

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Problematika syndromu bílého nosu u vybraných druhů
netopýrů čeledi Vespertilionidae a jeho léčba**

Bakalářská práce

Tereza Mrkusová

Chov zájmových zvířat – Chov exotických zvířat

Ing. Tomáš Bušina, Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Problematika syndromu bílého nosu u vybraných druhů netopýrů čeledi Vespertilionidae a jeho léčba“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.04.2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Tomáši Bušinovi, Ph.D., za jeho ochotu, s níž se ujal pozice vedoucího této diplomové práce. Zvláště mu děkuji za jeho trpělivost, cenné rady, a připomínky, jež pro mne byly velkým přínosem. Srdečně také děkuji své rodině, která mě vytrvale podporovala při vzniku této práce a po celou dobu mých bakalářských studií.

Problematika syndromu bílého nosu u vybraných druhů netopýrů čeledi Vespertilionidae a jeho léčba

Souhrn

Letouni (Chiroptera) jsou hned po hlodavcích druhým nejpočetnějším řádem savců a jako jediná savci jsou schopní aktivního letu. Přesto jejich populace, zejména některých druhů netopýrů v Severní Americe, od roku 2006 rapidně klesá. Úbytek jedinců je způsoben invazivní plísní *Pseudogymnoascus destructans*, která napadá netopýry při hluboké hibernaci, a která se za posledních sedmnáct let rozšířila z Evropy a Asie do Severní Ameriky. Nemoc se nazvala syndrom bílého nosu podle bílého povlaku plísně, který se velmi nápadně tvoří netopýrům kolem nozder, na tlamě či na bláně křídel. Tato práce vysvětluje příčiny vzniku syndromu a porovnává rozdílné dopady onemocnění na vybrané druhy netopýrů na dvou odlišných kontinentech – na netopýra hnědého (*Eptesicus fuscus*) a netopýra hnědavého (*Myotis lucifugus*) v Americe, oproti dopadům na netopýra řasnatého (*Myotis nattereri*) v Evropě. Syndrom byl také detekován v lidské péči, která přispěla k výrazným posunům ve výzkumu a léčbě. Kvůli složitému průběhu nemoci se proti ní ale doposud nepodařilo vyvinout žádný medikament. Práce v neposlední řadě poukazuje i na dopad, jaký může mít syndrom bílého nosu na celé ekosystémy, a tudíž jak klíčový je další výzkum, léčba a ochrana napadených letounů.

Klíčová slova: Chiroptera, mykóza, *Pseudogymnoascus destructans*, prevence, terapie

White-nose syndrome in selected Vespertilionidae species and treatment approaches

Summary

Bats (Chiroptera) are the second most populous order of mammals after rodents and the only mammals capable of active flying. However, their populations, particularly those of certain bat species in North America, have been rapidly declining since 2006. The decline is caused by the invasive fungus *Pseudogymnoascus destructans*, which attacks bats during deep hibernation and which has spread from Europe and Asia to North America over the past seventeen years. The disease is called White-nose syndrome after the white fungal growth that forms conspicuously around the nostrils, on the muzzle, or on the wing membranes of bats. This thesis explains the causes of the syndrome and compares the different impacts of the disease on selected bat species on two different continents – on Big brown bat (*Eptesicus fuscus*) and Little brown bat (*Myotis lucifugus*) in America, as compared to the impacts on Natterer's bat (*Myotis nattereri*) in Europe. The syndrome has also been detected in human care, which has contributed to significant advancements in research and treatment. However, due to the complex course of the disease, no medication has yet been developed against it. Lastly, the thesis points to the impact that white-nose syndrome can have on entire ecosystems and thus, how crucial further research, treatment, and protection of affected bats are.

Keywords: Chiroptera, mycosis, prevention, *Pseudogymnoascus destructans*, therapy

1 Obsah

2 Úvod	7
3 Cíl práce	8
4 Literární rešerše	9
4.1 Syndrom bílého nosu	9
4.1.1 Objevení syndromu bílého nosu.....	9
4.1.2 Patogen syndromu bílého nosu – <i>Pseudogymnoascus destructans</i>	10
4.1.3 Etiopatogeneze nemoci	11
4.2 Problematika rozšíření syndromu bílého nosu	14
4.2.1 Geografický původ	14
4.2.2 Rozšíření v Severní Americe.....	14
4.2.3 Rozšíření v Evropě.....	16
4.3 Porovnání vlivů syndromu bílého nosu na vybrané druhy netopýrů.....	18
4.4 Poznatky ze studií syndromu bílého nosu v lidské péči	20
4.4.1 Výzkum v lidské péči	20
4.4.2 Zootechnická opatření pro chovy netopýrů	21
4.5 Diagnóza a léčba	24
4.5.1 Identifikace a diagnóza syndromu bílého nosu	24
4.5.2 Léčba	27
4.6 Rizika spojená se syndromem bílého nosu vůči lidské společnosti	29
5 Závěr.....	31
6 Literatura	32
7 Seznam použitých zkratk a symbolů	Error! Bookmark not defined.

2 Úvod

Letouni (Chiroptera) obývají planetu Zemi již několik desítek milionů let. Jejich latinské pojmenování Chiroptera znamená ruka (cheira) a křídlo (pteron), což odkazuje na schopnost letu pomocí pažních končetin. Letouni jsou jediní savci schopní aktivního letu a po hlodavcích jsou druhým nejpočetnějším řádem savců. Bezesporu patří i k nejrozmanitějším, s více než 1300 druhy (Tuttle 2015). Jejich přirozené prostředí se rozprostírá ve většině zeměpisných šířek na severní i jižní polokouli, zahrnující biomy od pouští a tropických lesů až po lesy a tajgy mírného pásma. Výjimkou jsou pouze biomy s extrémě mrazivými podmínkami jako je například Antarktida. Rozmanitý je řád i co se týče fyzických rozměrů jednotlivých druhů. Největším zástupcem je kaloň zlatotemenný (*Acerodon jubatus* Echoltz, 1831), který má rozpětí křídel až 170 cm a může vážit přes 1400 g. Naopak nejmenší zástupce, netopýrek thajský (*Craseonycteris thonglongyai* Hill, 1974), je podle délky těla nejmenší známý savec na světě, s rozpětím křídel pouze do 8 cm a hmotností do 2 g. Bez ohledu na schopnost letu se u letounů vyvinula i další ojedinělá schopnost, a tou je echolokace (Taylor & Tuttle 2018).

V minulosti byla letounům přisuzována špatná pověst. V mnoha zemích se stali symbolem zla, kvůli jejich noční aktivitě a vzhledu. Také fakt, že si na odpočinek vyhledávají temná a tichá místa (jeskyně či pudy a sklepy lidských zástavb), kde během spánku visí hlavou dolů mohlo přispět ke vzniku strašlivých mýtů a legend o těchto savcích. I přes tyto předsudky letouni hrají v ekosystémech důležitou roli jako opylovači rostlin, přenašeči semen či hmyzí predátoři. V neposlední řadě také slouží jako potrava pro jiné živočichy, jako jsou sovy, ještěři a kuny.

V posledních desetiletích došlo k významnému úbytku populací letounů v důsledku různých faktorů, jako jsou změny v krajinném uspořádání (hlavně ztráta přirozeného prostředí), znečištění prostředí pesticidy a stres způsobený z hluku a umělého osvětlení moderní civilizace. Nejzásadnějším faktorem úbytku populací některých druhů letounů je ale za poslední dekádu bezesporu syndrom bílého nosu (Taylor & Tuttle 2018). Toto onemocnění napadá netopýry a vrápence, kteří přes zimu hibernují. U vrápenců zatím neprobíhá rozsáhlý výzkum, jelikož se u nich nemoc neprojevuje tak hojně jako u netopýrů (Martínková et al. 2015). Vysokému úhynu netopýrů se oproti tomu vědci začali věnovat jak v Asii, tak v Evropě a zejména v Severní Americe. Syndrom bílého nosu byl shledán nejen jednou z nejzávažnějších hrozeb pro populace netopýrů, ale i jednou z nejničivějších infekčních epidemií u volně žijících savců (Hoyt et al. 2021). Od prvního zdokumentování v roce 2006 má tato nemoc na svědomí úmrtí milionů netopýrů, a dokonce i ohrožuje několik dříve velmi hojných druhů netopýrů vyhynutím (Sewall et al. 2023).

3 Cíl práce

Cílem práce bylo objasnit, jakými způsoby syndrom bílého nosu ovlivnil populace netopýra hnědého (*Eptesicus fuscus* Beauvois, 1796) a netopýra hnědavého (*Myotis lucifugus* Le Conte, 1831) v Americe, a porovnat je s vlivem na populace netopýra řasnatého (*Myotis nattereri* Kuhl, 1817) v Evropě. Práce se také zaměřila na metody prevence a léčby využívané od objevení syndromu bílého nosu v roce 2006, a to jak u volně žijících jedinců, tak i u jedinců v lidské péči.

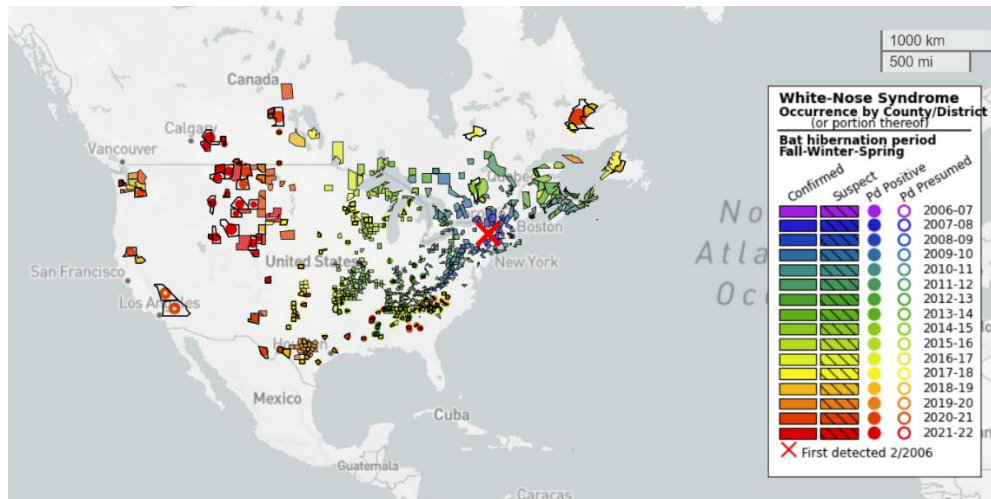
4 Literární rešerše

4.1 Syndrom bílého nosu

4.1.1 Objevení syndromu bílého nosu

Tato kožní infekce je u hibernujících netopýrů způsobená plísní *Pseudogymnoascus destructans* (*P. destructans* Blehert & Gargas, 2009). Nemoc dostala název podle bílého povlaku plísně, který se velmi nápadně tvoří netopýrům kolem nozder, na tlamě či na křídelní bláně. Plíseň se může objevit také na uších. Lidově se brzy začalo takto nakažené jedince přezdívat „plesnivými netopýry“ (Blehert et al. 2009).

Poprvé se onemocnění objevilo v zimě roku 2006 ve Spojených státech amerických (USA). Ve státě New York se u kolonie netopýra hnědavého (*Myotis lucifugus* Le Conte, 1831) v jeskyni Howes (Howes Cave) poblíž města Albany našel nespočet mrtvých jedinců. U těch, co ještě viseli na stěnách hibernakula (zimoviště), si vědci všimli nápadného bílého porostu plísně kolem nozder. Vlivem vysoké prevalence nákazy a nedostatku informací o této problematice se syndrom bílého nosu začal šířit z epicentra 200 až 900 km ročně. Následující rok v březnu byla ve zmíněném komplexu zimovišť zaznamenána masová mortalita netopýrů (Blehert et al. 2009). V roce 2009 byl zaznamenán první netopýr s bělavými skvrnami ve Francii (Puechmaille et al. 2010). Evropský výzkum syndrom bílého nosu potvrdil, ovšem byl zaznamenán pouze menší počet úmrtí, a tak nešlo hovořit o masové mortalitě, jako v případě USA. Tento rozdíl platí dodnes. V roce 2011 zahájili vědci intenzivní výzkum, který pátral po příčině těchto úhynů, a zjistili, že se nešíří vzduchem, ale přímým kontaktem (Lorch et al. 2011). Během této doby se již onemocnění rychle šířilo i do dalších států USA a Kanady (Turner et al. 2011). Dále bylo zjištěno, že rychlé šíření nemoci je způsobeno i tím, že původce plísně dokáže přežít v půdě zimovišť v podstatě celoročně. Přichází rok 2012, kdy byl syndrom bílého nosu objeven již v 19 z 50 států USA a ve 4 z 10 provincií Kanady – viz Obr. 1, na kterém červený křížek označuje jeskyni Howes (epicentrum). Téhož roku se počet uhynulých netopýrů v důsledku této nemoci vyšplhal na 5 milionů. Šíření nemoci v USA zpomaluje, a to díky rozdílnému mikroklimatu zimovišť v nezasazených státech (Boyles & Willis 2010). Na jaře roku 2016 se znovu provedl výzkum o rozšíření syndromu bílého nosu v Severní Americe. Nález znamenal, že se nemoc za necelých 10 let rozšířila od epicentra až do 1900 kilometrového rádiusu. Přítomnost syndromu bílého nosu se prokázala ve většině amerických státech, například v Oklahomě, Nebrasce a Minnesotě a následně histologické vyšetření prokázalo přítomnost mykózy na dalších 33 místech (Zukal et al. 2016). Dva roky poté výzkum potvrdil domněnku, že syndrom bílého nosu potlačuje imunitní systém malých hnědých netopýrů (Varant et al. 2018). Další výzkumy se věnovaly hlavně léčbě této infekce a metodám zpomalení šíření patogenu. Zkoumala se schopnost plísně *Pseudogymnoascus destructans* přetrvávat ve vzorcích půdy a guána (nahromaděného trusu mořských ptáků či netopýrů). Vědci zjistili, že *Pseudogymnoascus destructans* může v půdě a guánu přetrvávat až čtyři roky. To by naznačovalo, že houba může přežít a potenciálně infikovat netopýry i bez přítomnosti živých hostitelů (Warnecke et al. 2020). Díky lepšímu monitoringu a větší povědomosti o nemoci byla od roku 2021 tato houba zjištěna v 37 státech USA a 7 kanadských provinciích (US Fish and Wildlife Service 2022).

