



Fakulta zemědělská
a technologická
Faculty of Agriculture
and Technology

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

Katedra biologických disciplín

Diplomová práce

Krmný hmyz jako pasivní vektor oocyst kokciidií
v chovech plazů

Autorka práce: Bc. Gabriela Totušková

Vedoucí práce: doc. Mgr. Michal Berec, Ph.D.

Konzultant práce: Ing. Jakub Žahourek

České Budějovice
2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne 20. 2. 2024

.....
Bc. Gabriela Totušková

Abstrakt

Zástupci kokcií (Coccidia) z čeledi Eimeridae jsou častými intracelulárními parazity v chovech plazů. U agam vousatých (*Pogona vitticeps*) se jedná nejčastěji o druhy *Isospora amphiboluri* a *Choleoeimeria pogonae* s monoxenním životním cyklem. Najdeme je primárně v gastrointestinálním traktu hostitele a mohou způsobit závažné kokcidiózy i smrt zvířat.

Infekčními agens kokcií jsou odolné exogenní oocysty, které jsou vylučovány s trusem a slouží k infekci dalších hostitelů. Jejich přenos probíhá orofekální cestou, během které jsou infekční oocysty přijaty do těla nového hostitele s kontaminovanou potravou či vodou. Při dlouhodobém ponechání živého krmného hmyzu v teráriích bez přístupu ke zdroji potravy se může hmyz stát po konzumaci infikovaných výkalů pasivním vektorem infekce kokcií.

Cílem práce bylo ověřit schopnost krmného hmyzu pasážovat oocysty kokcií v jejich gastrointestinální soustavě a pokusit se determinovat rozdíly během pasáže mezi jednotlivými taxony krmného hmyzu (Blattodea, Coleoptera, Orthoptera). Ve výsledcích pokusu bylo prokázáno pasážování životaschopných oocyst kokcií z rodů *Isospora* a *Choleoeimeria* v trávicím traktu krmného hmyzu. Nejvíce oocysty pasážoval cvrček *Gryllus assimilis*, dále šváb *Blaptica dubia* a nejméně byla zjištěna pasáž u larválního stadia brouka *Zophobas morio*.

Klíčová slova: plazi, *Pogona vitticeps*, vektor infekce, krmný hmyz, *Blaptica dubia*, *Gryllus assimilis*, *Zophobas morio*, kokcidie, *Isospora amphiboluri*, *Choleoeimeria pogonae*

Abstract

Representatives of Coccidia (Coccidia) from the family Eimeridae are common intracellular parasites in reptile breeding. In central bearded dragons (*Pogona vitticeps*), the most common species are *Isospora amphiboluri* and *Choleoeimeria pogonae* with a monoxenic life cycle. They are primarily found in the gastrointestinal tract of the host and can cause severe coccidiosis and death in animals.

The infective agents of coccidia are resistant exogenous oocysts that are shed in faeces and serve to infect other hosts. Their transmission is by the orofecal route, during which infective oocysts are taken into the body of a new host with contaminated food or water. When live feeding insects are left in terrariums for long periods of time without access to a food source, the insects can become a passive vector of coccidia infection after consuming infected feces.

The aim of this study was to test the ability of foraging insects to passage coccidian oocysts in their gastrointestinal system and to attempt to determine differences during passage between different taxa of foraging insects (Blattodea, Coleoptera, Orthoptera).

The results of the experiment showed the passaging of viable oocysts of coccidia of the genera *Isospora* and *Choleoeimeria* in the digestive tract of feeding insects. The cricket *Gryllus assimilis* passaged the most oocysts, followed by the cockroach *Blaptica dubia* and the least passaging was detected in the larval stage of the beetle *Zophobas morio*.

Keywords: reptiles, *Pogona vitticeps*, vector of infection, feeding insects, *Blaptica dubia*, *Gryllus assimilis*, *Zophobas morio*, coccidian, *Isospora amphiboluri*, *Choleoeimeria pogonae*

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé diplomové práce doc. Mgr. Michalu Bercovi, Ph.D., za množství rad i doporučení a pomoc se statistickým zpracováním dat získaných během pokusu. Dále bych chtěla poděkovala Ing. Jakubu Žahourkovi, konzultantovi mé diplomové práce, za pomoc s designem pokusu, získáváním a zpracováním vzorků, determinací druhů kokciidií a za trpělivost a cenné rady při konzultacích.

Obsah

Úvod.....	8
Cíl práce	10
1 Literární rešerše.....	11
1.1 Kmen Apicomplexa.....	11
1.1.1 Kokcidie (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia).....	12
2 Kokcidie v chovech plazů	15
2.1 Rod <i>Acroeimeria</i> (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eimeriorina)	15
2.2 Rod <i>Caryospora</i> (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eimeriorina)	16
2.3 Rod <i>Choleoeimeria</i> (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eimeriorina)	16
2.4 Rod <i>Goussia</i> (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eimeriorina)	17
2.5 Rod <i>Isospora</i> (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eimeriorina)	17
3 Přehled nejčastějších metod diagnostiky kokcií	19
3.1 Koprologické metody	19
3.1.1 Přímý nátěr trusu	19
3.1.2 Flotace	20
4 Základy prevence výskytu patogenů v chovech plazů.....	21
5 Léčba kokcií v chovech plazů.....	22
6 Přehled a biologie hlavních skupin krmného hmyzu	23
6.1 Řád švábi (Insecta: Neoptera: Exopterygota: Blattodea)	23
6.1.1 Šváb argentinský (<i>Blaptica dubia</i>).....	24
6.2 Řád brouci (Insecta: Neoptera: Endopterygota: Coleoptera)	25

6.2.1	Potemník brazilský (<i>Zophobas morio</i>).....	25
6.3	Řád rovnokřídlí (Insecta: Neoptera: Exopterygota: Orthoptera).....	25
6.3.1	Cvrček banánový (<i>Gryllus assimilis</i>).....	26
7	Materiál a metodika.....	27
7.1	Vzorky trusu	27
7.2	Determinace kokcií z použitých vzorků	27
7.3	Stanovení počtu oocyst ve vzorcích	29
7.4	Krmný hmyz.....	29
7.4.1	Zpracování vzorku pro podání	29
7.4.2	Příprava hmyzu a průběh pokusu	30
7.4.3	Pitva hmyzu.....	30
7.5	Statistické zhodnocení výsledků	30
8	Výsledky	31
8.1	Morfologická determinace druhů kokcií	31
8.2	Výsledky pokusu	32
8.2.1	Analýza schopnosti krmného hmyzu pasážovat oocysty	32
8.2.2	Průměrný počet oocyst kokcií v pasáži krmného hmyzu.....	32
8.2.3	Rozdíly v pasážování mezi jednotlivými druhy hmyzu	34
9	Diskuse.....	35
	Závěr	38
	Seznam použité literatury.....	39
	Seznam obrázků	47
	Seznam tabulek	48
	Seznam grafů.....	49
	Seznam použitých zkratk.....	50

Úvod

Plazi chovaní v lidské péči mají vysoké prevalence gastrointestinálních parazitů (Jacobson a Gardner, 2021). Patří mezi ně různé druhy kokcií (Coccidea), kryptosporidií (Cryptosporidea), mikrosporidií (Microsporidia) a roupů (Oxyurida) (Scullion a Scullion, 2009; Wolf et al., 2014; Machin, 2015). U býložravých plazů najdeme také jako součást jejich komenzální střevní mikroflóry nálevníky (Ciliata), například druhy z rodu *Nyctotherus* nebo *Balantidium* (Wolf et al., 2014; Machin, 2015; Taylor et al., 2015). V gastrointestinálních traktech plazů, zejména hadů je možné nalézt i strongylidní hlístice (Strongylidae) a škrkavky (*Ascaris*). Tasemnice (Cestoda), motolice (Trematoda) a vrtějši (Acantocephala) jsou parazité detekovatelní u plazů žijících ve volné přírodě, v chovech se běžně nevyskytují vzhledem k jejich složitým a několikahostitelským vývojovým cyklům. Vzácně je možné je najít u zvířat nově importovaných z volné přírody. Vyšetřením trusu je možné zjistit i výskyt „pseudoparazitů“ neboli přechodných organismů, pocházejících z kořisti hostitele (např. roupi z rodu *Syphacia* od hlodavců) nebo vnějšího prostředí (Taylor et al., 2015).

Průběh infekce velké části z těchto druhů parazitů je asymptomatický a zvíře zůstává z pohledu chovatele zdravé. Pokud se nejedná o imunosuprimovaného jedince (Chroust et al., 1998), zvíře je dobře krmeno a není ve stresu (Rataj et al., 2011; Taylor et al., 2015), závažnost vzniklých kokcidióz souvisí nejen s odolností a infekčností vývojových stadií parazitů a druhem jich vývojového cyklu, ale i s celkovým zdravotním stavem hostitelských živočichů (Ras-Noryska a Sokol, 2015; Taylor et al., 2015; Hallinger et al., 2019).

Kokcidie jsou veterinárně významní parazitární prvoci řadící se do kmene Apicomplexa, kteří během svého reprodukčního cyklu tvoří odolné exogenní oocysty sloužící k infikování nových hostitelů (Volf a Horák et al., 2007; Jacobson a Gardner, 2021). V chovech plazů nejčastěji najdeme druhy s monoxenním životním cyklem (Jacobson a Gardner, 2021) a různou mírou hostitelské specifity. Jedním z nejvýznamnějších původců kokcidióz jsou nejen v chovu plazů zástupci z rodu *Isospora*. Tito parazité způsobují velké ztráty i v komerčních chovech prasat a závažná průjemová onemocnění u psů a koček (Fitte et al., 2023).

Přenos kokcií probíhá orofekální cestou, kdy se infekční oocysty z trusu nakažených zvířat dostávají např. s kontaminovanou potravou nebo vodou přes ústní dutinu do nového hostitele (Kaluža a Konvalinová, 2023).

V chovech plazů se ve většině případů krmí farmově chovaným krmným hmyzem, který bývá z velkochovů nakažen pouze entomogenními druhy parazitů. Nejčastěji u nich najdeme hromadilky (Gregarinea), měňavkovce (Amoebozoa), nálevníky (Ciliophora) a roupky (Oxyurida; Thelastomatidea), kteří jsou hostitelsky specifictí pro bezobratlé a pro obratlovce nepřestávají riziko (Volf a Horák et al., 2007; Bassette a Williams, 2022). Existují ale důkazy i o přenosu parazitů obratlovců hmyzem, který nehraje žádnou roli v jejich životních cyklech (Oyeyemi et al., 2016; Donkor, 2020), to znamená, že hmyz se může stát pasivním vektorem infekce pro tyto parazity (Bowman, 2014).

Při špatné zoohygieně v chovech terarijních plazů a dlouhodobém ponechání živého krmného hmyzu plazů v ubikaci, kde hmyz nemá k dispozici jinou potravu než výkaly zvířat, lze předpokládat, že se krmný hmyz může stát pasivním vektorem infekce pro kokcidie plazů, pokud jsou zvířata v chovu infikována.

Přestože většina druhů krmného hmyzu není koprofágní a výkaly se primárně neživí, je u mnoha druhů prokázána tzv. fakultativní koprofagie, kdy je hmyz schopen konzumovat výkaly, když není k dispozici jiný zdroj potravy (Kopanic et al., 2001). Nejznámější je tento jev u synantropně žijících druhů hmyzu, např. švábů *Blattella germanica*, *Periplaneta americana* a *Shelfordella tartara*, oblastech jejich přirozeného výskytu (Kopanic et al., 2001; Graczyk et al., 2005; Oyeyemi et al., 2016).

Cíl práce

Cílem této diplomové práce bylo ověřit u tří taxonů krmného hmyzu (Blattodea, Coleoptera, Orthoptera), který je využíván v chovech plazů, jeho schopnost v pasážování oocyst monoxenních kokcií z hlediska potenciálních rizik přenosu těchto parazitů v trávicím traktu zkrmovaného hmyzu a determinace rozdílů v této funkci mezi zástupci jednotlivých taxonů.

