochenschrift* **119**: 96–101.
- Rinaldi L, Veneziano V, Cringoli G. 2007. Dairy goat production and the importance of gastrointestinal strongyle parasitism. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **101**: 745–746.
- Rinaldi M, Geldhof P. 2012. Immunologically based control strategies for ostertagiosis in cattle: where do we stand? *Parasite Immunology* **34**: 254–264.
- Rinaldi L, Cringoli G. 2012. Parasitological pathophysiological methods for selective application of anthelmintic treatments in goats. *Small Ruminant Research* **103**: 18–22.
- Rohde K. 2001. Parasitism. *Encyclopedia of Biodiversity* **4**: 463–484.
- Roepstorff S, Nansen P. 1998. Epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of swine. *FAO Rome* **3**: 51–54.
- Rochfort S, Parker AJ, Dunshea FR. 2008. Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry* **69**: 299–322.
- Sangster NC, Dobson RJ. 2002. Anthelmintic Resistance, 1024-1096 in Lee DL, editor. *The Biology of Nematodes*. CRC Press, New York.
- Santín-Durán M, Alunda JM, Hoberg EP, de la Fuente C. 2004. Abomasal parasite in wild sympatric cervids, red deer, *cervus elephatus* and fallow deer, dama dama, from three localities across central and western Spain: Relationship to host density and park management. *Journal of Parasitology* **90**: 1378–1386.

- Sargison ND, Wilson DJ, Bartley DJ, Penny CD, Jackson F. 2007. Haemonchosis and teladorsagiosis in a Scottish sheep flock putatively associated with the overwintering of hypobiotic fourth stage larvae. *Veterinary Parasitology* **147**: 326–331.
- Silva JB, Fagundes GM, Fonseca AH. 2011. Dynamics of gastrointestinal parasitoses in goats kept in organic and conventional production systems in Brazil. *Small Ruminant Research* **98**: 35–38.
- Silvestre A, Chartier C, Sauvé C, Cabaret J. 2000. Relationship between helminth species diversity, intensity of infection and breeding management in dairy goats. *Veterinary Parasitology* **94**: 91–105.
- Silvestre A, Leignel V, Berrag B, Gasnier N, Humbert JF, Chartier Ch, Cabaret J. 2002. Sheep and goat nematode resistance to anthelmintics: pro and cons among breeding management factors. *Veterinary Research* **33**: 465–480.
- Skorping A, Read AF, 1998. Drug and parasites: global experiments in life history evolution? *Trends in Ecology & Evolution* **12**: 10–12.
- Smith KF, Behrens MD, Sax DF. 2009. Local scale effects of disease on biodiversity. *Ecohealth* **6**: 287–295.
- Smith MC, Sherman DM. 2009. *Goat Medicine*, Second Edition. Published by John Wiley & Sons, Inc. UK.
- Simpson HV. 2000. Pathophysiology of Abomasal Parasitism: Is the Host or Parasite Responsible? *The Veterinary Journal* **160**: 177–191.
- Suarez VH, Bertoni EA, Micheloud LF, Cafrune MM, Viñabal AE, Quiroga RJ, Bassanetti AF. 2014. First record of *Muellerius capillaris* (Nematoda, Protostrongylidae) in northwestern Argentina. *Helminthologia* **51**: 288–292.
- Sutherland IA, Brown AE, Leathwick DM, Bisset SA. 2003. Resistance to prophylactic treatment with macrocyclic lactone anthelmintics in *Teladorsagia circumcincta*. *Veterinary Parasitology* **115**: 301–309.
- Sutherland I, Scott I. 2010. *Gastrointestinal Nematodes of Sheep and Cattle: Biology and Control*. John Wiley and Sons. West Sussex. UK.
- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. 2007. *Veterinary parasitology*, 3rd edition. Blackwell Publishing. UK.

- Taylor MA. 2010. Parasitological examinations in sheep health management. *Small Ruminant Research* **92**: 120–125.
- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. 2016. *Veterinary parasitology*, 4rd edition. Wiley Blackwell Publishing, UK
- Tewodros AE. 2015. A review on: lungworm infection in small ruminants. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences* **1**: 149–159.
- Thompson RCA, Lymbery AJ, Smith A. 2010. Parasites, emerging disease and wildlife conservation. *International Journal of Parasitology* **40**: 1163–1170.
- Torina A, Dara S, Marino AMF, Sparagano OAE, Vitale F, Reale S, Caracappa S. 2004. Study of Gastrointestinal Nematodes in Sicilian Sheep and Goats. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1026**: 187–194.
- Torres-Acosta JFJ, Hoste H. 2008. Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research* **77**: 159–173.
- Vadlejch J, Makovický P, Čadková Z, Langrová I. 2016. Efficacy and persistent activity of moxidectin against natural *Muellerius capillaris* infection in goats and pathological consequences of muelleriosis. *Veterinary Parasitology* **218**: 98–101.
- Vadlejch J, Kyriánová IA, Rylková K, Zikmund M, Langrová I. 2017. Health risks associated with wild animal translocation: a case of the European bison and an alien parasite. *Biological Invasions* **19**: 1121–1125.
- van Dijk J, de Louw MDE, Kalis LPA, Morgan ER. 2009. Ultraviolet light increases mortality of nematode larvae and can explain patterns of larval availability at pasture. *International Journal for Parasitology* **39**: 1151–1156.
- van Dijk J, Morgan ER. 2011. The influence of water on the migration of infective trichostrongyloid larvae onto grass. *Parasitology* **138**: 780–788.
- van Houtert MF, Sykes AR. 1996. Implications of nutrition for the ability of ruminants to withstand gastrointestinal nematode infections. *International Journal of Parasitology* **26**: 1151–1167.
- van Wyk JA, Bath GF. 2002. The FAMACHA<sup>®</sup> system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary Research* **33**: 509–529.



- van Wyk JA, Mayhew E. 2013. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **80**: 1–14.
- Várady M, Papadopoulos E, Dolinská M, Konigová A. 2011. Anthelmintic resistance in parasites of small ruminants: sheep versus goats. *Helminthologia* **48**: 137–144.
- Vieira VD, Feitosa TF, Ribeiro Villela VL, Azevedo SS, de Almeida Neto JL, de Moraes DF, Robeiro ARC, Athayde ACR. 2014. Prevalence and risk factors associated with goat gastrointestinal helminthiasis in the Sertão region of Paraíba State, Brazil. *Tropical Animal Health Production* **46**: 355–361.
- Voigt K, Sieber PL, Sauter-Louis C, Knubben-Schweizer G, Scheuerle M. 2016. Prevalence of pasture-associated metazoal endoparasites in Bavarian dairy goat herds and farmers' approaches to parasite control. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift* **129**: 323–332.
- Waller PJ, Bernes G, Thamsborg SM, Sukura A, Richter SH, Ingebrigtsen K, Höglund J. 2001. Plants as de-worming agents of livestock in the nordic countries: historical perspective, popular beliefs and prospects for the future. *Acta Veterinaria Scandinavica* **42**: 31–44.
- Waller PJ. 2006. Sustainable nematode parasite control strategies for ruminant livestock by grazing management and biological control. *Animal Feed Science and Technology* **126**: 277–289.
- Zajac AM. 2006. Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants: Life Cycle, Anthelmintics and Diagnosis. *Veterinary Clinics Food Animal Practice* **22**: 529–541.
- Zajac AM, Conboy GA. 2012. *Veterinary Clinical Parasitology*. Eight Edition. Published by John Wiley & Sons. UK.