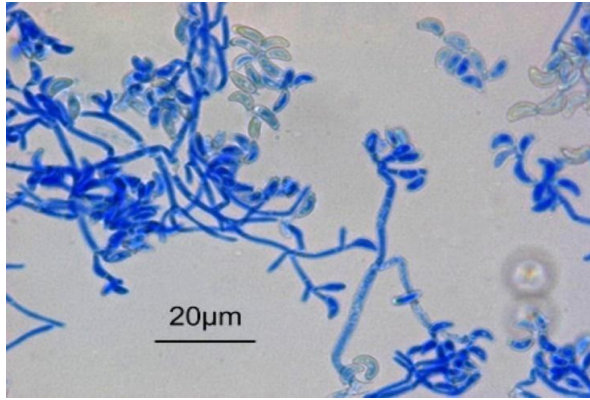


Obr. 1: Rozšíření syndromu bílého nosu v Severní Americe mezi lety 2006–2022 (US Fish and Wildlife Service 2022).

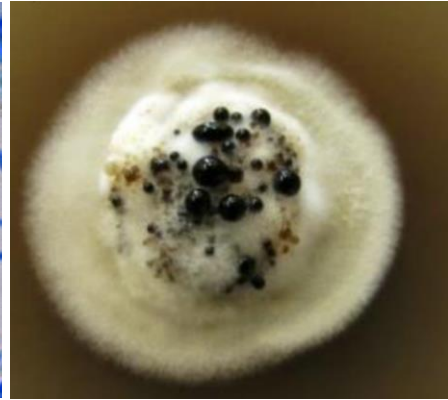
4.1.2 Patogen syndromu bílého nosu – *Pseudogymnoascus destructans*

Pseudogymnoascus destructans je druh psychrofilní (chladnomilné) houby. Má teplotní rozsah růstu od 2 °C do 14 °C, a tudíž se spíše vyskytuje na studených a vlhkých místech, jako jsou například jeskyně. Na těchto místech se plíseň drží i bez přítomnosti netopýrů jako saprofág (rozkladač). Roste a sporuluje na místech bohatých na chitin, celulózu, bílkoviny a lipidy (Smyth et al. 2013). Plíseň může přežívat na stěnách jeskyní a jiných površích po delší dobu, což jí umožňuje rok, co rok infikovat nové populace netopýrů (Verant et al. 2012). V roce 2008 byla plíseň klasifikována a přiřazena k čeledi Myxotrichaceae, přesněji k rodu *Geomyces*. Druhový přívlastek *destructans*, neboli ničivý, jí byl přidělen, kvůli spojitosti s vysokou mortalitou netopýrů v Severní Americe. První odborný název nově nalezené plísně byl tedy *Geomyces destructans*. Při popisu tohoto taxonu ještě nebylo známo, zda je tato houba primárním etiologickým činitelem syndromu bílého nosu či nikoliv (Blehert et al. 2009).

V roce 2013 bylo ale díky fylogenetické analýze zjištěno, že tato houba patří spíše k čeledi Pseudeurotiaceae, než k čeledi Myxotrichaceae. Ve vzorcích, odebraných u napadených netopýrů syndromem bílého nosu se našly zakřivené konidie, morfologicky odlišné od arthrokonidií, typických pro rod *Geomyces*, do něž se *Pseudogymnoascus destructans* do té doby řadila. Právě plísně čeledi Pseudeurotiaceae tvoří nesouměrně zakřivené konidie při nepohlavním rozmnožování. Binomické jméno se tedy změnilo na *Pseudogymnoascus destructans*, které se používá dodnes (Minnis & Lindner 2013).



Obr. 2: *Pseudogymnoascus destructans* pod světelným mikroskopem (Blehert & Lankau 2022)



Obr. 3: *Pseudogymnoascus destructans* inkubovaná po 16 dní (Vanderwolf et al. 2021).

4.1.3 Etiopatogeneze nemoci

Rozvoj syndromu bílého nosu (WNS) začíná, když *Pseudogymnoascus destructans* infikuje kůži netopýrů. Jakmile se patogen uchytí na srsti, hyfy začnou narušovat bazální membránu a patogen proniká kůží do dalších tkání. Na základě provedených pitev uhynulých netopýrů v jeskyni Howes se zjistilo, že plísňové hyfy napadly potní a mazové žlázy, vlasové folikuly či svalovou tkáň (Blehert et al. 2009). Jiná zkoumání také prokázala napadení pojivových tkání – vazů, chrupavek a kostí – a dokonce i navození fyziologických poruch jako je hypoglykémie (nízká koncentrace glukózy v krvi) (Willis et al. 2011). Jak nemoc postupuje, způsobuje netopýrům na rostru oně charakteristické bílé povlaky kolem úst, čumáku, nebo na uších a křídlech, podle kterých je nemoc pojmenovaná. Mezi jiná poškození patří i poškození křídelní blány, které může způsobit nekrózu (odumření části tkáně) kůže (Pikula et al. 2017). Ne všechny symptomy mohou být ale takto nápadné. Změny na kůži postižených netopýrů jsou nekonzistentní a nespecifické. Nákaza se může projevit i jen jako úseky zdrsnělé kůže na obličeji, uších, předloktí nebo chodidlech (Magnino et al. 2021). Méně zjevné příznaky jsou ztráta lesku a nepravidelná pigmentace srsti, úseky holé kůže či malé trhlinky v létající bláně křídla. Na křídlech se nákaza může též jevit jako bílý lepkavý film různé hustoty (Blehert et al. 2009).



Obr. 4: Netopýr hnědavý s bílým povlakem plísně na rostru (Blehert & Lankau 2022)



Obr. 5: Netopýr hnědavý s bílým povlakem plísně na křídelní bláně (Blehert & Lankau 2022)

Z doposud provedených studií vyplývá, že přenos plísně na netopýra probíhá, když se tito jedinci nacházejí ve stavu několikahodinové strnulosti neboli torporu. Torpor je definovaný jako fakultativní, řízený a postupný proces (Altringham 2011), protože se do něj mohou netopýři uvést po celý rok, v letních i zimních měsících. Torpor je považován za efektivní mechanismus úspory energie (Speakman & Thomas 2003) v reakci na nepříznivé podmínky – zejména v mírném pásu. Netopýrům se během torporu utlumí většina fyziologických procesů a obranné mechanismy. Jejich životní funkce nejsou úplně pozastavené, ale silně omezené. Dochází k rychlému snížení spotřeby kyslíku, utlumení smyslových vjemů a tep srdce klesá až na 4 tepy za minutu v porovnání s průměrnými 250-450 tepy za minutu v klidovém stavu (Stoffberg et al. 2011). Taktéž probíhá rozsáhlá vasokonstrikce (stažení cév). Při pomalém upadání netopýra do torporu se teplota jeho těla postupně snižuje až do bodu, kdy je jeho tělo o 1–2 °C teplejší, než je teplota okolního prostředí. Netopýrům zůstává plně prokrvený jen mozek a srdce (Hock 1951).

Jelikož je mírné pásmo typické pro střídání ročních období, a tedy i střídání dostatku a nedostatku potravy, museli se netopýři naučit uplatňovat různé strategie přežití, jako například hromadění zásob, migraci, změnu potravní specializace či torpor. S přibývajícím délkou chladných měsíců si adaptace vyžádala prodloužení torporu na dlouhodobou hibernaci (zimní spánek). Živočichům umožňuje zachovávat předem uložené množství tuku v období nepříznivých podmínek a zvyšuje pravděpodobnost živočichů na přežití. Hibernace, která se dnes označuje jako rytmicky řízená hypotermie, tedy za normálních podmínek pro savce pokrývá několikaměsíční období. Právě díky dlouhodobému aspektu hibernace je patogenu syndromu bílého nosu poskytnut dostatečný prostor a podmínky k napadení netopýrů (Zukal et al. 2014). Nefrekventovaná a často vlhká místa jako jsou jeskyně, půdy či sklepy prospívají plísní, která syndrom bílého nosu způsobuje. Tato místa zároveň slouží netopýrům mírného pásu jako úkryt pro hibernaci. Netopýři se pravděpodobně nakazí otřením o tuto houbu, tedy přímým kontaktem (Lorch et al. 2011). Dále se onemocnění většinou šíří mezi koloniemi kontaktem zdravých jedinců s nakaženými. Velká hibernakula jako například jeskyně jsou zpravidla přes zimu využívána několika druhy netopýrů (Taylor & Tuttle 2018). Hibernace je tak hlavním vektorem onemocnění (Lorch et al. 2011).

Hibernující živočichové před zimním obdobím mění složení potravy tak, aby přijímali více potravy bohaté na lipidy. Tato potrava se ukládá do tukové tkáně, která slouží jako zásobárna živin po celý čas hibernace (Storey & Storey 2010). Za normálních podmínek netopýrům zásoby vydrží na celé zimní období. Netopýři poznají, kdy se blíží konec hibernace. Tělo se jim postupně začne ohřívat a životní funkce jsou uvedeny do běžného chodu. Probuzení začíná zvýšením srdečního tepu, kdy tuková tkáň produkuje teplo a ohřívá krev. Ohřátá krev poté proudí do celého těla jedince a zvedá mu teplotu na 37°C (Hock 1951). Plíseň *Pseudogymnoascus destructans* ale zapříčiňuje fyziologické poruchy jako je hypoglykemie a zvyšuje energetické požadavky netopýrů. Tím stoupá i množství evaporované vody z jejich těl, což přispívá ke stavům dehydratace a úbytkům hmotnosti (Willis et al. 2011). Kritickým úbytkem vody a zásob tuku v těle netopýrů plíseň postupně navodí dojem konce nepříznivých podmínek a zimního období, kvůli kterým se netopýři do torporu uchýlili, a nakonec netopýry z hibernace vyruší. Samotné probouzení je energeticky náročné. Při hlubokém torporu spotřebuje jedinec na udržení svého stavu přibližně 4 mg tuku za den. V případě, že je netopýr z torporu vyrušen a čeká jej 2,5 – 9 hodinové probouzení, spotřebuje až 100 mg tuku. S příliš

rychlým probuzením zapříčiněným dehydratací, úbytkem hmotnosti a vyčerpáním většiny tukových zásob tedy netopýři vylétávají z úkrytu dříve – v mrazivých podmínkách, někdy dokonce i v denních hodinách (Boyles, Willis 2010). Netopýři obecně nejsou přizpůsobeni na let v takovýchto podmínkách. Jak uvádí Martínková (2012), zásadním problémem pro netopýry je související poškození křídelní blány. Plíseň vyplňuje vlasové kořínky a žlázy, prorůstá vrstvami kůže a tvoří v nich vředy vyplněné sporami. Plísní oslabená létající blána rapidně promrzne a intenzivním máváním hrudních končetin se roztrhá. Regenerace poškozených křídel vyžaduje velké množství energie, kterou netopýři v daný moment nemají. Netopýři, kterým se křídla nepoškodí, mají na druhé straně problém najít potravu kvůli přetrvávajícím zimním měsícům.

K úhynu nastává nejčastěji od ledna do poloviny března, což by mohlo naznačovat 120–180 denní průběh nemoci. Jelikož ale někteří netopýři přenášejí patogen pouze asymptomaticky, je těžké nemoc diagnostikovat, zabránit jejímu rozšíření či ji jakkoliv léčit. Bez podpůrné péče je syndrom bílého nosu ve většině případů fatální (Martínková 2012).



Obr. 6: Viditelný bílý povlak na křídelní bláně (U.S. Fish and Wildlife Service 2022)



Obr. 7: Poškozená křídelní blána se začínající nekrotizací kůže (Tate 2019)

4.2 Problematika rozšíření syndromu bílého nosu

4.2.1 Geografický původ

Původ WNS je stále předmětem diskuse, ale předpokládá se, že houba pochází z Evropy nebo Asie, kde infikuje netopýry, aniž by způsobila významnou úmrtnost. Díky tomu také syndrom nejspíše dlouho unikal pozornosti vědců a odborníků (Puechmaille et al. 2010). Studie provedená vědci z Kalifornské univerzity v Santa Cruz a Kalifornské univerzity v Berkeley analyzovala genom patogenu WNS a zjistila, že je nejvíce příbuzná kmenům plísni nalezených v Evropě a Asii (Drees et al. 2017). Do Severní Ameriky se houba pravděpodobně dostala prostřednictvím lidské činnosti, například dovozem infikovaných netopýrů nebo pomocného výzkumného vybavení. Toto zjištění podporuje hypotézu, že letouni žijící v Asii a Evropě mají dlouhou historii koevoluce s patogenem, a tudíž měla plíseň v minulosti vliv na evropské populace netopýrů. Ti se na rozdíl od severoamerických populací vůči infekci stali odolnými, např. prostřednictvím reakcí imunitního systému, nebo tolerantní, např. prostřednictvím behaviorálních adaptací (Wibbelt et al. 2010). Jednou z možností je, že se *Pseudogymnoascus destructans* historicky vyskytoval v nízkých hladinách u netopýrů obou kontinentů, ale zůstal nepovšimnut, dokud masový úhyn netopýrů v Severní Americe nevedl k intenzivnímu odběru vzorků na potenciální patogen. Tato teorie je důvodem k obavám, protože evropská netopýří by mohli být v blízké době ohroženi náhodným zavlečením severoamerické varianty infekce do netopýřích kolonií v Evropě a zavinit tak vlnu masivních úhynů (Warnecke et al. 2012). V současné době je známo, že se patogen vyskytuje v nízkém množství u netopýrů po celé Evropě.

4.2.2 Rozšíření v Severní Americe

Bez ohledu na to, jak se syndrom bílého nosu do Severní Ameriky dostal, rapidně se rozšířil po celých Spojených státech amerických a některých provinciích Kanady (Blehert et al. 2009). Důvod rychlého rozšíření v Severní Americe byla a je přirozená migrace netopýrů mezi hibernakuly. Zprávy o rychlém šíření nemoci, navíc i s vysokou mortalitou, vyvolaly velkou obavu o nakažení i ohrožených druhů letounů (Shapiro et al. 2021).