1 Literární rešerše

1.1 Kmen Apicomplexa

Mezi vůbec nejvýznamnější parazity obratlovců patří zástupci z monofyletického kmene Apicomplexa, který je druhově nejpočetnějším kmenem parazitických protist (Volf a Horák et al., 2007; Duszynski, 2021). Většina z 2 500 zařazených druhů do tohoto kmene (Hausmann a Hülsmann, 2003) jsou endoparazité žijící v buňkách hostitele (Volf a Horák et al., 2007; Jacobson a Gardner, 2021).

Název kmene je odvozen od jejich charakteristického znaku, apikálního komplexu, což je soubor několika morfologických ultrastruktur (Chroust et al., 1998) úplně pronikajících do hostitelských buněk. Tato stadia neboli zoity se dále dělí na sporozoity a mezozoity. Apikální komplex je složen ze skeletárních útvarů, tzv. konoidů, s válcovitou strukturou ze spinálně stočených fibril a kruhové struktury s funkcí řídicího centra, tzv. polárního prstence. Dále v dutině tzv. konoidu najdeme rozptýlené kulovité granule a dva typy sekrečních žlázek, rhoptrií kyjovitého tvaru a vláskovitých mikroném. Na povrchu zoitů je alveolus skládající se ze tří plazmatických membrán. V buňkách většiny zástupců kmene Apicomplexa je dále mimo výše zmíněné buněčné orgány také apikoplast, zbytek plastidu obaleného čtyřmi membránami, který nemají pouze zástupci hromadilek a kryptosporidií. Zoiti vyhledávají hostitelské buňky aktivním klouzavým pohybem za pomoci aktin-myozinového komplexu navázaného na substrát, na němž se zoit pohybuje pomocí vyloučení proteinů z mikroném (Chroust et al., 1998; Volf a Horák et al., 2007).

Vývoj Apicomplex probíhá ve složitých vývojových cyklech se třemi rozmnožovacími fázemi: merogonie, gamogonie a sporogonie. Tyto fáze probíhají v jednom (monoxenní) nebo i několika hostitelích (heteroxenní). Sporozoity, které už vnikly do hostitelských buněk, rostou v parazitoformní vakuole a stávají se meronty. U nich po merogonii dochází k asexuálnímu rozmnožování (Ryšavý et al., 1989), kdy se dělí na jednojaderné merozoity napadající další buňky hostitele. Tento proces může být během cyklu několikrát opakován a jednotlivé generace mohou být fyziologicky i morfologicky odlišné, pokud vznikají v rozdílných typech tkání. Během stadia gamogonie se vnitrobuněčné meronty stávají nezralými gametocyty, ze kterých vznikají po nějakém čase samčí mikrogamety a samičí makrogamety (Volf a Horák et al., 2007).

Tvorba spor a sporozoitů, tzv. sporogonie (Ryšavý et al., 1989), začíná kopulací gamet, zygoty se obalují silnostěnným obalem a mění na oocysty, ve kterých jsou další obaly, tzv. sporocysty. Uvnitř oocyst dochází k buněčnému dělení a meióze, ze kterého vznikají sporozoiti, ty poté opouští oocysty v trávicím traktu nového hostitele (Volf a Horák et al., 2007).

Do kmenu Apikomplexa jsou řazeny čtyři třídy organismů: kokcidie (Coccidea), kryptosporidie (Cryptosporidea), hromadilky (Gregarina) a hemosporidie (Haematozoa) (Volf a Horák et al., 2007; Morrison, 2009; Bowman, 2014). Rozdělení do těchto skupin je založeno převážně na fenotypových charakteristikách, tedy jejich hostiteli nebo vektoru nákazy a druhu jejich cílových tkání nebo orgánů, přesné evoluční vztahy a fylogenetické taxonomické zařazení je v současné době stále nejasné (Morrison, 2009).

1.1.1 Kokcidie (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia)

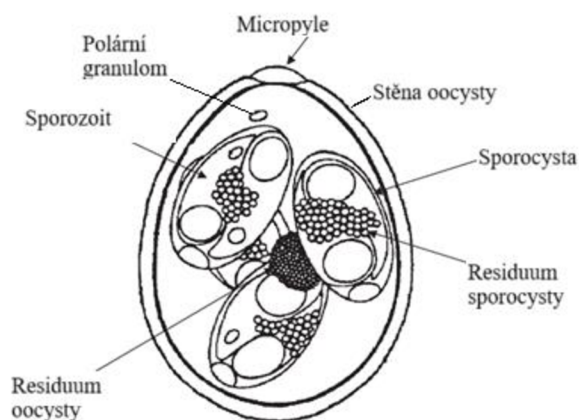
Kokcidie jsou intracelulární parazité se třemi rozmnožovacími fázemi (merogonie, gamogonie a sporogonie). Jejich asexuální vývojová stadia merozoiti a sporozoiti mají od počátku vývoje vyvinuty všechny orgány apikálního komplexu (Ryšavý et al., 1989; Chroust et al., 1998). Systematicky jsou kokcidie rozděleny podle toho, zda u nich před gamogonií dochází nebo nedochází k syzygii gametocytů (Volf a Horák et al., 2007), tedy sloučení skupin gametocytů, tak aby u určitých druhů kokcidií vznikly oplození schopné gamety (Barta, 2000). U řádu Adeleida, který parazituje pouze u bezobratlých, gametogonii předchází syzygie gametocytů a mikrogamet se tvoří pouze malý počet, uvnitř jejich oocyst najdeme velké množství (tři až dvacet) sporocyst se dvěma sporozoity (Volf a Horák et al., 2007).

Oproti tomu zástupcům řádu Eimeriida syzygie gametocytů schází a z mikrogametocytů se vytváří velké množství mikrogamet. Jejich životní cyklus je typický střídáním nepohlavních a pohlavních generací, které se mohou vyvíjet v jednom (monoxení) nebo i více hostitelích (heteroxení). Mezi zástupci z tohoto řádu najdeme převážně významné parazity obratlovců (Ryšavý et al., 1989).

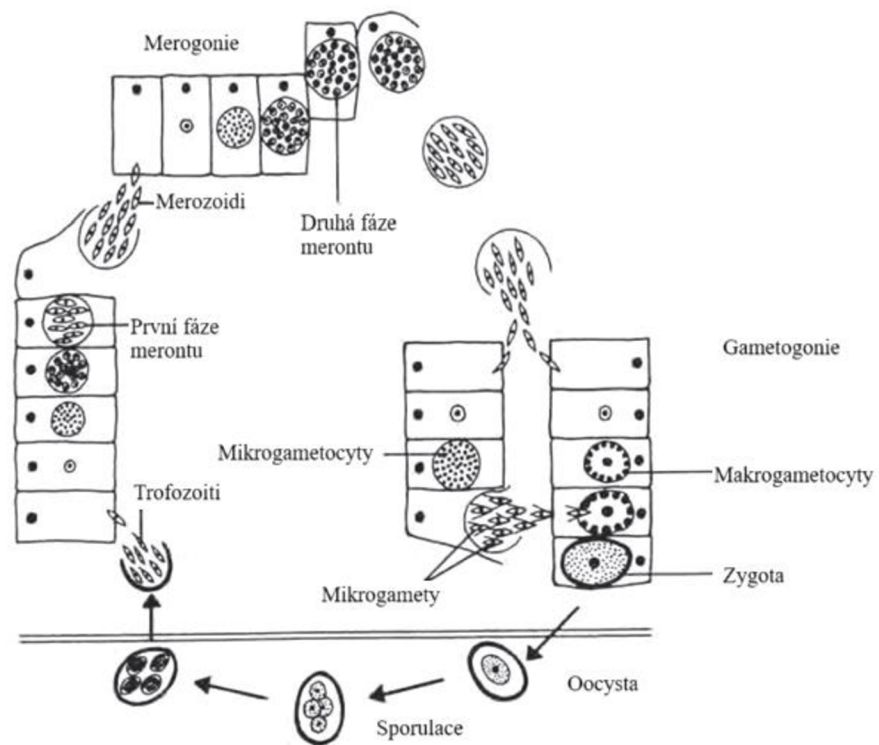
Při pohlavním rozmnožování, tzv. gametogonii, po oplození vzniká nepohyblivá diploidní zygota (oocysta), která kolem sebe vytváří silnou stěnu a opouští hostitelskou buňku. Poté následuje tzv. sporulace, to znamená, že se v oocystě během procesu meiózy tvoří další obaly – sporocysty a v nich vznikají haploidní sporozoiti. Rychlost sporulace ovlivňuje teplota, hladina kyslíku a vlhkost v prostředí. Oocysty mohou

přežít zmrazení až na $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$, ale nejsou schopny přežít vysušení při teplotě okolo $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ působící po dobu delší než 24 hodin (Baker, 2007). Ke sporulaci u kokcií může docházet už v těle hostitele (např. rod *Goussia*) nebo poté, co se oocysta dostane mimo trávicí trakt do vnějšího prostředí (např. rod *Eimeria*) (Bowman, 2014). V těle nového hostitele se oocysta rozevívá pomocí vrcholového otvoru neboli mikropyle a sporocysty se otevírají po rozpuštění Stiedova tělíska, což je zátka na vrcholu sporocysty, nebo rozpadem švů oocysty, pokud je její stěna složena z chlopní (Volf a Horák et al., 2007).

Druhy z řádu Eimeriida jsou rozděleny do tří čeledí: Eimeriidae, Sarcocystidae a Toxoplasmidae. Do čeledi Toxoplasmidae se řadí kokcie s extraintestinálními stadii a ve většině případů i dvouhostitelským vývojovým cyklem, ve kterém jsou z hostitele vylučovány nesporulované a otevírající se ve švech chlopní. Kokcie, které jsou plně závislé na dvouhostitelském cyklu a karnivorním hostiteli, patří do čeledi Sarcocystidae. Jejich merogonie je omezena na mezihostitele, který je kořistí cílového hostitele, ve kterém probíhá gamogonie a sporogonie. Oocysty vychází z definitivního hostitele již vysporulované a otevírají se rozpadem švů. Druhově nejbohatší z třídy Coccidea je čeleď Eimeriidae kam patří monoxenní druhy kokcií. Oocysty opouštějí hostitele nesporulované a otevírají se rozpuštěním Stiedova tělíska (Volf a Horák, 2007).



Obrázek č. 1: Popis oocysty kokcie z čeledi Eimeriidea (upraveno podle Taylor et al., 2015)



Obrázek č. 2: Životní cyklus kokcií z čeledi Eimeriidea (upraveno podle Taylor et al., 2015)

2 Kokcidie v chovech plazů

Všechny druhy plazů v lidské péči infikují kokcidie především z druhově nejbohatší čeledi kokcidií Eimeriidae. U želv (Testudines) najdeme rody *Eimeria* a *Isospora* a u krokodýlů (Crocodylia) pak ještě i rod *Goussia* (Greiner, 2003). Tyto infekce jsou ve většině případů asymptomatické bez propuknutí kokcidióz (Jacobson, 2007) a jsou zjišťovány po vyšetření trusu. U krokodýlů se vzácně objevují i případy uhynulých jedinců s prokázanými lézemi na střevech, v plicích, játrech a slezině (Ladds a Sims, 1990).

Velmi početné je zastoupení kokcidií u šupinatých (Squamata) (Raiti, 2012), nejčastěji se jedná druhy patřící do rodů *Acroeimeria*, *Caryospora*, *Choleoeimeria* a *Isospora*, ze kterých jsou každoročně popisovány další nově objevené druhy (Jacobson, 2007; Yang et al., 2014).

2.1 Rod *Acroeimeria* (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eimeriorina)

Rod *Acroeimeria* byl při svém objevení na základě nedostatku informací zařazen podle charakteristiky životních cyklů, morfologických rysů exogenních oocyst a struktury různých fází vývoje mezi kokcidie z rodu *Eimeria*, které byly poprvé popsány už v roce 1875 u hlodavců a později i u ptáků. S rozšířením molekulárních metod se prokázalo, že tyto druhy kokcidií determinované u ještěřů jsou fylogeneticky spíše sesterskou skupinou rodu *Eimeria* (Megía-Palma et al., 2015). Do současnosti není plně vyřešeno dělení plazích kokcidií morfotypu *Eimeria*, pouze byly rozděleny podle svých životních cyklů, morfologie exogenních oocyst a molekulární determinace na rody *Acroeimeria* a *Choleoeimeria* (Megía-Palma et al., 2015).

Acroeimerie jsou monoxenní kokcidie sporulující mimo tělo hostitele s oválným tvarem oocyst, u kterých nemusí být patrná mikropyle. Mají čtyři sporocysty bez Stiedova tělíska, se dvěma sporozoity. Cílovým orgánem *Acroeimerii* je výstelkový epitel střev, ve kterém probíhá endogenní fáze vývoje merontů a gamogonie (Paperna a Landsberg, 1989). Infekce kokcidií z rodu *Acroeimeria* probíhají zpravidla asymptomaticky a míra jejich patogenity není známa (McAllister et al., 1988).

Jednou z prvních popsaných kokcidií z rodu *Acroeimeria* byla *Acroeimeria lineri*, popsaná z několika druhů gekonů z čeledi gekonovitých (Gekkonidae) už v roce 1988, kdy byla původně pojmenována *Eimeria lineri* (McAllister et al., 1988).

2.2 Rod *Caryospora* (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eimeriorina)

Rod *Caryospora* je třetím největším rodem kokcií z čeledi Eimeridae. Druhy z tohoto rodu infikují dravé ptáky a plazy, a to především hady, ze kterých jsou nejčastěji popisovány nové druhy (Yang et al., 2014).

Jsou to parazité tenkého střeva (Chroust et al., 1998) sporulující mimo tělo hostitele (Norton a Peirce, 1985) a jejich infekce jsou zpravidla podmíněně patogenní, to znamená, že mohou probíhat buď asymptomaticky, nebo způsobují apatii, nechutenství, krvavý průjem, svalové křeče i náhlou smrt, záleží na zdravotním stavu infikovaného zvířete (Yang et al., 2014).

Oocysty kokcií z rodu *Caryospora* jsou sférické nebo subsférické a najdeme v nich pouze jednu sporocystu s osmi vejčitými sporozoidy (Chroust et al., 1998). Stěna oocysty bývá hladká, bezbarvá se třemi vrstvami. Mikropyle, residuum oocysty a polární granule chybí a Stiedovo tělíčko bývá přítomné (Viana et al., 2013)

2.3 Rod *Choleoimeria* (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eimeriorina)

Choleoimeria je monoxenní rod kokcií, který je možné najít ve žlučnicích, žlučovodech a střevním epitelu nakažených hadů, ještěřů i krokodýlů. Sporulované oocysty *Choleoimerii* mají čtyři sporocysty, které obsahují dva sporozoity (Jacobson, 2007; Szczepaniak et al., 2009; Megía-Palma et al., 2015). Často se v lidské péči objevují infekce patologicky významného druhu kokcie *Choleoimeria pogonae* (Johnston et al., 2021) u agamy vousaté (*Pogona vitticeps*). Tento druh byl původně popsán z jiného druhu agamy *Pogona minor minor*, ale je možné ho najít u většiny dalších druhů z čeledi Agamidae (Megía-Palma et al., 2015). Silná infekce *Ch. pogonae* způsobuje u nakažených zvířat kokciózu, u které jsou klinickými projevy zhoršení kondice zvířat, dehydratace a apatie, způsobené výskytem lézí na vnitřních orgánech, zvětšením žlučníku a následným ucpáním žlučvodů. Při neléčení může mít tento stav za následek i smrt zvířete (Szczepaniak et al., 2016).

Sporulované oocysty mají cylindrický tvar, délka oocyst je 26,0 až 28,3 µm, šířka 14,0–16,5 µm. Ve všech oocystách mají čtyři sporocysty a polární granule a zároveň postrádají mikropyle a oocyst residuum. Sporocysty jsou vejčitého tvaru o velikosti 9,0–11,0 µm x 7,0–9,5 µm a chybí u nich Stiedovo tělíčko (Yang et al., 2016).

2.4 Rod *Goussia* (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eimeriorina)

Do rodu *Goussia* byly původně zařazovány tetrasporocystické druhy kokcií pocházejících z ryb. V současnosti do tohoto rodu patří oocystou morfologicky odpovídající kokcie ze všech poikilotermních živočichů (Jirků et al., 2002), kterých bylo nalezeno již více než 50 druhů (Jirků et al., 2009). Mezi plazy je možné je najít u krokodýlů, i když v některých případech je možné prokázat, že jsou tzv. pseudoparazity a pochází z jejich kořisti, kterou jsou ryby (Greiner, 2003).

U rodu *Goussia* probíhá jejich endogenní vývoj ve žlučovém měchýři a sporulace oocyst nastává již v těle hostitele. Všechny druhy jsou charakteristické protáhlými cylindrickými oocystami a stěny sporocyst jsou složeny ze dvou chlopní se zřetelným švem. Patogenita a klinické příznaky doprovázející infekce tohoto druhu kokcií nejsou přesně definovány (Jirků et al., 2002).

2.5 Rod *Isoospora* (Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eimeriorina)

Rod *Isoospora* je druhým největším rodem kokcií v čeledi Eimeriidae. Do současnosti bylo nalezeno po celém světě více než 80 druhů infikujících ještěry (Sauria) (Liu et al., 2021). Zástupci tohoto rodu mají monoxenní životní cykly (Volf a Horák et al., 2007) a bývají specifické pro určitou skupinu parafyletických hostitelů (Lindsay et al., 1997). Výskytem se omezují na epitel střev a jejich oocysty po sporulaci obsahují dvě sporocysty, z nichž každá má uvnitř čtyři sporozoity (Jacobson, 2007).

Isoospory jsou velmi častými parazity australských druhů ještěrů z čeledi Agamidae, které může infikovat i více než 13 druhů kokcií (Liu et al., 2021). V lidské péči se u populárního druhu ještěra agamy vousaté setkáváme nejčastěji s infekcí kokcie *I. amphiboluri* (McAllister et al., 1995; Jacobson, 2007). Tato kokcie byla poprvé popsána z druhu agamy *Pogona barbata*, ale ve výzkumu autorů McAllister et al. (1995) bylo prokázáno její masivní rozšíření v chovech agam vousatých v USA, které je spojeno s velkou úmrtností mláďat a subadultních jedinců. Kokcidióza způsobená tímto druhem kokcie se projevuje rychlým úbytkem váhy nakaženého zvířete, apatií a nechutenstvím, po kterém následuje bez včasné diagnostiky a léčby smrt z důvodu závažné poruchy vstřebávání živin střevním epitelem a oslabení stěny střev (Jacobson, 2007).

Isospora amphiboluri má po sporulaci oocysty sférického tvaru na délku dlouhé 23,0–26,5 μm a na šířku 22,4–25,9 μm . Stěna oocysty je hladká, dvouvrstvá a zbarvená světle žlutě. Polární granule, reziduum oocysty a mikropyle jsou nezřetelné. Sporocysty jsou vejčitého tvaru o velikosti 15,2–18,0 x 8,9–11,2 μm a je u nich přítomno malé Stiedovo tělísko ve tvaru půlměsíce. Každá sporocysta obsahuje čtyři vermiformní sporozoity velké 9,9–16,2 x 2,4–3,5 μm s přítomným reziduem sporocyst a centrálně umístěným jádrem, které je obklopeno granulárním zbytkem (Liu et al., 2021).

3 Přehled nejčastějších metod diagnostiky kokcií

Kokcidie a další druhy parazitů je možné u obratlovců detekovat několika způsoby: koprologickým vyšetřením trusu a biopsií nebo autopsií již uhynulých zvířat (Scullion a Scullion, 2009). K určování jejich přesných druhů se pak využívají dvě metody. První je morfologická determinace, pro kterou je u kokcií důležitá znalost počtu sporocyst v oocystě, sporozoitů ve sporocystách, druhu hostitele a jejich tkáňová nebo orgánová specifita (Ryšavý et al., 1989; Volf a Horák et al., 2007). V současnosti je čím dál častěji využívána druhá metoda, a to molekulární determinace, u které probíhá určení přesného druhu parazita na základě analýzy DNA (Taylor et al., 2015).

3.1 Koprologické metody

Koprologické metody jsou pro detekci gastrointestinálních parazitů nejčastěji využívanou metodou ve veterinární diagnostice. Hlavním principem této metody je neinvazivní vyšetření trusu zvířete za pomoci mikroskopie. Detekovat je tímto způsobem možné dospělé, larvy i vajíčka parazitických helmitů a exogenní stadia vývoje parazitárních protist, např. oocysty kokcií (Bowman, 2014).

Vzorky trusu se odebírají do čistých laboratorních zkumavek v jednorázových rukavicích co nejdříve po defekaci zvířat, tak aby došlo k co nejmenšímu znečištění z vnějšího prostředí. Velikost vzorku se odebírá podle druhu zvířete, nebo pokud se jedná o skupinu zvířat, odebírají se směsné vzorky z různých částí ubikace zvířat. Odebrané vzorky je nutné skladovat v chladu lednice a co nejdříve zpracovat. Také je možné je chemicky zafixovat, nejčastěji se jako konzervační látky využívá dichroman draselný ($K_2Cr_2O_7$), formaldehyd (CH_2O) nebo ethanol (C_2H_6O) (Taylor et al., 2015).

3.1.1 Přímý nátěr trusu

Jedná se o velmi rychlý způsob detekce parazitů, ke kterému se využívá čerstvý trus, který je smíchán v poměru 1:1 s vodou, rozetřen na sklíčku a vyšetřen pod světelným mikroskopem. Touto metodou je možné diagnostikovat spíše těžší infekce, většinou je takto možné dobře identifikovat vajíčka helmitů a exogenní stadia parazitů. Po uschnutí nátěru je u některých druhů parazitů možné barvení na zviditelnění bezbarvých stadií (Bowman, 2014).

3.1.2 Flotace

Základem flotační metody koprologického vyšetření trusu je princip vyplavání exogenních stadií parazitů na hladinu zkumavky během centrifugace v kapalném roztoku se specifickou hmotností, která je vyšší než specifická hmotnost samotných vývojových stadií parazitů. Zkoumána je pak na sklíčku pod světelným mikroskopem blanka odebraná z hladiny centrifugační zkumavky. Nejčastěji využívanými roztoky pro flotaci jsou např. Sheaterův cukerný roztok, chlorid sodný (NaCl) a síran zinečnatý (ZnSO₄). Tyto roztoky mají svá specifika a využívají se podle toho, na kterého parazita je vyšetření cíleno. Pro detekci kokcií vzhledem k jejich molekulární hmotnosti se nejčastěji využívá Sheaterův cukerný roztok (Bowman, 2014; Taylor et al., 2015).

4 Základy prevence výskytu patogenů v chovech plazů

Základními podmínkami zdravého chovu nejen plazů, ale všech skupin zvířat, je zajištění optimálních podmínek v ubikacích (vhodný substrát a vybavení, teplota, osvětlení, relativní vzdušná vlhkost), pestrá i vyvážená výživa, včetně vitamínů a minerálů, a možnost projevů přirozeného chování. Dále je důležité zajistit jako prevenci proti výskytu různých onemocnění včetně těch parazitárních dodržování karanténní doby při příchodu nových zvířat, pravidelná koprologická či veterinární vyšetření a dostatečnou úroveň zoohygieny v chovech (Novák et al., 2015).