Více jak polovina ze čtyřiceti sedmi druhů netopýrů žijících v Severní Americe hibernuje, a tudíž je vystavena riziku nákazy. V současné době bylo v Severní Americe zaznamenáno dvanáct druhů netopýrů nakažených syndromem bílého nosu, včetně pěti již ohrožených druhů (Maher et al. 2012). Dle dostupných odhadů zemřelo důsledkem WNS přes sedm milionů netopýrů (U.S. Fish and Wildlife Service 2022). Mezi napadené druhy, které nemoc nejvíce postihla, patří například netopýr hnědošedý (*Myotis grisescens* Howell, 1909), netopýr společenský (*Myotis sodalis* Miller & Allen, 1928) i již zmíněný netopýr hnědavý. Není pochyb, že syndrom bílého nosu netopýří populaci v Severní Americe závažně postihl a zapříčinil hromadné hynutí. Pokud se nemoc v blízké době nepodaří omezit, některým druhům netopýrů do budoucna hrozí možnost úplného vyhynutí (Frick et al. 2010). Dva druhy netopýrů vyskytujících se na severoamerickém kontinentu byly vybrány pro komparativní analýzu této bakalářské práce – netopýr hnědý (*Eptesicus fuscus* Beauvois, 1796) a netopýr hnědavý. Netopýří hnědí i netopýří hnědaví jsou náchylní k WNS, přičemž míra infekce a závažnost onemocnění se u těchto druhů velmi liší.

Netopýr hnědý je hojně se vyskytující druh netopýra v Severní Americe. Je jeden z větších druhů Microchiroptera, jelikož váží 15 až 26 g. Jeho rozpětí křídel dosahuje kolem 33 cm a délka těla dospělé se pohybuje od 11 cm do 13 cm. Srst na dorzální straně těla je hnědá až červená, zatímco srst na ventrální části těla je světle hnědá. Uši jsou tmavě hnědé až černé, stejně jako rostrum a křídelní membrána. Netopýři hnědí jsou hmyzožravci a hrají velmi významnou roli v zemědělství, jelikož velkou součástí jejich potravy jsou brouci čeledi Chrysomelidae, kteří velmi škodí plodinám po celém světě. Kromě redukování počtu škůdců jsou netopýři hnědí i významní opylovači, jelikož napomáhají přenášet pyl svým pohybem – ostatně jako mnoho jiných druhů (Taylor & Tuttle 2018).

Syndrom bílého nosu má na populaci netopýra hnědého velký vliv. Tato choroba je spojována se značným poklesem počtu jedinců v koloniích v Kanadě i Spojených státech amerických. Jako všechny ostatní druhy náchylné na syndrom bílého nosu, jsou netopýři hnědí vystaveni nakažení právě při hibernaci, a to přesto, že jsou netopýři tohoto druhu velice odolní vůči nepříznivým podmínkám. Před hibernací si dokážou nastřádat dostatečné zásoby tuku na přežití hibernace i v extrémních podmínkách, např. v jeskyních s rampouchy (Taylor & Tuttle 2018). Dopad poklesu populací je signifikantní. Kolonie netopýrů hnědých na některých místech dokonce i vymizely. Tento fakt je velmi znepokojující, jelikož netopýři hnědí hrají významnou roli v ekosystému, a tudíž jejich úbytek enormně ovlivňuje životní prostředí i lidské zdraví (Lorch et al. 2016).

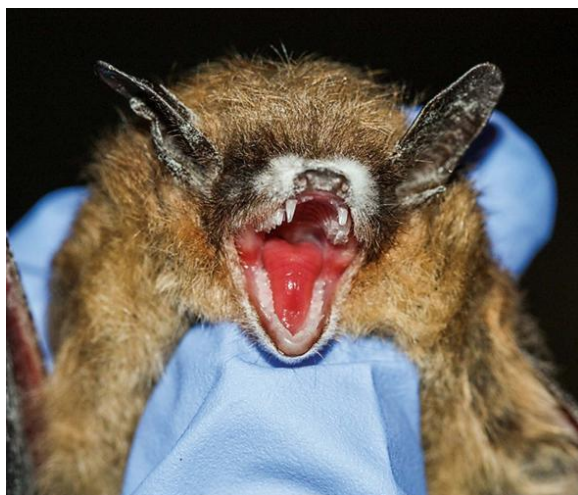
Netopýr hnědavý je malý hmyzožravý druh z čeledi netopýrovitých, rozšířený v Severní Americe od Aljašky až po centrální Mexiko. Váha netopýrů tohoto druhu se pohybuje mezi 5,5 a 12,5 gramy s rozpětím křídel mezi 22 cm a 26 cm (Taylor & Tuttle 2018). Pohlavní dimorfismus je u tohoto druhu zřetelný a to tím, že jsou samice o dost větší než samci. Barva srsti je relativně variabilní. Může být světle hnědá, načervenalá až tmavě hnědá, ale na ventrální straně těla je vždy světlejší než srst na straně dorzální. Na podzim netopýři hnědaví vyhledávají vhodná hibernakula, jako jsou například jeskyně. Většinou sdílejí hibernakulum i s jinými druhy netopýrů, například s netopýry společenskými. Průměrná velikost kolonie netopýrů hnědých čítá kolem 9 000 jedinců, ale smíšené hibernující kolonie s více druhy netopýrovitých mohou mít až přes 200 000 jedinců (Taylor & Tuttle, 2018). Netopýři, kteří tvoří větší klastry a zimují v těsném kontaktu, tak činí z důvodu snahy o zmenšení povrchu těla, což přispívá ke snížení evaporace a tepelného výdeje při probuzení (Boyles, Willis, 2011).

Mortalita netopýrů hnědých v důsledku WNS dosahuje u tohoto druhu nejvyšších hodnot mezi letouny vůbec. Některé studie zaznamenaly populace, kde více jak 90 % jedinců trpělo touto mykózou (Grider et al. 2022). Úbytek vody prostřednictvím evaporace je jeden z největších problémů tohoto zimujícího netopýra. I přes vhodný výběr vysoce vlhkého zimoviště a vytvoření velkých klastrů, tento druh během hibernace ztratí 99% vody prostřednictvím evaporace, zejména přes křídla (Vonhof et al. 2015). Vysoká míra mortality je silně spjata s malou váhou tohoto druhu, která netopýrům hnědým neumožňuje skladovat mnoho vody a tukové tkáně. Zvýšení evaporace vede k žízní, což způsobuje dřívější probouzení netopýra, aby chybějící tekutiny doplnil. Kvůli evaporaci velkého množství vody při hibernaci a malé zásobě bílého tuku je u netopýrů hnědých větší pravděpodobnost uhynutí (Lorch et al. 2016). Úbytek

netopýra hnědavého kvůli WNS je natolik závažný, že opravňuje k předpovědi, že by mohl lokálně vyhnout za méně než dvě desetiletí (Frick et al. 2010).



Obr. 8: Nakažená skupina hibernujících netopýrů hnědavých (Sandeno 2017)



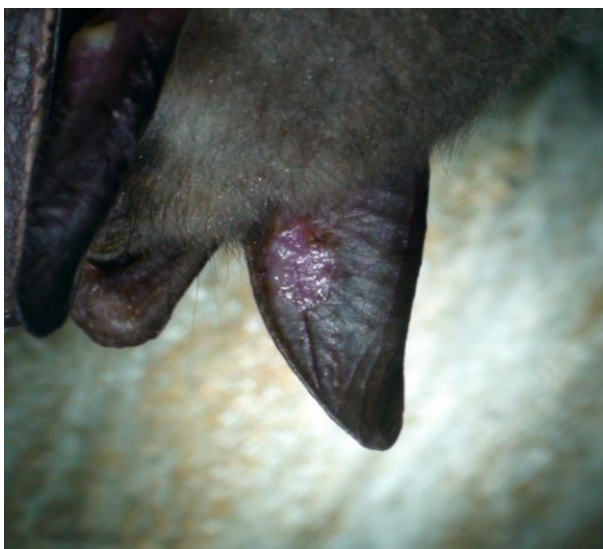
Obr. 9: Netopýr hnědavý s bílým povlakem WNS na rostru (Missouri department of conservation 2020)

4.2.3 Rozšíření v Evropě

Po prozkoumání hromadných úhynů v Severní Americe vědci začali plíseň hledat i jinde. V Evropě byl patogen poprvé objeven v Německu v roce 2008 (Blehert et al. 2009). Oproti Spojeným státům americkým a Kanadě, se ale v Evropě zatím nepotvrdily žádné masivní úhyny. Posléze se plíseň našla i u letounů z Asie, kde se ale také zatím nezaznamenala vysoká mortalita. Netopýři na těchto dvou kontinentech zdárně odolávají nemoci a vážným příznakům, a to i přes vysokou prevalenci WNS (Lorch et al. 2011).

Ačkoliv se v Evropě a Asii zřídka objevují viditelné symptomy v důsledku infekce syndromu bílého nosu, 21 druhů netopýrů bylo otestováno pozitivně na patogen. Mezi tyto druhy patří mimo jiné netopýr černý (*Barbastellus barbastellus* Schreber, 1774), netopýr ušatý (*Plecotus auritus* Linnaeus, 1758), létavec stěhovavý (*Miniopterus schreibersii* Kuhl, 1817), netopýr východní (*Myotis blythii* Tomes, 1857) a vrápenec malý (*Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800) (Wibbelt et al. 2010).

Evropské státy, jež potvrdily přítomnost této plísně u netopýrů, jsou například: Rakousko, Německo, Belgie, Česká republika, Slovenská republika, Francie, nebo také Turecko a Spojené království Velké Británie a Severního Irska. Situace v České republice potvrzuje souhrnné poznatky z Evropy a Asie. Čeští vědci použili histopatologické vyšetření, které prokázalo, že netopýři v Moravském krasu mají stejné patologické příznaky jako netopýři ve Spojených státech amerických. Zároveň nezaznamenali žádný značný úbytek populace. K dnešnímu dni byly v Evropě kožní léze způsobené *Pseudogymnascus destructans* hlášeny pouze z jednoho státu – České republiky (Martínková et al, 2010). Přičemž téměř polovina všech druhů letounů, žijících v Evropě byla pozitivní na syndrom bílého nosu a prevalence na základě histopatologie dosáhla až na 55 % (Zukal et al. 2014). Navíc je již dnes známo, že se syndrom bílého nosu v Evropě v minulosti vyskytoval a šířil nepozorovaně. Očekává se tedy, že se může objevit na jakémkoliv místě s příznivými podmínkami pro patogen (Zukal et al. 2016). Druh netopýra řasnatého byl vybrán k porovnání dopadu WNS mezi severoamerickými a evropskými druhy, jelikož představuje velmi rozšířený a početný druh v Evropě a důležitou součást evropských netopýřích kolonií. Díky jeho rozšíření je často předmětem vědeckého zkoumání, včetně výzkumů na rizika patogenity WNS u evropských populací netopýrů. K věcnému porovnání přispívá i fakt, že se netopýr řasnatý řadí do stejného rodu jako netopýr hnědavý, tzn. rod *Myotis* (Puechmaille et al. 2010).



Obr. 10: Kožní léze na uchu netopýra velkého (*Myotis myotis* Borkhausen, 1987) z dolu Malá Amerika (Česká republika) (Martínková et al. 2010)

Netopýr řasnatý (*Myotis natterii* Kuhl, 1817) je druh malého vzrůstu z čeledi netopýřovitých, žijící v Evropě a některých částech Asie a Afriky. Váha dospělých jedinců se pohybuje mezi 5 a 10 gramy, rozpětí křídel mezi 22 cm a 27 cm. Barva srsti na dorzální straně těla je světle hnědá, na břicho až sněhově bílá. Potrava netopýrů řasnatých se skládá převážně z drobného dvoukřídlého hmyzu. Potravu si vyhledávají především na okrajích lesa a v parkových oblastech, kde se také zdržují. Této potravní strategii se velmi dobře adaptovali (Taylor & Tuttle 2018). Oproti jiným druhům netopýřovitých mají na okraji létací blány dva lemy krátkých brv. Tyto brvy využívají jako hřeben k vyčesávání a shrabávání drobného hmyzu z listů a větviček do vaku, tvořeného ocasní blánou. Nejvýraznější poznávací znak netopýrů

řasnatých je tvar a velikost jejich ušních boltců. Na rozdíl od jiných druhů s podobnou velikostí má netopýr řasnatý dlouhé oválné ušní boltce se špičatým tragem. I přes velikost ušních boltců je netopýří řasnatí nesklápí ani při letu, ani při hibernaci, což je relativně ojedinělé (Tuttle 2015).

Netopýr řasnatý, který stejně jako většina evropských netopýrů otestval pozitivně na syndrom bílého nosu, je často porovnáván s americkými druhy. Fakt, že tito netopýří při hibernaci nesklápějí jejich velké ušní boltce, a tudíž vystavují zranitelná místa a obecně větší tělesnou plochu nákaze, by potenciálně mohl být jednou z příčin vyšší patogenity. Přesto dodnes u tohoto druhu nebyla zaznamenána vysoká ani patogenita, ani úmrtnost (Puechmaille et al. 2010). Nemoc má u netopýrů řasnatých ve většině případů asymptomatický průběh, v nejkrajnějších případech se projevuje pouze neškodnou kožní mykózou. Při výzkumu nakažených netopýrů na odpařování vody evaporací (Evaporation Water Loss), se prokázalo, že netopýr řasnatý vykazuje výrazně nižší míru evaporace vody jak ve vlhkém, tak i v suchém prostředí (Willis et al. 2011). Další porovnání se severoamerickými druhy potvrdil i rozdíl v četnosti a velikosti lézí na bláně křídel, způsobených *Pseudogymnoascus destructans* (Bandouchova et al. 2015). U některých jedinců netopýra řasnatého se našly i větší léze ve srovnání s dalšími testovanými druhy. Například u netopýra velkého se patogenita i s plísňovou zátěží mezi lety 2012 a 2014 relativně měnila, zatímco u netopýra řasnatého patogenita setrvala stejná (Zukal et al. 2014).

4.3 Porovnání vlivů syndromu bílého nosu na vybrané druhy netopýrů

Zajímavým aspektem studií WNS jsou rozdílné dopady syndromu bílého nosu na jednotlivé druhy netopýrů. Rozdíly jsou zaznamenatelné v rámci stejného kontinentu i stejného rodu netopýrů. Zatímco u některých druhů netopýrů dochází v důsledku WNS k vážnému poklesu populace, jiné druhy se zdají být vůči této nemoci relativně odolné. V rámci jednoho kontinentu nemoc zasáhla netopýra hnědavého o mnoho více než jiné severoamerické druhy, jako například netopýra hnědého. V rámci rodu *Myotis* zase WNS enormě postihl netopýra hnědavého, zatímco netopýr řasnatý nebyl zasažen skoro vůbec (Willis et al. 2011). Přestože bylo prokázáno, že nemoc zasahuje především rod *Myotis*, celkové populace netopýra hnědavého zaznamenaly pokles až o 90 %, populace netopýra hnědého poklesly o 30 % a populace netopýra řasnatého prokázaly velkou odolnost vůči této nemoci (Frick et al. 2010). V některých oblastech dokonce populace netopýra řasnatého po nízkém počátečním poklesu vykazovaly známky obnovy (Puechmaille et al. 2010). Informace o populačních trendech netopýrů řasnatých jsou omezené, ale Mezinárodní unie ochrany přírody (IUCN) je díky relativně stabilním populacím řadí na seznam nejméně dotčených druhů (Spitzenberger 2018). Tato kapitola porovnává dopady WNS na vybrané druhy netopýrů a způsoby, jakými jednotlivé, vybrané druhy na tuto smrtelnou nemoc reagují.