Karanténa při příchodu nových zvířat by měla trvat alespoň 90 dní, což by měla být pro prokázání gastrointestinálních parazitů pomocí koprologické detekce dostatečná doba při provedení alespoň tří vyšetření trusu v rozestupu 30 dní, ale existují i výjimky. Například u hadů z čeledi Boidae (hroznýšovitých) by karanténa měla trvat alespoň šest měsíců, protože je u nich velké riziko virového onemocnění Inclusion body disease (IBD), způsobujícího uhynutí nakažených hadů.

Zvířata v karanténě by měla být držena v oddělených ubikacích s vlastním vybavením, které je z lehce dezinfikovatelného materiálů (např. kov, sklo nebo glazovaná keramika). U druhů zvířat s vyššími riziky prevalence virových onemocnění by měla být celá karanténní ubikace prostorově oddělena v jiné místnosti chovu tak, aby nedošlo k nakažení ostatních zvířat při přenosu viru vzduchem (Pasmans et al., 2008).

Dalším nezbytným preventivním opatřením chránící chovy plazů před výskytem patogenů je asanace. Tento pojem zahrnuje soubor tří opatření: deratizace – opatření proti nežádoucím divokým hlodavcům, desinsekce – opatření proti škodlivým druhům členovců (roztoci, hmyz) a desinfekce – preventivní i ohnisková očista prostředí proti patogenům. Desinfekci je možné provádět pomocí fyzikálních metod (suché i vlhké teplo, záření např. germicidní lampy) nebo chemických za pomoci vhodně zvolených desinfekčních prostředků (Kocourek a Král, 1997; Novák et al., 2015).

Na vývojová stadia gastrointestinálních parazitů fungují například desinfekční prostředky na bázi 4-chlor-M-kresolu a organických kyselin (např. Neopredisan) a 5% zředěný roztok chlornanu sodného (běžně dostupné bělidlo pro domácnost). Dále je možné využít 5% roztok čpavku, který je účinný i proti kryptosporidiím (*Cryptosporidium*). Infekční oocysty přímo nezabíjí, ale když se po použití nechá alespoň po dobu tří dní zaschnout, dojde k jejich encystaci (Pasmans et al., 2008).

5 Léčba kokcidií v chovech plazů

Při detekci výskytu kokcidií je možné využít dostupná antikokcidika i v chovech plazů a předejít tak vzniku kokcidiózy, která může mít za následek i smrt zvířete. Závažnost kokcidiózy závisí na druhu infikující kokcidie a její patogenitě, velmi často se jedná o druhy kokcidií se specifickým druhem nebo rodem hostitele (např. čeleď Agamidae – *Isospora amphiboluri*) (McAllister et al., 1995; Jacobson, 2007).

Toltazuril a jeho metabolit ponazuril jsou antiprotozoální sloučeniny účinné proti několika rodům z kmene Apicomplexa, včetně *Eimeria*, *Isospora*, *Hepatozoon*, *Toxoplasma* a *Sarcocystis*. V Evropě jsou antikokcidika na bázi těchto látek dostupné ve formě roztoku s komerčním názvem Baycox. Tyto látky jsou účinné na intracelulární fázi vývoje kokcidií, protože zasahují do dělení jádra, metabolismu aminokyselin a mastných kyselin a narušují transport elektrolytů v mitochondriích. Na oocysty ale nemají vliv, proto je během terapie nutné zabránit autoinfekcím a dbát na správnou zoohygienu ubikace léčeného zvířete (Gibbons, 2014).

6 Přehled a biologie hlavních skupin krmného hmyzu

Krmný hmyz je mezi chovateli souhrnné označení velkého množství druhů bezobratlých využívaných ke krmení terarijních i akvarijních druhů živočichů. Kromě zástupců přímo ze třídy hmyz (Insecta), kteří jsou nejčastěji využíváni ke zkrmování, se do této skupiny přiřazují i druhy z kmene kroužkovců (Annelida) a měkkýšů (Mollusca), podkmene korýšů (Crustacea), třídy pavoukoců (Arachnida) a podtřídy chvostoskoků (Collembola) (Kořínek, 1993; Bernard et al., 1997).

Mimo potravních specialistů je velká část z plazů chovaných v zajetí primárně insektivorní (Kořínek, 1993), do této skupiny je možné zařadit z běžně chovaných druhů plazů například gekončíka nočního (*Eublepharis macularius*) nebo anolise karolínského (*Anolis carolinensis*). U některých druhů tvoří hmyz pouze část krmné dávky nebo je jen zpestřením potravy v době rozmnožování, např. agama vousatá je označována za druh omnivorní, protože mimo hmyzu požívá i části rostlin (Bernard et al., 1997).

Většina chovatelů krmí pouze nejběžněji dostupnými komerčně chovanými druhy hmyzu, ke kterým se řadí různé druhy švábů (Blattodea), sarančat (Caelifera), cvrčků (Gryllidae) či brouků (Coleoptera) a jejich larev (Kořínek, 1993).

6.1 Řád švábi (Insecta: Neoptera: Exopterygota: Blattodea)

Švábi jsou považováni za jednu z nejstarších skupin hmyzu, poprvé se objevili během období svrchního karbonu před 340 miliony let (Kořínek, 1993; Kovařík et al., 2000) a dodnes si zachovali svou původní tělesnou konstituci. Tělo mají oválné, z vrchní strany zploštělé, zbarvené v odstínech hnědé až rezavé. Hlava je pohyblivá v opisthognátním postavení, takže je kryta širokým předohrudním štítem. Ústní ústrojí mají kousací na ventrální straně (Macek, 2001; Smrž, 2013).

Plochý nepohyblivý zadeček přisedá k hrudi a má na sobě štěty s velkým množstvím smyslových brv, které slouží k orientaci. První pár křídel mají některé druhy přeměněny v kožnaté krytky, které chrání spodní blanitá křídla, nebo mohou být křídla zakrněná či u některých druhů zcela chybí. Švábi létají zřídka, spíše rychle běhají. K tomu jim slouží dlouhé silné nohy s volnými kyčlemi (Smrž, 2013).

Švábi se řadí mezi hmyz s proměnou nedokonalou, to znamená, že během vývoje nemají stadium kukly. Páření předchází předehra, kterou zahajují samci pomocí výměškových žláz na zadečku. V jeho průběhu připevní spermie ve spermatoforu

k pohlavnímu otvoru samice. Ta pak ukládá oplozená vajíčka do ootéky (Macek, 2001; Smrž, 2013) neboli vaječného pouzdra. Vejcorodé druhy mají pevné ootéky a samice je po určitou dobu nosí připevněné k zadečku. Vejcoživorodé druhy mají vaječný obal spíše blanitý a ootéka zůstává v pohlavních cestách samice až do vylíhnutí mláďat.

Živorodé druhy vaječné obaly nevytváří a vajíčka ukládají do dělohy. Líhnutí nymf probíhá synchronizovaně, nymfy polykají vzduch a zvětšují svůj objem, čímž otevírají švy ootéky. Hned po vylíhnutí se svlékají z první kutikuly a rozptylují se po okolí. Od dospělců se liší pouze ve velikosti a absencí křídel (Macek, 2001).

Největší počet druhů najdeme v tropických deštných lesích, protože preferují teplo a vlhko, ale švábi jsou rozšířeni po celém světě v rozmanitých typech prostředí (Kořínek, 1993; Smrž, 2013). Mají soumráčnou až noční aktivitu a dny tráví v tmavých úkrytech, většina druhů je omnivorní. V celém řádu Blattodea je přes 4 000 druhů řazených do pěti čeledí, a to Blattidae, Blattellidae, Cryptocercidae, Blaberidae a Polyphagidae, ale v chovech krmného hmyzu najdeme druhy pouze ze dvou čeledí (Kovařík et al., 2000; Macek, 2001).

Z čeledi Blattidae se využívá v našich oblastech šváb turkistánský (*Shelfordella tartara*) (Škrabalová, 2011) a šváb australský (*Periplaneta australasie*) nebo šváb americký (*Periplaneta americana*). Vzhledově se jedná o okřídlené menší druhy švábů s dlouhýma nohama, kteří rychle běhají. Centrem výskytu těchto druhů jsou vlhké tropické nebo subtropické oblasti a jsou označovány za významné synantropní škůdce (Kovařík et al., 2000).

Dalšími druhy chovanými v zájmových chovech a pro krmné účely jsou šváb (*Phoetalia pallida*), šváb argentinský (*Blaptica dubia*), šváb madagaskarský syčící (*Gromphadorhina portentosa*), šváb šedý (*Nauphoeta cinerea*), šváb smrtihlav (*Blaberus craniifer*) a šváb zelený (*Panchlora nivea*) z čeledi Blaberidae. Jedná se o větší druhy a ke zkrmování je možné využít ve všechny jejich velikosti od nymf po dospělé. Švábi z této čeledi mají robustní stavbu těla a silně obrněné holeně určené k hrabání. Jsou živorodí a pocházejí z tropických a subtropických oblastí (Kovařík et al., 2000; Škrabalová, 2011).

6.1.1 Šváb argentinský (*Blaptica dubia*)

Blaptica dubia je druh švába z čeledi Blaberidae a pochází z Jižní Ameriky. V dospělosti dosahuje velikosti 38 až 42 mm s výrazným pohlavním dimorfizmem, kdy samci mají křídla přesahující zadeček na rozdíl od zakrnělých křídel u samic.

Jedná se o v chovech dobře se rozmnožující živorodý druh švába, samice vypouští z ootéky až 28 nymf, které dospívají po zhruba v 10 měsících života (Kovařík et al., 2000).

6.2 Řád brouci (Insecta: Neoptera: Endopterygota: Coleoptera)

Brouci jsou nejpočetnější skupinou hmyzu s více než 300 000 druhy (Macek, 2001). Jejich typickým znakem je tělo tvořené silnou chitinovou kutikulou včetně prvního páru křídel přeměněných v krovky (Kovařík et al., 2000; Macek, 2001; Smrž, 2013), které chrání letuschopný druhý pár blanitých křídel (Kovařík et al., 2000), překrývající vrchní stranu nepohyblivých hrudních článků a zadeček. Jejich předohruď je nápadně zvětšená a kryje ji tvrdý předohrudní štít (Macek, 2001). Všichni zástupci řádu mají ústní ústrojí kousací. Brouci osídlují všechna prostředí mimo moří a můžeme u nich najít různé potravní specializace (Kovařík et al., 2000).

Tenebrionidae, česky potemníkovití, jsou jednou z nejpočetnějších čeledí brouků s více než 20 000 druhy (Kovařík et al., 2000). V chovech pro krmné účely se běžně objevují tři druhy, od kterých se krmí jejich larvy: potemník moučný (*Tenebrio molitor*), potemník brazilský (*Zophobas morio*) a potemník stájový (*Alphitobius laevigatus*). Všechny druhy potemníků jsou v dospělosti nenápadní černí brouci, pochází z tropických nebo subtropických aridních oblastí (Škrabalová, 2011).

6.2.1 Potemník brazilský (*Zophobas morio*)

Potemník brazilský pochází z tropických oblastí Jižní a Střední Ameriky, ale byl zatažen i do teplejších oblastí Asie a východní Evropy. Z vajíček se líhnou larvy žlutohnědé barvy, které mohou být až 5,5 cm dlouhé a využívají se ke krmení terarijních zvířat. Larvy mají 11–18 instarů, poté se z nich stávají pohyblivé kukly. Délka stadia kukly je 13–15 dní podle teploty okolního prostředí. Vylíhli dospělci žijí až 6 měsíců a jsou to mohutní černí brouci o velikosti těla 3,8 až 5,7 cm (Rumbos a Athanassiou, 2021).