Ze závěrů studií a srovnání několik druhů netopýrů plyne, že k rozdílným dopadům vedou složité ekologické a evoluční faktory. Důvod rozdílného dopadu nemoci by mohla být velikost těla, způsob hibernace či složení potravy. Netopýří hnědí jsou vzrůstově o mnoho větší než netopýří hnědaví, a proto také mohou být odolnější stresu z infekce či nemoci. Nehledě na to, že na období hibernace přirozeněji nabírají více tukových zásob a trvá jim déle, než je vyčerpají.

Rozdíly v hibernačních návycích mohou být také velkým faktorem ovlivňující prevalenci u jednotlivých druhů. Netopýři hnědí i řasnatí hibernují v menších skupinách než netopýři hnědaví, což je může chránit i tím, že se syndrom bílého nosu přenáší přímým kontaktem mezi netopýři (Langwig et al. 2012; Kiefer et al. 2013).

Netopýři hnědí jsou v potravě oportunističtější než netopýři hnědaví. Mají tendenci mít rozmanitější potravu, což by mohlo pozitivně ovlivnit jejich imunitní systém. V neposlední řadě je nutné zmínit, že netopýři hnědaví jsou výhradně noční živočichové. Oproti nim mají netopýři hnědí i řasnatí tedy značnou výhodu v hledání potravy, jelikož jsou aktivní již za soumraku. Toto chování přispívá právě k větší rozmanitosti potravy a zajisté také podporuje jejich vyšší míru přežití na syndrom bílého nosu (Jachowski et al. 2016). Je také známo, že netopýři řasnatí přizpůsobují své potravní chování změnám v populaci hmyzu či povětrnostním podmínkám, například mění svá loviště nebo upravují dobu svých letů tak, aby se shodovala s vrcholem aktivity hmyzu (Tuttle 2015).

Předpokládá se, že vysoká náchylnost netopýřů hnědavých k WNS je způsobena hlavně jejich chováním během hibernace, kdy se shlukují do velkých skupin, což představuje ideální prostředí pro šíření choroby. Netopýr hnědý i řasnatý má chování během hibernace jiné – shlukuje se do menších hibernakul (Hayman et al. 2016), kde se uchyluje k zimnímu spánku jednotlivě nebo v malých skupinách (Langwig et al. 2012; Kiefer et al. 2013). Roli může mít i dostupnost vhodných míst k přezimování. Netopýr hnědavý je více závislý na jeskyních a dolech, kde hibernuje než ostatní dva druhy, což může zvyšovat jeho vystavení *Pseudogymnoascus destructans*. K úbytku netopýřích populací může přispívat i úbytek vhodných míst k hibernaci v důsledku narušení přírody člověkem, například kvůli novým zástavbám (Frick et al. 2010).

Kromě rozdílů v chování mohou k rozdílným dopadům WNS na populace netopýra hnědavého, hnědého a řasnatého přispívat i genetické faktory. Výzkum ukázal, že na základě genetické odlišnosti se u netopýřů liší i jejich odolnost vůči plísni způsobující WNS. Geny související s imunitním systémem prokázaly souvislost s reakcí hostitele na WNS a také se změnami metabolismu během hibernace. Tyto geny se mohou mezi populacemi netopýřů velmi lišit. V neposlední řadě se na základě těchto genů může míra odolnosti netopýřů průběžně měnit (Gignoux-Wolfsohn et al. 2021). Vědečtí pracovníci doc. Mgr. Natalia Martinkova Ph.D. a Jan Zima (2015) sestavili prediktivní model rozšíření syndromu bílého nosu. Pozorovali dlouhodobé změny početnosti jedinců v koloniích a letovou aktivitu netopýřů v zimě před a po prvním nálezu onemocnění. Hlavní otázkou bylo, zda strategie zimování ve skupinách snižuje vyrušování netopýřů při projevech infekce. Svou studii popsali následovně: „Hledali jsme úseky genomu, které jsou pravděpodobně odpovědné za genetickou adaptaci vůči syndromu bílého nosu. Tyto informace pomohly pochopit adaptivní mechanismy, které vysvětlují rozdíl v přežívání onemocnění mezi netopýři z Evropy a Severní Ameriky“. Zda genetické rozdíly přispívají k rozdílným dopadům WNS na populace právě netopýra hnědavého, hnědého a řasnatého, dostatečně prozkoumáno.

Geografický areál výskytu netopýřů může být dalším důležitým faktorem při určování jejich náchylnosti k WNS. Takovýto areál výskytu může být ovlivněn faktory, jako je klima, dostupnost úkrytů i mezidruhovou konkurencí. Druhy s větším geografickým areálem jsou obecně považovány za odolnější vůči jakýmkoliv narušením prostředí. Je to z toho důvodu, že jsou tyto druhy schopny vyrovnat se s poklesem populace v jedné oblasti areálu vyššími

populacemi v jiných oblastech. V případě netopýrů zasažených syndromem bílého nosu mají některé druhy netopýrů větší zeměpisný areál než jiné, což může ovlivnit míru, do jaké jsou touto nemocí postiženi (Frick et al. 2010). Netopýr hnědavý má větší zeměpisný areál než netopýr hnědý. Větší zeměpisný rozsah netopýra hnědavého může umožnit jeho efektivnější obnovu populací po masivních úhynech. V jiných oblastech areálu mohou existovat nenakažené populace, které přirozeně poslouží jako zdroj rekolonizace. Je tedy zajímavé, že právě tyto netopýři byli doposud zasaženi WNS ze všech druhů nejvíce (Langwig et al. 2012). Netopýři řasnatí obývají poměrně široký geografický areál rozprostírající se v celé Evropě, části Asie i Afriky. Jde ale stále o menší areál výskytu než u netopýra hnědavého. Poměrně široký areál rozšíření netopýra řasnatého tedy přispěl k rozsáhlé nákaze WNS, ačkoliv nebyla zaznamenána žádná hromadná úmrtí (Puechmaile et al. 2011). Důvody odolnosti netopýrů řasnatých vůči WNS nejsou zcela objasněny, ale připisují se dlouhodobému soužití netopýrů s původcem syndromu bílého nosu. Z toho důvodu informace zjištěné o Evropských netopýrech nemohou být použity pro léčbu netopýrů žijících v Severní Americe (Wibbelt et al. 2010).

4.4 Poznatky ze studií syndromu bílého nosu v lidské péči

4.4.1 Výzkum v lidské péči

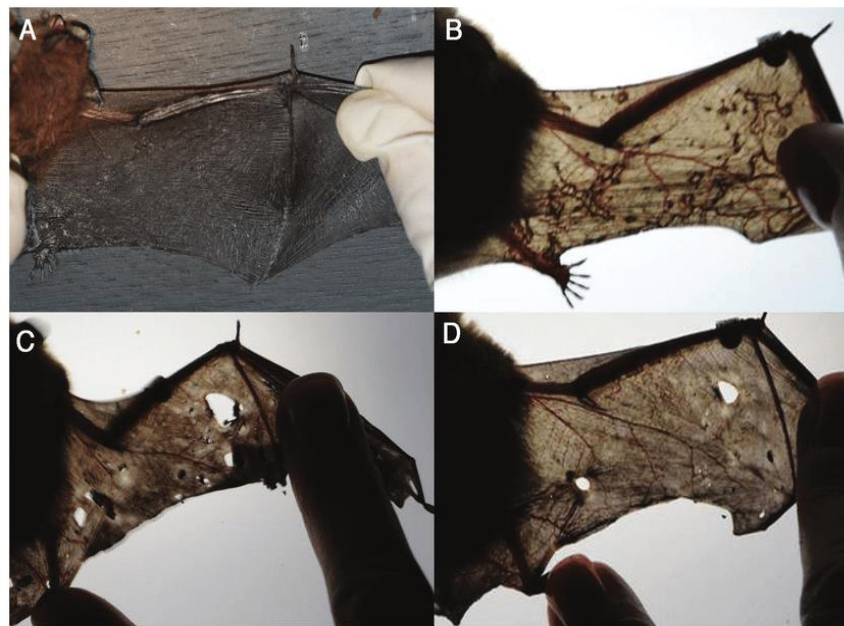
Dynamika onemocnění u netopýrů v lidské péči se může výrazně lišit od dynamiky onemocnění ve volné přírodě. U letounů je široká variabilita v ekologii i fyziologii, jako například různý výdej energie a výběr mikroklimatu v hibernakulu či stavy torporu. Již tyto rozdíly vytvořily odlišné základy pro přežití. Rehabilitační centra pro volně žijící zvířata, zoologické zahrady a další instituce, kde jsou zvířata držena v zajetí, přímo i nepřímo přispívají k řízení a ochraně druhů postižených epizootickými patogeny (Yabsley et al. 2019). V chovech v lidské péči bylo provedeno několik studií, aby se lépe porozumělo průběhu či důsledkům nemoci a následně byla stanovena léčba.

Při studii zkoumající WNS u netopýrů v lidské péči v Severní Americe, se vědci zaměřili na skupinu netopýrů hnědavých o 147 jedincích. Někteří z nich byli naočkováni konidiiem *Pseudogymnoascus destructans*. Po dobu pěti měsíců se sbírala data během hibernace při 10 °C či 4 °C. Netopýři s lepší tělesnou kondicí před hibernací prokázali větší pravděpodobnost k přežití. Také se prokázalo, že samice vykazovaly o mnoho lepší výsledky než samci. Ze všech 147 jedinců přežilo pouze 69, tedy 47 %. Z uhynulých jedinců bylo 89 % samčího pohlaví. Samci zpravidla spotřebovali své rezervoáry energie na zimní spánek dříve než samice, což je dělalo náchylnější vůči nemoci. Také u jedinců, kteří hibernovali v teplejším mikroklimatu hibernakula, byla probabilita nákazy nižší. Nejlépe dopadli jedinci v dobré kondici a s velkými zásobami tuku – tedy většinou samice (Johnson et al. 2014).

Pozorováním zotavení netopýrů hnědavých v lidské péči se zjistilo, že obnova struktury křídla trvá okolo třiceti dnů. Netopýři nebyli nijak omezeni v pohybu po skončení hibernace, a i když po 30 dnech u většiny z nich byl patogen nedetekovatelný, poškození křídel bylo stále viditelné. Při dokumentaci uzdravování se zdokumentovaly čtyři vizuálně odlišné kategorie deformace křídelní membrány. Na začátku rekonvalescence po ukončení torporu byly nejčastější černé léze na křídlech. Od 14 dne pozorování černé léze začaly nahrazovat léze bílé barvy, které zůstaly až do uzdravení. Další dva typy lézí se odhalily až po vyšetření UV světlem.

Léze charakterizované oranžovou a modrozelenou fluorescencí byly obě nejhojnější první den měření po probuzení z torporu a během hojení jejich počty klesaly. Na rozdíl od prvních dvou typů poškození křídel, nebyla mezi oranžově a modrozeleně fluorescenčními lézemi žádná zjevná souvislost (Fuller et al. 2020)

Je nutno podotknout, že netopýři v lidské péči jsou v ubikacích, kde jsou kontrolované podmínky (řízená teplota, správná krmná dávka aj). Ačkoli vzorce projevu WNS pozorované ve studiích jsou v souladu se studii u netopýřů ve volné přírodě, výsledky nemusí plně odrážet, jak se nemoc či zotavení projevuje ve volné přírodě. Netopýři, kterým se podaří přežít WNS musí vydat energii na zotavení po hibernaci. To narušuje jejich energetickou bilanci a u samic dokonce zapříčiňuje nedostatek energie na zabřeznutí (Fuller et al. 2020).



Obr. 11: Netopýr hnědavý, postižen syndromem bílého nosu, přijatý na rehabilitaci – (A) Při příjmu do záchrané stanice, viditelné povlaky WNS; (B) Patrný úbytek tkáně na křídle po pár dnech; (C) Poničená křídelní blána v důsledku WNS; (D) Zachycení patrnho zahojení křídla 9 dní po pořízení fotografie; (C) Křídlo 38 dní po přijetí do lidské péče (Meteyer et al. 2014)

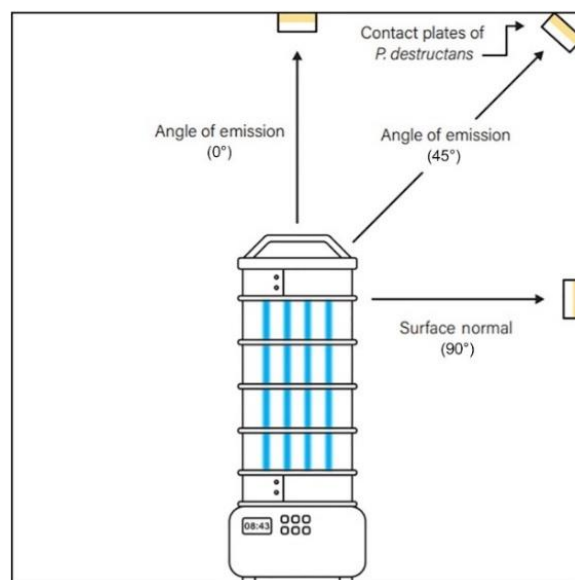
4.4.2 Zootechnická opatření pro chovy netopýřů

Netopýři v lidské péči, jako například v zoologických zahradách či rehabilitačních centrech a záchraných stanicích, mohou podlehnout nákaze syndromu bílého nosu, pokud jsou vystaveni podmínkám, které *Pseudogymnoascus destructans* prospívají. Pro zařízení, starající se o netopýry, je tedy stěžejní dodržovat pokyny pro prevenci a dohled nad nemocí, když propukne. Pokud je jakékoliv podezření na syndrom bílého nosu, či již potvrzený případ, je nutné se řídit pokyny, nařízenými oprávněnými orgány v každém státě, a podniknout kroky k minimalizaci rizika šíření choroby na jiné netopýry. Tyto opatrovací kroky zahrnují karanténní opatření, průběžné testování netopýřů na syndrom bílého nosu a kontinuální dezinfekci ubikací a jejich povrchů (Kwait et al. 2022).