6.3 Řád rovnokřídlí (Insecta: Neoptera: Exopterygota: Orthoptera)

Rovnokřídlí jsou velkou skupinou hmyzu s asi 4 200 rody, ve kterých je zahrnuto více než 26 000 druhů. Patří sem morfologicky nápadný středně velký až velký hmyz s prvním párem křídel přeměněným v krytky, kryjícími vějířovitě složená blanitá

křídla. Charakteristickým znakem je schopnost všech druhů vydávat zvuky vzájemným třením krytek nebo zadních stehen o krytky (Kočárek et al., 2013).

Podle vzhledu se Orthoptera dělí na dva zřetelně oddělené podřády: kobylky (Ensifera) a sarančata (Caelifera). Mezi kobylky (Ensifera) řadíme mimo kobylek a koníků i cvrčky. Všechny druhy tohoto podřádu jsou charakteristické delšími tenkými tykadly (často jsou delší než jejich tělo), dospělé samice mají viditelné plně vyvinuté kladélko a jsou všežravé nebo dravé (Kovařík et al., 2000; Kočárek et al., 2013).

Oproti tomu sarančata (Caelifera) mají velmi krátká tykadla, samice nemají trvale viditelné kladélko a většina druhů je býložravá. Rozdíl mezi nimi je také ve způsobu stridulace a umístění sluchových orgánů. Zástupci podřádu sarančat třou křídla o zadní část stehen nebo zadeček a sluchové orgány mají umístěny na stranách předních článků zadečku oproti kobylkám, které vydávají zvuky třením křídel o sebe a sluchové ústrojí mají v předních holeních (Kovařík et al., 2000).

Mezi vůbec nejčastěji chovaný hmyz ke krmným účelům nejen pro potřeby zvířat patří hlavně různé druhy cvrčků z čeledi cvrčkovitých (Gryllidae) (Kovařík et al., 2000), například cvrček domácí (*Acheta domestica*), cvrček banánový (*Gryllus assimilis*), cvrček dvouskvrnný (*Gryllus bimaculatus*) a cvrček krátkokřídlý (*Gryllodes supplicans*) (Škrabalová, 2011). Dále je chováno několik málo druhů z čeledi sarančovitých (Acrididae), a to saranče stěhovavá (*Locusta migratoria*) a saranče všežravá (*Schistocerca gregaria*) (Škrabalová, 2011).

6.3.1 Cvrček banánový (*Gryllus assimilis*)

Cvrček banánový pochází ze Severní Ameriky z teplých oblastí jižního poloostrova Florida a nejj jižnějších částí Texasu. Jedná se o pozemní druh z rodu *Gryllus*, jenž v dospělosti dorůstá velikosti 1,5 až 3,1 cm s tmavě hnědým až černým zbarvením těla. Je to snadno chovatelný druh, který je využíván ke krmení i laboratorním výzkumům, ke studiu etologie, akustické komunikace a neurofyzologie (Walker, 2021).

7 Materiál a metodika

7.1 Vzorky trusu

Odběr trusu byl proveden v malém domácím chovu agam vousatých (*Pogona vitticeps*) s chovnou skupinou tří zvířat a prokázanou infekcí kokcií. Vzorky byly odebírány v jednorázových rukavicích za pomoci pinzety do zkumavek o objemu 50 ml s 4% konzervačním roztokem dichromanu draselného co nejdříve po vyprázdnění zvířat, aby nedošlo k vysušení trusu a kontaminaci nečistotami z okolního prostředí. Skladování vzorků probíhalo při teplotě 6-8 °C nejdéle 2 týdny od odběru.

Před použitím k pokusu byly vzorky trusu očištěny centrifugací. Do centrifugační zkumavky a po doplnění vodou na 12 ml, byl trus centrifugován 10 minut při 4 000 otáčkách. Tento postup byl opakován dvakrát až třikrát, aby došlo k úplnému odstranění konzervačního roztoku.

7.2 Determinace kokcií z použitých vzorků

Určování přesného druhu kokcií bylo provedeno dvěma metodami, a to morfologicky a molekulárně.

Morfologická determinace nalezených druhů kokcií v použitých vzorcích byla provedena za základě porovnání se srovnávacími tabulkami vytvořenými z vědeckých prací pojednávajících o kokciích nalezených u zástupců čeledi Agamidae (tabulka č. 1 a 2). Oocysty ze vzorků byly měřeny na mikroskopu BX53 Olympus při zvětšení 400x při současném pořízení obrazové dokumentace fotoaparátem Olympus DP73.

Molekulární determinace kokcií ze získaných vzorků nebyla součástí této práce a proběhla v rámci probíhající diplomové práce Ing. Jakuba Žahourka.

Tabulka č. 1: Srovnávací tabulka pro kokcidie morfotypu *Isopora*

hostitel	druh kokcidie	oocysta				sporocysta	
		tvary	velikost (µm)	stěna	polární granulom	tvary	velikost (µm)
<i>Pogona barbata</i> (Cannon, 1967)	<i>Isopora amphiboluri</i>	subsférický až kulatý	25,3 x 25,1 (23-26 x 23-26)	dvouvrstvá, hladká	ne	vejčité	17,0 x 11,4 (16-18 x 11-12)
<i>Diporiphora australis</i> (Finkelman a Paperna, 1994)	<i>Isopora cannoni</i>	subsférický	22,8 x 24,8 (20-25 x 22,5-27,5)	hladká	ne	vejčité	14,7 x 10,2 (14-15,5 x 10-11,5)
<i>Pogona henrylawoni</i> (McAllister et al., 1995)	<i>Isopora amphiboluri</i>	subsférický až kulatý	25,3 x 25,1 (23-26 x 23-26)	dvouvrstvá, hladká	ne	vejčité	17,0 x 11,4 (16-18 x 11-12)
<i>Pogona vitticeps</i> (McAllister et al., 1995)	<i>Isopora amphiboluri</i>	subsférický až kulatý	25,3 x 25,1 (23-26 x 23-26)	dvouvrstvá, hladká	ne	vejčité	17,0 x 11,4 (16-18 x 11-12)
<i>Ctenophorus nuchalis</i> (Liu et al., 2021)	<i>Isopora amphiboluri</i>	kulatý	24,2 x 23,9 (23-26,5 x 22,4-25,9)	hladká, žlutavá, dvě vrstvy	ne	citronovité	15,7 x 10,2 (15,2-18 x 8,9-11,2)

Tabulka č. 2: Srovnávací tabulka pro kokcidie morfotypu *Eimeria*

hostitel	druh kokcidie	oocysta				sporocysta	
		tvary	velikost (µm)	stěna	polární granulom	tvary	velikost (µm)
<i>Agama sinaita</i> (Kasim et al., 1988)	<i>Eimeria sinaitae</i>	elipsoidní protáhlé	34,4 x 22 (29-40 x 17,4-24,5)	dvouvrstvá, silná	není	elipsoidní	11,4 x 7,6 (9,8-15 x 6,7-9)
<i>Gonocephalus grandis</i> (Maupin et al., 1998)	<i>Eimeria cameronensis</i>	elipsoidní protáhlé	26,5 x 12,4 (25-28 x 12-13)	dvouvrstvá, hladká	ano (až 3 ks)	oválný	8,8 x 6,6 (8-9 x 5-7)
<i>Agama yemenensis</i> (Al-Rasheid; Alyousif, 1998)	<i>Eimeria yemenensae</i>	elipsoidní protáhlé	29,2 x 17,6 (26-31,5 x 15,5-19)	dvouvrstvá, žlutavá	není	půlměsícovité	7,6 x 1,8 (7-8,1 x 1,6-2)
<i>Pogona vittata</i> (Szczepaniak et al., 2009)	<i>Choleoieimeria pogonae</i>	elipsoidní	27,2 x 15,1 (25,6-32,3 x 13,6-21,4)	dvouvrstvá, hladká	ano	vejčité	12,5 x 6,6 (9,4-14,7 x 5,3-7,4)
<i>Pogona minor minor</i> (Yang et al., 2016)	<i>Choleoieimeria pogonae</i>	cyklindrický	27 x 15,2 (26-28,3 x 14-16,5)	dvouvrstvá	občas ano	vejčité	10 x 8,5 (9-11 x 7-9,5)

7.3 Stanovení počtu oocyst ve vzorcích

Zjištění počtu oocyst ve vzorcích probíhalo metodou stanovení OPG (Oocyst Per Gram) pomocí počítání v Bürkerově komůrce. Ze vzorku byl, u trusu až po jeho očištění centrifugací od konzervačního média, odvážen 1 g, ke kterému byl přidán 1 ml roztoku fosfátového pufru PBS. Takto připravený roztok byl promíchán a vložen pomocí pipety dle Pasteura na počítací plochy Bürkerovy komůrky. Zde byly oocysty kokcidií počítány pod světelným mikroskopem při zvětšení 200x v celkem 50 malých čtvercích (25 malých po sobě jdoucích čtverců v každé ze dvou počítacích plošek komůrky). Dle Bürkerova pravidla byly spočítány všechny oocysty, které ležely nebo se dotýkaly dolní nebo levé strany čtverce, a vynechány ty, které ležely nebo se dotýkaly horní a pravé strany (MUNI MED, 2023). Poté byl pomocí následujícího vzorce přepočítán počet oocyst kokcidií na jeden gram ze vzorku (Kváč et al., 2007; Gunnetti et al., 2012).

$$P = \left(\frac{N}{10\,000} \right) \div X$$

P... počet oocyst kokcidií v 1 gramu trusu

N... průměrný počet oocyst kokcidií na 1 malý čtverec

X... množství naváženého trusu v gramech

10 000...koeficient přepočítávající 1 ml roztoku při objemu komůrky 1 μl v 1 čtverci

7.4 Krmný hmyz

K pokusu byly využity běžně dostupné druhy krmného hmyzu z komerčních chovů. Zástupcem taxonu švábů (Blattodea) byl šváb argentinský (*Blaptica dubia*), brouci (Coleoptera) byli zastoupeni larválním stadiem potemníka brazilského (*Zophobas morio*) a z čeledi rovnokřídlí (Orthoptera) byl vybrán cvrček banánový (*Gryllus assimilis*).

7.4.1 Zpracování vzorku pro podání

Očištěný vzorek trusu se stanoveným OPG byl zvážen s přesností na dvě desetiny gramu a po smíchání s ovocnou přesnídávkou v poměru 1 : 1 (atraktantem pro lepší přijímání vzorku) byl předkládán vytrávenému pokusnému hmyzu.

7.4.2 Příprava hmyzu a průběh pokusu

Pokus proběhl pod záštitou Katedry biologických disciplín. Hmyz byl před podáním vzorku ponechán 3–14 dní bez přístupu ke krmivu i tekutinám pro úplné vytrávení a vyprázdnění střev. Po uplynutí této doby bylo 50 testovaných jedinců od každého druhu rozděleno do skupin po 10 kusech do testovacích plastových boxů s infikovaným vzorkem přesnídávky a trusu. Na jednoho jedince v testovací skupině bylo podle druhu hmyzu podáno 0,15–0,35 g směsi. Čas nutný pro zkonsumování a zaplnění trávicí soustavy byl odhadnut na 2 dny pro všechny druhy hmyzu.

7.4.3 Pitva hmyzu

Po uplynutí doby určené ke zkonsumování vzorku, byl hmyz v každém z 5 pokusných boxů usmrčen a z jejich střev byl vytvořen roztok, který byl nejprve zvážen a poté centrifugován po dobu 10 minut při 4 000 otáčkách za minutu. Po slítí supernatantu byl sediment smíchán s 1 ml roztoku PBS na 1 g vzorku a bylo stanoveno OPG (oocyst per gram) ze suspenzního roztoku střev krmného hmyzu.