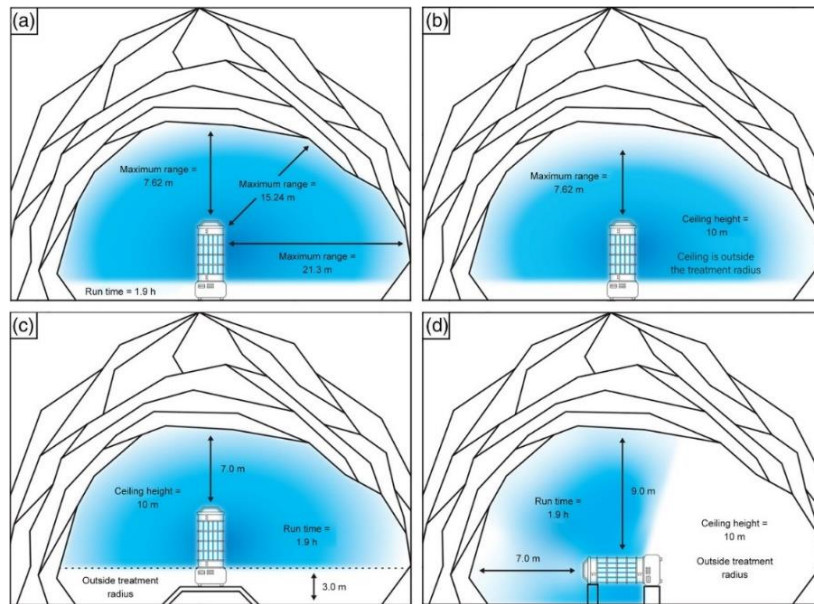
Pro zamezení šíření nemoci v případě infekce mají v první řadě všechna zařízení povinnost disponovat karanténními prostory. Ty jsou povinné i pro nově přijaté jedince do

lidské péče (Siembieda et al. 2011). Na rozdíl od jiných druhů plísní rodu *Pseudogymnoascus* nemá *Pseudogymnoascus destructans* funkční kopii enzymu UVE1, který dokáže opravit úsek DNA poškozený UV zářením (Palmer et al. 2018). To dělá patogen mimořádně citlivým na UV záření v porovnání s ostatními studovanými jeskynnými mikrobiotami (Snider et al. 2009), což naznačuje, že aplikace nízkých dávek UV světla na povrch umělého hibernakula může inhibovat *Pseudogymnoascus destructans* (Kwait et al. 2022). Jednou z nejslibnějších metod k dezinfekci hibernačních místností by se tudíž každoročně mohla stát celoplošná dezinfekce za pomoci UV světla, bez nutnosti použití agresivních chemických látek či osobních ochranných pomůcek. Komerčně dostupné a cenově přijatelné UV dezinfekční prostředky by se měly zařadit do dekontaminačních protokolů pro chovatele. Tyto prostředky je možné využít jak v uměle vytvořených ubikacích, například v zoologických zahradách, tak pro dezinfekci přírodních úkrytů, například jeskyní (White-nose Syndrome Conservation and Recovery Working Group 2020).

Vytvoření umělých hibernakul bylo v návaznosti na tato zjištění navrženo jako strategie pro snížení přírodních rezervoárů *Pseudogymnoascus destructans*, tj. oblastí, kde se plíseň hojně vyskytuje (Frick et al. 2016). Tyto ubikace jsou obecně menší a méně strukturované než přirozená hibernační místa, a proto by se měly dát snadno dezinfikovat. V současné době bylo realizováno jen málo umělých hibernakul, takže není k dispozici dostatek údajů, z nichž by bylo možné posuzovat efektivitu této strategie. Nicméně pokud budou umělá hibernakula instalována v celém areálu výskytu WNS a významná část infikovaných populací by je přijala jako hibernační místa, mohla by být celoplošná UV dezinfekce umělých hibernakul, metodou částečné kontroly nad syndromem bílého nosu (Maslo et al. 2017).



Obr. 12: Přenosný UV dezinfekční přístroj pro umělá hibernakula OBELISK-UV (MRSA-UV, North Palm Beach, FL) vydává UV světlo o vlnové délce ~254 nm (Kwait et al. 2022).



Obr. 13: (a) Maximální rozsah ošetření pro přenosný UV sanitizér OBELISK-UV; (b) Pokud výška stropu hibernakula přesahuje rozsah ošetření přístroje, zůstane tato oblast neošetřena; (c) Vyvýšení stroje pomocí plošiny, které sníží vzdálenost mezi sanitizérem a ošetřovanou plochou; (d) Položení sanitizéru na bok lze nasměrovat nejvyšší intenzitu UV záření (90°) na strop (oblast s předpokládaným nejvyšším výskytem a zatížením patogenu (Kwait et al. 2022).

Nezávisle na vývoji léčby a její implementaci je potřeba, aby se lidé snažili předejít zbytečnému šíření choroby. Díky četnosti spor plísně dokáže infekce dlouho přežít na oblečení a botách. Lidé mohou být tudíž přenašeči, i když se u nich nemoc neprojevuje. Tímto způsobem byla *Pseudogymnoascus destructans* nejpravděpodobněji přenesena do Severní Ameriky. Z toho důvodu existují pokyny pro sanitaci oblečení pro osoby, které často navštěvují chovná místa či hibernakula. V kontaminovaném hibernakulu, by se mělo používat pouze doporučené vybavení, které lze snadno dezinfikovat. Vhodné materiály jsou například guma, či syntetické materiály. Veškeré věci by se měly dekontaminovat před odchodem z ohrožené oblasti a zabezpečit v uzavíratelných vacích, daleko od nekontaminovaného vybavení. Po opuštění oblasti by měl člověk řádně omýt pokožku mýdlem a převléct se do čistého oblečení a obuvi. Před odjezdem by se též mělo umýt od nečistot vozidlo, které sloužilo k dopravě na místo výzkumu, jelikož i takto může dojít k přenosu. K teplotnímu zlikvidování plísně na pomocném nářadí stačí sterilizovat věci autoklávováním při 121 °C po dobu 90 minut (Shelley et al. 2013).

Mnoho chemických komerčních dezinfekčních prostředků stačí na zneškodnění spor *Pseudogymnoascus destructans*. Jedinou podmínkou je, že se tyto prostředky použijí podle specifikací a návodu výrobce. Nejúčinnější chemickou dekontaminační metodou je nicméně ponoření kontaminovaných věcí do vody o teplotě 55 °C po dobu 20 minut a přidáním 60% ethanolu, nebo 70% roztoku isopropanolu (Shelley et al. 2013).

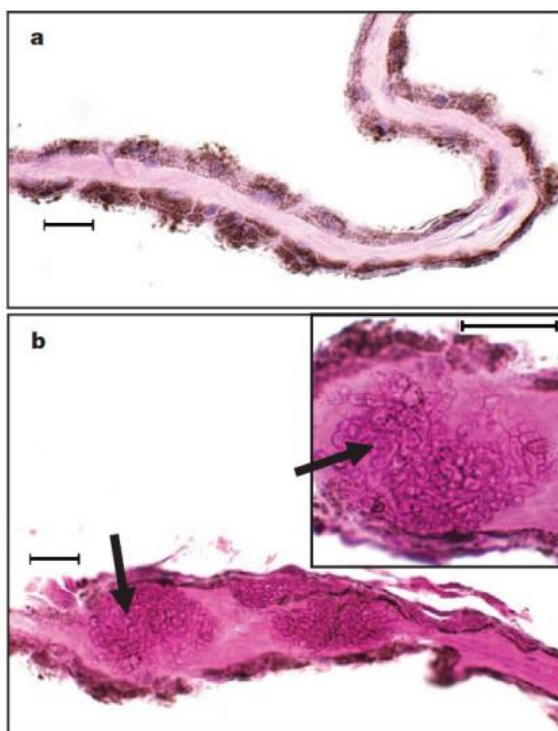
4.5 Diagnóza a léčba

4.5.1 Identifikace a diagnóza syndromu bílého nosu

Nejčastější diagnózou syndromu bílého nosu jsou vizuální kontroly, během kterých se hledají viditelné makroskopické porosty plísně *Pseudogymnoascus destructans* (McGuire et al. 2009). Míru těchto porostů lze poté následovně kategorizovat dle stupnice závažnosti infekce WNS. Stupnice se pohybuje od 0 (žádné stopy po nákaze) do 4 (viditelná poranění kůže způsobená infekcí) a je založena na rozsahu růstu plísně a kožních lézí pozorovaných při vizuální prohlídce netopýra. Stupň závažnosti může být užitečný pro sledování progresu a závažnosti WNS u jednotlivých netopýrů v průběhu času, jakož i pro porovnání prevalence a závažnosti infekce u různých populací a v odlišných regionech. Je však důležité poznamenat, že stupnice závažnosti není diagnostickou metodou WNS a mělo by se používat ve spojení s dalšími diagnostickými metodami, jako je kultivace hub, PCR nebo histopatologie, aby se potvrdila přítomnost houby zodpovědné za WNS. Navíc metoda vizuální kontroly není stoprocentní k identifikaci rozvinutí nemoci. Syndrom bílého nosu nemusí být vždy jasně viditelný nebo dokonce přítomen u napadených jedinců. Napadení jedinci tak mohou být špatně klasifikováni jako zdraví (Horáček et al. 2014).

Méně častá, zato preciznější diagnóza je odebrání vzorků tkáně na základě podezření o nákaze. Vzorky se odebírají výtěrem z uší, tlamy a křídel, nebo biopsií, kdy se následně patogen izoluje. Stěry se provádí speciálními kartáčky či vatovými tyčinkami, na kterých se zachytí konidie plísně, které se poté identifikují v laboratořích (Langwig et al. 2012). Laboratorní diagnostika odebraného vzorku může probíhat třemi následujícími způsoby.

První, nejčastější metoda, je histopatologické vyšetření. Histopatologické vyšetření je velmi spolehlivý způsob zjištění přítomnosti plísně. Pro tento postup se vzorek získá punčovou biopsií (odebrání hlubšího kusu tkáně), či pitvou už mrtvého jedince. Na preparátech z řezů, které jsou odebrané z blan nemocných netopýrů, je zřejmé, že parazitická houba prorůstá skrze epidermis až do tkáně, kde tvoří kalichovité útvary vyplněné hyfami či rovnoměrnou vrstvou hyf pod pokožkou, což vidíme na obrázku č. 14 níže. Obrázek č. 14 porovnává zdravé křídlo (část a) a nemocné křídlo (část b) netopýra (Lorch et al. 2011). U histopatologie je ovšem problém, že se při odběrech vyrušují zimující netopýři. Navíc je naprosto nereálné takto ověřit všechny netopýry na zimovišti.



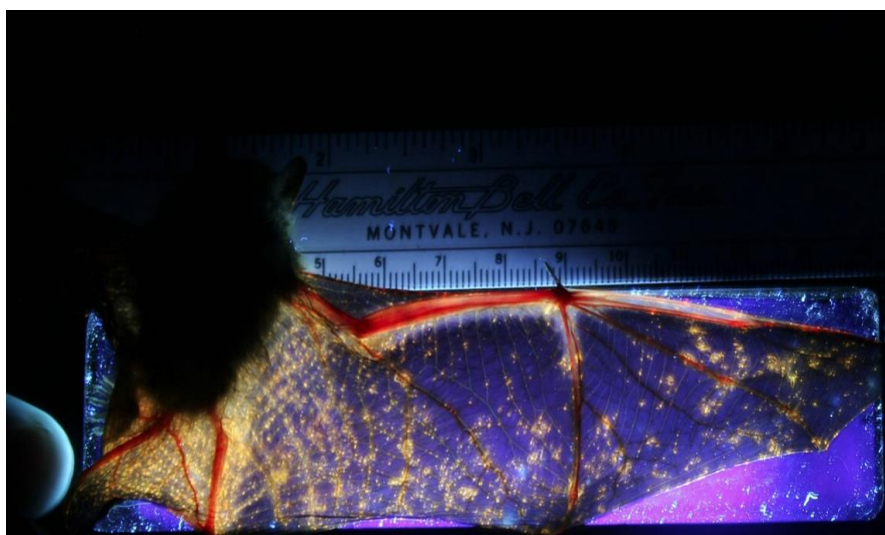
Obr. 14: Histologický řez křídelní blánou (Lorch et al. 2011)

Druhý způsob diagnostiky je odběr vzorků u nakažených netopýrů stěrem z jejich povrchu kůže, za účelem kultivace houby v laboratoři a vývinu spolehlivých a rychlejších testovacích metod. Vzorky z kožních stěrů lze také kombinovat se vzorky z biopsií tkáně, aby se maximalizovala pravděpodobnost získání životaschopného vzorku houby. Pouze takovýto vzorek je vhodný pro další kultivaci *Pseudogymnoascus destructans*, na základě kterého mohou vědci pokračit s testováním polymerázovou řetězovou reakcí (PCR). PCR je nejcitlivější a nejvyužívanější technikou detekce invazivních houbových infekcí a v minulosti již umožnila detekovat širokou škálu lékařsky významných hub z kultivovaných vzorků (Murayama et al. 1994). Kultivace vzorků z biopsie i stěrů kůže se provádí při 10 °C po dobu 14-30 dnů (Seidlova et al 2023). Velkou výhodou této metody je, že dokáže zjistit přítomnost patogenu i když je přítomen v pouze velmi malém množství. Proces PCR ale vyžaduje čistý vzorek DNA bez přítomnosti inhibitorů. Pokud je vzorek kontaminován, často dochází k falešným negativním výsledkům testování (Lorch et al. 2010).