7.5 Statistické zhodnocení výsledků

Ke statistické analýze dat byla vzhledem k designu experimentu s pevnými i náhodnými efekty bez faktoriálního uspořádání využita hierarchická (Nested) ANOVA. Před testováním byla získaná data pro lepší zpracovávání transformována pomocí arcsinové transformace, která se využívá v případě výsledků pokusu v procentech nebo percentilech. Dále byl pro doplnění hlavní analýzy využit post-hoc test ke zjištění rozdílů v pasážování mezi jednotlivými druhy hmyzu (McDonald, 2014).

8 Výsledky

8.1 Morfologická determinace druhů kokcií

Ve vzorcích trusu byly nalezeny dva odlišné druhy oocyst plazích kokcií (tabulka č. 3, obrázek č. 3) s rozdílným morfotypem. První druh kokcie byl podle vzhledu a počtu sporocyst zařazen jako morfotyp *Isoospora* a při porovnání popisu se srovnávací tabulkou kokcií nalezených u zástupců čeledi Agamidae (tabulka č. 1) byl určen jako druh *Isoospora amphiboluri*. Druhý druh byl zařazen mezi kokcie morfotypu *Eimeria* a po porovnání se srovnávací tabulkou (tabulka č. 2) určen jako *Choleoeimeria pogonae*. U obou typů kokcií byl následně druh potvrzen i molekulární determinací, která nebyla součástí této diplomové práce.

Tabulka č. 3: Popis kokcií ze vzorků použitých v pokusu

hostitel	typ kokcie podle rodu	oocysta				sporocysta	
		tvar	velikost (μm)	stěna	polární granulom	tvar	velikost (μm)
<i>Pogona vittata</i>	morfotyp <i>Isoospora</i>	kulatý	24,2 x 23,3 (21-24 x 22-24,5)	hladká, rozlišitelné dvě vrstvy	ne	vejčitý	11 x 10,5 (8-16 x 8,5-15)
	morfotyp <i>Eimeria</i>	elipsoidní	28,3 x 16,3 (13,3-17,8 x 15,8-31)	hladká, dvě vrstvy	ano	vejčitý	8,5 x 7 (6-13,8 x 6-11)



Obrázek č. 3: Plazí kokcie morfotypu *Eimeria* (nahore) a *Isoospora* (Žahourek, 2023)

8.2 Výsledky pokusu

8.2.1 Analýza schopnosti krmného hmyzu pasážovat oocysty

Výsledek pokusu potvrdil schopnost tří druhů krmného hmyzu, a to *Blaptica dubia*, *Gryllus assimillis* a *Zophobas morio*, pasážovat ve svém gastrointestinálním traktu, životaschopné oocysty kokcií z rodů *Isospora* a *Choleoeimeria*.

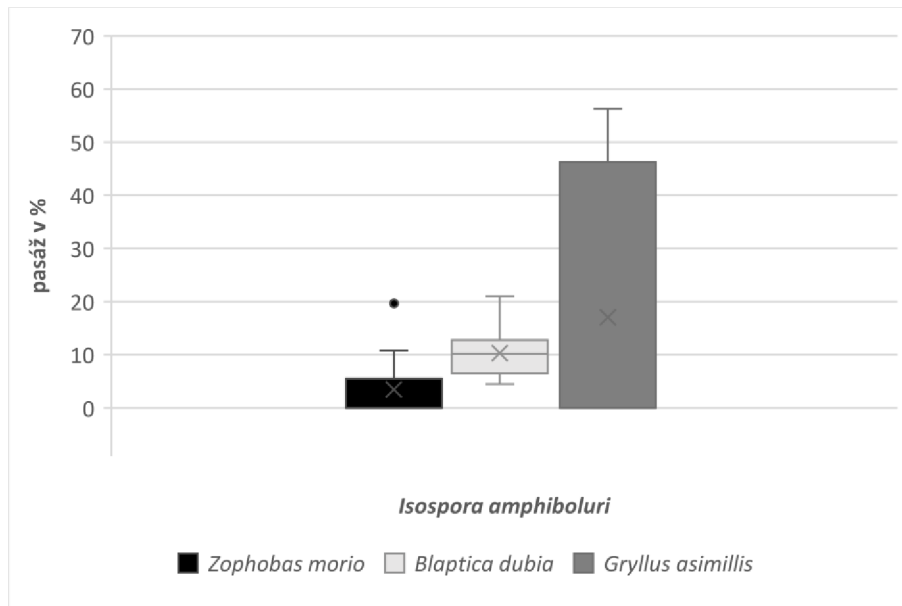
V tabulce č. 4 můžeme vidět, že existují rozdíly v pasážování sledovaných kokcií (*Isospora amphiboluri* a *Choleoeimeria pogonae*) mezi jednotlivými druhy krmného hmyzu, ale oba druhy kokcií jsou v rámci jednotlivých druhů krmného hmyzu pasážovány stejně. Vzhledem ke v této souvislosti zjištěné hladině významnosti $p = 0,0159$, která byla nižší než $p > 0,05$.

Tabulka č. 4: Porovnání schopnosti pasáže kokcií u krmného hmyzu

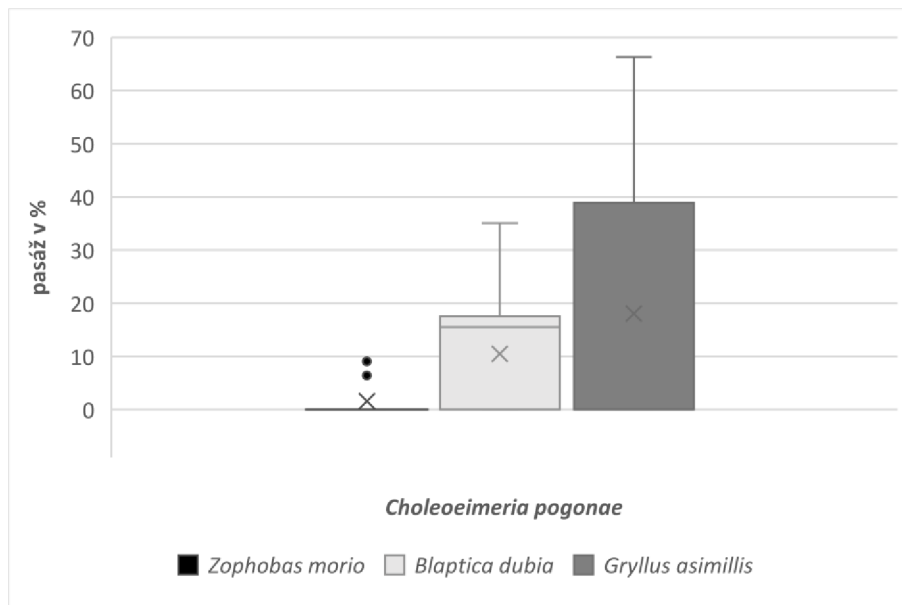
	Efekt (P/N)	SČ	Stupně volnosti	PČ	Den. Syn. Chyba sv	Den. Syn. Chyba PČ	F	p
Abs. člen	Pevný	4.128593	1	4.128593	24.00000	0.055526	74.35405	0.000000
druh (parazit)	Pevný	0.841447	4	0.210362	24.00000	0.055526	3.78852	0.015879
parazit	Pevný	0.023856	1	0.023856	24.00000	0.055526	0.42964	0.518400
jedinec (druh*parazit)	Náhod.	1.332627	24	0.055526	60.00000	0.071229	0.77955	0.746030
Chyba	-	4.273722	60	0.071229	-	-	-	-

8.2.2 Průměrný počet oocyst kokcií v pasáži krmného hmyzu

Oba druhy kokcií byly nejvíce pasážovány v trávicím traktu cvrčka *Gryllus assimillis*, u kterého byla pasáž *Isospora amphiboluri* průměrně 17 % (s. d. \pm 24) a *Choleoeimeria pogonae* 18 % (s. d. \pm 3). Středně kokcie pasážoval druh švába *Blaptica dubia*, u kterého byla průměrná pasáž 10 %, jak u druhu *Isospora* (s. d. \pm 4), tak i *Choleoeimeria* (s. d. \pm 11). Nejmenší míra pasáže oocyst kokcií byla zjištěna u larválního stadia brouka *Zophobas morio*, kdy u druhu *I. amphiboluri* byla průměrná pasáž 3 % (s. d. \pm 6) a u *Ch. pogonae* pouze 2 % (s. d. \pm 3) (graf č. 1 a 2).



Graf č. 1: Pasážování oocyst u druhu kokcidie *Isospora amphiboluri*



Graf č. 2: Pasážování oocyst u druhu kokcidie *Choleoeimeria pogonae*

8.2.3 Rozdíly v pasážování mezi jednotlivými druhy hmyzu

Při analýze rozdílů v pasážování mezi jednotlivými druhy hmyzu, byl post-hoc testem prokázán statisticky významný rozdíl v pasáži u kokcidie *Isoospora amphiboluri* mezi druhy hmyzu *Blaptica dubia* a *Zophobas morio* ($p = 0.0243$). Cvrček *Gryllus assimilis* se v pasážování od ostatních druhů hmyzu statisticky nelišil, pravděpodobně z důvodu velkých rozdílů ve výsledcích mezi testovanými skupinami cvrčků během pokusu.

U druhu kokcidie *Choleoimeria pogonae* nebyly během analýzy post-hoc testem potvrzeny žádné statisticky významné rozdíly v pasážování životaschopných oocyst mezi testovanými zástupci hmyzu.

Tabulka č. 5: Post-hoc test pro *Isoospora amphiboluri*

(H (2, N = 45) = 7.733044, p = 0.0209)

	<i>Zophobas morio</i> R: 16.993	<i>Blaptica dubia</i> R: 29.633	<i>Gryllus assimilis</i> R: 22.433
<i>Zophobas morio</i>	-	0.024281	0.754357
<i>Blaptica dubia</i>	0.024281	-	0.399831
<i>Gryllus assimilis</i>	0.754357	0.399831	-

9 Diskuse

Pojmem vektor infekce jsou běžně označovány zástupci z kmene členovců (Arthropoda) a dalších skupin bezobratlých, kteří slouží pro patogeny jako jejich biologičtí zprostředkovatelé. Nejznámější je tímto způsobem šíření virových onemocnění, jako je například klíšťová encefalitida, lymeská borrelióza, žlutá zimnice a malárie (Roháčová, 2006; Hronovská, 2015), za pomoci zástupců z čeledi komárovitých (Culicidae) nebo klíšťatovitých (Ixodidae) (Bowman, 2014).

U parazitů je častý pasivní přenos infekčních stadií přes synantropní druhy hmyzů (např. *Musca domestica*, *Chrysomya putoria* a *Blatta germanica*) (Graczyk et al., 2005). Nejčastěji se jedná se o mechanický způsob přenosu, to znamená, že hmyz může nést infekční stadia parazitů na ústním ústrojí a chloupkách na povrchu těla nebo infekční stadia parazitů mohou procházet přímo gastrointestinálním traktem hmyzu beze změn v jejich infekčnosti (Graczyk et al., 2005).

K tomuto pokusu byl použit komerčně dostupný hmyz ze tří rozdílných taxonů, který je využíván ke krmení terarijních plazů, pro zjištění rozdílů v pasážování. Jednalo se o švába argentinského (*Blaptica dubia*) z řádu Blattodea, larvální stadium potemníka brazilského (*Zophobas morio*) z řádu Coleoptera a cvrčka banánového (*Gryllus assimillis*) z řádu Orthoptera.