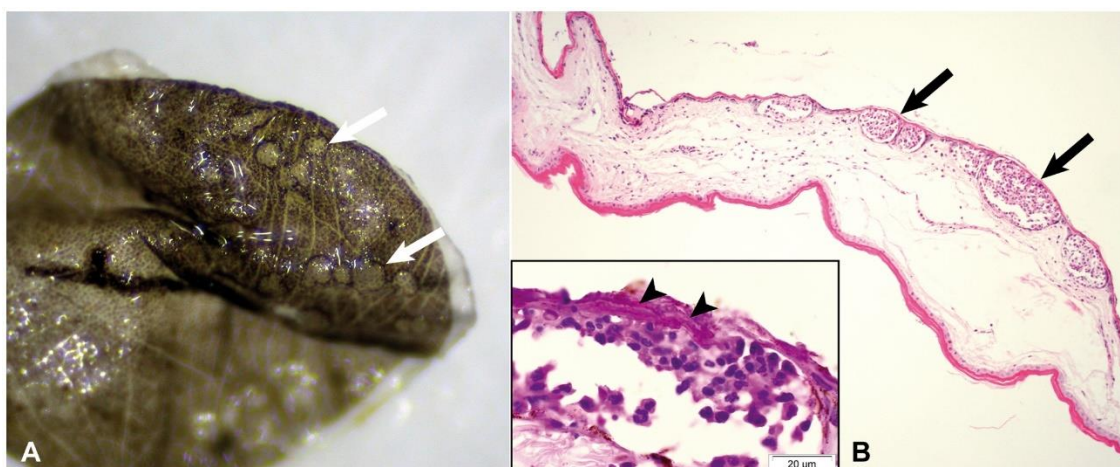


Obr. 15: Odebrání vorku stěrem z kůže (U.S. Fish and Wildlife Service 2022)

Poslední, dosud známý postup diagnostiky, je použití ultrafialového světla, kde se prosvěcuje křídelní blána UV světlem o vlnové délce 366–385 nm. Ultrafialové světlo lze využít jako screeningový nástroj, jelikož při osvětlení *Pseudogymnoascus destructans* fluoreskuje oranžově. Infekce je touto metodou okamžitě viditelná a kvantifikovatelná, jak lze vidět na obrázku č. 16 – oranžovo-žluté tečky ukazují léze způsobené *Pseudogymnoascus destructans*. UV světlo je rychlým, spolehlivým a v terénu použitelným diagnostickým nástrojem pro předběžnou identifikaci WNS na patagiu (křídelní membráně) netopýrů a přesným vodítkem pro cílený odběr bioptických (tj. odebrání vzorku tkáně nebo buněk) vzorků pro následné histologické potvrzení. Účinnost dlouhovlnného UV světla pro detekci lézí odpovídajících WNS byla testována pomocí kombinace terénních a laboratorních studií. Zjistilo se, že tato metoda je velmi úspěšná v určení nakaženého jedince, a to na 98,8 %. Při osvětlení netopýrů UV světlem shora v zimovištích či jiných úkrytech by tak bylo možné identifikovat nakažené hnízdicí netopýry, díky zřetelným ohniskům oranžovožluté fluorescence. Takto rozsáhlá a extrémně spolehlivá identifikace WNS je jinak v podstatě nemožná (Turner et al. 2014).



Obr. 16: Diagnostika syndromu bílého nosu pomocí UV světla na křídle netopýra (Turner et al. 2014)



Obr. 17: (A) Ulcerace kůže netopýra velkého, (B) Histologický řez křídelní membrány – šipky označují místa koroze a ulcerace kůže (Wibbelt et al. 2013)

4.5.2 Léčba

Přestože je syndrom bílého nosu znám již přes 15 let a navzdory několika možnostem, jak nemoc diagnostikovat, nebyl na syndrom doposud vyvinut žádný medikament. Důvodem je obtížná léčitelnost nemoci kvůli její složité patofyziologii. Aktuálně se testuje několik experimentálních léčeb, zahrnujících vakcinace netopýrů a genové inženýrství. Zkouší se také i metody na podporu přirozených obranných mechanismů netopýrů a metody zaměřující se na snížení příznivých vlivů pro *Pseudogymnoascus destructans* v hibernakulech (Fletcher et al. 2020).

V roce 2019 byla provedena studie na vytvoření vakcíny proti syndromu bílého nosu u netopýrů hnědavých. Netopýři byli imunizováni vakcínou mývalích neštovic (Raccoonpox virus – RCN), a poté přeneseni do umělých hibernakul, aby se u nich nemoc projevila. U těchto netopýrů se syndrom bílého nosu vyvinul v nižší míře, než u netopýrů bez vakcinace či jiného kombinovaného léčení. Očkování by tedy mohla být jednou z metod tlumení této nemoci (Rocke et al. 2019). Historicky bylo očkování vyvinuto jen u mála plísňových onemocnění, ale rostoucí závažnost invazivních plísňových patogenů u lidí i zvířat vedla k rozšířenému výzkumu a mnoha slibným vývojem v této oblasti (Cornwell et al. 2019). Praktické podání by mohlo probíhat již několik měsíců před hibernací, takže by se nemuseli narušovat jeskynní ekosystémy ani samotní hibernující netopýři. Kromě toho může očkování generovat dlouhotrvající imunitu bez nutnosti opakovaných ročních ošetření. Rocke et al. (2019) dospěli k závěru, že očkování virově vektorovými antigeny *Pseudogymnoascus destructans* vyvolává antifungální imunitu, která by mohla potenciálně chránit netopýry před syndromem bílého nosu.



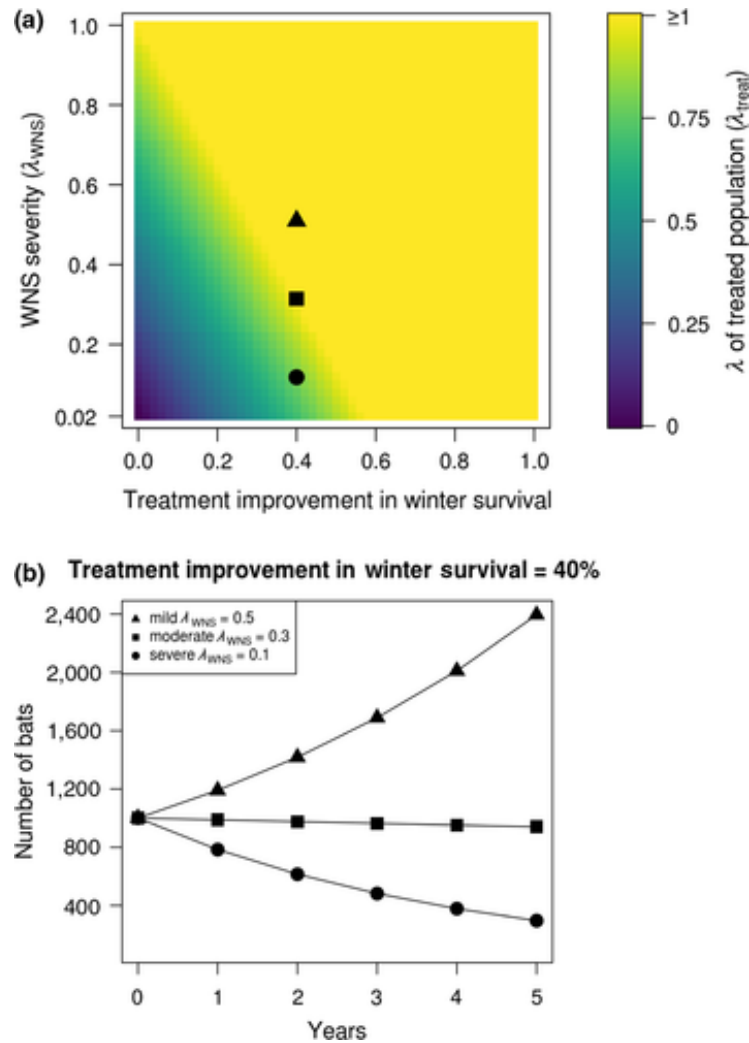
Obr. 18: Podávání vakcíny proti syndromu bílého nosu během terénní studie ke studiu účinnosti vakcín proti WNS (Rocke et al. 2019)

Hojně užívaná léčba v chovech, je za pomoci antifungálních látek, jako jsou fluconazol, vorikonazol a terbinafin, které se ukázaly být účinné proti Pd v laboratorních studiích (Fletcher et al. 2020). Účinnost těchto léčebných metod v terénu je však omezena, mimo jiné kvůli obtížím při aplikaci medikamentů na kůži netopýrů v hibernaci (Muller et al. 2017). Navíc nejsou dlouhodobé účinky těchto léčiv na netopýry a ekosystémy zatím plně známy (Fletcher et al. 2020).

Léčby, zaměřující se na podporu přirozených obranných mechanismů netopýrů proti WNS zatím nebyly plně ověřeny a jejich aplikace na větší populaci netopýrů vyžaduje další výzkum a testování. Jedná se hlavně o výzkum stimulace imunitního systému netopýra pomocí molekulárních adjuvans (látky zesilující imunitní reakci na podaný antigen) zvyšující účinnost vakcín (Fletcher et al. 2020), ale také probiotickými bakteriemi, které mohou inhibovat růst *Pseudogymnoascus destructans* na kůži netopýra (Cheng et al. 2017). Momentálně zkoumané adjuvans jsou hlavně benzalkoniumchlorid, chitosan a polyethylenglykol. Benzalkoniumchlorid je běžný dezinfekční prostředek, u kterého bylo prokázáno, že zvyšuje účinnost některých antimykotik proti patogenu WNS (Holz et al. 2016). Chitosan je polysacharid, který se osvědčil u antimykotických léčeb jiných plísňových infekcí (Kulhanek 2016) a Polyethylenglykol je znám svou schopností stabilizace antimykotických přípravků (Thapa et al. 2016).

Metody léčby upravující prostředí hibernakul jsou více vyzkoušené než předchozí zmíněné metody. Tyto metody jsou relativně jednoduché, levné a jejich účinnost je potvrzená studii. Nejlepší metodou, která funguje i jako prevence proti šíření nemoci lidmi, je omezení návštěvnosti jeskyní, aby se snížil přenos patogenu mezi zimovišti (Johnson et al. 2014). Dále se také využívá například snížení teploty v jeskyních, kde netopýři hibernují, což zhoršuje podmínky pro růst *Pseudogymnoascus destructans* (Warnecke et al. 2012). Tato metoda je stále ale sporná z důvodu velkého narušení hibernakula.

Současné způsoby léčby syndromu u netopýrů probíhají aplikací sloučenin nebo bakterií za účelem přímé inhibice růstu hub. Tyto metody sice v laboratoři fungují a snižují výskyt *Pseudogymnoascus destructans* u testovaných netopýrů, jejich praktické užití by ale mohlo narušit kožní mikroflóru netopýrů nebo ekosystém hibernakula. Dalším problémem aplikace léčby je také narušení hibernace netopýrů, jelikož by se látky musely aplikovat v zimě. Tato praktika by mohla narušit přirozený cyklus (Rocke et al. 2019) a snížit tak jejich potenciál na přežití (Boyles & Brack 2009). Vyuštění hibernujících netopýrů za účelem jejich léčby může nejen snížit mikrobiální diverzitu v hibernakulech, ale i potencionální přirozenou rezistenci některých jedinců vůči WNS (Forsythe et al. 2018). Vzhledem k tomu, že každý jedinec disponuje odlišným mikrobiálním seskupením kůže, lidská intervence jakéhokoliv druhu může ovlivnit přirozený předpoklad odolnosti hostitele vůči infekčním chorobám. Různorodá mikrobiální společenství tedy mohou zabránit patogenům v kolonizaci hostitele (Vanderwolf et al. 2021). Další zásadní problém v aplikaci léčby WNS je, že pouze část letounů ve volné přírodě bude nalezená. V některých hibernakulech může být možné léčit všechny přítomné jedince, ale mnoho netopýrů hibernuje na místech lidem nepřístupným či dokonce nebezpečných (Fletcher et al. 2020).



Obr. 19: (a) Počet ošetřených populací zasažených WNS vyplývající ze všech možných scénářů závažnosti WNS a jejich zlepšení přežití v zimě, za předpokladu, že je ošetřena celá populace; (b) Tři projekce populačních scénářů uvedených v tepelné mapě se zlepšením přežití v zimě o 40 % pro mírnou (trojúhelníky), střední (čtverce) a těžkou formu (kruhy) průběhu WNS (Fletcher et al. 2020)

V současné době se výzkum léčby WNS soustředí hlavně na vývoj nových technologií a strategií v genovém inženýrství, které by mohly být účinné při boji proti *Pseudogymnoascus destructans* a WNS. Jednou z takových technologií je genová editace, která by mohla umožnit eliminaci genů odpovědných za vnímavost netopýrů k WNS (Olival et al. 2020). Další technologií je zavádění do genomu takzvaných uměle vytvořených mutací, které by mohly být použity k vymýcení *Pseudogymnoascus destructans* z populací netopýrů (Fletcher et al. 2020). Tyto nové technologie mají však své vlastní výzvy a etické otázky, a tak jejich použití vyžaduje další výzkum.

4.6 Rizika spojená se syndromem bílého nosu vůči lidské společnosti

V současné době neexistují žádné důkazy naznačující, že WNS by mohl být přenášen z netopýrů na lidi, a tudíž kvalifikován jako zoonóza (Brook & Dobson 2015). Stejně tak není známo žádné přímé riziko vystavení člověka *Pseudogymnoascus destructans*. I když se syndrom bílého nosu zatím neprokázal jako zoonóza, opatrnost při manipulaci s netopýry nebo

při vstupu do oblastí, kde se netopýři běžně vyskytují, by měla být na prvním místě. Poslední desetiletí nám dokázalo, že netopýři mohou přenést choroby na člověka. Tito letouni jsou hostiteli mnoha virů, které již způsobily komplikace a značné riziko pro ostatní savce, zejména pro člověka. Patří mezi ně hlavně koronaviry způsobující závažné akutní respirační syndromy, ale také vzteklna (Castelo-Branco et al. 2023).

Neodkladnou hrozbou pro lidi jsou řetězové důsledky rozšíření WNS. Jak již bylo zmíněno, netopýři jsou klíčovými opylovači a regulátory hmyzu v přírodě. Jejich vymizením by tak potenciálně mohlo dojít ke ztrátě biodiverzity či ke změně funkce ekosystémů (Boyles et al. 2011). Hmyz je navíc hlavním přenašečem transmisivních nákaz u lidí. Pokud mortalita netopýřů na syndrom bílého nosu neklesne, může dojít ke zvýšení přenosu transmisivních nákaz a k dalším pandemiím (Frick et al. 2010). Komplikace by mohly nastat i v zemědělství. Značná část potravy hmyzožravých netopýřů jsou škůdci plodin a pokles počtu netopýřů by tudíž mohl velmi negativně ovlivnit úrodu. Menší sklizně mohou zapříčinit výrazné ekonomické ztráty jak pro zemědělce, také pro celostátní a celosvětovou ekonomiku. Hlavním následkem by také mohl být nedostatek potravin (Boyles et al. 2011).

5 Závěr

Syndrom bílého nosu je závažné kožní onemocnění postihující hibernující letouny. Zatímco jsou všechny druhy hibernujících letounů na nemoc náchylné, závažnost jejího dopadu se druhově velmi liší. Tato práce porovnála, jakými způsoby syndrom bílého nosu ovlivnil populace tří odlišných druhů netopýrů, tj. netopýra hnědého, hnědavého a řasnatého. Syndrom bílého nosu měl výrazně negativní dopad na populace netopýra hnědého i hnědavého v Severní Americe. Některé jejich populace úplně vymizely, zatímco u populací netopýra řasnatého v Evropě nebyl zjištěn žádný masivní úhyn. Existuje mnoho faktorů, které hrají roli v epidemiologii tohoto plísňového onemocnění. Různé ekologické, evoluční a behaviorální odlišnosti netopýrů mohou ovlivnit riziko vzniku infekce. V potaz je brána například délka hibernačního období, či zda netopýři hibernují ve velkých koloniích nebo soliterně. Jiným rizikovým faktorem je volba zimovišť dle různých mikroklimatických podmínek, velikost i druhová diverzita kolonií v hibernakulu či potravní strategie. Tato práce shledává, že hlavním faktorem dopadu mezi těmito vybranými druhy je způsob hibernace. Zatímco netopýr hnědavý vyhledává velké jeskyně jako zimoviště a hibernuje ve velkých klastrech, netopýr hnědý i řasnatý zimují individuálně či v menších skupinách v malých hibernakulech. Je nutné podotknout, že u populací netopýrů v lidské péči je prevalence WNS obecně nižší než ve volné přírodě. To je způsobeno kontrolovatelným prostředím, které umožňuje účinnější léčbu a zvládnutí nemoci.

Přesto, že se doposud neprokázal risk přenosu nemoci na člověka, WNS představuje vážnou hrozbu jak pro populace netopýrů, tak pro lidstvo. Tato práce shrnula nejnovější metody prevence a léčby používané od objevení syndromu bílého, a to jak u volně žijících jedinců, tak u jedinců v lidské péči. Zjištění ukazují, že současné strategie managementu, jako je antimykotická léčba či používání umělých hibernakul, se ukázaly jako slibné při zmírňování dopadů tohoto onemocnění. Vývoj léčebných postupů komplikuje individuální chování netopýrů během hibernace a také problémy s praktikováním léčebných postupů ve volné přírodě. Některé léčebné postupy mohou navíc mít nezamýšlené negativní důsledky, například narušení přirozeného kožního mikrobiomu netopýrů. Hlavní hrozbou radikálního úbytku netopýrů pro člověka jsou negativní ekonomické, ekologické a kulturní dopady na moderní civilizaci. Do budoucna je tudíž kritické pokračovat v úsilí o zachování populací netopýrů, včetně opatření k omezení šíření nemoci, vývinu léčby, ochrany přirozeného habitatu netopýrů, a vzdělávání veřejnosti o významu netopýrů v ekosystémech.

6 Literatura

- Altringham JD. 2011. *Bats: From Evolution to Conservation*. Oxford: Oxford University Press. ISBN: 9780199207121.
- Bandouchova H, Bartonicka T, Berkova H, Brichta J, Cerny J, Kovacova V, Kolarik M, Köllner B, Kulich P, Martínková N, Rehak Z, Turner GG, Zukal J, Pikula J. 2015. *Pseudogymnoascus destructans: Evidence of Virulent Skin Invasion for Bats Under Natural Conditions, Europe*. *Transboundary and Emerging Diseases* **62**:1-5. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tbed.12282> (accessed October 4, 2022).
- Blehert DS, Lankau E. 2022. *Pseudogymnoascus destructans (white-nose syndrome fungus)*. CABI Compendium. Available at <http://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.119002> (accessed December 31, 2022).
- Blehert DS, Hicks AC, Behr M, Meteyer CU, Berlowski-Zier BM, Buckles EL, Coleman JTH, Darling SR, Gargas A, Niver R, Okoniewski JC, Rudd RJ, Stone WB. 2009. *Bat White-Nose Syndrome: An Emerging Fungal Pathogen?*. *Science* **323**:227-227. Available from <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1163874> (accessed August 30, 2022).
- Boyles JG, Brack V. 2009. *Modeling Survival Rates of Hibernating Mammals with Individual-Based Models of Energy Expenditure*. *Journal of Mammalogy* **90**:9-16.
- Boyles JG, Cryan PM, McCracken GF, Kunz TH. 2011. *Economic Importance of Bats in Agriculture*. *Science* **332**:41-42.
- Boyles JG, Willis CKR. 2010. *Could localized warm areas inside cold caves reduce mortality of hibernating bats affected by white-nose syndrome?* *Front Ecol Environ*, **2**:92–98.
- Castelo-Branco DSCM, Nobre JA, Souza PRH, Diógenes EM, Guedes GMM, Mesquita FP, Souza PFN, Rocha MFG, Sidrim JJC, Cordeiro RA, Montenegro RC. 2023. *Role of Brazilian bats in the epidemiological cycle of potentially zoonotic pathogens*. *Microbial Pathogenesis*. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401023000657> (accessed April 18, 2023).
- Cornwell E, Elzinga DC, Stowe S, Capaldi A. 2019. *Modeling vaccination strategies to control white-nose syndrome in little brown bat colonies*. *Ecological Modelling*. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304380019302248> (accessed April 18, 2023).
- Drees KP, Lorch JM, Puechmaille SJ, Parise KL, Wibbelt G, Hoyt JR, Sun K, Jargalsaikhan A, Dalannast M, Palmer JM, Lindner DL, Marm KA, Pearson T, Keim PS, Blehert DS, Foster JT, Heitman J, Fisher M, Stajich J. 2017. *Phylogenetics of a Fungal Invasion: Origins and Widespread Dispersal of White-Nose Syndrome*. *MBio*. Available from <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.01941-17> (accessed April 18, 2023).
- Eskew EA, Todd BD. 2013. *Parallels in Amphibian and Bat Declines from Pathogenic Fungi*. *Emerging Infectious Diseases*. **19**:379–385.
- Fenton MB, Simmons NB. 2015. *Bats: A World of Science and Mystery*. University of Chicago Press, Chicago.
- Fletcher QE, Webber QMR, Willis CKR, Knutie S. 2020. *Modelling the potential efficacy of treatments for white-nose syndrome in bats*. *Journal of Applied Ecology* **57**:1283-1291.

- Foley J, Clifford D, Castle K, Cryan P, Ostfeld RS. 2011. Investigating and Managing the Rapid Emergence of White-Nose Syndrome, a Novel, Fatal, Infectious Disease of Hibernating Bats. *Conservation Biology*. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1523-1739.2010.01638.x> (accessed December 29, 2022).
- Forsythe A, Giglio V, Asa J, Xu J, Elkins CA. 2018. Phenotypic Divergence along Geographic Gradients Reveals Potential for Rapid Adaptation of the White-Nose Syndrome Pathogen, *Pseudogymnoascus destructans*, in North America. *Applied and Environmental Microbiology*. Available from <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.00863-18> (accessed April 5, 2023).
- Frank CL, Michalski A, McDonough AA, Rahimian M, Rudd RJ, Herzog C, Baker ML. 2014. The Resistance of a North American Bat Species (*Eptesicus fuscus*) to White-Nose Syndrome (WNS). *PLoS ONE* (e0113958) DOI: 10.1371/journal.pone.0113958.
- Frick WF, Pollock JF, Hicks AC, Langwig KE, Reynolds DS, Turner GG, Butchkoski CM, Kunz TH. 2010. An Emerging Disease Causes Regional Population Collapse of a Common North American Bat Species. *Science* **329**:679-682.
- Frick WF, Puechmaille SJ, Willis CKK. 2015. *Bats in the Anthropocene*. Springer International Publishing, Switzerland. Available from https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-25220-9_9 (accessed April 9, 2023).
- Fuller NW, McGuire LP, Pannkuk EL, Blute T, Haase CG, Mayberry HW, Risch TS, Willis CKR. 2020. Disease recovery in bats affected by white-nose syndrome. *Journal of Experimental Biology*. **223**:1-15.
- Gignoux-Wolfsohn SA, Pinsky ML, Kerwin K, Herzog C, Hall MK, Bennett AB, Fefferman NH, Maslo B. 2021. Genomic signatures of selection in bats surviving white-nose syndrome. *Molecular Ecology* **30**:5643-5657.
- Grider J, Thogmartin WE, Grant EHC, Bernard RF, Russell RE. 2022. Early treatment of white-nose syndrome is necessary to stop population decline. *Journal of Applied Ecology*, **59**:2531–2541.
- Hayman DTS, Pulliam JRC, Marshall JC, Cryan PM, Webb CT. 2016. Environment, host, and fungal traits predict continental-scale white-nose syndrome in bats. *Science Advances*. Available from <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.1500831> (accessed April 16, 2023).
- Hock RJ. 1951. The metabolic rates and body temperatures of bats. *The Biological Bulletin*, **101**:289-299
- Holz P, Hufschmid J, Boardman W, Cassey P, Firestone S, Lumsden L, Prowse T, Reardon T, Stevenson M. 2016. *Qualitative risk assessment: White-nose syndrome in bats in Australia*. Wildlife Health Australia: Sydney, NSW, Australia.
- Horáček I, Bartonička T, & Lučan RK (2014). Macroecological characteristics of bat geomycosis in the Czech Republic: results of five years of monitoring. *Vespertilio*, **17**:65-77.
- Hoyt JR, Cheng TL, Langwig KE, Hee MM, Frick WF, Kilpatrick AM, Brigham RM. 2015. Bacteria Isolated from Bats Inhibit the Growth of *Pseudogymnoascus destructans*, the Causative Agent of White-Nose Syndrome. *PLOS ONE* 10:1-12 (e0121329) DOI: 10.1371/journal.pone.0121329.
- Hoyt JR, Kilpatrick AM, Langwig KE. 2021. Ecology and impacts of white-nose syndrome on bats. *Nature Reviews Microbiology* **19**:196-210.

- Cheng TL, Mayberry H, McGuire LP, Hoyt JR, Langwig KE, Nguyen H, Parise KL, Foster JT, Willis CKR, Kilpatrick AM, Frick WF. 2017. Efficacy of a probiotic bacterium to treat bats affected by the disease white-nose syndrome. *Journal of Applied Ecology* **54**:701-708.
- Christensen M, Volk TJ, Blehert DS. 2009. *Geomyces destructans* sp. nov., associated with bat white-nose syndrome. *Mycotaxon* **108**:147-154. Available at <http://sdbwg.org/wns/Gargas2009.pdf> (accessed April 5, 2023).
- Jachowski DJ, Dobony CA, Coleman JT, Ford WM, Britzke ER, Rodrigue JL, Shwiff SA, LR Britzke. 2016. White-nose syndrome and the potential impacts of a disease outbreak on bat populations in the Southeastern United States. *Ecosphere* (e01299) DOI:10.1002/ecs2.1299.
- Johnson JS, Reeder DM, McMichael JW III, Meierhofer MB, Stern DWF, Daniel WF, Lumadue Shayne S, Sigler LE, Winters HD, Vodzak ME, Kurta A, Kath JA, Field KA. 2014. Host, Pathogen, and Environmental Characteristics Predict White-Nose Syndrome Mortality in Captive Little Brown Myotis (*Myotis lucifugus*). *PLoS ONE*. Available from <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0112502> (accessed April 4, 2023).
- Kiefer A, Kalko EKV, Adams A, Pedersen EC. 2013. Ecology and Conservation of the Natterer's Bat (*Myotis nattereri*). *Bat Evolution, Ecology, and Conservation*. Available from https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7390-0_16 (accessed August 6, 2023)
- Kulhanek TC. 2016. The application of chitosan on an experimental infection of *Pseudogymnoascus destructans* increases survival in little brown bats.
- Kwait R, Kerwin K, Herzog C, Bennett J, Padhi S, Zoccolo I, Maslo B. 2022. Whole-room ultraviolet sanitization as a method for the site-level treatment of *Pseudogymnoascus destructans*. *Conservation Science and Practice*. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/csp2.623> (accessed April 18, 2023).
- Langwig KE, Frick WF, Bried JT, Hicks AC, Kunz TH, Marm KA, Lafferty K. 2012. Sociality, density-dependence and microclimates determine the persistence of populations suffering from a novel fungal disease, white-nose syndrome. *Ecology Letters*. Available from <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01829.x>.
- Langwig KE, Frick WF, Reynolds R, Parise KL, Drees KP, Hoyt JR, Cheng TL, Kunz TH, Foster JT, Kilpatrick AM. 2015. Host and pathogen ecology drive the seasonal dynamics of a fungal disease, white-nose syndrome. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **282**:1-7.
- Lorch JM, Gargas A, Meteyer CU, Berlowski-Zier BM, Green DE, Shearn-Bochsler V, Thomas NJ, Blehert DS. 2010. Rapid polymerase chain reaction diagnosis of white-nose syndrome in bats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **22**:224-230.
- Lorch JM, Meteyer CU, Behr MJ, Boyles JG, Cryan PM, Hicks AC, Ballmann AE, Coleman JTH, Redell DN, Reeder DM, Blehert DS. 2011. Experimental infection of bats with *Geomyces destructans* causes white-nose syndrome. *NATURE*. **480**:376-378.
- Lorch JM, Palmer JM, Lindner DL, Ballmann AE, George KG, Griffin K, Knowles S, Huckabee JR, Haman KH, Anderson CD, Becker PA, Buchanan JB, Foster JT, Blehert DS, McMahan K. 2016. First Detection of Bat White-Nose Syndrome in Western North America. *MSphere*. Available from <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mSphere.00148-16> (accessed December 31, 2022).
- Magnino MZ, Holder KA, Norton SA. 2021. White-nose syndrome: A novel dermatomycosis of biologic interest and epidemiologic consequence. *Clinics in Dermatology*. **39**:299-303.

Maher SP, Kramer AM, Pulliam JT, Zokan MA, Bowden SE, Barton HD, Magori K, Drake JM. 2012. Spread of white-nose syndrome on a network regulated by geography and climate. *Nature Communications*. Available from <http://www.nature.com/articles/ncomms2301> (accessed August 30, 2022).

Martínková N. 2012. Plesniví netopýři. *Vesmír* **91**:632-634.

Martínková N, Bačkor P, Bartonička T, Blažková P, Červený J, Falteisek L, Gaisler J, Hanzal V, Horáček D, Hubálek Z, Jahelková H, Kolařík M, Korytár L, Kubátová A, Lehotská B, Lehotský R, Lučan RK, Májek O, Matějů J, Řehák Z, Šafář J, Tájek P, Tkadlec E, Uhrin M, Wagner J, Weinfurtová D, Zima J, Zukal J, Horáček I, Carter DA. 2010. Increasing Incidence of *Geomyces destructans* Fungus in Bats from the Czech Republic and Slovakia. *PLoS ONE*. Available at <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0013853> (accessed April 16, 2023).