Ve vzorcích trusu použitých v pokusu byly nalezeny dva druhy kokciidií, *Choleoeimeria* a *Isoospora*, což jsou hostitelsky specifické druhy kokciidií ještěřů z čeledi Agamidae, a to *Choleoeimeria pogonae* a *Isoospora amphiboluri*. Ve výzkumu Ras-Norysky a Sokola (2015) byla potvrzena infekce rodem *Isoospora* u 37 % zkoumaných vzorků agam vousatých v Polsku a u 4 % rodem *Choleoeimeria*, všechny vzorky pocházely z jedinců bez jakýchkoliv projevů infekce. Výzkum Papiniho, et al. (2011), který proběhl v Itálii prokázal prevalence gastrointestinálních druhů parazitů u 57,4 % zkoumaných plazů z výzkumu. Kokcidie byly nejčastěji zastoupeny rody *Eimeria* a *Isoospora*, u 12,3 % případů infekcí byly nalezeny pouze kokcidie a u 3,6 % infekcí se jednalo o kombinaci infekce kokciidií s bičíkovci (Flagellata) nebo hlísticemi (Papini et al., 2011). Ve výsledcích studie Hallingera et al. (2019) se prokázaly vysoké prevalence kokciidií z rodu *Isoospora* v chovech agam v Německu. Nejmladší infikované zvíře v této studii bylo staré pouze dva měsíce a nejstarší oproti tomu mělo 25 let, u mladých zvířat podle výzkumu častěji docházelo k projevům klinických příznaků a propuknutí kokcidióz s následkem smrti (Hallingera et al., 2019). Právě

častěji detekovaný rod *Isospora* je považován za patologicky nejvýznamnější (Pasmans et al., 2008), a to nejen v chovech plazů, ale i v chovech hospodářských zvířat, kde způsobuje značné ztráty (Rataj et al., 2011; Fitte et al., 2023).

Nejméně oocyst bylo pasážováno přes trávicí trakt druhu *Zophobas morio*, u kokcidie *Choleoimeria pogonae* se jednalo průměrně pouze o 2 % oocyst a u *Isospora amphiboluri* o 3 %. Střední míra pasáže byla zjištěna u druhu *Blaptica dubia*, u kterého měly oba druhy kokcidií průměrnou pasáž 10 %. Největší počet oocyst obou druhů kokcidií byl pasážován přes trávicí trakt cvrčka *Gryllus assimilis*, u kterého byla průměrná pasáž kokcidie *Choleoimeria pogonae* 18 % a 17 % u druhu *Isospora amphiboluri*.

Z výsledků lze tedy předpokládat, že u terarijně chovaných plazů je potenciálně největším rizikem přenos oocyst kokcidií z trávicího traktu hmyzu, který pozřel infikovaný trusu u druhů z řádu rovnokřídlých (Orthoptera). Vzhledem k tomu, že z tohoto řádu se jako krmivo využívá nejen velké množství druhů cvrčků, ale i sarančata, je možné, že mezi jejich schopnostmi pasážování existují rozdíly.

Na druhém místě je rizikový přenos oocyst skrz šváby (Blattodea). U švábů je jejich schopnost stát se vektory nákazy parazitů a patogenů z hlediska chovu zvířat i lidské bezpečnosti poměrně diskutované téma, protože některé druhy švábů jsou častými synantropními škůdci. Nejhojnější je výskyt těchto škůdců v teplejších oblastech a rozvojových zemích. Studie Alzaina (2011) potvrdila, že švábi hrají důležitou roli v přenosu různých onemocnění i parazitóz v Palestině. Pro potřeby této studie bylo v lidských obydlích odchyceno 200 jedinců, ze kterých 23,5 % švábů přenášelo parazitické organismy. V Nigérii proběhla studie Oyeyemiho et al. (2016), ve které autoři zjišťovali počty parazitů přenášených šváby a mouchami žijícími ve městě. A zjistili, že švábi přenášeli až šest druhů parazitů (*Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Ancylostoma* spp., *Trichuris trichiura*, *Enterobius histolytica* a *Taenia* spp.) oproti mouchám, které přenášely pouze čtyři druhy (*Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma* spp., *Trichuris trichiura*, a *Taenia* spp.).

V pokusu Jarujareeta et al. (2019) byla potvrzena důležitá role švába amerického (*Periplaneta americana*) v rozšiřování oocyst kokcidie *Eimeria tenella* mezi hejny kuřat v komerčních chovech. Oocysty byly nalezeny v trávicím traktu švábů i čtvrtý den po jejich podání a byly infekční i po vyloučení v trusu hmyzu. Stejně tak byl potvrzen přenos heteroxenní kokcidie *Sarcocystis muris* z trusu koček za pomoci dvou

druhů švábů (*Blatella germanica* a *Periplaneta americana*) do jejího myšního mezipřístřeží po pozření infikovaných švábů (Smith a Frenkel, 1978).

Nejmenší riziko infekce kokcií lze předpokládat při krmení terarijních chovanců larvami *Zophobas morio*. Nízká míra schopnosti pasáže oocyst v trávicím traktu larev brouků z čeledi potěmnikovití (Tenebrionidae) může být ovlivněna mnoha faktory, ale existují studie, ve kterých se v rámci larev v této čeledi brouků zabývají jejich schopností strávit i polystyren a další druhy plastů. Larvám potěmniků s tím pomáhá jejich vysoce výkonné trávení a bakterie střevní mikrobioty (Yang et al., 2018; Yang et al., 2020). Proto je možné, že jejich způsob trávení a příjmu potravy může hrát roli v narušení oocyst a poškození stěny oocysty, která je nezbytná pro dlouhodobější setrvání oocysty mimo tělo hostitele (Mai et al., 2009).

Ale i přes potvrzenou nejnižší míru pasáže oocyst kokcií mohou potěmnikovití brouci rozšiřovat infekce patogenů, jak bylo potvrzeno práci Dunforda a Kaufmana (2006) u potěmniká stájového (*Alphitobius diaperinus*) z čeledi Tenebrionidae, který je schopný přenášet patogeny (např. viry Markovy choroby, Newcastleké nemoci, bakterie *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* a *Aspergillus* spp. nebo i kokcie *Eimeria* spp.) v chovech drůbeže, kde se tento druh brouka objevuje jako nežádoucí škůdce.

Během statistické analýzy bylo zjištěno, že oba druhy kokcií byly v rámci jednotlivých druhů krmného hmyzu pasážovány stejně, ale byl prokázán rozdíl ve způsobu pasážování mezi jednotlivými druhy hmyzu. Z analýzy rozdílů v pasáži mezi jednotlivými druhy krmného hmyzu vyplynulo, že u kokcie *Choleoimeria pogonae* nejsou žádné rozdíly ve způsobu pasážování mezi různými druhy hmyzu. Oproti tomu u kokcie *Isospora amphiboluri* je rozdíl v pasáži mezi druhy *Blaptica dubia* a *Zophobas morio*. Cvrček *Gryllus assimilis* se od ostatních druhů nijak statisticky nelišil, pravděpodobně z důvodu velkých rozdílů ve výsledcích mezi testovanými skupinami cvrčků během pokusu.

Závěr

V této diplomové práci byla potvrzena schopnost krmného hmyzu pasážovat životaschopné oocysty kokcií v jejich trávicím traktu a stát se tak pasivním vektorem infekce kokcií v chovech plazů.

V běžné chovatelské praxi je hlavní podmínkou pro rozšíření infekce kokcií krmným hmyzem jako vektorem dlouhodobé ponechání hmyzu v teráriu s přístupem k trusu již na kokcie infekčních plazů. Důležitým faktorem, který tento způsob přenosu kokcií v teráriích může významně ovlivňovat, je přítomnost jiného alternativního zdroje potravy pro hmyz, než je čerstvý trus plazů (například přítomnost živých rostlin, substrátu, rostlinné složky stravy pro omnivorní plazy nebo třeba ovocné kaše pro některé druhy gekonů a přítomnost zbytků těl uhynulého hmyzu) a využívaná technologie chovu (způsob krmení, frekvence údržby a způsob dezinfekce). I když pro všechny chovatele by na prvním místě měla být již snaha o chov bez přítomnosti jakýchkoliv parazitů, vhodným způsobem prevence je dodržování karanténní doby u nových zvířat, dále preventivní koprologická vyšetření trusu a léčba zvířat se zjištěnou infekcí.

Právě vhodně zvolenou technologií chovu je možné rizika infekce kokcií z krmného hmyzu minimalizovat vhodným způsobem krmení, tj. předkládáním pouze takového množství živého krmného hmyzu, které jsou schopni během krátké doby zkonsumovat, a pravidelnou zoohygienu, tak aby krmný hmyz neměl možnost se s čerstvým trusem plazů setkat a pozřít ho.

Bez provedení dalších výzkumů nelze přesně říci, jak významnou roli krmný hmyz v rozšiřování infekcí kokcií může hrát v chovech plazů. Tento pokus se stejným designem by bylo přínosné provést znovu, ale s větším množstvím testovacích skupin hmyzu, více opakováními a případně i s více druhy hmyzu z jednotlivých čeledí pro potvrzení a rozšíření výsledků zjištěných v této diplomové práci. Vzhledem k tomu, že není známá míra infekčnosti kokcií z gastrointestinálního traktu pasážujícího hmyzu, by bylo vhodné provést také pokus testující míru jejich infekčnosti přímo po pozření infekčního hmyzu plazy.

Seznam použité literatury

Al-Rasheid, K. A.; Alyousif, M. S. (1998). *Eimeria yemenensae* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the rock agama (*Agama yemenensis*) in Saudi Arabia. *Parasitology international*, 47.2: 127-130.

Alzain, B. (2011). Cockroaches: Transmission of medically important parasites. *Hospital*, 90.28: 31.1.

Baker, David G. (2007). *Flynn's parasites of laboratory animals*. Second Edition, Blackwell Publishing, Iowa – USA. ISBN: 978-0-8138-1202-1

Barta, J. R. (2000). *Suborder Adeleorina Léger, 1911*. In: *An Illustrated Guide to the Protozoa*, Second Edition, vol. 1. Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas, U.S.A., 305-318.

Bernard, J. B., et al. (1997). Feeding captive insectivorous animals: nutritional aspects of insects as food. *Nutrition Advisory Group Handbook*, 3:1-5.

Bessette, E.; Williams, B. (2022). Protists in the Insect Rearing Industry: Benign Passengers or Potential Risk?. *Insects*, 13(5): 482

Bowman, D. D. (2014). *Georgis' Parasitology for Veterinarians (10th Edition)*. Elsevier Saunders, St. Luise. ISBN: 978-1-4557-4006-2.

Cannon, L. R. G. (1967). New coccidia from Australian lizards I. *Isospora*. *Parasitology*, 57.2: 227-235.

Donkor, E. S. (2020). Cockroaches and food-borne pathogens. *Environmental health insights*, 14: 1178630220913365.

Dunford, J. C.; Kaufman, P. E. (2006). Lesser Mealworm, Litter Beetle, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae): EENY-367/IN662, *EDIS*. rev. 6/2006.

Duszynski, D. W. (2021). Biodiversity of the Coccidia (Apicomplexa: Conoidasida) in vertebrates: what we know, what we do not know, and what needs to be done. *Folia Parasitologica*, 68: 001

Finkelman, S.; Paperna, I. (1994). The endogenous development of two new species of *Isoospora* (Apicomplexa: Eimeriidae) from skinks. *Systematic parasitology*, 27.3: 227-235.

Fitte, B., et al. (2023). *Isoospora* spp. In: Unzaga, J. M.; Zonta, M. L. (2023). Protozoos parásitos de importancia sanitaria: un abordaje transdisciplinar. *Libros de Cátedra*.

Gibbons, P. M. (2014). Advances in reptile clinical therapeutics. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 23.1: 21-38.

Graczyk, T. K., et al. (2005). Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects. *Clinical microbiology reviews*, 18.1: 128-132.

Greiner, E. C. (2003). Coccidiosis in reptiles. In: *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*. WB Saunders, p. 49-56.

Gunetti, M., et al. (2012). Validation of analytical methods in GMP: the disposable Fast Read 102® device, an alternative practical approach for cell counting. *Journal of translational medicine*, 10:1-12.

Hallinger, M. J. et al. (2019). Captive Agamid lizards in Germany: Prevalence, pathogenicity and therapy of gastrointestinal protozoan and helminth infections. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 63: 74-80.