Martínková N, Zima J. 2015. Adaptace netopýřů na plísňové onemocnění geomykózou (2012–2015). Ústav biologie obratlovců. Akademie věd ČR. Praha.

Martínková N, Zukal J, Šmídová J, Benediktová H, Bartonička T, Pikula J. 2015. Increasing incidence of *Geomyces destructans* fungus in bats from the Czech Republic and Slovakia. *Emerging Infectious Diseases*. **21**:1428–1431.

Maslo B, Gignoux-Wolfsohn SA, Fefferman NH. 2017. Success of Wildlife Disease Treatment Depends on Host Immune Response. *Frontiers in Ecology and Evolution*. Available from <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fevo.2017.00028/full> (accessed April 18, 2023).

McGuire LP, Turner JM, Warnecke L, McGregor G, Bollinger TK, Misra V, Foster JT, Frick WF, Kilpatrick AM, Willis CKR. 2016. White-Nose Syndrome Disease Severity and a Comparison of Diagnostic Methods. *EcoHealth* **13**:60-71.

Meierhofer MB, Johnson JS, Field KA, Lumadue SS, Kurta A, Kath JA, Reeder DAM. 2018. Bats recovering from white-nose syndrome elevate metabolic rate during wing healing in spring. *Journal of Wildlife Diseases*. Available from <https://bioone.org/journals/journal-of-wildlife-diseases/volume-54/issue-3/2017-08-195/BATS-RECOVERING-FROM-WHITE-NOSE-SYNDROME-ELEVATE-METABOLIC-RATE-DURING/10.7589/2017-08-195.full> (accessed December 29, 2022).

Meteyer CU, Barber D, Mandl JN. 2014. Pathology in euthermic bats with white nose syndrome suggests a natural manifestation of immune reconstitution inflammatory syndrome. *Virulence*. **3**:583-588.

Meteyer CU, Buckles EL, Blehert DS, Green AC, Hicks AC, Shearn-Bochsler DE, Thomas NJ, Gargas A, Behr MJ. 2009. Histopathologic criteria to confirm white-nose syndrome in bats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **21**:411-414.

Meteyer CU, Valent M, Kashmer J, Buckles EL, Lorch JM, Blehert DS, Lollar A, Berndt D, Wheeler E, White CL, Ballmann AE. 2011. Recovery of little brown bats (*Myotis lucifugus*) from natural infection with *Geomyces destructans*, white-nose syndrome. *Journal of Wildlife Diseases*. **47**:618-626.

Minnis AM, Lindner DL. 2013. Phylogenetic evaluation of *Geomyces* and allies reveals no close relatives of *Pseudogymnoascus destructans*, comb. nov., in bat hibernacula of eastern North America. *Fungal Biology* **117**:638-649.

Missouri department of conservation. 2020. White nose syndrome (WNS). Available from <https://mdc.mo.gov/wildlife/wildlife-diseases/white-nose-syndrome-wns>

Morningstar DE, Robinson CV, Shokralla S, Hajibabaei M. 2019. Interspecific competition in bats and diet shifts in response to white-nose syndrome. *Ecosphere*. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ecs2.2916> (accessed August 29, 2022).

Muller LK, Lorch JM, Lindner DL, O'Connor M, Gargas A, Blehert DS. 2017. Bat white-nose syndrome: a real-time TaqMan polymerase chain reaction test targeting the intergenic spacer region of *Geomyces destructans*. *Mycologia*. **105**:253-259.

Murayama SY, Yamaguchi H, Makimura K. 1994. Detection of a wide range of medically important fungi by the polymerase chain reaction. *Journal of Medical Microbiology* **40**:358-364.

Olival KJ, Cryan PM, Amman BR, Baric RS, Blehert DS, Brook CE, Calisher CH, Castle KT, Coleman JTH, Daszak P, Epstein JH, Field H, Frick WF, Gilbert AT, Hayman DTS, Ip HS, Karesh WB., Johnson CK, Kading RC, Kingston T, Lorch JM, Mendenhall IH, Peel AJ, Phelps KL, Plowright RK, Reeder DM, Reichard JD, Sleeman JM, Streicker DG, Towner JS, Wang L, Lakdawala S. 2020. Possibility for reverse zoonotic transmission of SARS-CoV-2 to free-ranging wildlife: A case study of bats. *PLOS Pathogens*. Available from <https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1008758> (accessed April 6, 2023).

Pikula J, Amelon SK, Bandouchova H, Bartonička T, Berkova H, Brichta J, Hooper S, Kokurewicz T, Kolarik M, Kovacova V, Linhart P, Piacek V, Turner GG, Zúkal J, Martínková M. 2017. White-nose syndrome pathology grading in Nearctic and Palearctic bats. *PLOS ONE* (e0180435) DOI: 10.1371/journal.pone.0180435.

Puechmaille SJ, Verdeyroux P, Fuller H, Gouilh MA, Bekaert M, Teeling EC. 2010. White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) in Bat, France. *Emerg. Infect. Dis.*, **16**:290-293.

Puechmaille SJ, Wibbelt G, Korn V, Fuller H, Forget F, Mühldorfer K, Kurth A, Bogdanowicz W, Borel Ch, Bosch T, Cherezy T, Drebet M, Görföl T, Haarsma A, Herhaus F, Hallart G, Hammer M, Jungmann C, Le Bris Y, Lutsar L, Masing M, Mulkens B, Passior K, Starrach M, Wojtaszewski A, Zöphel U, Teeling EC, Arlettaz R. 2011. Pan-European Distribution of White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) Not Associated with Mass Mortality. *PLoS ONE*. Available from <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0019167> (accessed April 16, 2023).

Rocke TE, Kingstad-Bakke B, Wüthrich M, Stading B, Abbott RC, Isidoro-Ayza M, Dobson HE., dos Santos DL, Galles K, Lankton JS, Falendysz EA, Lorch JM, Fites JS, Lopera-Madrid J, White JP, Klein B, Osorio JE. 2019. Virally-vectored vaccine candidates against white-nose syndrome induce anti-fungal immune response in little brown bats (*Myotis lucifugus*). *Scientific Reports*. Available from <http://www.nature.com/articles/s41598-019-43210-w> (accessed August 29, 2022).

Sandeno C. Research, Public Can Help Bats Survive White-Nose Syndrome. U.S. Forest Service. 2017. Available from <https://www.usda.gov/media/blog/2014/03/25/research-public-can-help-bats-survive-white-nose-syndrome> (accessed December 31, 2022).

Seidlova V, Pikula J, Kolarik M, Nováková A, Cmokova A, Ghazaryan A, Nemcova M, Bednarikova S, Patra S, Kokurewicz T, Piacek V, Zúkal J. 2023. Higher white-nose syndrome fungal isolate yields from UV-guided wing biopsies compared with skin swabs and optimal culture media. *BMC Veterinary Research*. Available from <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-023-03603-6> (accessed April 17, 2023).

- Sewall BJ, Turner GG, Scafani MR, Gagnon MF, Johnson JS, Keel MK, Anis E, Lilley TM, White JP, Hauer CL, Overton BE. 2023. Environmental control reduces white-nose syndrome infection in hibernating bats. *Animal Conservation*. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/acv.12852> (accessed April 9, 2023).
- Shapiro HG, Willcox AS, Verant ML, Willcox EV. 2021. How has White-nose Syndrome Changed Cave Management in National Parks?. *Wildlife Society Bulletin* **45**:422-429.
- Shelley V, Kaiser S, Shelley E, Williams T, Kramer M, Haman K, Keel K, Barton H. 2013. Evaluation of Strategies for the Decontamination of Equipment for *Geomyces destructans*, the Causative Agent of the White-Nose Syndrome (WNS). *Journal of Cave and Karst Studies*. Available from <http://www.caves.org/pub/journal/PDF/v75/cave-75-01-01.pdf> (accessed December 31, 2022).
- Siembieda JL, Miller WA, Byrne BA, Ziccardi MH, Anderson N, Chouicha N, Sandrock CE, Johnson CK. 2011. Zoonotic pathogens isolated from wild animals and environmental samples at two California wildlife hospitals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **238**:773-783.
- Smyth C, Schlesinger S, Overton BE, & Butchkoski C. 2013. The alternative host hypothesis and potential virulence genes in *Geomyces destructans*. *Bat Res News*, **54**:17-24.
- Spitzenberger F. 2018. *Myotis nattereri* „Natterer's Bat“. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2018 (e.T14126A22063340) DOI: 10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T14126A22063340.en.
- Stoffberg S, Jacobs DS, Matthee CA. 2011. The impact of using various techniques on the determination of heart rates of bats. *South African Journal of Wildlife Research*. **49**:94-97.
- Storey KB, Storey JM. 2010. Metabolic rate depression. *Advances in Clinical Chemistry*. Elsevier. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065242310520031> (accessed April 2, 2023).
- Tate H. NAU scientist collaborates on major genetic study of white-nose syndrome in bats. Northern Arizona university. Available from <https://nau.edu/nau-research/white-nose-syndrome-in-bats/> (accessed April 19, 2023).
- Taylor M, Tuttle MD. 2018. *Bats: an illustrated guide to all species*. Smithsonian Books, Washington, DC.
- Thapa V, Turner GG, Hafenstein S, Overton BE, Vanderwolf KJ, Roossinck MJ, Kuhn JH, Lilley TM, White JP, Hauer CL, Overton BE. 2016. Using a Novel Partitivirus in *Pseudogymnoascus destructans* to Understand the Epidemiology of White-Nose Syndrome. *PLOS Pathogens*. Available from <https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1006076> (accessed April 18, 2023).
- Turner GG, Meteyer CU Barton H, Gumbs JF, Reeder DM, Overton B, Bandouchova H, Bartonička T, Martínková N, Pikula J, Zupal J, Blehert DS. 2014. Nonlethal screening of bat – wing skin with the use of ultraviolet fluorescence to detect lesions indicative of white-nose syndrome. *Journal of Wildlife Diseases*. **50**:566-573.
- Turner GG, Reeder D, Coleman J T. 2011. A five-year assessment of mortality and geographic spread of white-nose syndrome in North American bats, with a look at the future. Update of white-nose syndrome in bats. *Bat research news*, **52**:13-27.
- Tuttle M. 2015. *The secret life of bats*. Houghton Mifflin Harcourt, Boston (New York).

- US Fish and Wildlife Service. 2022. White-Nose Syndrome: Map and Spread. Available from <https://www.fws.gov/whitenosesyndrome/map-and-spread.html> (accessed 19 April 2023).
- Vanderwolf KJ, Campbell LJ, Goldberg TL, Blehert DS, Lorch JM. 2021. Skin fungal assemblages of bats vary based on susceptibility to white-nose syndrome. *The ISME Journal* **15**:909-920.
- Verant ML, Bohuski EA, Richgels KLD, Olival KJ, Epstein JH, Blehert DS, McCallum H. 2018. Determinants of *Pseudogymnoascus destructans* within bat hibernacula: Implications for surveillance and management of white-nose syndrome. *Journal of Applied Ecology* **55**:820-829.
- Verant ML, Boyles JG, Waldrep W, Wibbelt G, Blehert DS, Fisher MC. 2012. Temperature-Dependent Growth of *Geomyces destructans*, the Fungus That Causes Bat White-Nose Syndrome. *PLoS ONE* (e0046280) DOI:10.1371/journal.pone.0046280.
- Vonhof MJ, Russell AL, Miller-Butterworth CM, Aravanopoulos FA. 2015. Range-Wide Genetic Analysis of Little Brown Bat (*Myotis lucifugus*) Populations: Estimating the Risk of Spread of White-Nose Syndrome. *PLOS ONE* (e0128713) DOI: 10.1371/journal.pone.0128713
- Warnecke L, Turner JM, Bollinger TK, Lorch JM, Misra V, Cryan PM, Wibbelt G, Blehert DS, Willis CKR. 2012. Inoculation of bats with European *Geomyces destructans* supports the novel pathogen hypothesis for the origin of white-nose syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**:6999-7003.
- Warnecke L, Vanderwolf KJ, McAlpine DF, Forbes GJ. 2020. Persistence of the emerging fungal pathogen *Pseudogymnoascus destructans* outside of hibernacula: evidence from environmental DNA. *Environmental Microbiology*, **22**:1127-1143
- Whitaker J, 1995. Food of the Big Brown Bat *Eptesicus Fuscus* from Maternity Colonies in Indiana and Illinois. *American Midland Naturalist*, **134**:346–360.
- Wibbelt G, Puechmaille SJ, Ohlendorf B, Mühldorfer K, Bosch T, Görföl T, Karsten P, Kurth A, Lacroix D, Forget F. 2013. Skin Lesions in European Hibernating Bats Associated with *Geomyces destructans*, the Etiologic Agent of White-Nose Syndrome. *PLOS ONE* (e74105). DOI: 10.1371/journal.pone.0074105.
- Wibbelt G, Kurth A, Hellmann D, Weishaar M, Barlow A, Veith M, Prüger J, Görföl T, Grosche L, Bontadina F, Zöphel U, Seidl H, Cryan PM., Blehert DS. 2010. White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) in Bats, Europe. *Emerging Infectious Diseases* **16**:1237-1243.
- Willis CKR, Menzies AK, Boyles JG, Wojciechowski MJ. 2011. Evaporative Water Loss Is a Plausible Explanation for Mortality of Bats from White-Nose Syndrome. *Integrative and Comparative Biology* **51**:364-373.
- Yabsley MJ, Hernandez SM, Barron HW, Miller EA, Aguilar RF. 2019. The Role of Wildlife Rehabilitation in Wildlife Disease Research and Surveillance. In *Medical Management of Wildlife Species*. Available from <https://doi.org/10.1002/9781119036708.ch13> (accessed March 30, 2022).
- Zukal J, Bandouchova H, Bartonicka T, Berkova H, Brack V, Brichta J, Dolinay M, Jaron KS, Kovacova V, Kovarik M, Martínková N, Ondracek K, Rehak Z, Turner GG, Pikula J, Boyles JG. 2014. White-Nose Syndrome Fungus: A Generalist Pathogen of Hibernating Bats. *PLoS ONE* (e0097224) DOI: 10.1371/journal.pone.0097224.

Zukal J, Bandouchova H, Brichta J, Cmokova A, Jaron KS, Kolarik M, Kovacova V, Kubatova A, Nováková A, Orlov O, Pikula J, Presetnik P, Šuba J, Zahradníková A, Martínková N. 2016. White-nose syndrome without borders: *Pseudogymnoascus destructans* infection tolerated in Europe and Palearctic Asia but not in North America. *Scientific Reports*. Available from <http://www.nature.com/articles/srep19829> (accessed July 30, 2022).