Hausmann, K., & Hülsmann, N. (2003). *Protozoologie*. 1. vyd., Academia, Praha. ISBN: 80-200-0978-7.

Hronovská, L. (2015). *Exotické nemoci*. [online] Časopis PHARMA NEWS [14. 12. 2023]. Dostupné z: <https://www.pharmanews.cz/clanek/exoticke-nemoci/>

Chroust, K., et al. (1998). *Veterinární protozoologie*. VFU Brno, Brno. ISBN 80-85114-27-5.

Jacobson, E. R. (2007). *Parasites and parasitic diseases of reptiles*. CRC Press, Boca Raton. ISBN 978-04-291-5431-7.

Jacobson, E.R.; Gardner, M. M. (2021). *Diseases and Pathology of Reptiles: Color Atlas and Text*, Two Volume Set, CRC Press, Boca Raton. ISBN: 978-0-429-15556-7.

Jarujareet, W., et al. (2019). The role of the American cockroach (*Periplaneta americana*) as transport host of *Eimeria tenella* to chickens. *Parasitology research*, 118: 2311-2315.

Jirků, M., et al. (2002). The phylogeny of *Goussia* and *Choleoeimeria* (Apicomplexa; Eimeriorina) and the evolution of excystation structures in coccidia. *Protist*, 153.4: 379-390.

Jirků, M., et al. (2009). *Goussia* Labbé, 1896 (Apicomplexa, Eimeriorina) in Amphibia: diversity, biology, molecular phylogeny and comments on the status of the genus. *Protist*, 160.1: 123-136.

Johnston, A. N., et al. (2021). *Choleoeimeria pogonae* alters the bile acid composition of the central bearded dragon (*Pogona vitticeps*). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 31.2: 99-100.

Kaluža M.; Konvalinová J. (2023). *Drůbež: Endoparazitózy*. [online] Nemoci hospodářských a potravinových zvířat [10. 8. 2023]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/nz/NHZ/endoparazitozy-drubez.html>

Kasim, A. A., et al. (1988). *Eimeria sinaitae* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the rock agama (*Agama sinaita*) in Saudi Arabia. *The Journal of protozoology*, 35.3: 388-389.

Kocourek, I., Král, J. (1997). *Terárium A-Z*. První vydání, RATIO, Úvaly. ISBN: 978-80-902-3120-7.

Kočárek, P., et al. (2013). *Rovnokřídli (Insecta: Orthoptera) České republiky*. Academia, Praha. ISBN: 978-80-200-2173-1.

Kopanic, R. J., et al. (2001). An adaptive benefit of facultative coprophagy in the German cockroach *Blattella germanica*. *Ecological Entomology*, 26.2: 154-162.

Kořínek, M. (1993). *Chov krmného hmyzu*. [online]. Milan Kořínek-Akvárium terárium [cit. 14. 7. 2023]. Dostupné z: http://web.quick.cz/mkorinek/clanky/at/hmyz/hmyz_index.html

Kovařík, F., et al. (2000). *Hmyz: chov, morfologie*. Madagaskar, Jihlava. ISBN 80-86068-24-2.

Kváč, M., et al. (2007). Infectivity and pathogenicity of *Cryptosporidium andersoni* to a novel host, southern multimammate mouse (*Mastomys coucha*). *Veterinary parasitology*, 143.3-4: 229-233.

Ladds, P. W.; Sims, L. D. (1990). Diseases of young captive crocodiles in Papua New Guinea. *Australian Veterinary Journal*, 67.9:323-330.

Lindsay, D. S., et al. (1997). Biology of *Isoospora* spp. from humans, nonhuman primates, and domestic animals. *Clinical microbiology reviews*, 10.1: 19-34.

Liu, D., et al. (2021). Morphological and molecular characterization of *Isoospora amphiboluri* (Apicomplexa: Eimeriidae), a coccidian parasite, in a central netted dragon (*Ctenophorus nuchalis*) (De Vis, 1884) in Australia. *Parasitology International*, 84: 102386.

Machin, R. A. (2015). Common gastrointestinal parasites in reptiles. *In Practice*, 37.9: 469-475.

-
- Macek, J. (2001). *Svět zvířat XI-Bezobratlí*. Albatros, Praha. ISBN: 80-00-00918-8.
- Mai, K., et al. (2009). Oocyst wall formation and composition in coccidian parasites. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104: 281-289.
- Maupin, R. S., et al. (1998). Two new coccidian parasites from the grand anglehead lizard, *Gonocephalus grandis* from Peninsular Malaysia. *The Journal of parasitology*, 1210-1212.
- McAllister, C. T., et al. (1988). *Eimeria lineri* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the mediterranean gecko *Hemidactylus turcicus* (Sauria: Gekkonidae) in Louisiana and Texas. *In: Proc Helm Soc Wash* p. 256-259.
- McAllister, Ch. T., et al. (1995). A description of *Isospora amphiboluri* (Apicomplexa: Eimeriidae) from the inland bearded dragon, *Pogona vitticeps* (Sauria: Agamidae). *The Journal of parasitology*, 281-284.
- McDonald, J. H. (2014). *Handbook of Biological Statistics (3rd ed.)*. [online] Nested anova. [9. 9. 2023]. <https://ds.amu.edu.et/xmlui/bitstream/handle/123456789/14122/HandbookBioStatThird%20-%20305%20pages.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Megía-Palma, R., et al. (2015). Phylogeny of the reptilian *Eimeria*: are *Choleoeimeria* and *Acroeimeria* valid generic names?. *Zoologica Scripta*, 44.6:684-692.
- Morrison, D. A. (2009). Evolution of the Apicomplexa: where are we now?. *Trends in parasitology*, 25(8):375-382.
- MUNI MED, (2023). *Návod pro komůrku dle Bürkera*. [online] [03. 10. 2023]. Dostupné z: https://www.med.muni.cz/biofyz/files/vlzl/Navod_komurka.pdf
- Norton, C. C.; Peirce, M. A. (1985). Caryospora species from Zambian snakes. *African Journal of Ecology*, 23.1: 59-62.

Novák, P., et al. (2015). *Základy zoohygieny chovu zvířat v zoologických zahradách*. VÚŽV, Praha. ISBN: 978-80-7403-147-2.

Oyeyemi, O. T., et al. (2016). Food-borne human parasitic pathogens associated with household cockroaches and houseflies in Nigeria. *Parasite Epidemiology and Control*, 1.1: 10-13.

Paperna, I.; Landsberg, J. H. (1989). Description and taxonomic discussion of eimerian coccidia from African and Levantine geckoes. *South African Journal of Zoology*, 24.4: 345-355.

Papini, R., et al., (2011). Coprological survey in pet reptiles in Italy. *Veterinary Record*, 169.8: 207-207.

Pasmans, F., et al. (2008). Introducing reptiles into a captive collection: the role of the veterinarian. *The Veterinary Journal*, 175.1: 53-68.

Raiti, P. (2012). Husbandry, diseases, and veterinary care of the bearded dragon (*Pogona vitticeps*). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 22(3) -4:117-131.

Rataj, A. V., et al. (2011). Parasites in pet reptiles. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53: 1-21.

Ras-Noryska, M.; Sokol, R. (2015). Internal parasites of reptiles. *Annals of parasitology*, 61.2.

Roháčová, H. (2006). Onemocnění přenášená klíšťaty. *Interní medicína pro praxi*, 8.6: 280-283.

Rumbos, C. I.; Athanassiou, C. G. (2021). The superworm, *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae): a 'sleeping giant' in nutrient sources. *Journal of Insect Science*, 21.2: 13.

Ryšavý, B. et al, (1989). *Základy parazitologie*. Státní pedagogické nakladatelství, Praha. ISBN 80-04-20864-9.

Scullion, F. T., Scullion, M. G. (2009). Gastrointestinal protozoal diseases in reptiles. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18.4: 266-278.

Smith, D. D.; Frenkel, J. K. (1978). Cockroaches as vectors of *Sarcocystis muris* and of other coccidia in the laboratory. *The Journal of Parasitology*, 315-319.

Smrž, J. (2013). *Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých živočichů*. Karolinum Press, Charles University in Prague. ISBN 978-80-246-2258-3.

Szczepaniak, K. O., et al. (2016). Reclassification of *Eimeria pogonae* Walden (2009) as *Choleoimeria pogonae* comb. nov. (Apicomplexa: Eimeriidae). *Parasitology Research*, 115:681-685.

Škrabalová, B. (2011). *Krmný hmyz*. [online] Jak na hmyz. [16. 8. 2023]. Dostupné z: https://www.jaknahmyz.cz/krmny_hmyz

Taylor, M. A., et al. (2015). *Veterinary parasitology (Fourth edition)*. John Wiley & Sons, Chichester. ISBN: 978-0-470-67162-7.

Viana, L. A., et al. (2013). A new species of *Caryospora* Léger, 1904 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the snake *Philodryas olfersii* Lichtenstein (Colubridae) from a coastal habitat in Brazil. *Systematic parasitology*, 85: 195-199.

Volf, P. a Horák, P. et al, (2007). *Paraziti a jejich biologie*. TRITON, Praha. ISBN 978-80-7387-008-9.

Walker, T. J. (2021). *Jamaican field cricket*. [online] Featured Creatures [18. 8. 2023]. Dostupné z: <https://entnemdept.ufl.edu/creatures/misc/crickets/gassim.html>

Wolf, D., et al. (2014). Diagnosis of gastrointestinal parasites in reptiles: comparison of two coprological methods. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56.1: 1-13.

Yang, R., et al. (2014). A new *Caryospora* coccidian species (Apicomplexa: Eimeriidae) from the laughing kookaburra (*Dacelo novaeguineae*). *Experimental parasitology*, 145: 68-73.

Yang, R., et al. (2016). Morphological and molecular characterization of *Choleoeimeria pogonae* n. sp. coccidian parasite (Apicomplexa: Eimeriidae, 1989, Paperna and Landsberg) in a western bearded dragon (*Pogona minor minor*). *Experimental parasitology*, 160: 11-16.

Yang, S., et al. (2018). Biodegradation of polystyrene wastes in yellow mealworms (larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus): factors affecting biodegradation rates and the ability of polystyrene-fed larvae to complete their life cycle. *Chemosphere*, 191: 979-989.

Yang, Y., et al. (2020). Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating superworms *Zophobas atratus*. *Science of the total environment*, 708: 135233.

Seznam obrázků

Obrázek č. 1: Popis oocysty kokcidie z čeledi Eimeriidea (upraveno podle Taylor et al., 2015).....	13
Obrázek č. 2: Životní cyklus kokcií z čeledi Eimeriidea (upraveno podle Taylor et al., 2015).....	14
Obrázek č. 3: Plazí kokcidie morfortypu <i>Eimeria</i> (nahore) a <i>Isospora</i> (Žahourek, 2023)	31

Seznam tabulek

Tabulka č. 1: Srovnávací tabulka pro kokcidie morfotypu <i>Isospora</i>	28
Tabulka č. 2: Srovnávací tabulka pro kokcidie morfotypu <i>Eimeria</i>	28
Tabulka č. 3: Popis kokcidií ze vzorků použitých v pokusu	31
Tabulka č. 4: Porovnání schopnosti pasáže kokcidií u krmného hmyzu	32
Tabulka č. 5: Post-hoc test pro <i>Isospora amphiboluri</i>	34

Seznam grafů

Graf č. 1: Pasážování oocyst u druhu kokcidie *Isospora amphiboluri* 33

Graf č. 2: Pasážování oocyst u druhu kokcidie *Choleoeimeria pogonae* 33

Seznam použitých zkratek

OPG	Oocyst Per Gram (počet oocyst na gram vzorku)
PBS	Phosphate Buffered Saline (fosfátový pufr)
IBD	Inclusion body disease (retrovirové onemocnění hadů)